

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***SİÇANLARDA KOLİT MODELİNDE ETİL  
PİRÜVATIN İNFLAMATUAR YANIT ÜZERİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI***

DR.NAZİM GÜREŞ

LABORATUVAR HAYVANLARI A.B.D.  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR, 2010

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***SİÇANLARDA KOLİT MODELİNDE ETİL  
PİRÜVATIN İNFLAMATUAR YANIT ÜZERİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI***

LABORATUVAR HAYVANLARI A.B.D.  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DR.NAZİM GÜREŞ

DANIŞMANLAR: PROF.DR. OSMAN YILMAZ  
DOÇ.DR. ENSARİ GÜNELİ

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Nazım Güreş ‘Sıçanlarda Kolit Modelinde Etil Pirüvatın İnflamatuvar Yanıt Üzerine Etkisinin Araştırılması’ konulu yüksek lisans tezini 20.12.2010 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

Prof.Dr. Osman YILMAZ

Başkan

Doç Dr.Ensari GÜNELİ

Üye

Prof.Dr. Necati GÖKMEN

Üye

Tez Danışmanları : Prof.Dr. Osman YILMAZ

Doç Dr.Ensari GÜNELİ

# İÇİNDEKİLER

*Sayfa*

## **İÇİNDEKİLER I**

<b>TABLO DİZİNİ</b> .....	III
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	III
<b>KISALTMALAR</b> .....	IV
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	V
<b>ÖZET</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	3
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi .....	3
1.2. Araştırmanın Amacı.....	3
1.3. Araştırmanın Hipotezi .....	4
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	5
2.1. İnsanda Kolon, Rektum ve Anüs Anatomisi .....	5
2.2. Wistar Albino Sıçan .....	6
2.3. Hücre Zedelenmesi Mekanizmaları ve Aracıları.....	8
2.4. Etil Pirüvat.....	10
2.5. Kolit.....	14
2.6. İnflamatuar Bağırsak Hastalığı.....	15
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	18
3.1. Araştırmanın Tipi.....	18
3.2. Araştırmanın Yeri .....	18
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örnekleme.....	18
3.4. Çalışma Materyali.....	19
3.5. Araştırmanın Değişkeni .....	20
3.6. Verilerin Toplanma Araçları.....	20
3.7. Araştırma Planı .....	25
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi .....	25
3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları.....	25
3.10. Etik Kurul Onay Belgesi.....	25

4. <b>BULGULAR</b> .....	26
4.1.Sıçanlarda Ağırlık Değişimleri.....	27
4.2.Histopatolojik Bulgular .....	31
4.3.Biyokimyasal Bulgular .....	31
5. <b>TARTIŞMA</b> .....	32
6. <b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	37
7. <b>KAYNAKLAR</b> .....	38
8. <b>EKLER</b> .....	44
EK-1: Etik Kurul Onay Raporu	
EK-2: Özgeçmiş	
EK-3: SBE Tez Değerlendirme Formu (jüri üyesi için)	

## **TABLO DİZİNİ**

**Sayfa**

<b>Tablo 1-</b> Işık Mikroskopik Doku Takip Protokolü.....	21
------------------------------------------------------------	----

## **ŞEKİL DİZİNİ**

**Sayfa**

<b>Şekil 1-</b> İnsanda Kalın Bağırsak Anatomisi .....	6
<b>Şekil 2-</b> Sığanda Karın İçi Organların Görünümü .....	7
<b>Şekil 3-</b> Glikoliz Sonrası Pirüvat Sentezi .....	11
<b>Şekil 4-</b> Batın Açıldıktan Sonra Distal Kolon Segmentinin Görünüşü .....	20
<b>Şekil 5-</b> Sıçanların Ağırlık Değişimleri .....	26
<b>Şekil 6 ve 7-</b> Çıkarılan Distal Kolon Segmentleri .....	27
<b>Şekil 8-</b> Sham Grubu Histopatoloji .....	28
<b>Şekil 9-</b> SF Grubu Histopatoloji .....	29
<b>Şekil 10-</b> EP Grubu Histopatoloji.....	29
<b>Tablo 11-</b> Histopatolojik Skorum Değerleri .....	30
<b>Tablo 12-</b> Malondialdehit Değerleri .....	31

## **KISALTMALAR**

<b>CH</b> .....	Crohn Hastalığı
<b>EP</b> .....	Etil Pirüvat
<b>HMGB-1</b> .....	High Mobility Group Box Kromozomal Protein 1
<b>İBH</b> .....	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
<b>İL</b> .....	İnterlökin
<b>MDA</b> .....	Malondialdehit,
<b>NF-κβ</b> .....	Nükleer Faktör Kappa Beta
<b>NO</b> .....	Nitrik Oksit
<b>RANKL</b> .....	Receptor Activated Nuclear Factor Kappa B
<b>SF</b> .....	Serum Fizyolojik
<b>SOR</b> .....	Serbest Oksijen Radikali
<b>TNBST</b> .....	rinitrobenzensulfonik asit
<b>ÜK</b> .....	Ülseratif Kolit

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana bilgi, ilgi, sevgi ve desteğini esirgemeyen sevgili hocalarım DEÜ SBE Laboratuvar Hayvanları Bilimi Abd öğretim üyeleri Prof Dr. Osman YILMAZ ve Doç. Dr. M. Ensari GÜNELİ'ye, bu tezin hazırlanmasında değerli emeklerinden ve katkılarından dolayı Yrd. Doç.Dr. Meral KARAMAN'a ve her zaman iyi bir çalışma arkadaşı ve dost olan Uzm. Efsun KOLATAN'a teşekkürlerimi sunarım.

DEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Abd Öğretim Üyeleri Doç. Dr. Çetin PEKÇETİN ve Doç. Dr. Alper BAĞRIYANIK'a ve ARLAB'dan Yrd. Doç. Dr.Zahide ÇAVDAR'a çalışmalarından ve katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca tezin istatistiklerini ve grafiklerini hazırlamamda yardımcı olan sevgili arkadaşım Ege Üniversitesi BESYO Öğretim Üyesi Yrd. Doç.Dr. Zeki ÖZKOL'a da teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans programı için beni teşvik eden ve genel cerrahi eğitimimde büyük emeği ve katkısı olan sevgili ağabeyim İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Uzmanlarından Op. Dr. Burhan YOLCUOĞLU'na her zaman müteşekkirim.

Son olarak, eğitimim boyunca destek ve sabrını benden esirgemeyen sevgili eşim Deniz Buket GÜREŞ' e teşekkürlerimi borç bilirim.



## ***SIÇANLARDA KOLİT MODELİNDE ETİL PİRÜVATIN İNFLAMATUAR YANIT ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI***

Dr. Nazım GÜREŞ, DEÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Abd,  
İzmir

### ***ÖZET***

**Amaç:** İnflamatuar bağırsak hastalıkları, morbidite ve mortalite ile seyredabilen, Dünya genelinde yaygın ve etkili tedavi arayışları süren hastalıklardır. Bu çalışmada bir antiinflamatuar ve antioksidan etkili bir ajan olan etil pirüvatın (EP) deneysel kolit modelindeki etkisi araştırıldı. **Yöntem:** On yedi Wistar sıçan 3 gruba ayrıldı. Sham grubunda (n=3) kolit modeli ve tedavi uygulanmadı; EP grubunda (n=7) ve SF (Serum Fizyolojik) grubunda (n=7) %6 'lık asetik asit ile kolit modeli oluşturuldu. EP grubuna 7 gün boyunca EP (50 mg/kg), SF grubuna da aynı sürede ve aynı miktarda SF subkutan olarak uygulandı. Sıçanların ağırlıkları tartılarak ağırlık değişimleri ölçüldü. 7. günün sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edildi. Çıkarılan distal kolon segmentleri histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelendi. **Bulgular:** Çıkarılan distal kolon segmentlerinde EP grubunda SF grubuna göre histopatolojik olarak iyileşme gözlemlendi. MDA parametreleri EP grubunda SF grubuna göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. EP grubundaki sıçanlarda SF grubundakilere göre daha belirgin ağırlık artışı görülmesine rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi. **Sonuç:** EP sıçanlardaki koliti iyileştirmektedir. Böylelikle, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde etkili bir ajan olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Kolit, Etil Pirüvat, Sıçan

## INVESTIGATION of THE EFFECTS of ETHYL PYRUVATE on THE INFLAMMATORY RESPONSE in RAT COLITIS MODEL

Nazım GÜREŞ, MD. Dokuz Eylül University, Health Sciences Institute, Laboratory Animal Science Department, Izmir.

### ***SUMMARY***

***Objective:*** Inflammatory bowel diseases are common worldwide health problems that results in morbidity and mortality and many efforts of effective treatment are still in progress for them. In this study, we evaluated the effects of ethyl pyruvate (EP), an antiinflammatory and antioxidant agents, in the model of acute rat colitis. ***Method:*** Colitis were induced by distal instillation of % 6 acetic acid. Seventeen Wistar albino rat was divided 3 groups. In Sham group ( n=3) , neither colitis induced and nor treatment were given. Both EP groups and SF (fisiologic serum) groups were treated 7 days along by subcutenous administration of equal volume of EP (50 mg/kg) and SF to each group separetely. At the end of this period, rats were sacrificed and their distal colonic segments were extracted. ***Results:*** On histopathological examination, mucosal ulceration and inflammation were more severe in SP group rather than the EP group; thus EP group had more healing. These result has proved by statistically. MDA analysis results were in EP group more modarate; but, showed no statistical meaning. When comparasion of the mean weight values, EP group has more prominent increase than the SF group; but, also showed no statistical meaning. ***Conclusion:*** EP improves colitis in rats and it may be promising agent for the treatment of inflamatory bowel diseases.

***Key Words:*** Colitis, Ethyl Pyruvate, Rat

# **1. GİRİŞ VE AMAÇ**

## ***1.1.Problemin Tanımı ve Önemi:***

Kolit, kolon mukozasını tutan bağırsak fonksiyonlarında değişiklik ve intestinal inflamasyon semptomları oluşturan bir inflamatuvar süreçtir. Kolite yol açan inflamatuvar barsak hastalıkları (İBH) gastrointestinal sistemi tutan, nedeni tam olarak belirlenemeyen morbidite ve mortaliteyle seyreden kronik ilerleyici bir hastalıktır. İBH, hem kronik karın ağrısı, kanlı diyare, ateş gibi yaşam kalitesini düşüren semptomlar oluşturmakta hem de kanser riskini önemli ölçüde arttırmaktadır. Aynı zamanda, tüm dünyada işgücü kayıpları ve tedavi masrafları ile sosyoekonomik bir problemdir. Birçok cerrahi ve ilaçla tedavi protokolleri olmasına rağmen, medikal tedavide yeni arayışlar sürmektedir. İnflamasyon ve sonucunda ortaya çıkan doku yıkımı İBH patogenezindeki sonuç olarak ortaya çıkan ortak gelişmedir. İBH 'nın klinik özellikleri ve morfolojik değişiklikler, başta nötrofiller, daha sonra lenfositler olmak üzere inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu sonucu ortaya çıkarlar. Medikal tedavilerdeki temel amaç bu inflamatuvar yanıtın baskılanması sonucu hastalığın şiddetinin azaltılmasıdır.

## ***1.2.Araştırmanın Amacı***

Son yıllarda Nükleer Faktör- $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) aracılı hücre içi sinyal ileti sisteminin inflamasyondaki önemini gösteren çalışmalar yapılmış ve bu yolağın blokajı ile inflamasyon yanıtının ve dolayısıyla İBH hastalığının şiddetinin azaltılabileceği deneysel olarak gösterilmiştir. EP, endojen olarak glikolitik yol ile üretilen bir molekül olan pirüvatın alifatik esteridir. EP'nin NF- $\kappa\beta$  sistemini bloke ederek antiinflamatuvar yanıt oluşturduğu birçok çalışma ile saptanmıştır. Ayrıca bir serbest radikal süpürücüsü olarak antioksidan etki göstermektedir. Bu çalışmada, Wistar albino sıçanlarda oluşturulan deneysel kolit modelinde EP'in etkisini araştırmayı amaçladık. Böylelikle bu çalışmamızın inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

### ***1.3.Araştırmanın Hipotezi:***

Sıçanlarda oluşturulacak kolit modelinde sistemik uygulanacak etil pirüvatın kolon mukoza hasarını histopatolojik ve biyokimyasal olarak değiştirebileceğini öngörmekteyiz.

## **2. GENEL BİLGİLER:**

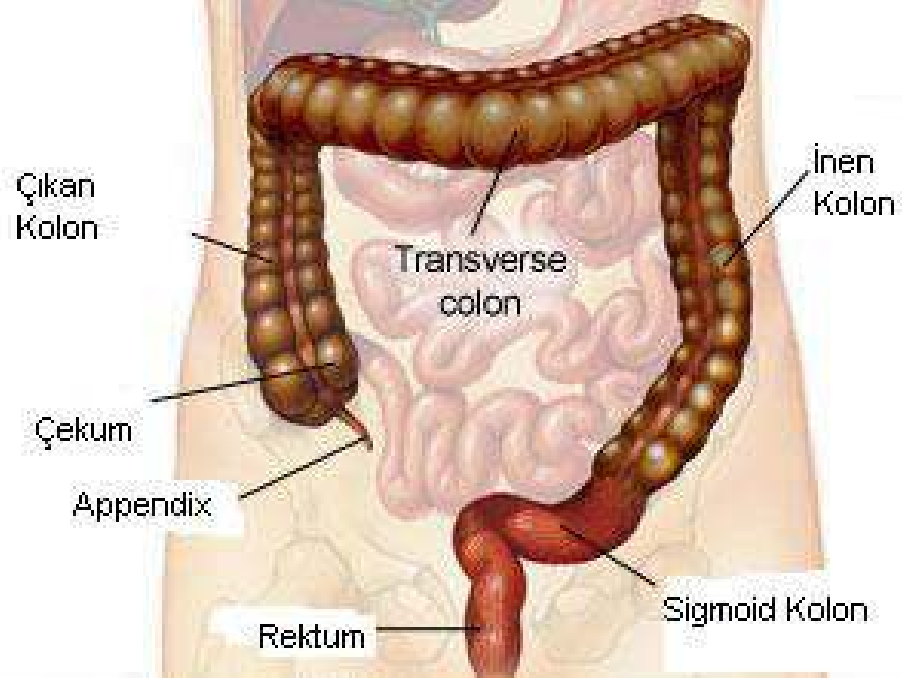
### ***2.1 İnsanda Kolon (Kalın Bağırsak), Rektum ve Anüs Anatomisi:***

Kalın bağırsak (intestinum crassum) uzunluğu ortalama 150 – 160 cm olan sindirim kanalıdır (Şekil 1). Terminal ileum ve rektum arasında uzanır. Sağ kalça kemiğinin karın boşluğuna bakan yüzü (fossa iliaca dexter) üzerine yerleşmiş kese biçiminde bir organ olan çekum (kör bağırsak) ile başlar. Kör bağırsağın üzerinde appendix vermiformis bulunur. Kör bağırsaktan başlayan, karın boşluğunun sağ yarımında karın arka duvarı üzerinde yukarıya, karaciğerin alt yüzeyine değin uzanan bölümüne çıkan kolon (colon ascendes) denir. Kolon burada bir bükümle (flexura hepaticus) sola döner. Dalağa dek uzanır. Kolonun bu bölümü enine kolon (kolon transversum) adını alır. Bu bölüm kendi askısıyla (mezenterium) karın arka duvarına asılıdır. Enine kolon yine bir bükümle (flexura splenicus) aşağı değru yönelir. Sol karın arka duvarı üzerindeki bu bölüme inen kolon ( kolon descendes) denir. Sol kalça kemiği üzerinden leğen kemiği (pelvis) boşluğuna uzanan dördüncü bölüm –S- harfi gibi bir kıvrım yaptığından buna sigmoid kolon (colon sigmoideum ) adı verilir.

