

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**DEKSTRAN SÜLFAT İLE KOLİT
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA TİYAMİNİN
ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUVAR
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Nazlı DEVECİ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2018

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**DEKSTRAN SÜLFAT İLE KOLİT
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA TİYAMİNİN
ANTİOKSİDAN VE ANTİİNFLAMATUVAR
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Nazlı DEVECİ

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Yeşim ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

TABLolar LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
KISALTMALAR	vii
TEŞEKKÜR	viii
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1. GİRİŞ ve AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı	7
2.2. Epidemiyoloji	10
2.3. Etiyoloji	11
2.3.1. Çevresel faktörler	11
2.3.2. Stres	12
2.3.3. Apendektomi	12
2.3.4. Genetik Faktörler	12
2.3.5. İmmunolojik Faktörler	13
2.3.6. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı ve İntestinal Flora	14
2.4. Patogenez	15
2.5. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı ve Oksidatif Stress	17
2.6. Histopatoloji	19
2.7 Klinik	20
2.7.1. Ülseratif Kolit	20
2.7.2 Crohn Hastalığı	23
2.8. Laboratuvar Bulguları	25
2.9. Tedavi	26
2.9.1. Farmakolojik Tedavi	26
2.9.2. Cerrahi Tedavi	29
2.10. Dekstran Sülfat Sodyum ile Oluşturulmuş Kolit Modeli	29

2.11. Tiyaamin	32
2.11.1. Tiyaamin Pirofosfat	33
2.11.2. Tiyaamin Pirofosfat Fonksiyonları	33
2.11.3 Tiyaamin Kaynakları	35
2.11.4 Tiyaamin Eksikliği	36
3. MATERYAL VE METOD	37
3.1. Deney Hayvanları	37
3.2. Dekstran Sülfat Sodyum ile Kolit Oluşturulması	37
3.3 Tiyaamin Uygulaması	38
3.4. Deney Protokolü	38
3.5. Deney Hayvanlarında Yüzde (%) Vücut Ağırlık Oranının Tespiti	39
3.6. Hastalık Aktivite İndekslerinin Belirlenmesi	41
3.7. Sıçanların Kolon Ağırlık ve Uzunluklarının Ölçülmesi	41
3.8. Dalak Ağırlığının Değerlendirilmesi	41
3.9. Kolutin Histopatolojik ve Makroskobik Değerlendirilmesi	42
3.9.1. Histokimyasal İncelemeler	43
3.10. İmmünohistokimyasal İncelemeler	43
3.10.1 Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α) ve İnterlökin 6 (IL-6) Boyama Yöntemi	44
3.11. Oksidatif Stress ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi	45
3.11.1. Biyokimyasal Değerlendirme	45
3.11.2. Enzim aktiviteleri ve Malondialdehit (MDA) düzeylerinin saptanması	45
3.11.3. TNF α ve IL-6 seviyesinin ölçümü	46
3.12. İstatiksel Değerlendirme	46
3.13. Etik Kurul Onayı	46
4. BULGULAR	47
4.1.Sıçanlarda Vücut Ağırlığı Yüzde (%) Değişimine Ait Bulgular	47
4.2. Gruplar Arası Hastalık Aktivite İndeksinin Değerlendirilmesi	48

4.3. Sıçanlarda İshal, Rektal Kanama ve Ödem Oluşumuna Ait Bulgular _____	51
4.4. Dalak Ağırlıklarının Değerlendirilmesine Ait Bulgular _____	52
4.5. Kolon Uzunluk ve Ağırlık Değerlendirilmesine Ait Bulgular _____	53
4.6. Kolitin Histopatolojik Değerlendirilmesi _____	56
4.6.1. Histolojik Hasarlanma Skorlaması _____	56
4.6.2. Kolonun Hematoksilen-Eozin ile Değerlendirilmesi _____	59
4.6.3. Rektum Örneklerinin Hematoksilen-Eozin ile Değerlendirilmesi _____	63
4.6.4. Kolonun Periyodik- Asit Schiff (PAS) Değerlendirilmesi _____	66
4.6.6. Rektum Peryodik-Asit (PAS) Boyama Değerlendirilmesi _____	66
4.7. İmmünohistokimyasal Bulgular _____	68
4.7.1. Tümör Nekroz Faktör alfa Boyama Değerlendirilmesi _____	68
4.7.2. IL-6 Boyama Değerlendirilmesi _____	69
4.8. Oksidatif Stress ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi _____	72
4.8.3. Kolon Dokusu Malondialdehit (MDA) değerleri _____	72
4.8.4. Kolon Dokusu Glutasyon (GSH) değerleri _____	72
4.8.5. Kolon Dokusu Glutasyon Peroksidaz (GPx)Değerleri _____	73
5. TARTIŞMA _____	75
7. SONUÇLAR _____	79
6. KAYNAKLAR _____	81

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1 : Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı karşılaştırılması	8
Tablo 2 : İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Montreal Sınıflaması	9
Tablo 3 : Pediatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (PUKAİ)	22
Tablo 4: Pediatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksinin(PCHAI) Hesaplanması	24
Tablo 5: Hayvan deneyi çalışma grupları	39
Tablo 6: Sıçanların kolit şiddetini yapısal ve işlevsel olarak değerlendirmek için kullanılan hastalık aktivite indeksi	41
Tablo 7: Histopatolojik Hasarlanma Skorlaması	42
Tablo 8: Kolit makroskopik skorlaması.....	43
Tablo 9 : Gruplara göre Sıçanların Yüzde Vücut Ağırlığı Değişimi	48
Tablo 10: Gruplara göre hastalık aktivite indeksi (HAI)	50
Tablo 11 : Gruplara göre haftalık ortalama hastalık aktivite indeksi (HAI).....	50
Tablo 12: Gruplar göre kolon uzunluğu, kolon ağırlığı ve dalak ağırlığı ölçüm değerleri	56
Tablo 13: Gruplar arası Malondialdehit (MDA), Glutasyon (GSH), Glutasyon Peroksidaz (GPx) seviyeleri	74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 : Tüm dünyada İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı dağılımı.....	10
Şekil 2: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının multifaktöriyel patogenezi.....	16
Şekil 3: İnflamatuvar bağırsak hastalığında oksidan hasar ve antioksidan etkileri	18
Şekil 4: Dekstran Sülfat Sodyumun Etki Mekanizması.....	31
Şekil 5: Tiyamin Eksikliğinin Etkileri	35
Şekil 6: Gruplara ait deney protokoller.....	40
Şekil 7: Sıçanlarda DSS ve tiyamin uygulaması sonrası gruplar arası günlere göre yüzde ağırlık değişimi.....	47
Şekil 8 : Dekstran Sülfat Sodyum ile oluşturulan kolit modelinde hastalık aktivite indeksinin gruplar arası karşılaştırılması.....	49
Şekil 10 : Gruplar arası dalak ağırlık karşılaştırılması.....	53
Şekil 9 : Gruplara göre kolon uzunluk ölçümleri.....	54
Şekil 11 : Gruplar arası kolon uzunluğu karşılaştırması,	55
Şekil 12: Gruplar arası kolon ağırlığı karşılaştırması,	55
Şekil 13 : Gruplara göre epitel hücre hasarı skorlaması,	57
Şekil 14 : Gruplara göre epitel hücre hasarı skorlaması	57
Şekil 15: Gruplara göre goblet hücre hasarı skorlaması	58
Şekil 16 : Gruplara göre kript hasarı skorlaması.....	58
Şekil 17 : Gruplara göre toplam histolojik skorlama	59
Şekil 18 : Kontrol grubuna ait bir sıçanın kolon histolojik (H-E) görüntüleri.....	60
Şekil 19: DSS grubuna ait bir sıçanın kolon histolojik (H-E) görüntüleri.....	61
Şekil 20 : Tiyamin grubuna ait bir sıçanın kolon histolojik görüntüleri.....	62
Şekil 21 : DSS+tiyamin grubuna ait kolon histolojik (H-E) görüntüleri	63
Şekil 22: Kontrol grubuna bir sıçana ait rektum histolojik (H-E) görüntüleri.....	64
Şekil 23: DSS grubuna ait bir sıçanda rektum histolojik (H-E) görüntüleri.....	64
Şekil 24: Tiyamin grubuna ait bir sıçanda rektumun histolojik (H-E) görüntüleri.....	65
Şekil 25: Tiyamin +DSS grubuna ait bir sıçanın rektum histolojik (H-E) görüntüleri...	65
Şekil 26: Görüntülerde kolon dokusu histolojik PAS görüntüleri	67
Şekil 27: Rektum dokusu histolojik PAS görüntüleri.....	68
Şekil 28: Gruplar arası Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) 'nın immünohistokimyasal değerlendirilmesi	69