Düz bağırsak (rektum) , leğen boşluğunun arka duvarına yerleşmiş olan kalın bağırsak parçasıdır. Sigmoid kolonun devamıdır. Yaklaşık 13–15 cm'dir. Anüs ile dışarı açılır. Anüs (dışkı deliği) , sindirim sisteminin dışa açılan alt ve uç deliğidir. Bu delik rektumun devamı olan 3–4 cm'lik anal kanalın dışa açılan kısmıdır. Deliğin çevresi kas hücrelerinden yapılmış iç ve dış iki büzgeç (Sprichter ani) içerir. İç büzgeç düz, dış büzgeç çizgili kas hücrelerinden yapılmıştır. Normalde delik kapalıdır, dışkılama sırasında açılır .

Kalın bağırsakta sindirim kanalında görülen dört tabaka da bulunur:

1. *Tunica Mucosa:* Villuslar yoktur düzdür.
2. *Tunica Submukoza:* Kan damarları ve lenf damarlarını destekleyen bir aerolar dokudur.
3. *Tunica Muscularis:* İçte sirküler ve dışta longitudinal kaslardan meydana gelmiştir
4. *Tunica Serosa:* Peritondur (1).



**Şekil 1:** İnsanda Kalın Bağırsak Anatomisi

## **2.2. Wistar Albino Sıçan:**

Çalışmamızda kullanılan Wistar Sıçanlar, *Rattus Norvegicus* (kahverengi rat, sıçan) cinsine ait outbred albino sıçanlardır. 1906 yılında Wistar Enstitüsünde biyolojik ve medikal araştırmalar için üretilmiştir. Laboratuvarlarda *mus musculus* (ev faresi) kullanıldığı bir dönemde ilk sıçan suşu (strain) olma özelliğindedir. Geniş, basık kafalı, uzun kulaklı ve vücut uzunluğundan kısa kuyruğu ile karakterizedir. Diğer popüler laboratuvar sıçanlardan olan Sprague Dawley ve Long-Evans suşu sıçanlar Wistar albino sıçanlardan üretilmiştir(4).

Sıçanların diş formülleri  $1/1-3/3-0/0-3/3$  şeklindedir. Kalp her taraftan akciğer tarafından sarılmıştır; sadece kranioventral yüzü serbesttir. Trakea otuz kıkırdak halkasından oluşmuştur. Akciğer solda bir lob, sağda bir lob halinde bulunur. Timus, genç hayvanlarda trakea arka ucunun ventral kısmına yerleşmiştir. Göz ve kulak kökü arasında fazladan bir lakrimal bez bulunur. Sıçanların göz yuvaları içindeki harder bezleri kahverengi – kırmızı porfirin içeren bir salgı üretirler. Normalde sağlıklı bir sıçan gözlerinden bu salgıyı temizler. Mide, gövdenin orta hattının solunda karaciğerin üstünde ve geride bulunur. Mide geride ve aşağıda kolona ve mideye dayanır. Dalak midenin yanındadır. Sıçanlarda safra kesesi yoktur.

Duodenum anatomisi de insandaki anatomiden farklıdır. S şeklinde karaciğer visseral yüzünü takip ederek önce sağa, sonra orta hatta yönelir. Transvers kolon ile arasında mevcut olan bağlantı kolonun diseksiyonu sırasında önemlidir. İleum doğrudan kolona açılır, insanda mevcut olan transvers kolon yapısını bulundurmaz. Çekum sıçanlarda da kolonun en geniş kısmını oluşturur ve 6–9 cm uzunluğundadır. Daha sonra daralarak insandaki gibi çıkan kolon, inen kolon ve transvers kolon kısımlarını oluşturur. Ortalama uzunluğu 21- 24 cm kadardır. Makroskopik olarak ayırt edilebilen tenya yapısı yoktur. Rektum mukozal oblik pililerinin bağırsak uzun eksenine paralel hale gelmesiyle kolonun diğer segmentlerinden ayırt edilir. İnsandan farklı olarak kolonun neredeyse tamamı mobildir ve visseral periton ile örtülüdür. Bu özellikleri ile sıçan kolonu, anatomik olarak kolit modeli oluşturmak için uzun süredir kullanılmaktadır (5). Aşağıdaki resimde (Şekil 2) sıçanlarda kolon ve diğer batin içi organlar görülmektedir (6).



**Şekil 2:** Sıçanda Karın İçi Organların Görünümü

### ***2.3.Hücre Zedelenmesi Mekanizmaları:***

Hücre zedelenmesi birçok yolla gerçekleşmektedir. Herhangi bir nedenle oluşan zedelenmede biyokimyasal olaylar sonucunda gelişen belirtiler karmaşık olup diğer hücre içi yollarla da iç içe geçmiştir. Bu nedenle nedeni ve etkilerini ortaya çıkarmak güç olabilir. Ancak temel olarak aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Hasarlayıcı etkene hücrel yanıt, etkenin tipi, süresi ve şiddetine bağlıdır.
- Hücre hasarının sonuçları hücrenin tipi, durumu, adaptasyon kapasitesine ve genetik özelliklerine bağlıdır. Hücrenin beslenme ve hormonal durumu ve onun metabolik ihtiyaçları, hasara yanıtta önemlidir.
- Birçok uyaran için kesin biyokimyasal yerleri işaret etmek güçtür. Dört hücre içi sistem özellikle hasar görür:

1. Hücre membran bütünlüğü, hücre ve organellerinin iyonik ve ozmotik dengesi
  2. Aerobik solunum, mitokondrial oksidatif fosforilasyon ve ATP oluşumu
  3. Protein sentezi.
  4. Hücrenin genetik aparatı
- (7).

### ***Serbest Oksijen Radikalleri:***

Birden fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan elektrik yüklü veya yüksüz reaktif atom ya da moleküllerdir. Biyolojik sistemdeki en önemli serbest oksijen radikalleri (SOR) oksijenden oluşan radikallerdir. Hidroksil radikali ( $\text{OH}^\cdot$ ), süperoksit radikali ( $\text{O}_2^\cdot$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ve peroksinitrit ( $\text{ONOO}^\cdot$ ) en önemlileridir.

SOR çok kısa yaşam süreli, ancak yapısındaki dengesizlik nedeniyle çok aktiftir. Tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğindedirler. Hücre içinde küçük moleküllerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler ile mitokondrial elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran transport sistemleri, peroksizom salgılarıyla plazma membranından kaynaklanarak üretilebilirler. Hücre dışında ise aerobik organizmaların oksijen ile redüksiyonu sonucunda antineoplastik ajanlar, kinolon grubu antibiyotikler, radyasyon,



alkol, uyuşturucu maddeler, çevresel ajanlar, bazı viral ajanlar ile SOR açığa çıkabilir. Ayrıca bazı toksik maddeler tarafından da SOR üretimi arttırılabilir (8).

SOR, hücre fonksiyonları için zararlı olan membran peroksidasyonu sonucunda en çok bilinen sitotoksik ürünlerden MDA üretirler. Peroksidasyon membran geçirgenliğini arttırır. Aynı zamanda MDA moleküller içinde ve arasında çapraz bağlantılar oluşturarak membran transportunu inaktive eder. Uzun vadede MDA'nın karsinojenik etkileri daha zararlı olabilmesine rağmen, bu tür olaylar hücre canlılığı için önemli risk anlamına gelir (9). Serumdaki ve dokudaki MDA düzeyinin ölçümü in vivo SOR aracılı doku hasarının göstergesi olarak kullanılabilir.

Aerobik organizmalarda serbest oksijen radikallerinin yaptıkları hasarı engellemeye çalışan enzimatik ve nonenzimatik savunma sistemleri vardır. Süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) , glutatyon peroksidaz (GSH – Px) , E vitamini, glutatyon ve C vitamini bu savunma sistemlerinin başlıcalarıdır (10).

### ***Sitokinler:***

Sitokinler hücrel düzenleyici proteinlerdir. Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanır ve hedeflenen hücrelerin davranışını etkilerler. Belli bir sitokin çeşitli hücreler tarafından farklı dokularda salgılanır fakat aynı biyolojik etkiyi gösterir. Sitokinlerin etkileri sistemik veya lokaldir. Bazıları klasik hormon gibi davranırlar. Şöyle ki; belli hücreler tarafından kana veya çeşitli hücrel sıvılara salgalanıp vücudun diğer bölgelerindeki hücrel reseptörlerine bağlanırlar. Diğer sitokinler daha lokalize olmuş etkiler gösterirler. Bunlar otokrin (bir hücre tarafından salgılanan sitokinin aynı hücre üzerine etkisi) ve parakrin (belli bir hücre tarafından salgılanan sitokinin yakındaki komşu hücreye etkisi) etkilerdir. Sitokinlerin tanımlanması ve karakterize edilmesi çeşitli isimlendirme ve sınıflandırmasistemine göre yapılmıştır. Bu sınıflandırma sitokinler arasındaki fonksiyonel benzerliklere etki mekanizmalarına dayanmaktadır. Sitokinler başlıca şu ana gruplara ayrılmaktadır:

- 1) Büyüme Faktörleri (Epidermal büyüme faktörü, EGF; Platelet orijinli büyüme faktörü v.b.)
- 2) Lenfokinler (IL-1 $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ ; IL-6 v.b.)
- 3) Koloni stimüle eden faktörler (Granülosit/makrofaj koloni stimüle eden faktör,

GM-CSF v.b.)

4) Transforme edici büyüme faktörleri (TGF- $\alpha$ ; TGF- $\beta$ )

5) Tümör nekroz faktörleri (TNF- $\alpha$ ; TNF- $\beta$ )

6) Interferonlar (IFN- $\alpha$ ; IFN- $\beta$ ; IFN- $\gamma$ )

Sitokinler hücre bölünmesi ve farklılaşmasının kontrolü, hematopoez ve bağışıklık sisteminin regülasyonu, yaraların iyileşmesi, kemik formasyonu ve hücre metabolizmasının değiştirilmesi gibi biyolojik olaylarda rol oynamaktadır. Onların en önemli etkilerinden biri hücre bölünmesi ve farklılaşması üzerindedir. Normal hücreler belli faktörler tarafından gönderilen spesifik sinyaller sonucu bölünür. Bu faktörler büyüme faktörleri ve sitokinlerdir. Büyüme faktörleri hücre bölünmesi üzerinde pozitif etki gösterirken, bazı sitokinlerin hücre bölünmesini engelleyici etkileri bilinmektedir. Belli bir hücrenin yüzeyinde mevcut olan reseptörler, bu hücrenin hangi faktörlere cevap vereceğini belirlerler (11).

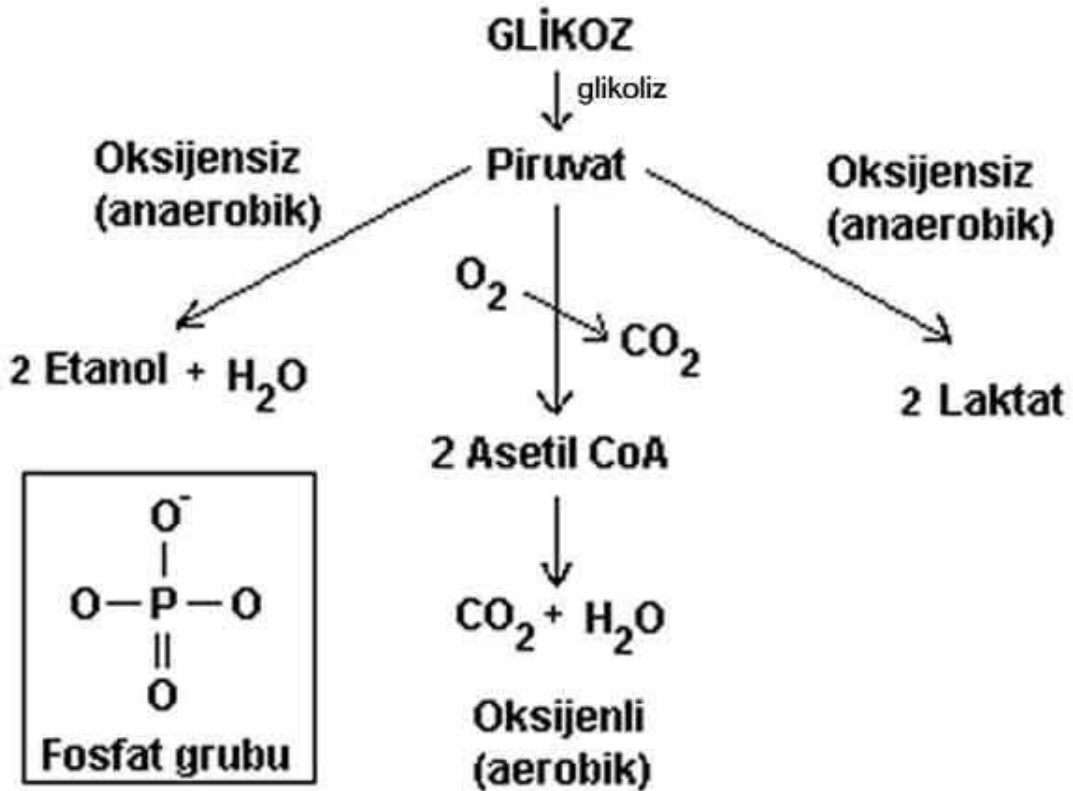
Yapılan çalışmalar çok sayıda hastalığın patogenez veya tedavisinde sitokinlerin rolü bulunduğunu ortaya koymaktadır. Yaşam için vazgeçilmez olan ve organizmanın immün sistemini düzenleyen sitokinlerin vücuttaki düzeyleri, yaşlanmaya bağlı olarak azalmakta ve neticede basit bir enfeksiyondan kansere kadar geniş bir yelpazede birçok hastalığa duyarlı hale gelmektedir (12).

## **2.4. Etil Pirüvat:**

### ***Glikoliz:***

Glikoliz, glikoz'u, (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>), pirüvat'a, (CH<sub>3</sub>COCOOH<sup>-</sup>+H<sup>+</sup>)'a kadar yıkan metabolik yoldur. Bu işlem sırasında oluşan serbest enerji, ATP (adenozin trifosfat) ve NADH (indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit) gibi yüksek enerjili bileşikler oluşturmak üzere kullanılır. Glikoliz, on tepkime ve on ara bileşik (aşamaların birinde iki ara bileşik oluşur) oluşumundan ibaret kesin bir tepkimeler dizisidir. Ara bileşikler, glikolize giriş noktası sağlarlar. Örneğin, glikoz, fruktoz ve galaktoz gibi çoğu monosakkarit; bu ara bileşiklerden birine çevrilebilir. Bunun yanında ara bileşikler doğrudan işe yarar olabilir. Örneğin, ara bileşiklerden dihidroksiaseton fosfat, doğrudan gliserolün yapısında yer aldığından yağları oluşturmada kullanılır (13).