Şekil 29: Gruplar arası İnterlökin-6 (IL-6)'nın immünohistokimyasal değeriendirilmesi	70
Şekil 30: Kolon kesitlerinin histolojik TNF-alfa görüntüleri,	71
Şekil 31: Gruplar arası Malondialdehit (MDA) seviyelerinin karşılaştırılması,	72
Şekil 32 : Gruplar arası Glutatyon(GSH) seviyelerinin karşılaştırılması	73
Şekil 33: Gruplar arası Glutatyon peroksidaz (GPx) seviyelerinin karşılaştırılması,	74



KISALTMALAR

İBH: İnflamatuvar bağırsak hastalığı

DSS: Dekstran sülfat sodyum

HAİ: Hastalık aktivite indeksi

MDA: Malondialdehit

GPx: Glutasyon peroksidaz

GSH: Glutasyon

TNF- α : Tümör nekrozis faktör

IL: İnterlökin

ÜK: Ülseratif kolit

CH: Crohn hastalığı

GWAS: Genome-wide association scans

NOD2: Nucleotid binding oligomerization domains

IFN- γ : İnterferon

NF κ B: Nükleer faktör kappa beta

NRL: Nod-like reseptör

TLR: Toll-like reseptör

Th: T-helper

ROM: Reaktif oksijen metabolitleri

HOCl: Hipolorik asit

TDP: Tiyamin difosfat

TPP: Tiyamin pirofosfat

H&E: Hematoksilen ve eozin

PAS: Periodik asid-schiff

PBS: Phosphate Buffer Saline

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi tamamladığım Dokuz Eylül Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda bizlere iyi bir eğitim ve çalışma ortamı sağlayan değerli anabilim dalı başkanımız; Sayın Prof. Dr. Murat Duman'a,

Tez çalışmamda planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren danışman hocam; Sayın Prof. Dr. Yeşim Öztürk'e

Tezin yapılma aşamasında bana bilgi ve becerilerini aktaran, tezin gerçekleşmesi sırasında yardımlarını benden esirgemeyen, tanımaktan büyük mutluluk duyduğum Sayın Prof. Dr. Müge Kiray'a ve Sayın Doç. Dr. Başak Baykara'ya

Asistanlık hayatının tüm zorlu iş yükünü beraber paylaştığım başta Dr. Damla Pınar Yavaş, Dr. Sevinç Çağlar ve Dr. Berna Filibeli olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum hemşirelerimize, yardımcı personelimize, yaptığım işi her gün daha çok sevmemi sağlayan sevgili hastalarım, bir parçası olmaktan her zaman gurur ve mutluluk duyacağım Dokuz Eylül Pediatri ailesine,

Deneyin yapım aşamasında bana elverişli çalışma ortamını sağlayan yardımlarını esirgemeyen tüm Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları çalışanlarına,

Tezin her aşamasında arkadaşlığını ve yardımların esirgemeyen Selma Aydemir'e ve Dilara Çam'a, yazım aşamasında desteğini esirgemeyen Uzm. Dr. Betül Aksoy ve Uzm. Dr. Sezer Acar'a,

Hekimlik hayatımın ilk gününden beri hep yanımda olan ve desteğini benden esirgemeyen çok sevgili meslektaşım, arkadaşım Didem Kaymak'a,

Sevgiyle beni bugünlere getiren, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen bu hayatta en büyük şansım ve gururum olan güzel aileme sonsuz teşekkürler.

Dr. Nazlı Deveci

ÖZET

Dekstran Sülfat ile Kolit Oluşturulmuş Sıçanlarda Tiyaminin Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Giriş: İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (İBH) etyopatogenezinde genetik faktörlerin yanında inflamasyon ve oksidatif stresi tetikleyici faktörler de yer almaktadır. Tiyaminin oksidatif stresin hafifletilmesi ve inflamasyonun baskılanması gibi etkilerinin olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda sıçanlarda dekstran sülfat sodyum (DSS) ile oluşturulmuş kolit modelinde tiyaminin antiinflamatuvar ve antioksidan etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Wistar-Albino suşu 6-8 haftalık erkek sıçanlar, rasgele, kontrol grubu (n:7), tiyamin grubu (n:7), DSS grubu (n:7), DSS+ tiyamin grubu (n:7) olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Kolit modeli, yedi gün süreyle içme suyuna %3 DSS katılarak oluşturulmuştur. Tiyamin uygulaması, tiyamin ve DSS+ tiyamin gruplarına deneyin sekizinci gününden itibaren oral gavaj ile 600mg/kg/doz, günlük iki dozda 21 gün süreyle yapılmıştır. Tüm sıçanların günlük kilo tartımı, gaitada gizli kan, makroskopik kanama, rektal ödem, hastalık aktivite indeksi (HAİ) hesaplanarak kaydedilmiştir. Deneyin 28.gününde tüm sıçanlar eter anestezisi altında sakrifiye edilmiştir. Dalak ağırlığı, kolon ve rektum ağırlık ve uzunluk ölçümleri yapılmıştır. Kolon ve rektum dokuları histopatolojik olarak incelenmiş, dokularda malondialdehit (MDA), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon (GSH), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), Interlökin-6 (IL-6) ölçümleri yapılmıştır.