Glikoliz, oksijenli ve oksijensiz solunum yapan hücrelerin stoplazmasında, oksijen kullanılmadan gerçekleşen ortak bir enerji elde etme yoludur. Glikoliz sonucunda verim olarak 2ATP sentezlenir. Bu da glikoz molekülünün bütün enerjisinin ancak % 2 kadarıdır. Gerek oksijenli ve gerekse oksijensiz solunum yapan bütün organizmalarda glikoliz görülür ve hepsinde reaksiyon kademeleri aynıdır. Ancak glikolizden sonraki (pirüvattan sonraki) basamaklarda bazı farklılıklar görülür (Şekil 3). Örneğin, oksijenli ortamda yaşayan hücreler, glikolizin son ürünü olan pirüvatı, Asetil Co-A'ya dönüştürerek "krebs çemberi" denilen reaksiyonlar dizisine sokarak olayı oksijen varlığında mitokondrilerde devam ettirirler. Glikoz molekülü krebs sonunda CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O moleküllerine kadar parçalanır ve oksijenli solunum sonucunda 38 ATP sentezlenmiş olur. Oksijensiz şartlarda ise pirüvat; etil alkol, asetik asit, laktik asit gibi ürünlere dönüşür. Glikoliz, bazı ökaryotik hücrelerin yeterli oksijen bulamadığı zamanlarda, acil ATP üretimi için, hayat kurtarıcı bir rol oynar (14).



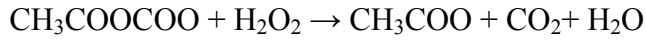
Şekil 3: Glikoliz Sonrası Pirüvat Sentezi

Pirüvik asid ( $\text{CH}_3\text{COCO}(\text{OH})$ ) bir organik asittir. Aynı zamanda bir ketondur ve en basit keto asit olarak bilinir. Karboksilat ( $\text{COOH}$ ) iyonu ve pirüvat ( $\text{CH}_3\text{COCO}(\text{O})$ ) anyonundan oluşur. Pirüvat, pirüvik asidin anyon veya ester olarak adlandırılan tuzudur. Çoğunlukla pirüvik aside eşdeğer anlamda kullanılır. Renksiz bir sıvıdır ve kokusu asetik aside benzer (15).

EP, pirüvik asidin basit alifatik esteridir. Tam adı etil 2-oksopropionat 'dır dır. Formülü  $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_3$ 'dür. Yoğunluğu 1.06, kaynama noktası 144 derecedir. Açık sarı renklidir (16).

Pirüvat sulu çözeltilerde stabil değildir; bu nedenle deneysel çalışmalarda onun etil esteri olan EP kullanılmaktadır. Pirüvat anyonlarına göre esterlerinin etkinliğinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (17).

Pirüvik asit ve EP aktif bir reaktif oksijen metaboliti süpürücüsüdür ( *scavenger* ) .Örneğin; pirüvat için oksidatif dekarboksilasyon reaksiyonu ile bir reaktif oksijen metaboliti olan  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{CO}_2$ ' ye dönüşür.



Pirüvat, Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )'e ek olarak oldukça toksik bir radikal olan hidroksil ( $\text{OH}^\cdot$ ) radikalini de temizleyebilmektedir (18).

EP, nükleer faktör- $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) iletim sistemini de bloke ederek antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterir. Çeşitli uyarılarla ( iskemi, sitokinler, growth faktör vb) uyarılan hücrede sitoplazmik NF- $\kappa\beta$ , hücre çekirdeğine taşınır ve burada çeşitli genlerdeki nükleotidlere bağlanır. Bu faktör doğuşsal ve edinsel bağışıklık, inflamasyon, kemik şekillenmesi ( remodelling) ve kanser patogeneğinde önemlidir (19).

EP, endotoksemi ve sepsis modellerinde TNF- $\alpha$  üretimini azaltarak ve dolaşımdaki high mobility group box kromozomal protein -1 (HMGB-1) düzeylerini düşürerek sağkalıma katkı sağlamaktadır (20).

### ***Nükleer Faktör Kappa Beta (NF-κβ) :***

NF-κβ, B lenfositlerde. Esas olarak Rel ailesinden proteinlerin homo veya heterodimerizasyonu sonucu oluşmuş transkripsiyon faktör ailesidir. (NF- κβ) Kompleksi, hücrede immun ve inflamatuvar olaylarla ilgili hızlı cevap transkripsiyonunda rol oynar. κ (kappa) hafif zincir genini aktive eden bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır. Daha sonra NF-κβ' nin 200 kadar genin transkripsiyonunda rolü olduğu anlaşılmıştır. EP'ın NF- κβ kompleksindeki kritik önemi olan sülfhidril gruplarını bozarak etki ettiği düşünülmektedir. Bu etkiyi özellikle p65 altünitesine bağlanarak gerçekleştirdiği bildirilmektedir (20) . Sitokinlerin esas düzenleyicisidir. İnflamasyon ile ilişkili pek çok aracı molekülün (TNF, IL-6, IL-8, COX-2 ve iNOS) gen transkripsiyonunda önemli rol oynamaktadır. Sitokin, kemokin, hücre adezyon kuvvet molekülleri ve immunoreseptörler ile oluşan etkilerden sorumludur. Allograft reddi, romatoid artrit ve bronşial astma gibi immunolojik kökenli hastalıkların oluşmasına aracılık eder. NF-kB1 ve RelA adlı heterodimerlerden oluşur ve NF-KB/Rel adlı protein ailesinin bir üyesidir. İnaktif formda sitoplazmada IKB adlı inhibitör proteine bağlı bulunur. Hücre yüzeyinden gelen sayısız sinyal ile aktive olur. Aktive olduğunda hücre nükleusuna geçerek hedef gene bağlanır. Aktivasyon süreci her basamağında çeşitli farmakolojik ajanlarca bloke edilebilir. Glukokortikoidler IKB ekspresyonuna yol açarak inhibisyon yaparlar. Siklosporin ve takrolimus yine IKB degradasyonunu indükleyen kalsinörin adlı bir fosfatazi aktive ederek NF- κβ aktivasyonunu önler. Deoksispergualin, nükleer transkripsiyonunu inhibe eder. Aspirin ve salisilatlar IKB fosforilasyonunu indükleyerek inaktivasyona yol açar. Tepoksalin ve antioksidanlar ise hücrenin redoks durumunu etkileyerek kompleksi inhibe eder (21).

### ***High Mobility Group Box Kromozomal Protein 1 (HMGB-1) :***

DNA bağlayan yapısal bir kofaktör olarak tanımlanmıştır. Nonhiston, kromatin ilişkili bir nükleer proteindir. İnflamatuvar uyarı varlığında monosit ve makrofajlardan aktif olarak salgınır. Ekstraselüler HMGB-1 akut ve kronik sistemik inflamasyonda mediyatör olarak rol oynar. Romatoid artrit, sjögen sendromu, dermatomyozit gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda özellikle fokal mononükleer hücre infiltrasyonunun yoğun olduğu tutulan dokularda yüksek miktarda HMGB-1 sitoplazmik ekspresyonu ve ekstraselüler depolanması

gözlenmiştir. Ekstraselüler depolanmanın olduğu alanlarda IL-1 ve TNF- $\alpha$  ko-ekspresyonu da mevcuttur. Böylelikle HMGB-1 ile IL-1 ve TNF- $\alpha$ 'nın kronik inflamasyonda proinflamatuvar bir döngü oluşturdukları düşünülmektedir. HMGB-1 için Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) , Toll Like Receptor (TLR) 2 ve 4 gibi bazı belirli reseptörler mevcuttur. RAGE pek çok DAMP (Damage Associated Molecular Pattern) tarafından aktiflenir. Bunlardan S100 ailesi özellikle İBH'da yükselir ve bu nedenle terapötik bir hedef olabilir (22).

## **2.6. Kolit:**

Kolon mukozasının inflamasyonudur. Çeşitli sebepleri arasında aşağıdakiler bulunmaktadır:

1. İnfeksiyöz Kolit
    - Besin zehirlenmesi yoluyla ( salmonella, shigella, E.Coli) veya parazitler yoluyla (giardia, entameoba)
    - Antibiyotik Tedavisi Sonrası: Clostridium Difficile'ye bağlı Pseudomembranöz enterokolit.
    - Anal kanala bulaş, Herpex Simplex
    - İmmun bozukluğu bulunanlarda (AIDS, kronik hastalıklar): Mantar enfeksiyonuna bağlı ( candida albicans )
  2. Crohn Koliti
  3. Ülseratif Kolit
  4. İskemik Kolit
  5. Mikroskopik ( kollojen, lenfosit) Kolit
  6. Radyasyon Koliti
  7. Müköz Kolit
  8. Alerjik Kolit
  9. Eozinofilik Kolit
- (23).

**Kolit Semptomları:** Karın ağrısı, ishal-kabızlık, şişkinlik, bulantı, kusma, ateş, kanlı dışkılama, kilo kaybı. Semptomlar nedene bağlı olarak ani başlangıç gösterebilir veya aylar yıllar içinde artış gösterebilir.

## **2.7. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (İBH):**

Crohn hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK) relapslar ile seyreden, kaynakları bilinmeyen kronik inflamatuvar hastalıklardır. Bu hastalıklar birçok ortak özelliğe sahip olup, her ikisi birden İBH olarak bilinirler. Bu hastalıklar, genetik olarak duyarlı kişilerde gastrointestinal kanaldaki normal floraya ve bazı karşı gelişen anormal lokal immun cevap nedeniyle oluşurlar. CH, gastrointestinal sistemin özafagustan anüse kadar herhangi bir bölümünü etkileyen, fakat en sık ileumda görülen bir hastalıktır. Vakaların yaklaşık yarısında nonkazeöz granülamatöz inflamasyon görülür. ÜK ise sadece kolonda sınırlı nongranülamatöz bir hastalıktır.

İBH 'nın meydana gelmesinde genetik faktörlerin etkili olduğu konusunda çok az şüphe vardır. Hastalığın, hastaların birinci derece akrabalarında gelişme olasılığı normale göre 3–20 kat fazladır ve İBH hastalarının % 15 'inde birinci derece akrabalarda da hastalığa rastlanır. Altta yatan immunolojik bir problem varlığını destekleyecek bir bulgu olarak hem CH'da hem de ÜK'inspesifik class II major histokompatibilite kompleksi allelleri ile ilişkisi vardır. ÜK, HLA-DRB1 ile ilişkili iken, CH Kuzey Amerikalı beyaz erkeklerde yaklaşık % 30 oranında HLA-DR7 ve DQ4 allelleri saptanmıştır. Son çalışmalarda bu hastalığın HLA dışı genler ile olan ilişkisi üzerinde durulmaktadır. NOD2 adlı genin, bazı etnik popülasyonlardaki CH'larının yaklaşık % 25 'inde mutasyona uğradığı bildirilmektedir. CH ve ÜK ile ilişkili olan diğer bir gen de İL–23 reseptörünün mutant formudur. İL–23, T hücreleri tarafından İL–17 üretimini sağlayan bir sitokindir. İL–17 'nin İBD ve kronik inflamatuvar reaksiyonlarda rolü vardır.

İBH'da etkilenen bölgeler, yani distal ileum ve kalın bağırsak bakteriler ile doludur. Bu hastalıklara mikropların yol açtığına ait herhangi bir kanıt bulunmamakla birlikte, bu mikropların, regülasyonu ileri derecede bozulmuş bir bağışıklık sistemini antijenik olarak etkilediği düşünülmektedir. İnflamasyon İBH patogenezindeki sonuç ortak gelişmedir. Hem İBH'nin klinik özellikleri, hem de morfolojik değişiklikler, başta nötrofiller, daha sonra

lenfositler olmak üzere inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu sonucu ortaya çıkarlar. Bu inflamatuvar hücrelerin ürünleri nonspesifik doku hasarına yol açar. İnflamasyon:

1. Mukozal epitelyal bariyer bütünlüğünün bozulmasına
2. Yüzey epitel hücrelerinin absorbtif fonksiyonunun kaybına yol açar.

Bunlar mukozal bariyerin ve mukozanın absorbtif fonksiyonunun tamamen yok olması ile sonuçlanır. Bu olayların hepsi birden, bu hastalıkların karakteristiği olan aralıklı kanlı ishale neden olur. Tedavi girişimlerinin çoğu, tamamen ya da kısmen bağışıklık sisteminin baskılanarak kontrol altına alınmasına yöneliktir. Tanısal testler içinde en yararlı olanı perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikörlerin saptanmasıdır. Bu ÜK hastalarının % 75'inde, CH olanların % 11 'inde pozitiftir (24).

### ***Ülseratif Kolit:***

ÜK insidansı 8-16/100.000, prevalansı ise 150-50/100.000 civarındadır. Hastalık kalın barsağın tutulum gösteren anatomik bölgesine göre proktit, distal kolit, sol kolon koliti, ilerlemiş kolit (ekstended kolit) ve pankolit olarak sınıflandırılır. Vakaların %30–50 sinde hastalık proktit veya distal kolit şeklinde başlar.

Nadiren terminal ileumda da inflamasyon gelişebilir (backwash ileiti) ve CH'dan ayırırda güçlük yaratabilir. Kanlı ve müküslü ishal, tenezmus ve karın ağrısı en sık görülen belirtilerdir. Distal kolit ve proktitte semptomlar genellikle şiddetli de ildir. ÜK bir klinik tanıdır ve teşhis endoskopik ve histopatolojik inceleme ile doğrulanır. Kolonun inflamasyonla gidebilen infeksiyöz (bakteriyel, viral ve parazitik) ve noninfeksiyöz (Crohn koliti, divertikülit, iskemik kolit, radyasyon koliti, eozinofilik kolit, Behçet hastalığı vb.) hastalıkları ile ayırıcı tanı yapılması gerekebilir. Bazı vakalarda Crohn koliti bulguları saptanabilir ve ayırım güç olabilir (indeterminan kolit). Fulminan koliti olan ÜK' li hastalarda günlük dışkılama sayısı genellikle 10'dan fazladır, rektal kanama ve karında hassasiyet belirgindir, kan transfüzyonu gerektiren bir anemi olabilir ve direkt karın grafisinde kolonda dilatasyon görülebilir. Fulminan kolitin formal bir tanımı olmamakla birlikte yüksek ateş, belirgin kanama, akut faz reaktanlarında aşırı artış ve kilo kaybı olan ÜK' li hastaları tanımlamak için kullanılan bir deyimdir. Bazı hastalarda toksik megakolon bulunabilir.

Tedavide kortikosteroidler, salisilatlar, steroide yanıtız şiddetli koliti olan hastaların %65-70 inde infliximab veya diğeri biyolojik ajanlar (adalimumab, certolizumab pegol vb.)



kullanılabilir. Azathiopürin ve siklosporin gibi immunsupresif ajanlar da ek tedaviler olarak verilebilir.

ÜK'li bir hastada striktüre bağlı obstrüksiyon, malignite veya ileri derecede displazi, tedaviye yeterli cevap vermeyen sistemik komplikasyonların ve tedaviye dirençli ve yaşam kalitesini etkileyen semptomların oluşması, steroide bağımlılık, tıbbi tedaviye intolerans ve hastanın 1.derece akrabasında kolon kanseri varlığı elektif şartlarda cerrahi tedavi endikasyonlarıdır (25).