Bulgular: DSS+ tiyamin grubunda, DSS grubuna göre HAİ skorunun erken dönemde azalmaya başladığı, rektal ödem, rektal kanama ve ishal sürelerinin daha kısa sürdüğü, kilo artışının daha erken başladığı ve deney sonunda kilo alımının daha fazla olduğu görülmüştür. Tiyamin ve kontrol gruplarında HAİ skorunda artış olmamıştır. Bu durum tiyaminin kolitin klinik bulgularına olumlu etkileri olduğunu ortaya koymuştur.

Kontrol ve tiyamin gruplarında histolojik hasarlanma görülmezken DSS uygulanan grupların kolon dokularında hasarlanma görülmektedir. DSS+ tiyamin grubunda DSS grubuna göre kolon dokusunda epitelyal hücre hasarının, kript kaybı ve goblet hücre kaybının daha az olduğu saptanmıştır. DSS+ tiyamin grubunda, DSS grubu ile karşılaştırıldığında kolon

dokusunda konjesyon gözlenmemiş olup inflamatuvar hücre infiltrasyonunun DSS grubuna göre belirgin azaldığı görülmüştür.

DSS+tiyamin grubunda IL-6 ve TNF- α immunreaktivitesinin DSS grubuna göre azalmış olduğu saptanmıştır. Bu durum tiyaminin sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde antiinflamatuvar etkinliğinin olduğunu göstermektedir.

DSS+tiyamin grubunda MDA düzeyinin DSS grubuna göre azalmış olduğu, GSH ve GPx seviyelerinin ise artmış olduğu görülmektedir. Bu durum tiyaminin sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde antioksidan etkinliğinin olduğunu ortaya koymaktadır.

Sonuç: Bu çalışma tiyaminin antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliğini deneysel kolit modelinde gösteren ilk çalışmadır. Elde ettiğimiz veriler tiyaminin sıçanlarda oluşturulan modelinde antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterdiği yönünde öncü bilgilerdir. Bu konuda deneysel ve klinik yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Tiyamin, İnflamatuvar bağırsak hastalığı, Dekstran sülfat sodyum, Hayvan modeli

ABSTRACT

Thiamine' s Effects of Anti-inflammatory and Anti-oxidant in Dextran Sulfate-Induced Colitis in Rats

Objective: In the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD), inflammatory and oxidative stress induced factors involved as well as genetic factors. Thiamine is known to have effects such as alleviating oxidative stress and suppression of inflammation. In our study we aimed that to evaluate the antiinflammatory and antioxidant activity of thiamine in dextran sulfate sodium (DSS)- induced colitis in rats.

Methods: Six to eight week old male Wistar Albino rats were randomly divided to four groups: Control group (n: 7), DSS group (n: 7), thiamine group (n: 7), DSS+ thiamine group (n: 7). The colitis model was induced by adding 3% DSS drinking water for seven days. Thiamine administration was applied to the thiamine group and DSS+ thiamine group for 21 days at two doses of 600 mg/kg/dose by oral gavage from the eighth day of experiment. All rats were examined for stool consistency, macroscopic hemorrhage, rectal edema and body weight measured daily. Disease activity index (DAI) was calculated and recorded daily. At 28 days, all rats were sacrificed under ether anesthesia, the spleen weight, the colon length and the colon weight were measured. Colon and rectum tissues were examined histopathologically and malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) levels were measured.

Results: In DSS+ thiamine group, it was seen that the DAI score was decreased earlier, rectal edema, rectal bleeding and diarrhea times were shorter, weight gain started earlier and weight gain was higher than DSS group at the end of the experiment. There was no increase in DAI score in thiamine and control groups. This suggests that thiamine has positive effects on clinical findings of colitis.

Histological damage to the colon tissues was observed in the DSS administered groups when damage was not observed in the control and thiamine groups. In DSS+ thiamine group, epithelial cell damage, crypt loss and goblet cell loss were less than DSS group in the colon tissue. In the DSS+ thiamine group, no congestion was observed in colon tissue compared to

the DSS group, and inflammatory cell infiltration was found to be significantly less than in the DSS group.

In the DSS+ thiamine group, IL-6 and TNF- α immunoreactivity was found to be decreased compared to the DSS group. This suggests that thiamine has antiinflammatory activity in the colitis model formed in rats.

In the DSS+ thiamine group, the MDA level is decreased compared to the DSS group, and the GSH and GPx levels are increased. This suggests that thiamine is an antioxidant activity in the colitis model formed in rats.

Conclusion: This is the first study to show that the antioxidant and antiinflammatory activity of thiamine in an experimental colitis model. Our results demonstrates that thiamine has an antiinflammatory and antioxidant activity in colitis model. There is a need for experimental and clinical researchs in this area.

Keywords: Thiamine, Inflammatory bowel disease, Dextran sulfate sodium, Animal Model

1. GİRİŞ VE AMAC

İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları (İBH) rektal kanama, ishal ve kilo kaybı ile karakterize, alevlenme ve iyileşme dönemleri ile seyreden kronik inflamatuvar hastalıklardır (1).

Yapılan çalışmalar ve gözlemler İBH'nın genetik olarak duyarlı bireylerde, birden fazla iç ve dış çevre etkeninin katkısı ile normal bağırsak florasına abartılı immün yanıt sonucunda ortaya çıktığını düşündürmektedir. Bu hastalıkta patofizyolojinin anlaşılması ve yeni tedavi modellerinin geliştirilmesi için birçok hayvan modeli kullanılmaktadır (2, 3).

İBH'nda inflamasyonu başlatan mekanizmalar çok değişkendir. Gastrointestinal kanalda immün olayların geçtiği alan mukozanın lamina propria tabakasıdır. Bir yabancı maddenin immün yanıt oluşturabilmesi için bu alana ulaşması gereklidir. Luminal toksinler ve infeksiyöz ajanlar genetik olarak duyarlı kişilerde mukozal bariyeri geçerek inflamasyonu başlatır (2, 4). Lamina propriaya ulaşan antijenler, antijen sunan hücrelerce değerlendirilerek T 'helper' lenfositlere sunulur. Bu hücrelerarası etkileşimde TNF- α , interferon gama (IFN- γ) ve bir dizi sinyalizasyon molekülü rol oynar. T 'helper' lenfositler özellikle IL-17, IL-23, IL-4, IL-10 aracılığıyla Th1, Th2 veya T 'helper' yönüne farklılaşır. Th 1 yönüne farklılaşan olgularda hücreyel immün yanıtın daha baskın olduğu Crohn hastalığı fenotipi, Th 2 yönünde farklılaşanlarda ise hümmoral immün yanıt baskın ülseratif kolit fenotipi görülür. Eğer farklılaşma T 'helper' yönüne olursa immün yanıt azalarak söner. Bağırsak homeostazını sağlamak için normal mukozal immün sistem, proinflamatuvar, antiinflamatuvar ve düzenleyici sitokinler ile inflamatuvar mediyatörler arasında bir denge kurmuştur. İnflamasyon yönünde farklılaşma İBH için tipiktir (3, 5). İBH'nın patogeneğinde de inflamatuvar hücreler tarafından oluşan mukozal oksidatif stres ve redoks dengesinin bozulması kritik rol oynar. Reaktif oksijen metabolitlerinin (ROM) üretimi, nötrofil infiltrasyonu ve kolitin aktivasyonuna eşlik eder (40).

Tiyamin canlının metabolizması için esansiyel bir vitamindir. Bütün vücut dokularında karbonhidratların ara metabolizmasında görev alır. Tiyamin eksikliğinde, dokularda pirüvik asit ve bazı amino asitlerin kullanımı azalırken, yağların kullanılması artar. Bu nedenle, tiyamin özgül olarak karbonhidratların ve bir çok amino asitlerin son metabolizmaları için

gereklidir. Tiyamin diyetle alımın yanı sıra kalın bağırsakta da sentezlenmektedir. Tiyamin aktif formu olan tiyamin pirofosfat (TPP) glukoz, amino asit ve lipid metabolizmasında yer alan beş enzimin esansiyel kofaktörüdür (6, 7).

İBH olan bireylerde hafif tiyamin eksikliğinin yorgunluk başta olmak üzere birçok semptomla yol açtığı ve tiyamin desteği ile düzeldiği bu semptomların gösterilmiştir (8). İBH'nda tiyamin emiliminde sorun olacağı gibi kolondan tiyamin sentezi de etkilenmiş olabilir. Tiyaminin İBH üzerine olduğu düşünülen bu etkinin doku düzeyine yansımaları oksidan ve inflamatuvar stres olabilir. Tiyamin desteği bu doku hasarını durdurabilir ya da düzeltebilir (9).