### ***Crohn Hastalığı:***

CH' da üç tip tutulma vardır. 1- ileum ve çekum tutulması (%40), 2- yalnız ince barsak tutulması (% 30), 3- yalnız kolonun tutulması (% 25). Kolon tutulmalarının 2/3'sinde pankolit mevcuttur. 1/3'i ise segmenter tutulma mevcuttur. Seyrek olarak hastalık proksimal gastrointestinal traktüsü tutar. CH'nın predominant semptomu diyare, karın ağrısı ve kilo kaybıdır. Hastalığa tanı konulmadan önce aylar veya yıllar geçebilir. Ağrı kısmi tıkanmadan ileri gelebilir intermittenttir veya serozal iltihaplanma sonucudur. Genellikle ağrı ve distansiyon, sağ alt kadranda hissedilir. Buna bulantı ve kusma da eşlik edebilir. Malabsorpsiyon ve oral alımının azalması sonucu birçok Crohn hastası % 20'den fazla kilo kaybeder.

Gastroduodenal tutulma, epigastrik ağrı, bulantı veya kusmaya sebep olur ki striktür ve obstrüksiyondan ileri gelir. Hastalık aktif olduğu zaman, hasta kronik olarak hasta görünür. Solukluk, temporal ve interossöz erime, karında hassasiyet, karında dolgunluk hissi, kalınlaşmış barsak looplarına, mezenter kalınlaşmasına veya apseye bağlı kitle bulgusu saptanır.

CH aktivasyon ve remisyona seyrederek. Hastaların % 20'si tedavisiz remisyona girer. Remisyonda kalma süresi hastaların % 50'sinde 2 yıldır. Hastaların % 60'ında 10 yıl içinde cerrahi tedaviye gerek duyulur. Cerrahi rezeksiyona tabi tutulan hastaların % 45'i sonuçta yine cerrahi tedaviye gerek duyar. CH önemli disabiliteye sebep olur. Hastaların % 50'si önemli iş kaybına veya işlerini değiştirme zorunda kalır. CH sıklıkla gastrointestinal komplikasyonlara sebep olur. Apse ve fistüller mukoza çatlaklarının barsak duvarından ekstraintestinal dokuya genişlemesi sonucu olur. Fistül enteroenterik, enterokutan, enterovezikal, enterovaginal olarak oluşabilir. Özellikle ince barsakta mukoza kalınlaşması, adele hipertrofisi ve nedbe veya

yapışıklık dolayısı ile obstrüksiyon oluşur. Perianal komplikasyonlar, ülser, apse ve fistüldür ve bazen kasıkta, vulvada, skrotumda görülür. Bütün bu komplikasyonları tedavi etmek zordur. Fistül serozal ve müköz materyal içerir. Perianal apse ise, ateş, kızarıklık, endurasyon ve ağrıya sebep olur. Bu belirtiler defekasyon, oturma ve yürüme ile artar. CH'nda cerrahi medikal tedaviye yanıtızsızlık durumlarında komplikasyonların giderilmesine yöneliktir (26).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### ***3.1.Araştırmanın Tipi:***

Sıçanlarda asetik asit ile oluşturulan kolit modelinde EP adlı ajanın etkilerinin araştırıldığı deneysel bir çalışmadır.

#### ***3.2.Araştırmanın Yeri:***

Deneysel işlemler, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında Mart 2010 'da gerçekleştirildi. Örnekler DEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Abd 'da ve Araştırma Laboratuvarında (ARLAB) incelendi.

#### ***3.3.Araştırmanın Evreni ve Örnelemi:***

Bu çalışma deney hayvanlarında yapılmıştır. İnflamatuar bağırsak hastalıklarındakine benzer bir kolit modeli oluşturmak için örneklem olarak Wistar albino sıçanlar kullanıldı.

### **3.4.Çalışma Materyali:**

**Hayvanlar:** Bu çalışmada 17 adet erişkin Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. DEÜ Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen hayvanlar standart çevre (oda ısı;20-21 C, nem % 50-55) ve kafeslerde, pelet yem ve su ile ad libitum olarak beslendi. Sıçanlara 12 saat gündüz ve 12 saat gece olacak şekilde fotoperiyod uygulandı. Hayvanların barındırılması ve deneysel çalışma aynı birimde yapılmıştır. Bu çalışma DEÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan onay aldıktan sonra başlamıştır (Sayı No: 77, Tarih: 13.06.2008 ),

**Ön Çalışma:** Deneysel çalışmaya başlamadan önce 4 sıçanda bir ön çalışma planlandı. Ön çalışmada yetiştirmede sorun çıkmış ve deneylere verilemeyecek olan 4 adet sıçan kullanıldı. Anestezi sonrası,2 hayvana 2 mm çapında plastik ve esnek bir kanül yardımı ile anüs girişinden 8 cm ilerlenerek asetik asit verildi. Öncelikle % 4'lük asetik asit solüsyonu uygulandı; ancak yeterli kolit oluşumu histopatolojik olarak gözlenmeyince %6'luk asetik asit diğer iki sıçana intrarektal olarak aynı yöntemle verildi ve kolit oluşumu histopatolojik olarak gözlendi. Böylelikle çalışmamızda kolit modeli oluşturacak aracı madde % 6'luk asetik asit olarak belirlendi (27).

**Gruplar :** Gruplar şu şekilde oluşturuldu:

**1.Sham(n=3) :** Bu grup hayvanlarda kolit modeli oluşturulmadı. Rektuma instilasyon ile % 0,9'luk NaCl içeren fizyolojik serum (SF) verildi. Herhangi bir tedavi protokolü uygulanmadı.

**2.Kolit+SF grubun(n=7) :** Bu grup hayvanlarda kolit modeli oluşturuldu. 7 gün boyunca her gün SF uyguladı.

**3.Kolit+EP Grubu(n=7) :** Bu grup hayvanlarda kolit modeli oluşturuldu. 7 gün boyunca her gün EP uygulandı.

**Kolit Modelinin Oluşturulması:** Sıçanlar 12 saat aç bırakıldıktan sonra deney günü intraperitoneal yoldan ketamin (35 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) kombinasyonu verilerek anestezi edildi (şekil 3). Daha sonra distal kolit modeli % 6 'lık asetik asit'in 2 ml olarak instilasyonu ile oluşturuldu (27).

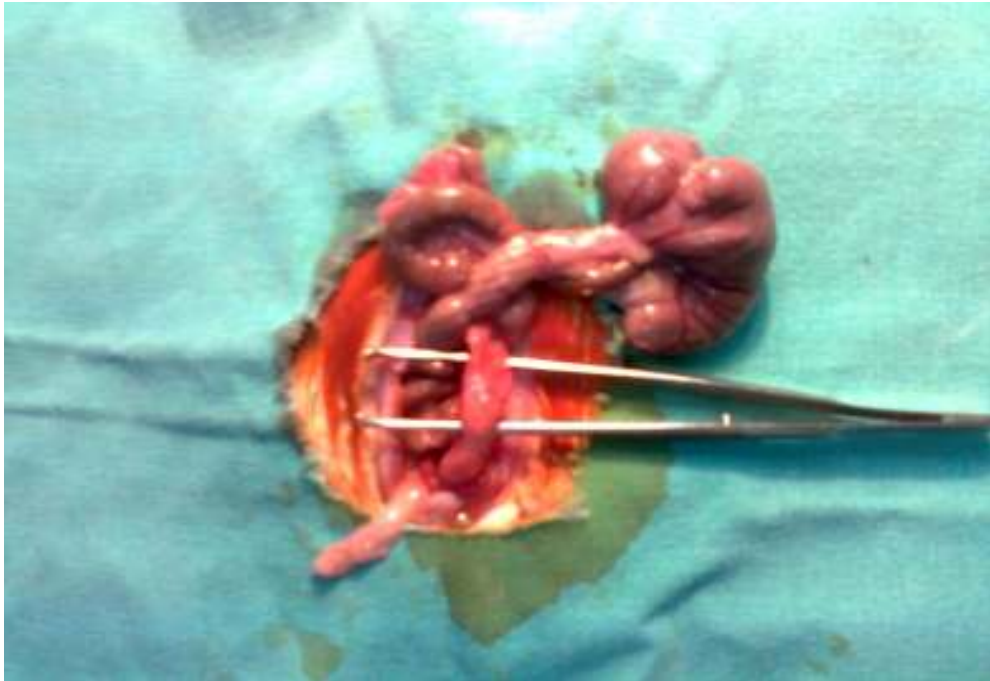
Uchiyama ve arkadaşları barsak iskemisi reperfüzyon hasarında EP'nin 50 mg /kg dozunun doku hasarını azalttığını göstermiştir (28) . Biz de çalışmamızda EP'nin dozunu 50 mg/kg olarak belirledik. EP grubundaki sıçanlara kolit modelinin oluşturulduğu günden itibaren 7 gün boyunca subkutan (SC ) olarak 50 mg/kg dozunda EP verildi. SF grubunda ise aynı hacimde SF yine SC olarak uygulandı.

### ***3.5.Araştırmanın Değişkenleri:***

EP uygulaması bağımsız; biyokimyasal (MDA değerleri) ve histopatolojik bulgular bağımlı değişkenler olarak değerlendirildi.

### ***3.6.Verilerin Toplanma Araçları:***

Yedinci günün sonunda tüm gruplardaki hayvanlar sakrifiye edildi ve batinları açılarak (Şekil 4) distal kolon rezeksiyonu (8 cm) uygulandı (29). Çıkarılan kolonun 2 cm'lik segmenti histopatolojik inceleme olarak diğer 6 cm'lik kolonik doku ise biyokimyasal olarak incelendi.



***Şekil 4:*** Batın açıldıktan sonra distal kolon segmentinin görünüşü

## ***Histopatolojik İnceleme:***

### ***Işık Mikroskopik Doku Takip Protokolü:***

Deney hayvanlarından alınan dokular 48 saat %10'luk formaldehit ile tespit edildi. Fiksatifin uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandıktan sonra dehidratasyon amacıyla 20'şer dakika %70'den %95'e artan etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından 20'şer dakika 4 değişim aseton solüsyonlarından geçirildikten sonra 2 değişim 30'ar dakika ksilolde tutuldu. 60°C'lik etüv içerisinde 2 değişim parafin uygulanıp 1'er saat parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü. Parafin bloklardan inceleme yapmak amacıyla mikrotom aracılığı ile 5 µm'lik kesitler alındı.

***Tablo 1:*** Işık Mikroskopik Doku Takip Protokolü

İşlem	Madde	Süre
Tespit	%10 formalin,	24 saat-48 saat
Fiksatifin uzaklaştırılması	Akar su	1 gece
Dehidratasyon	% 70 etil alkol	20 dk
	% 80 etil alkol	20 dk
	% 95 etil alkol	20 dk
	Aseton (4 değişim)	20 dk
Şeffaflaştırma	Ksilol	30 dk
	Ksilol	30 dk
Emdirme %60 C etüv	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
Gömme	Parafin	

## ***Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü***

Mikrotom (Leica, RM 2255) aracılığı ile alınan 5µ'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 20'ar dakika üç değişim ksilole tabi tutuldu. Ardından dehidratasyon işlemi için %95'den %70'e azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 10 dakika akarsu altında yıkandı. 10 dakika hematoksilen (Surgipath, 01562E, Bretton, Cambridgeshire) ile boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika eozin (Surgipath, 01602, Canada) boyası ile boyandı. Ardından sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilolde tutulduktan sonra entellan (Merck 1.07961.0100, Darmstadt, Almanya) ile kapatıldı.

Mikroskopik olarak histolojik preperatlardaki inflamasyon değerlendirildi. İnflamasyonun değerlendirilmesinde oluşturulan skorlama sistemi:

- 0: İnflamasyon yok
- 1: Mukozal ve submukozal veya transmural lenfosit/nötrofil artışı
- 2: Mukozal lenfosit artışı, nötrofil artışı
- 3: Cript, erozyon, ülser ve mukozal rejenerasyon olarak belirlendi (30).

Histolojik değerlendirme her denek için gruplardan habersiz iki histolog tarafından x100 büyütmede 10 alanda yapıldı.

## ***Biyokimyasal İnceleme:***

### ***MDA Analizi***

### ***Örneklerin Hazırlanması***

0,1 mg doku tartıldı. Homojenat hazırlığı için sıvı nitrojen altında doku pulverizasyonu yapıldı. Örnekler 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve ağırlıklarının

10 katı hacminde (1 ml) ekstraksiyon ortamı ( 0,5 mmol/L PMSF, 10 µg/mL aprotinin içeren 50 mM Tris-HCl pH 7,8) eklendi ve buz üzerinde 10 saniye sonikatör ile homojenize edildi.

Homojenatlar 2500 rpm de 15 dak. 4 °C’de santrifüj edildikten sonra supernatantlar alındı ve analiz süresine kadar –80 °C de saklandı.

### ***Örneklerin ekstraksiyonu***

Reaksiyon cam ve kapaklı tüplerde, sırasıyla 100 µL saf su, 40 µL doku homojenatı, 20 µL BHT (2,8 mmol/L, etanolde), 40 µL SDS (%8,1) ve 600 µL TBA (8 g/L, hafif ısıtılarak çözüldükten sonra, 1:1 oranında 200 mL/L asetik asitle karıştırıldı ve pH 2 M NaOH kullanılarak 3.5’e ayarlandı). Reaksiyon karışımı 95 °C’de 60 dakika tutuldu ve buz üzerinde soğutuldu. Soğutulan örnekler 200 µL saf su, 1 mL piridin-butanol (1.15) karışımı eklendi. Tüpler 1 dakika vortekslenerek ekstraksiyon süresi sabitlendi. Organik fazlar ependorf tüplerine alınarak, 15,000 rpm’de 4 °C’de 10 dakika santrifüj edildi. Supernatantlar HPLC cihazının örnek kaplarına aktarıldı. 10’ ar dakika ara ile enjeksiyon yapıldı (1, 2). Doku MDA değerleri mg protein başına milimol MDA (milimol MDA/mg protein) olarak ifade edildi (31).

### ***Standart grafiklerinin hazırlanması***

Standart olarak 1.1.3.3-tetraetoksi propan kullanıldı. 5, 10, 20, 40 ve 50 µmol/L konsantrasyonlarında beş farklı duplike standart hazırlandı. Tüm standartlara, örnekler uygulanan işlemlerin aynısı uygulandı. Her duplike standartın ortalaması alınarak “konsantrasyona karşı alan” standart eğrisi oluşturuldu. Doku örneklerindeki MDA seviyesi, standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplandı.

### ***HPLC cihazının konfigürasyonu***

Analizler Shimadzu- VP serisi HPLC sistemi ile yapıldı. Cihaz, LC-10ADVP (pompa), SCL 10AVP (sistem kontrol ünitesi), RF-10AXL (Floresan detektör), SPD-10AVP (UV-VIS detektör), SIL-10ADVP (oto enjektör), CTO-10ASVP (kolon fırını), FCV-

10AVP (gradient başlık) bileşenlerinden oluşmaktaydı. HPLC sistemine sırasıyla UV ve floresan detektör seri olarak bağlandı(32).