İdeal redoks ortamı hücresel işlevler için gereklidir ve normal enerji metabolizmasındaki enzimler tarafından korunmaktadır (10). Bu enzim sistemindeki bozukluklar oksijen radikallerinin üretimi ile sonuçlanır ve özellikle mitokondride hücrenin yaşamsal bileşenleri olan proteinler, lipidler ve DNA üzerinde olumsuz etkilere sebep olur. Tiyamin eksikliğine bağlı gelişen oksidatif stress üzerinde oksijen radikallerinin metabolizmasındaki dengesizlikler önemli rol oynar (11). Tiyamin eksikliğinde oluşan oksijen radikalleri lipid peroksidasyonunu ve hücre membranındaki iyon kanallarının işlevini bozarak hücre hasarına neden olmaktadır (12).

Bu çalışmadaki hayvan modelinde İBH'nda tiyaminin inflamasyon ve oksidan stres üzerine etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları rektal kanama, ishal ve kilo kaybı ile karakterize, alevlenme ve iyileşme dönemleri ile seyreden kronik inflamatuvar hastalıklardır (1). Ancak çocukluk çağında olguların yalnız %25'inde klasik bulgular görülür. Genç yaşta başlayan olgularda malnutrisyon, büyüme geriliği (13-16) yetersiz kemik mineralizasyonu, pubertal gecikme şeklinde karşımıza çıkabilmektedir (17-20). Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn Hastalığı (CH) en sık görülen iki formudur. ÜK ve CH aynı hastalık grubunun üyeleri olmakla birlikte klinik ve ekstraintestinal bulgular açısından farklılıklar gösterir (21) (**Tablo 1**).

İBH hastalarının bir kısmı endoskopik ve histopatolojik bulgular doğrultusunda CH ve ÜK grubu içinde sınıflandırılmaz ve 'indetermine kolit' ya da 'sınıflandırılmayan kolit' olarak adlandırılır (22). Bu hastalık grupları birbirleri ile epidemiyolojik, klinik, immünolojik ve tedavi konusunda benzer özellikler taşımaktadır.

Yapılan çalışmalar ve gözlemler İBH'nın genetik olarak duyarlı bireylerde, birden fazla iç ve dış çevre etkeninin katkısı ile normal bağırsak florasına abartılı immün yanıt sonucunda ortaya çıktığını göstermektedir. CH, çoğunlukla ileumu tutmasının yanında özofagustan anüse kadar gastrointestinal kanalın herhangi bir bölümünü etkileyebilir ve olguların yaklaşık yarısında kazeöz olmayan granümatöz inflamasyon görülür. ÜK ise kolona sınırlı, granümatöz olmayan hastalıktır (22). İBH grubu hastalıkların yaygınlığını belirlemek için 'Montreal Sınıflaması' kullanılır. (**Tablo 2**)

Tablo 1 : Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı karşılaştırılması (21)

ÖZELLİK	ÜLSERATİF KOLİT	CROHN HASTALIĞI
PATOLOJİ		
Rektal tutulum	Daima	Sık
Atlayan lezyonlar	Hiçbir zaman	Sık
Transmural tutulum	Ender	Sık
Granülomlar	Ara sıra	Sık
Perianal hastalık	Hiçbir zaman	Sık
Kaldırım taşı mukoza	Ender	Sık
RADYOLOJİ		
Yaka düğmesi ülser	Sık	Ara sıra
İnce bağırsak tutulumu	Hiçbir zaman	Sık
Atlamalı tutulum	Hiçbir zaman	Sık
Fistüller	Hiçbir zaman	Sık
Striktürler	Ara sıra	Sık
ENDOSKOPI		
Aftöz ülserler	Hiçbir zaman	Sık
Atlamalı tutulum	Hiçbir zaman	Sık
Rektal tutulum yokluğu	Hiçbir zaman	Sık
Lineer veya serpijinöz ülserler	Hiçbir zaman	Sık
Terminal ileumda ülser	Hiçbir zaman	Sık

Tablo 2 : İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı Montreal Sınıflaması (22).