### ***Kolon özellikleri ve cihaz ayarları***

150–4,6 mm, C18 100–5 (Macherey-Nagel) özelliklere sahip kolonda mobil faz olarak 10 mM, %30 metanol içeren fosfat tampon (pH 7) kullanıldı. Tampon, 0,20 µm filtrelerden geçirilerek süzüldü ve en fazla iki gün kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 0,8 mL/dakika, enjeksiyon hacmi 5 µL, kolon fırını sıcaklığı 30 °C idi. Ultraviyole detektörün dalga boyu 532 nm'ye, floresan detektörün eksitasyon dalga boyu 515 nm ye, emisyon dalga boyu ise 553 nm'ye ayarlandı.

### ***Standart grafiklerinin hazırlanması***

Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksi propan kullanıldı. 5, 10, 20, 40 ve 50 µmol/L konsantrasyonlarında beş farklı duplike standart hazırlandı. Tüm standartlara, örneklere uygulanan işlemlerin aynısı uygulandı. Her duplike standartın ortalaması alınarak “konsantrasyona karşı alan” standart eğrisi oluşturuldu. Doku örneklerindeki MDA seviyesi, oluşturulan standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplandı.

### ***Protein analizi***

Örneklerin protein konantrasyonları, BCA (Bicinchoninic Acid) yöntemi ile belirlendi. Yöntemin temeli, alkali ortamda  $Cu^{+2}$ -protein kompleksi oluşumuna ve  $Cu^{+2}$ 'nin  $Cu^{+1}$ 'e indirgenmesine dayanmaktadır. Oluşan renk oluşumu 562 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirildi (33). Standart protein olarak sığır serum albumin (BSA) kullanıldı. Standart ve örneklerden 25'er µl kuyucuklara eklendi. Tüm kuyucuklara 200 µl BCA ve %4'lük Bakır 2 Sülfat Pentahidrat solüsyonlarının sırasıyla 1.50 oranında karıştırılmasıyla hazırlanan analiz solüsyonundan ilave edildi. 37°C'de 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve 562 nm'de multiplak okuyucuda (BioTek, Synergy marka) okundu. Standart kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak protein miktarları hesaplandı (33).



### ***3.7. Araştırma Planı ve Takvimi:***

Araştırmanın hazırlıklarına 2007 yılında başlandı. Konuyla ilgili araştırma yapılarak hipotez ve araştırma planı oluşturuldu.

↓

2008 yılında Etik Kurul onayına başvuruldu ve onay alındı.

↓

Mayıs 2009'da bir ön çalışma ile modelin oluşturulabilirliği gerçekleştirildi.

↓

Mart 2010'da deneysel çalışma gerçekleştirildi.

↓

Histopatolojik ve biyokimyasal verilerin analizleri ile Haziran 2010'da tezin yazılımına başlandı.

### ***3.8. Verilerin Değerlendirilmesi:***

Kolon segmentleri histopatolojik ve biyokimyasal olarak incelendi. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplardaki hayvanların ağırlık değerleri, kolonik incelemelerdeki histopatolojik skorların ve MDA değerlerinin ortalamaları alındı ve standart sapmaları hesaplandı ( $\bar{x} \pm \text{standart sapma}$ ). Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda nonparametrik bir test olan Mann Whitney U testi kullanıldı.

### ***3.9. Araştırmanın sınırlılıkları:***

Araştırma dahilinde daha ayrıntılı oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt parametreleri incelenebilirdi. Ancak maliyetlerinin yüksek oluşu ve yüksek teknik donanım gerektirmesi bu parametrelerin ölçümlerini kısıtlamıştır.

### ***3.10. Etik Kurul Onay Belgesi:***

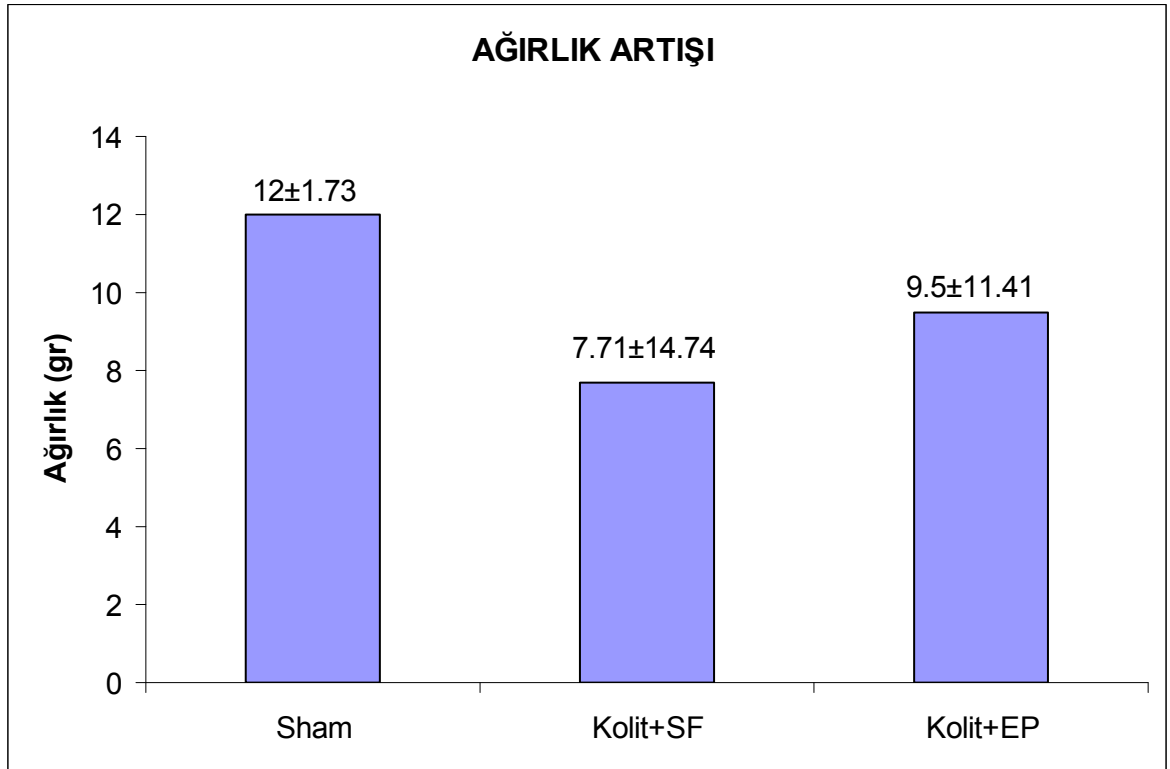
Çalışma, 13 Haziran 2008 tarih ve 77 sayılı yazıyla Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun onayı alınarak yapılmıştır. Çalışma protokolü 62/2008'dir.

## **4. BULGULAR**

### **4.1. Sıçanlarda Ağırlık Değişimleri:**

Çalışma sırasında hayvanların ağırlık değişimleri incelendi ve ağırlıklar 1., 4. ve 7. gün ölçüldü. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulunmadı ( $p>0.05$ ), ancak kolit grubu ile karşılaştırıldığında EP uygulanan grupta ağırlık artışı gözlenmektedir. Gruplardaki ağırlık değişimleri Şekil 5’de sunulmuştur

İlk 3 gün sıçanlarda kolit oluşumuna bağlı diyare gözlemlendi. Diyare SF grubunda daha belirgindi (dışkılama sayısı daha fazlaydı ve daha sulu kıvamda dışkı mevcuttu) .



**Şekil 5:** Sıçanların Ağırlık Değişimleri. Ağırlıklar gram cinsinden verilmiş olup, veriler  $x \pm$  standart sapma (SD) olarak verilmiştir.

Kolit modeli oluşturulan gruplarda (EP ve SF) 3. günün sonunda ortalama olarak ağırlıklar azaldı. 4. günden itibaren EP ve SF gruplarında ortalama ağırlıklar arttı ve 7. gün başlangıçtaki ağırlıklarının üzerine çıktı. EP grubunda ağırlık artışı ortalama olarak SF grubundan fazlaydı. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. ( $p=0,987, p>0,05$ ).

#### **4.2. Histopatolojik Bulgular:**

Makroskopik olarak distal kolon segmentleri çıkarılan sıçanların kolonik mukozalarına bakıldığında kolit oluşturulmayan sham grubuna göre kolit grubunda mukozal ülserasyonlar gözlemlendi (Şekil 6 ve 7).

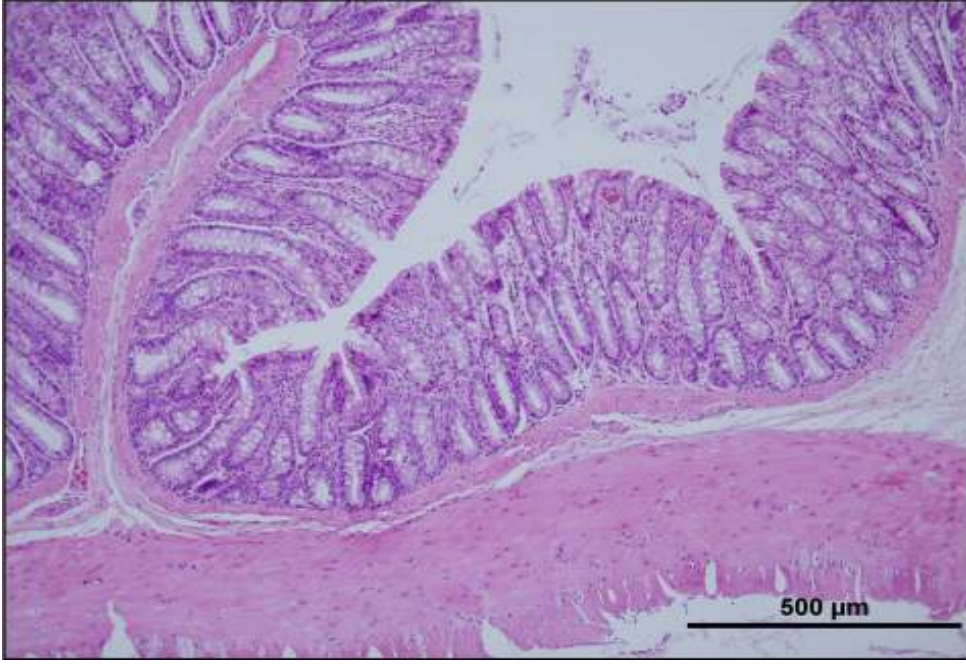


**Şekil 6:** Sıçanlardan çıkarılan distal kolon segmentinde mukoza olağan (Sham Grubu)

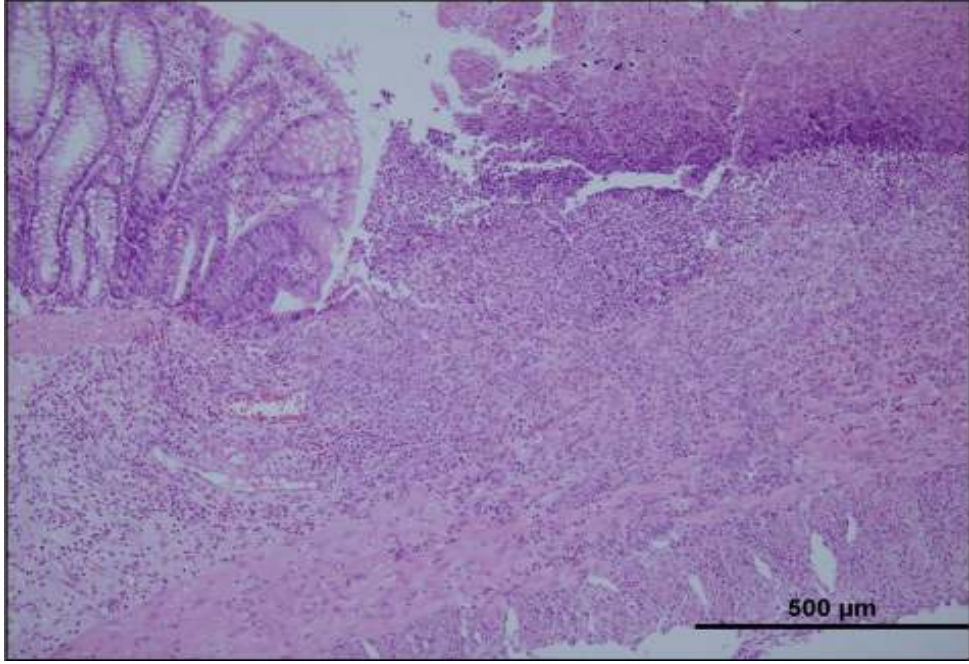


**Şekil 7:** Sıçanlardan çıkarılan distal kolon segmenti mukozal ülserasyonlar mevcut (Kolit +SF Grubu)

*Mikroskopik olarak* skorlama sonuçları Şekil 11’de gösterildiği gibi bulundu. Sham grubu hasarsız olarak gözlenirken (Şekil 8), SF grubunda mukozal, submukozal ve transmural lenfosit/nötrofil artışının yanı sıra epitel kaybı, ülserasyonlar gözlemlendi (Şekil 9). EP grubunda mukozal ve submukozal lenfosit/nötrofil artışının yanı sıra daha az epitel kaybı ve ülser gözlemlendi (Şekil 10).



**Şekil 8:** *Sham Grubu.* Mukozal hasar gözlenmedi. Normal görünümde.

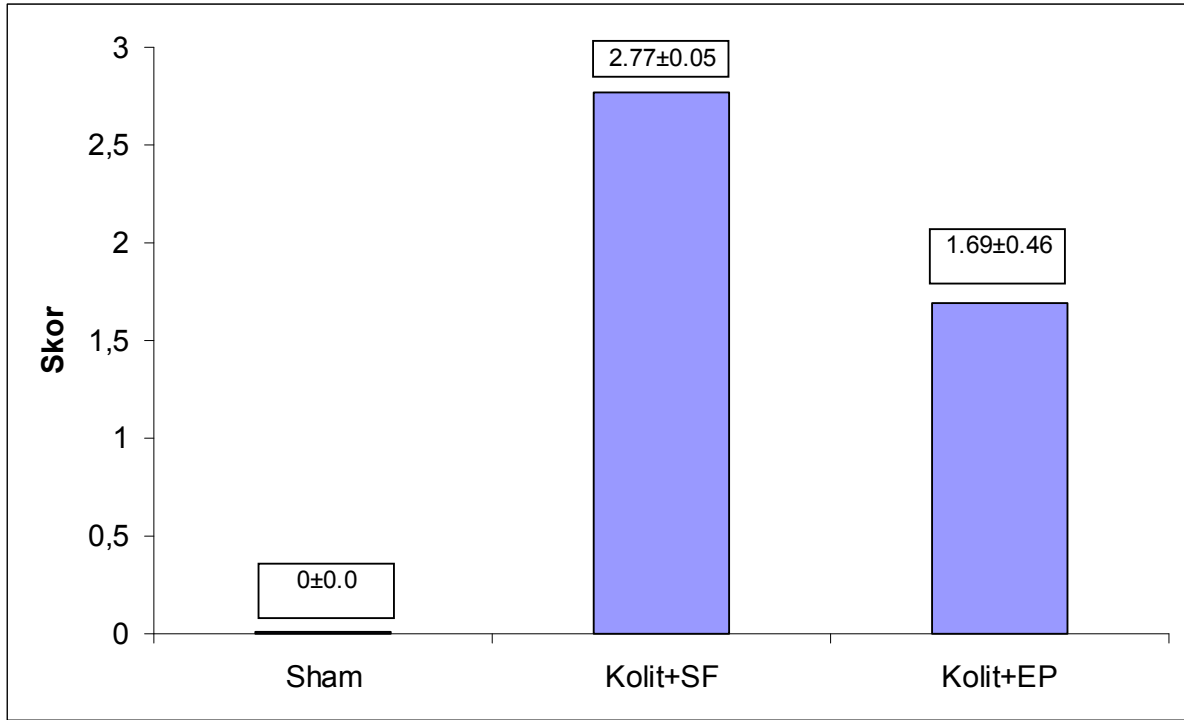


**Şekil 9:** *Kolit+SF Grubu.* Ödem ve inflamatuvar hücre, artmış damar konjesyonu, transmural inflamasyon izlenmekte. Ayrıca, epitel kaybı mevcut.



**Şekil 10:** *Kolit+EP Grubu.* ödem ve inflamatuvar hücreler gözlenmekte, genişlemiş lamina propria bezleri mevcut.

Histolojik olarak değerlendirmeler yukarıdaki skorlama sistemine göre “0-1-2-3” arasında yapıldı. Histolojik skorlamaların ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı (şekil 11). Histopatolojik olarak kolit oluştugu gözlendi ve bu bulgular skorlama sonuçları ile desteklendi. Skorlamaya göre; Sham grubu ile karşılaştırıldığında Kolit+SF grubunda skorlamanın yüksek olduğu, EP uygulanan grupta ise SF grubuna göre daha düşük olduğu bulundu ( $p=0,002$ ,  $p<0,005$ ).



**Şekil 11:** Histopatolojik Skorlama. Grupların histolojik skorları  $x \pm$  standart sapma olarak sunulmuştur.

0: İnflamasyon yok,

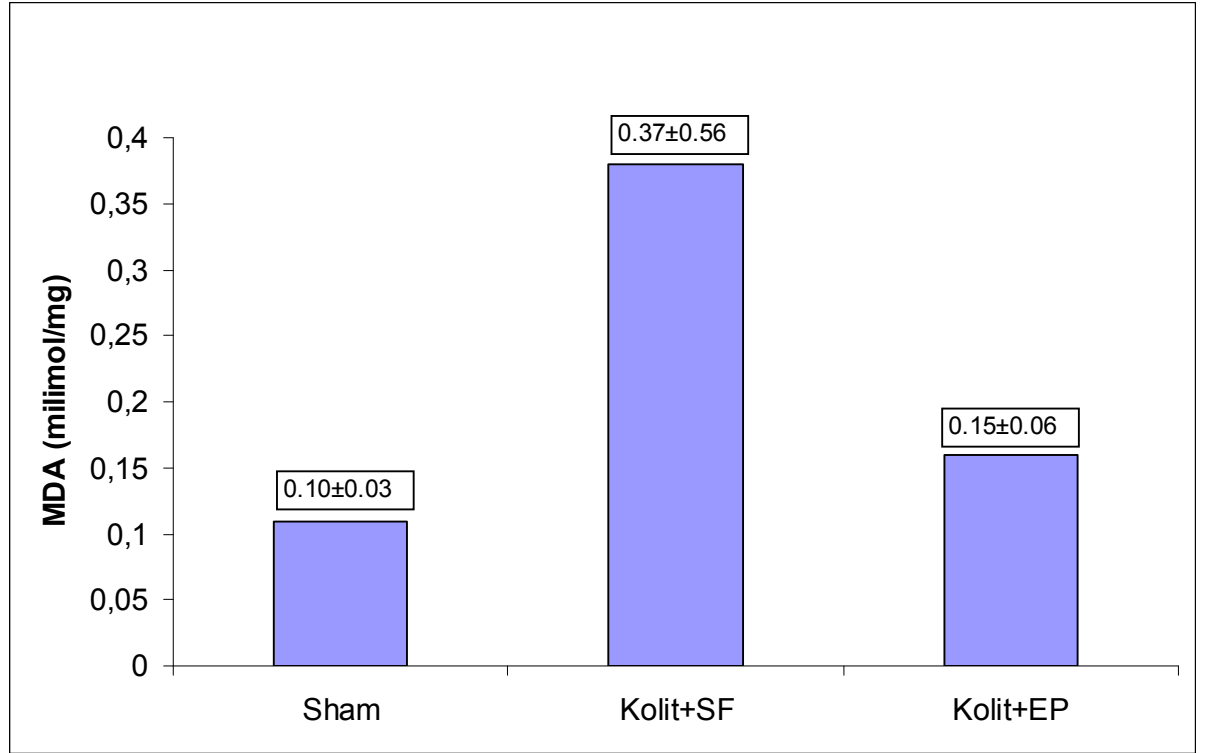
1: Mukozal ve submukozal veya transmural lenfosit/nötrofil artışı

2: Mukozal lenfosit artışı, nötrofil artışı,

3: Cript, erozyon, ülser ve mukozal rejenerasyon

### 4.3. Biyokimyasal Bulgular

Gruplarda oksidatif stresi değerlendirme amacıyla yapılan MDA ölçümlerinde Sham Grubuna göre SF ve EP grubunun ortalama MDA değerleri daha yüksek olarak bulundu (Şekil 12). MDA değerleri EP grubunda SF grubuna göre daha düşük olmasına rağmen anlamlı bulunmadı ( $p=0,655$ ,  $p>0,05$ ). Bu da oksidatif stresin EP grubunda SF grubuna göre daha az olduğu lehine yorumlanabilir.



Şekil 12: Malondialdehit (MDA) Değerleri: Gruplardaki MDA değerleri  $x \pm$  standart sapma olarak sunulmuştur.

## **5. TARTIŞMA**

Crohn hastalığı, ülseratif kolit ve indeterinant kolit inflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Genellikle genç yaşlarda başlangıç gösterirler ve batılı toplumlarda sıklıkları artmaktadır. Etiyolojileri hala tam olarak aydınlatılamamış olmalarına rağmen bazı patolojik mekanizmalar, gen araştırmaları ile etkilenen genlerin belirlenmesi ve bazı ender çevresel faktörlerin ortaya konulması ile şekil kazanmaya başlamıştır. Bu hastalıklar alevlenme ve remisyon periyodları ile seyretmektedir. Aminosalisilatlar, kortikosteroidler (budesonid dahil), immunsupresif ajanlar ve anti TNF- $\alpha$  ilaçlar (infliximab, adalimumab) bu hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlardır(34). Son senelerde sitokinlerin patogenezdaki rolü ortaya konuldukça anti adezyon molekülleri , anti-IL-12/23 , anti-IL-6 R gibi ajanlar tedaviye girmektedir(35). Cerrahi tedavi komplikasyon gelişiminde ve medikal tedaviye yanıtızsızlık durumunda endikedir(34). Biz çalışmamızda, EP adlı ajanın deneysel olarak oluşturulan kolit modelinde oluşan hasarı azaltacak yönde etki edebileceğini düşündük. Böylelikle İBH tedavisine yararlı olabileceğini öngördük.

Son yıllarda inflamasyon ve tümör gelişimi arasında genetik, farmakolojik ve epidemiyolojik verilerin desteği ile bağlantılar kurulmaktadır. İnflamasyon, herediter kanserlerin yanında sporadik vakalarda da kanserogenezi de rol oynadığı görülmektedir(36). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında da proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki hassas dengenin bozulmasıyla bağırsaktaki mukozal immunitenin bozulduğu görülmektedir. TNF'yi, lökosit adezyonunu, Th1 polarizasyonunu, T hücre aktivasyonunu ve NF- $\kappa$ B'yi hedef alan immünobiyolojik tedaviler bu nedenle giderek önem kazanmaktadır(37).

Nükleer faktör kapa beta(NF- $\kappa$ B), çeşitli fizyolojik fonksiyonları bulunan transkripsiyon faktör ailesini tanımlayan bir terimdir. Rel A (p65), c-Rel, Rel B, p50, p52 gibi Rel proteinlerinin dimerizasyonundan oluşmuştur(38). Hemen hemen tüm hayvan hücrelerinde bulunur. bcl-2, bcl-xl, cIAP, survivin, TRAF, COX-2, MMP-9, iNOS ve hücre siklusu regülatuar komponentleri gibi pek çok genin ekspresyonunu düzenlemektedir; böylelikle stres, sitokinler, serbest radikaller, radyasyon, okside LDL ve mikrobik ajanlar gibi pek çok etkene yanıtını belirlemektedir. NF- $\kappa$ B'nin regülasyon bozuklukları inflamatuvar ve otoimmün hastalıklar, septik şok, viral enfeksiyonlar ve immün sistem bozukluklarına yol



açmaktadır. Pek çok karsinojenin NF- $\kappa$ B'yi aktive ettiği ve NF- $\kappa$ B'nin kanser kemoprevensiyonunda önemli bir hedef olduğu belirtilmektedir. (39). Örneğin, Hassan SB ve ark.(40) çalışmalarında Alfa Terbineol adlı ajanın IL-1 beta ve IL1R1 gibi NF- $\kappa$ B bağımlı gen ekspresyonunu doza bağımlı olarak azaltarak tümör gelişimini engelleyebileceğini göstermişlerdir. Benzer şekilde, Jutooru U ve ark.(41) zerdeçal (safran kökü, zerdeçöp) olarak bilinen curcumin'in antikanser etkisini araştırmışlar ve Panc28 and L3.6pL pankreatik kanser hücrelerinde curcuminin tümör gelişimini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Curcumin, NF- $\kappa$ B'nin p50 ve p65 subunitlerine bağlanarak ve Sp1, Sp2 ve Sp4 gibi pankreatik kanserlerde over ekspresyon gösteren Sp transkripsiyon faktörlerine baskılayarak etki göstermektedir. EP gibi antiinflamatuvar ajanlarla yapılan inflamatuvar yanıtı baskılama kolit şiddetini azaltacağı gibi uzun vadede İBH 'a bağlı kanser oluşumunu engellemede de yararlı olabilir.

Kanser çalışmaları dışında da NF- $\kappa$ B yi hedef alan araştırmalar mevcuttur. Şahin K ve ark.(42) sisplatin aracılı nefrotoksisitede Epigallocatechin-3-gallate 'ın antiinflamatuvar etkisini Nrf2/HO-1 sinyal yolunu ve böylelikle NF- $\kappa$ B yolağını bloke ederek gösterdiğini ve bu ajanın sisplatin aracılı nefrotoksisiteyi anlamlı şekilde azalttığını ortaya koymuşlardır. Ökseotu ekstresinin kullanıldığı bir çalışmada ökseotunun bizim çalışmamızdaki etil pirüvata benzer şekilde hem serbest oksijen radikal temizleyici hem de NF- $\kappa$ B'yi bloke ederek antiinflamatuvar etki ile renal parankim hücrelerinde koruyucu etki gösterdiği belirtilmektedir(43). Farelerde Ovalbumine inhalasyonu ile uyarılan alerjik asthma patogenezinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunun adaptiv immün yanıtı kritik etkisi olduğu gösterilmiştir(44). Pulmoner fibrozise yol açan mürin herpesvirus 68 ile enfekte edilen farelerde NF- $\kappa$ B inhibisyonu fibrozisi azaltmıştır (45). Vitamin D reseptörlerinin (VDR) intestinal enflamasyonda kritik rolü olduğunu gösteren başka bir çalışmada bakteri aracılı NF- $\kappa$ B aktivasyonunun , NF- $\kappa$ B p65 ile kompleks yapan VDR vasıtasıyla azaltıldığı ve bu nedenle VDR ' nin intestinal homeostazda ve bakteriyel invazyon ve infeksiyonda önemli bir koruyucu olduğu belirtilmektedir(46). Hiperlipideminin kohlea üzerindeki etkileri araştırılmış ve yüksek lipid diyetiyle beslenen fare kohlealarındaki NF- $\kappa$ B p65 aktivasyonu yüksek bulunmuştur. Hiperlipideminin NF- $\kappa$ B p65 aracılı olarak az işitmeyi tetikleyebileceği gösterilmiştir(47). Parthenolide and Magnolol adlı NF- $\kappa$ B inhibitörleri ultraviyole (UV) ışığa bağlı cilt hasarını azaltmada etkili bulunmuşlardır (48). Akciğer iskemi ve reperfüzyon modelinde, reperfüzyonun erken döneminde NF- $\kappa$ B'nin aktive olduğu ve hirudin ile trombin, takrolimus ile kalsinörin oluşumunun engellenmesi sonucunda NF- $\kappa$ B ve aktivatör protein-1

aktivasyonunun engellenerek reperfüzyon hasarının önlenebileceği bildirilmektedir(49). Denosumab adlı monoklonal antikorlar, receptor activated nuclear factor kappa B (RANKL) inhibisyonu ile osteoporoz tedavisinde yeni tedavi modaliteleri olarak geliştirilmişlerdir (50). Ayrıca RANKL inhibisyonunun kemik metastazlarının tedavisinde etkili olduğu bildirilmektedir (51).

Pirüvat, önemli bir metabolik ara üründür ve reaktif oksijen radikallerinin ve hidrojen peroksidin önemli bir süpürücüsüdür. NF- $\kappa$ B inhibisyonu ile antiinflamatuvar etki gösterir. Pirüvatın sulu çözeltilerde anstabil olması nedeniyle alifatik esteri olan EP pek çok çalışmada kullanılmış ve etkinliği kanıtlanmıştır(52). Yang ve ark.(53) çalışmalarında hemorajik şok modelinde EP tedavisi proinflamatuvar transkripsiyon faktörü, NF- $\kappa$ B , NO Sentetaz , Siklooksijenaz-2 (COX-2), IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerini karaciğer , kolon ve ince bağırsak dokusunda azaltmıştır. Cai B ve ark(54) çalışmalarında sepsis ve hemoraji modellerinde TNF ve HMGB-1 gibi proinflamatuvar mediatörleri bloke eden EP'ın surviye katkıda bulunduğu belirtilmektedir. İndolamin 2,3 – deoksijenaz ( IDO), pek çok tümör gelişimine yol açan anahtar enzimlerden biridir. Muller AJ ve ark (55), EP'ın NF- $\kappa$ B yanında IDO ' ı da invitro ve invivo olarak bloke ederek tümör gelişimini engelleyebildiğini göstermişlerdir. Benzer etki EP analogu asetamidoasrilat kullanımı ile de gözlenmiştir. Ratlarda yapılan bir başka çalışmada supraçöliak kompresyon ile iskemi reperfüzyon uygulanmış ve EP ve diğer alfa keto karboksilik asit derivelerinin etkinlikleri araştırılmış ve ringer laktat kullanan gruplara göre hasarı anlamlı derecede azalttığı gözlenmiştir (56). Postiskemik beyin hasarını doza bağımlı olarak azalttığı bildirilmiştir. Aspirin ile beraber kullanıldıklarında sinerjetik etki ile postiskemik infarktı daha da azaltmakta ve nöroprotektif etki göstermektedir(57). Johansson AS ve ark (58) çalışmasında EP, pulmoner epitelyal hücrelerde IL-8, G- CSF gibi sitokinleri ve ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adheziv moleküllerini azaltarak nötrofil aktivasyonunu ve nötrofillerin epitelyal hücrelere tutunmasını engellediğini gözlemlemişlerdir. Böylelikle akut pulmoner patolojilerin tedavisinde önemli bir yer tutabilir. EP, Murin lenslerinde oksidatif stresi azaltarak katarak oluşumunu azaltabilir (59). Radyasyona maruz bırakılan zebra balığı embriyolarında EP'ın da bulunduğu NF- $\kappa$ B inhibitörlerinin radyasyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (60). Murin'de ekstrahepatik kolestaz modelinde ringer etil pirüvat (REP) solüsyonu uygulanmış, rat ileumundaki intestinal permeabiliteyi ve apoptozisi önemli derece azalttığı; IL-6, TNF- $\alpha$ , MDA, MPO gibi inflamasyon indikatörlerini ileal dokularda yine önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (61). EP, şiddetli akut pankreatit oluşturulan farelerde

hepatik doku örneklerinde hasarı anlamlı şekilde azaltmıştır(62). Huang LF ve ark.(63) çalışmasında HMGB -1 'in T hücre aracılı immun yanıtındaki rolü araştırılmıştır. Termal hasar oluşturulan ratlarda EP uygulaması HMGB-1 düzeylerini anlamlı şekilde azaltmış ve yanık hasarında etkili olabileceği belirtilmiştir. Harada T ve ark.(64) çalışmasında EP'ın postoperatif ileusu azaltabileceği saptanmıştır. EP'ın, çekal ligasyon ve puncture uygulanan sıçanlarda bakteriyel translokasyonu ve dolayısıyla sepsis riskini azaltmış ve ince bağırsaklarda immunolojik bir bariyer olarak etki gösterdiği bulunmuştur(65).