Fenotip	Sınıflama	Klinik
Crohn Hastalığı		
Tanı yaşı	A1	<16 yaş
	A2	17-40 yaş
	A3	>40 yaş
Lokalizasyon	L1	Terminal ileum
	L2	Kolon
	L3	İleokolik
	L4	Üst gastrointestinal sistem
Hastalık davranışı	B1	Nonstriktürel-nonpenetran (inflamatuvar)
	B2	Striktürel
	B3	Penetran
Ülseratif Kolit		
Ülseratif proktit	E1	Tutulum rektumla sınırlı (Rektosigmoid bileşkeye kadar)
Sol tutulumlu (distal)	E2	Splenik fleksuraya kadar olan segment
Yaygın (Pankolit)	E3	Splenik fleksura proksimaline yayılan tutulum
İndetermine Kolit	IBDU	Kolon dahil tutulum histolojik olarak ÜK ve CH düşündürmeyen

2.2. Epidemiyoloji

İlk kez 1932 yılında Amerikalı fizyolog Burrill B. Crohn tarafından ‘rejonel ileit’ olarak tanımlanmıştır (23). İBH’nın sinsi seyretmesinden dolayı epidemiyolojisini tam olarak belirlemek çok kolay değildir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda CH’nın ÜK’e göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

İlk epidemiyolojik araştırmalar İBH insidansının gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre; kuzey bölgelerinde güney bölgelerine göre daha sık görüldüğünü göstermiştir (24). (Şekil 1)

Özellikle Kuzey Amerika, İngiltere, İskandinavya gibi kuzey ülkelerinde bu artış Güney Avrupa, Güney Afrika ve Avustralya’ya göre çok daha çarpıcıdır. Fransa’da yapılan bir çalışmada her yeni ÜK olgusuna karşı dört CH tespit edilmiştir (25) (Şekil 2).

Crohn hastalığı insidansı adolesan yaş grubu ve 60 yaş civarında olmak üzere iki kez pik yapar. Ortalama insidansı 3-15/100.000’dir. Şehirde yaşayan çocuklarda daha sık görülmektedir. Hem CH hem de ÜK beyaz ırkta özellikle yahudilerde daha fazla iken Asya kökenlilerde ve siyah ırkta daha az görülür. Bütün bunlar hastalık etyolojisinde genetik yatkınlığın önemli olduğunu göstermektedir (26). Birinci dereceden akrabası CH olan bir kişinin CH olma olasılığı yaşamı boyunca %4 olarak bildirilmiştir. Bu riskin kızlarda daha fazla olduğu gösterilmiştir (27).



Şekil 1 : Tüm dünyada İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı dağılımı (24)

Geçtiğimiz yüzyılın ilk yarısında ÜK'in, ikinci yarısında CH'nın daha sık görülmesi, değişik ülkelerde, farklı coğrafya ve etnik topluluklarda değişik sıklıkta görülmesi, çevresel koşulların da etyolojide önemli olduğunu düşündürmektedir (23).

Ülkemizde 12 merkezin katkısıyla 2001-2003 yılları arasında yapılan epidemiyolojik bir araştırmada, ÜK insidansı 4.4/100000, CH insidansı 2.2/100000 olup yetişkinlerde İBH insidansının Kuzey ve Batı Avrupa'dan az, Ortadoğu insidansına yakın olduğu, CH'nın Marmara bölgesinde, ÜK'in ise doğuda daha sık görüldüğü, CH olanların %8.3'ünde, ÜK' lilerin %4.4'ünde aile öyküsü bulunduğu görülmüştür. Klasik bifazik tanı yaşı 20-30 ve 50-70 yaş olup erkek cinsiyette daha sık olduğu saptanmıştır. İBH ile birlikte amebiazis sıklığı ÜK'te %4.4, CH'nda %8.3 olarak bildirilmiştir (28).

2.3. Etiyoloji

Crohn Hastalığı ve ÜK belirli demografik ve epidemiyolojik özellikler gösteren, bağırsak dışı tutulumlarla birlikte spontan alevlenme ve iyileşme dönemleri ile seyreden kronik inflamatuvar hastalıklardır. Birbiri ile iç içe geçmiş bu klinik tablolar ÜK ve CH'nın aynı hastalığın çeşitli faktörlerden etkilenen farklı klinik şekilleri olduğunu düşündürmektedir. Ancak, hastalıkların tutulum yeri, histolojik özellikleri ve immunolojik yanıtlardaki temel farklılıklar, ÜK ve CH'nı birbirinden farklı iki ayrı hastalık grubu olduğunu ortaya koymaktadır (29).

İBH tedavisine özgü olmayan immünsüpresif ajanlarla tedaviye yanıt alınması ve hastalık aktivasyonunda birçok inflamatuvar yolun aktivasyonu, bu hastalıkların etyopatogenezinde immunolojik faktörlerin rol oynadığını göstermektedir. İBH'nın etyolojisinden sorumlu faktörler tam olarak bilinmemekle birlikte çevresel ve genetik faktörler olmak üzere iki başlık altında incelenebilir. İBH için en önemli risk faktörü aile hikayesidir. Hastaların yaklaşık %15'inin birinci derece akrabaları etkilenmektedir. İnsidans monozygot ikizlerde artmıştır (25).