Yukarıdaki çalışmalar ışığında antiinflamatuvar ve antioksidan bir molekül olan etil pirüvatı deneysel olarak oluşturulan kolit modelinde denedik. Literatürde bizim çalışmamıza benzer bir çalışma mevcuttur (30). Bu çalışmada, IL-10 -/- (C57BL6) kronik kolitli fareler randomize gruplara ayrıldıktan sonra bir gruba steril ringer laktat(RL) solüsyonu ve diğer gruba steril RL solüsyonu içinde EP 40 mg/kg olarak 2 hafta boyunca gün aşırı olarak sistematik olarak uygulanmıştır. Ayrıca BALB/c farelerde de TNBS'nin intratekal uygulanımı ile akut kolit modeli oluşturulmuş ve gruplardan birine yine steril RL solüsyonu, diğerine de steril RL solüsyonu içinde EP intrarektal olarak TNBS uygulamadan 4 saat, 2 gün ve 4 gün sonra uygulanmıştır. 5. Günün sonunda hayvanlar sakrifiye edilmişlerdir. Tüm gruplardaki kolonlar çıkarıldıktan sonra dokular bizim de referans aldığımız histolojik skalaya göre incelemeye tabi tutulmuştur. Dışkı örnekleri alınmış ve bu örnekler HMGB-1 ve Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) konsantrasyonları yönünden incelenmiştir. Kolonik dokuda sitokin düzeyleri (IL-12 p40) ölçülmüştür. Sistemik tedavi uygulanan gruplardan EP uygulanan grupta histolojik skorda % 50 iyileşme saptanmış ve kolonik dokudaki IL12 p40 düzeyleri anlamlı ölçüde düşük çıkmıştır. IL-10 -/- kronik kolitli farelerin dışkılarındaki normalden 5 kat yüksek olan HMGB-1 değerlerinde anlamlı ölçüde düşme saptanmıştır. EP, makrofajlardaki HMGB-1'in sinükleusdan sitoplazmik translokasyonunu engellemektedir. Lokal tedavi uygulanan gruplarda da EP grubunda sadece RL verilen gruba göre histolojik skorlanma anlamlı ölçüde iyileşme göstermiş ve kolonik dokulardan alınan TNF düzeyleri yine anlamlı oranda düşük saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca EP 'ın Heme pigmentini fragmanları olan biliverdin, demir ve karbonmonoksit ayıran Heme Oksijenaz -1 (HO-1) 'i indükleyerek kolonik dokulardaki inflamasyonu baskıladığı da gösterilmiştir. Western blot analizleri ile NF- $\kappa$ B ve DNA bağlanması EP tarafından inhibe edildiği ispatlanmıştır. Sonuç olarak, hem sistemik yoldan hem de oral veya rektal yoldan EP uygulamasının İBH ' da hastalık aktivitesini azaltabileceği vurgulanmıştır(30).

Bizim çalışmamızda, yukarıdaki çalışmadan farklı olarak fare yerine sıçan kullanarak asetik asit ile kolit modeli oluşturduk. Literatürde hem TNBS (66) hem de asetik asit (67) ile oluşturulan kolit modelleri mevcuttur. Genellikle % 4 lük asit solüsyonlarının kullanılmasından dolayı ön çalışmada önce % 4 'lük asetik asit solüsyonu kullandık; ancak yeterli kolit oluşmadığı kanısına varılarak % 6'lık asit solüsyonuna geçtik. Bu derişimde kolit oluştuğunu klinik ve histopatolojik olarak gözlemledik. Davé SH ve ark. kronik kolitli farelere sistematik EP, akut kolitli farelere intrarektal EP uygulamışlardır. Biz ise akut kolitli sıçanlara sistemik EP 'yi 7 gün boyunca, Uchiyama ve ark.(28) kendi çalışmalarında uyguladığı 50 mg/kg dozunda uyguladık. Davé SH ve ark çalışmalarında inflamatuvar mediyatör düzeylerini ölçmüşler ve EP'in antiinflamatuvar etkinliğini araştırmışlardır. Biz buna ilave olarak dokuda MDA düzeylerini ölçerek EP'in antioksidan özelliğini de araştırdık.

Çalışmamızda, sıçanların ağırlıkları her iki grupta da kolite bağılı olarak 3. günün sonunda azaldı; 7. güne doğru her iki grupta da arttı. EP grubundaki ağırlık artışı SF grubuna göre daha belirgin olmasına rağmen istatistiksel anlam göstermedi. Kolit oluşumu histopatolojik olarak gösterildi. Histopatolojik incelemede, SF grubunda EP grubuna göre ödem, inflamatuvar hücre artışı, epitelyum kaybı ve transmural enflamasyon daha belirgindi ve istatistiksel olarak anlamlıydı. MDA bakısında da kontrol grubuna göre ve EP ve SF grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen EP grubundaki ortalama MDA değerleri SF grubuna göre daha düşük olarak bulundu; bu da oksidatif stresin EP grubunda SF grubuna göre daha az olduğu lehine yorumlanabilir. Oksidatif stresin azlığı da kolit iyileşmesine katkıda bulunabilir.

**Sonuç olarak**, EP, sıçanlarda oluşturulan model koliti iyileştirmiştir. Bu bağlamda, İBH tedavisinde yararlı ve etkili bir ajan olabilir. Bu alanda yapılacak daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **6.SONUÇ VE ÖNERİLER**

Asetik asit ile oluşturulan kolit modelinde EP'in etkisinin araştırıldığı çalışmamızda aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

1. % 6 'lık asetik asit çözeltisi ile kolit oluşumu makroskopik ve mikroskopik olarak ortaya konulmuştur.
2. SF ve EP gruplarında ilk 3 gün azalan ortalama ağırlık değerleri 7. günün sonunda başlangıç değerlerinin üzerine çıkmıştır. EP grubunda SF grubuna göre daha belirgin ortalama ağırlık artışı gözlenmesine rağmen bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak, EP grubundaki bu ortalama ağırlık artış farkı SF grubuna göre daha fazla iyileşmenin belirtisi olabilir.
3. EP grubunda SF grubuna göre daha az sıklıkla dışkılama (diyare) gözlenmiştir.
4. EP grubunda SF grubuna göre hem makroskopik hem de mikroskopik olarak iyileşme gözlenmiştir. Ortalama histopatolojik skorlar EP grubunda SF grubuna göre belirgin olarak daha az hasar göstermiştir ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur(  $p<0,05$ ).
5. Oksidatif hasar göstergesi olarak analiz ettiğimiz dokudaki MDA değerleri EP grubunda SF grubundan ortalama olarak daha düşük bulundu; ancak, istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. Oksidatif stresin ortalama olarak EP grubunda daha düşük ölçülmesi kolit iyileşmesi açısından olumlu bir sonuç olarak değerlendirildi.
6. Ortalama MDA ölçümlerinin daha düşük olması ve ağırlık artışının daha fazla olması gibi EP grubunda görülen iyileşme yönünden olumlu parametreler hayvan sayılarının arttırılması ile istatistiksel olarak da anlamlı düzeylere gelebilir.
7. Dokularda inflamasyonu gösteren proinflamatuvar sitokinlerin bakılması ( IL-1, IL-10, TNF- $\alpha$  vb) , başka oksidatif stres parametrelerinin ( MPO, SOD vb.) araştırılması ile histopatolojik ve klinik olarak gözlemlediğimiz iyileşme daha ayrıntılı olarak ortaya konulabilir.

8. Sonuç olarak, Etil Pirüvat (EP) , inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde ve semptomların hafifletilmesinde yararlı bir ajan olabilir. Bu alanda yapılacak daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## **7. KAYNAKLAR:**

1. M. Tahir Hatipoğlu. Anatomi ve Fizyoloji.10. Baskı. Ankara, Hatipoğlu Basım ve Yayınevi. 1993, Sayfa 169–171.
2. Fahri Dere. Anatomi,3. Baskı. Adana, Genel Dağıtım.1994, Sayfa 625.
3. Can Bozkır, Süleyman Semete. Prospektus Anatomi. Ankara, Kurtiş Matbaacılık.2008, Sayfa: 355–56.
4. Laboratory Rat. [http://en.wikipedia.org/wiki/Laboratory\\_rat](http://en.wikipedia.org/wiki/Laboratory_rat) (Haziran 2010).
5. İsmail Cem Eray, Uzmanlık Tezi. Deneysel Kolit Modeli Üzerine N-Asetil Sistein ve İntratekal Metotreksatın Etkilerinin İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi Genel Cerrahi ABD, Adana,2010.
6. Rat Anatomy. [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cut\\_rat\\_2.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cut_rat_2.jpg) (Kasım 2010).
7. Kumar, Abbas, Fausto N,Mitchel. Çeviri Editörü: Uğur Çevikbaş. Robbins, Temel Patoloji ( Basic Pathology). Philadelphia, Pennsylvania: İstanbul, Elsevier Saunders, Özgün Ofset. 2008,Sf:13–19.
8. Adnan Mesut Dede, Uzmanlık Tezi. Deneysel kolit modelinde Drotrecogin Alfa ( Activated, Xigris ) ‘nın bakteriyel translokasyonu önlemede etkinliğinin değerlendirilmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Genel Cerrahi ABD, Isparta,2007.
9. Metin Özata ve ark. Erkek Obesitesinde bozulmuş antioksidan kapasite ve hipoçinkonemi. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism, 2003.Suppl. 2: 47–51.
10. Murat Yarıktaş ve ark. Baş boyun malign tümörlerinde malondialdehid düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2003,10-(4)/65–67.
11. Hatice Güneş. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerine etkileri. Turkish Journal of Biology.23(1999):283–292.

12. Erdem Yeşilada. Makrofaj ve lenfosit kaynaklı sitokin çalışmalarının halk ilaçlarının biyolojik etki değerlendirilmesindeki rolü.14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler.29–31 Mayıs 2002, Eskişehir.
13. Romano AH, Conway T. (1996) Evolution of carbohydrate metabolic pathways. Res Microbiol. 147(6–7):448–55
14. Murray, Granner, Mayes, Rodwell. Çeviri Editörleri: Nurten Dikmen, Tuncay Özgüven. Glikoliz ve Pirüvatın Oksidasyonu. Harper Biyokimya. İstanbul, Nobel Matbaacılık.2004 Sf: 190.
15. Genel Biyoloji Sayfası, Pirüvat.  
[http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://site.mynet.com/biyoloji\\_genetik/genel\\_biyoloji/genel\\_biyoloji\\_logos/glikolliz.gif&imgrefurl](http://www.google.com.tr/imgres?imgurl=http://site.mynet.com/biyoloji_genetik/genel_biyoloji/genel_biyoloji_logos/glikolliz.gif&imgrefurl)( Haziran 2010).
16. Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel treatment for sepsis. Curr Drug Targets. 2007 Apr;8(4):515–8.
17. Ethyl Pyruvate. <http://www.chemblink.com/products/617-35-6.htm>( Haziran 2010).
18. Fink MP. Ethyl pyruvate: a novel anti-inflammatory agent. J Intern Med 2007 Apr;261(4):349–62.
19. Lee JI, Burckart GJ. Nuclear factor kappa B: important transcription factor and therapeutic target. J Clin Pharmacol 1998; 38(11):981–93.
20. Das UN. Pyruvate is an endogenous anti-inflammatory and anti-oxidant molecule. Med Sci Monit. 2006; 12(5):RA79–84.
21. Inoue J, Gohda J, Akiyama T, Semba K.NF-kappaB activation in development and progression of cancer. Cancer Sci 2007; 98(3):268–74.
22. Role of HMGB1 in rheumatic diseases.Zhou JG, Zheng M.Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2007; 36(4):412–6.
23. What Is Colitis – Causes, Types, Symptoms, Signs, Diagnosis.  
<http://www.healthype.com/what-is-colitis-causes-types-symptoms-signs-diagnosis.html>
24. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı. Robbins, Temel Patoloji ( Basic Pathology). Kumar, Abbas, Fausto N,Mitchel. Çeviri Editörü: Prof Dr. Uğur Çevikbaş. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders, Özgün Ofset, İstanbul. 2008,Sf:611–613

25. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarında Klinik Gidiş. Gastroenteroloji Ders Notları. Ahmet Dobrucalı, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Gastroenteroloji ABD.
26. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları: Etyopatogenez, Semptomatoloji, Tanı ve Komplikasyonlar. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Gastrointestinal Hastalıklar Sempozyumu 11–12 Ocak 2001, Sayfa: 199–206
27. Aslan A, Temiz M, Atik E, Polat G, Sahinler N, Besirov E, Aban N, Parsak CK. Effectiveness of mesalamine and propolis in experimental colitis. *Adv Ther* 2007; 24(5):1085–97.
28. Uchiyama T, Delude RL, Fink MP. Dose-dependent effects of ethyl pyruvate in mice subjected to mesenteric ischemia and reperfusion. *Intensive Care Med* 2003; 29(11):2050–8.
29. Kasimay O, Güzel E, Gemici A, Abdyli A. Colitis-induced oxidative damage of the colon and skeletal muscle is ameliorated by regular exercise in rats: the anxiolytic role of exercise. *Exp Physiol* 2006; 91(5):897–906.
30. Davé SH, Tilstra JS, Matsuoka K, Li F, DeMarco RA, Beer-Stolz D, Sepulveda AR, Fink MP, Lotze MT, Plevy SE. Ethyl pyruvate decreases HMGB1 release and ameliorates murine colitis. *J Leukoc Biol* 2009; 86(3):633–43.
31. Lykkesfeldt J. Determination of malondialdehyde as dithiobarbituric acid adduct in biological samples by HPLC with fluorescence detection: Comparison with ultraviolet-visible spectroscopy. *Clin Chem* 2000; 47: 1725–27.
32. Bülbül M, Koçdor H, Çavdar Z, Eminoğlu M, Yüksel M, Resmi H, Güner G. Comparison of MDA levels measured by using two different HPLC detectors concurrently. *Turk J Biochem* 2003; 28:195
33. Wiechelman KJ, Braun RD, Fitzpatrick JD. Investigation of the bicinchoninic acid protein assay: identification of the groups responsible for color formation. *Anal Biochem* 1988; 175(1):231-7.
34. Fiasse R, Denis MA, Dewit O. [Chronic inflammatory bowel disease: Crohn's disease and ulcerative colitis]. *J Pharm Belg* 2010 ;(1):1–9.
35. Guidi L, Marzo M, Felice C, Mocci G, Sparano L, Pugliese D, De Vitis I, Papa A, Armuzzi A. New biological agents for the treatment of the "high risk" IBD patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010; 14(4):342–6.



36. Terzić J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* 2010; 138(6):2101–2114.
37. Ghosh N, Chaki R, Mandal V, Lin GD, Mandal SC. Mechanisms and efficacy of immunobiologic therapies for inflammatory bowel diseases. *Int Rev Immunol* 2010;29(1):4–37.
38. Lawrence T, Fong C. The resolution of inflammation: anti-inflammatory roles for NF-kappaB. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42(4):519–23.
39. Luqman S, Pezzuto JM. NFkappaB: a promising target for natural products in cancer chemoprevention. *Phytother Res.* 2010 Jul;24(7):949–63
40. Hassan SB, Gali-Muhtasib H, Göransson H, Larsson R. Alpha Terpineol: A Potential Anticancer Agent which Acts through Suppressing NF- $\kappa$  Signalling. *Anticancer Res* 2010; 30(6):1911–9.
41. Jutooru I, Chadalapaka G, Lei P, Safe S. Inhibition of NF $\kappa$ B and pancreatic cancer cell and tumor growth by curcumin is dependent on specificity protein downregulation. *J Biol Chem* 2010; 285(33):25332–44.
42. Sahin K, Tuzcu M, Gencoglu H, Dogukan A ve ark. Epigallocatechin–3-gallate activates Nrf2/HO–1 signaling pathway in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Life Sci* 2010 14;87(7-8):240-5.
43. Kim BK, Choi MJ, Park KY, Cho EJ. Protective effects of Korean mistletoelectin on radical-induced oxidative stress. *Biol Pharm Bull* 2010;33(7):1152–8.
44. Ather JL, Hodgkins SR, Janssen-Heininger YM, Poynter ME. Airway Epithelial NF- $\kappa$ B Activation Promotes Allergic Sensitization to an Innocuous Inhaled Antigen. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010 Jun 25.
45. Krug LT, Torres-González E, Qin Q, Sorescu D, Rojas M, Stecenko A, Speck SH, Mora AL. Inhibition of NF- $\kappa$ B Signaling Reduces Virus Load and Gammaherpesvirus-Induced Pulmonary Fibrosis. *Am J Pathol.* 2010 Aug;177(2):608–21.
46. Wu S, Liao AP, Xia Y, Li YC, Li JD, Sartor RB, Sun J. Vitamin D Receptor Negatively Regulates Bacterial-Stimulated NF- $\kappa$ B Activity in Intestine. *Am J Pathol* 2010 ;177(2):686-97.
47. Du Z, Yu Q, Xiang Y. Expression of nuclear factor-kappa B p65 in hyperlipemia model of mice. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi.* 2010 Apr;24(7):289–92.


48. Tanaka K, Asamitsu K, Uranishi H, Iddamalgoda A, Ito K, Kojima H, Okamoto T. Protecting skin photoaging by NF-kappaB inhibitor. *Curr Drug Metab* 2010; 11(5):431–5.
49. McCourtie AS, Merry HE, Wolf PS, FitzSullivan E, Keech JC, Farivar AS, Mulligan MS. Synergistic protection in lung ischemia-reperfusion injury with calcineurin and thrombin inhibition. *Ann Thorac Surg* 2010; 89(6):1766–71.
50. Canalis E. New Treatment Modalities in Osteoporosis. *Endocr Pract* 2010 Mar 29:1–23.
51. Santini D, Fratto ME, Vincenzi B, Napoli N, Galluzzo S, Tantardini M, Abbruzzese A, Caraglia M, Tonini G. Denosumab: the era of targeted therapies in bone metastatic diseases. *Curr Cancer Drug Targets* 2009; 9(7):834–42.
52. Kao KK, Fink MP. The biochemical basis for the anti-inflammatory and cytoprotective actions of ethyl pyruvate and related compounds. *Biochem Pharmacol* 2010 15; 80(2):151–9.
53. Yang R, Gallo DJ, Baust JJ, Uchiyama T, Watkins SK, Delude RL, Fink MP. Ethyl pyruvate modulates inflammatory gene expression in mice subjected to hemorrhagic shock. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283(1):G212–21.
54. Cai B, Deitch EA, Ulloa L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis and hemorrhage. *Mediators Inflamm* 2010; 2010:642462.
55. Muller AJ, DuHadaway JB, Jaller D, Curtis P, Metz R, Prendergast GC. Immunotherapeutic suppression of indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor growth with ethyl pyruvate. *Cancer Res.* 2010 1; 70(5):1845–53.
56. Cruz RJ Jr, Harada T, Sasatomi E, Fink MP. Effects of Ethyl Pyruvate and Other alpha-Keto Carboxylic Acid Derivatives in a Rat Model of Multivisceral Ischemia and Reperfusion. *J Surg Res* 2011; 165(1):151–7
57. Kim SW, Jeong JY, Kim HJ, Seo JS, Han PL, Yoon SH, Lee JK. Combination treatment with ethyl pyruvate and aspirin enhances neuroprotection in the postischemic brain. *Neurotox Res* 2010; 17(1):39–49
58. Johansson AS, Palmblad J. Ethyl pyruvate modulates adhesive and secretory reactions in human lung epithelial cells. *Life Sci* 2009 5; 84(23–24):805–9.
59. Harvey SA, Guerriero E, Charukamnoetkanok N, Piluek J, Schuman JS, Sundarraj N. Responses of cultured human keratocytes and myofibroblasts to ethyl pyruvate: a

- microarray analysis of gene expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51(6):2917–27.
60. Daroczi B, Kari G, Ren Q, Dicker AP, Rodeck U. Nuclear factor kappaB inhibitors alleviate and the proteasome inhibitor PS-341 exacerbates radiation toxicity in zebrafish embryos. *Mol Cancer Ther* 2009; 8(9):2625–34.
  61. Wang P, Gong G, Wei Z, Li Y. Ethyl pyruvate prevents intestinal inflammatory response and oxidative stress in a rat model of extrahepatic cholestasis. *J Surg Res* 2010; 160(2):228–35.
  62. Yang R, Shafl AL, Killeen ME, Fink MP. Ethyl pyruvate ameliorates liver injury secondary to severe acute pancreatitis. *J Surg Res* 2009 15;153(2):302–9.
  63. Huang LF, Yao YM, Zhang LT, Dong N, Yu Y, Sheng ZY. The effect of high-mobility group box 1 protein on activity of regulatory T cells after thermal injury in rats. *Shock.* 2009; 31(3):322–9.
  64. Harada T, Moore BA, Yang R, Cruz RJ Jr, Delude RL, Fink MP. Ethyl pyruvate ameliorates ileus induced by bowel manipulation in mice. *Surgery.* 2005; 138(3):530–7.
  65. Zhang Y, Li M, Meng M, Qin C. Effect of ethyl pyruvate on physical and immunological barriers of the small intestine in a rat model of sepsis. *J Trauma* 2009; 66(5):1355–64.
  66. Cheng J, Shah YM, Ma X, Pang X ve ark. Therapeutic role of rifaximin in inflammatory bowel disease: clinicalimplication of human pregnane X receptor activation.*J Pharmacol Exp Ther* 2010 ;335(1):32-41.
  67. Varshosaz J, Emami J, Fassihi A, Tavakoli N ve ark. Effectiveness of budesonide-succinate-dextran conjugate as a novel prodrug of budesonide against acetic acid-induced colitis in rats. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25(10):1159-65.

## 8. EKLER

**EK-1 :**

### **Etik Kurul Onay Raporu**

 **T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI**

TEL : 0 232 - 259 87 73 - 259 87 74 FAX : 0 232 - 259 05 41 İletişim: 35340-İzmir

Sayı : B.30.2.DEÜ.0.01.00.00 / 1052

#### **MULTİDİSİPLİNER LABORATUVARI BAŞKANLIĞI'NA HAZİRAN 2008**

Fakültemiz Deneysel Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu Başkanlığının 13.06.2008 tarih ve 77 sayılı yazısıyla Dekanlığınıza iletilen; 62/2008 Protokol No'lu; Multidisipliner Lab. Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Nazım GÜREŞ'in sorumlusu olduğu, "Sıçanlarda kolit modelinde etil pruvatin inflamatuvar yanıt üzerine etkisinin araştırılması" isimli araştırma projesine ait Deneysel Hayvan Araştırmaları Etik Kurulu kararı ve sonuç ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve ilgilie iletilmesi hususunda gereğini rica ederim.

**Prof. Dr. Hakan ABACIOĞLU**  
Dekan

S: 1 adet etik kurul kararı

*Mahmut*

 **DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DENEY HAYVANI ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU**

35340 / İzmir / İsmi-232 4122254  
ATD:00ev.edu.tr/20 fakultesalek/00enveyev/

Sayı : 77  
Tarih : 13/06/2008  
Toplantı No : 01/13/2008  
Toplantı Tarihi : 13/06/2008

#### **DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,**

62/2008 Protokol No'lu; Multidisipliner Lab. Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Nazım GÜREŞ'in sorumlusu olduğu, "Sıçanlarda kolit modelinde etil pruvatin inflamatuvar yanıt üzerine etkisinin araştırılması" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

**Prof. Dr. Mustafa OLGÜNER**  
Deneysel Hayvan Araştırmaları  
Etik Kurulu Başkanı

*M. Olguner*

**EK-2 :**

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Dr. Nazım Güreş**

<b>TC Kimlik No</b>	19460280426
<b>Doğum Yılı</b>	1978
<b>Yazışma Adresi</b>	Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Laboratuvar Hayvanları ABD
<b>Telefon(gsm)</b>	(505)2168808
<b>e-posta</b>	guresnazim@yahoo.com

<b>Ülke</b>	<b>Üniversite/Eğitim Araştırma Hast.</b>	<b>Fakülte /Hastane</b>	<b>Öğrenim Alanı</b>	<b>Derece</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
Türkiye	Ege Üniversitesi	Tıp Fak.	Tıp	Lisans	2002

### **Akademik/Meslekte Deneyim**

<b>Kurum/Kuruluş</b>	<b>Ülke</b>	<b>Şehir</b>	<b>Bölüm/Birim</b>	<b>Görev Türü</b>	<b>Dönemi</b>
İzmir Atatürk Eğitim ve Araştır ma Hastanesi	Türkiye	İzmir	Genel Cerrahi	Araştırma Görevlisi	2003- 2008

### **Uzmanlık Alanı**

Genel Cerrahi Uzmanlığı ( 2008 - )
------------------------------------

**EK-3 :**

**SBE Tez Değerlendirme Formu ( Jüri Üyesi İçin )**

<b>ÖĞRENCİ BİLGİLERİ</b>	
<b>Adı</b> :	_____ <b>Anabilim/Bilim Dalı</b> : _____
<b>Soyadı</b> :	_____ <b>Programı</b> : _____
<b>Öğrenci No:</b>	_____ <b>Yüksek Lisans / Doktora</b>
<b>Tez Kodu</b> :	_____ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<b>Danışmanı</b> :	_____
<b>İkinci Danışmanı (Varsa)</b> :	_____
<b>TEZ BAŞLIĞI</b> :	_____ _____
<b>SUNUM</b>	<b>Tez başlığı çalışma konusunu açık ve yeterli olarak tanımlamakta mıdır?</b> <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Düzeltilmesi Gerekir
	<b>Tez kolaylıkla okunup anlaşılıyor mu ?</b> <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Kısmen düzeltilmesi gerekir <input type="checkbox"/> Yeniden yazılması gerekir
	<b>Tablo, şekil ve grafikler tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış mı ?</b> <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Düzeltilmesi gerekir
	<b>Kaynaklar Dizini</b> <input type="checkbox"/> Doğru <input type="checkbox"/> Hatalı Açıklayınız:
<b>BÜTÜNLÜK</b>	Tez bölümleri birbirlerine mantıksal ve analitik bir bütünlük ve akış içinde bağlanıyor mu? <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır Açıklayınız :
<b>ÖZGÜNLÜK ve YARATICILIK</b>	Aday, sizce bu çalışma sonunda bilimsel araştırma yapma, bilgiye erişme, değerlendirme ve yorumlama yeteneği kazanmış mıdır? <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır Doktora tezleri, ayrıca aşağıda belirtilen niteliklerden en az birini sağlamalıdır. Bu tez çalışması : <input type="checkbox"/> Bilime yenilik getirmiştir <input type="checkbox"/> Yeni bir bilimsel yöntem geliştirmiştir <input type="checkbox"/> Bilinen bir yöntemi yeni bir alana uygulamıştır
<b>GİRİŞ</b>	Araştırmaya konu olan problem tanımlanmıştır: <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır Problemin çözümüne yönelik hipotez/hipotezler açık olarak belirtilmiş ya da araştırma soruları tanımlanmış mıdır? : <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır

<b>GENEL BİLGİLER</b> (Literatür Bilgisi)	Literatür bilgileri özümşenerek derlenmiş midir? <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır Görüşlerinizi <b>Tez Değerlendirme Kriterleri</b> 'ne uygun olarak belirtiniz
<b>GEREÇ ve YÖNTEM</b>	Görüşlerinizi Tez Değerlendirme Kriterleri'ne uygun olarak belirtiniz:
<b>BULGULAR</b>	Görüşlerinizi Tez Değerlendirme Kriterleri'ne uygun olarak belirtiniz:
<b>TARTIŞMA</b>	Görüşlerinizi Tez Değerlendirme Kriterleri'ne uygun olarak belirtiniz:
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	Sonuç/sonuçlar net olarak belirtilip baştaki hipotez ve/veya araştırma soruları ile ilişkilendirilmiş midir?
<b>KAYNAKLAR</b>	Kaynaklar uygun yazılmış mı? Yeterli mi? Güncel kaynak var mı?
<b>EKLER</b>	Eksik var mı? (Doktora tezleri için makale kabul yazısı ve makale metni), tüm tezler için etik kurul onayları, özgeçmiş ve yayın listesi
<b>DİĞER</b>	Tez hakkında önemli gördüğünüz diğer hususları bu kısımda belirtebilirsiniz:

<b>JÜRİ DEĞERLENDİRME SONUCU</b>	<p>Tarafımdan incelenen bu tez, Dokuz Eylül Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim VE Sınav Yönetmeliği uyarınca :</p> <p><input type="checkbox"/> Kabul edilebilir niteliktedir.</p> <p><input type="checkbox"/> Ek süre verilerek düzeltilmesi gerekir.</p> <p><input type="checkbox"/> Ret edilmesi gerekir.</p>
<b>JÜRİ ÜYESİNİN</b> <b>Adı Soyadı</b> : _____ <b>Anabilim /Bilim Dalı</b> : _____ <b>Üniversitesi/Enstitüsü</b> : _____ <b>Tarih:</b> _____ <b>İmza:</b> _____  <b>Bu form, Tez Savunma Sınavı'ndan sonra, Sınav Tutanağı ile birlikte en geç üç işgünü içinde ilgili Anabilim Dalı tarafından Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne gönderilir.</b>	