2.3.1. Çevresel faktörler

Çevresel faktörlerin İBH'nın oluşumuna ve seyrine etkileri tam olarak anlaşılamamıştır. Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar İBH'nın genetik olarak duyarlı kişilerde değişik antijenler ya da çevresel faktörlere maruz kalma ile gelişebileceği, alevlenme ve iyileşmelerin

de bu faktörlerle ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Prenatal olaylar, anne sütü ile beslenme, çocukluk çağı enfeksiyonları, mikrobiyal ajanlar, sigara içimi, oral kontraseptifler, diyet, hijyen, meslek, eğitim, iklim, stres, psikolojik faktörler, apendektomi, tonsillektomi, kan transfüzyonu, hayvanlarla temas, fiziksel aktivite ve diğer çevresel faktörler hastalığın ortaya çıkmasına ya da alevlenmesine yol açabilir (30).

2.3.2. Stres

Stresin İBH'nı tetikleyebileceği düşünülmekle birlikte stresin, başlatma faktörü olmaktan çok hastalığın belirtisi olduğu düşünülmektedir. İnsanlarda stresin İBH'nı etkileyebileceği gözlemsel çalışmalarla gösterilmiştir (31).

Uzun dönem strese maruz kalan hastalarda hastalık aktivitesinin şiddetlenmesi stres ile ilişkilendirilmiş ancak kısa dönemde ortaya çıkan stresin hastalığın alevlenmesi üzerine etki etmediği gösterilmiştir. Stres sonucu hastalık oluşumundaki özel mekanizmalar bilinmese de nöronal, endokrin ve immün faktörlerin karmaşık etkileşimine bağlı olduğu düşünülmektedir (32).

2.3.3. Apendektomi

Pek çok epidemiyolojik çalışma apendektomi ile İBH arasında ters yönde bir ilişki olduğunu göstermiştir (33). Yunanistan'da yapılan bir meta-analiz çalışması ile apendektominin, ÜK gelişme olasılığını % 69 oranında azalttığı belirtilmiştir (OR 0.31, % 95 CI 0.25– 0.38) (34).

2.3.4. Genetik Faktörler

İBH için en önemli risk faktörü aile öyküsü varlığıdır. Hastaların yaklaşık %15'inin birinci derece akrabalarında hastalık mevcuttur. Hastalıktan etkilenmiş bireylerin birinci derece akrabalarında ömür boyu İBH gelişme riski % 3-9 olarak tahmin edilmektedir (35). Monozigotik ikizlerde CH'nın ÜK'e göre daha sık görüldüğü saptanmıştır. İBH gelişimine genetik faktörlerin etkisi ile ilgili önemli gelişmeler yaşanmasına karşın, bu konuda bilinenler hala oldukça kısıtlıdır. Belli başlı hastalıklarla tek nükleotid polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi incelemek üzere yapılmakta olan 'Genome-wide association scans' (GWAS) çalışmaları sayesinde İBH için toplam 163 riskli lokus bulunduğu ve bunların 110'unun ÜK

ve CH için ortak olduğu tanımlanmıştır. NOD2 (nucleotide binding oligomerization domain 2) varyant allelini taşıyanlarda bireylerde ileal CH olasılığının dört kat arttığı görülmüştür. NOD2, CH için en riskli lokus olarak belirtilmekle birlikte, ÜK patolojisi üzerine herhangi bir etkisinin olduğunu gösteren yayın yoktur.

Özellikle ÜK hastalığının şiddeti ile genotipik farklılıkları gösteren az sayıda çalışma bulunmaktadır. HLA-DRB1 genotipi tek başına ÜK ya da CH ile ilişkili bulunmazken HLADRB1 (DR13) alleli, pankolit varlığı ile kuvvetli şekilde ilişkilendirilmektedir (36). İBH gen çalışmaları sonucunda Th17/IL23 -mikrobiyal infeksiyonlara karşı oluşan bağışıklık yanıtta görevli bir yolak- gibi hem CH, hem de ÜK için ortak olan veya İBH ile diğer hastalıklar arasında paylaşılan ve belki de olabildiğince hastalığa özgün -ÜK için bariyer bütünlüğü ve CH için otofaji- yolakların bulunduğu düşünülmektedir (37). Son yıllarda yapılan çalışmalar, hastalığa yatkınlık yaratan gen varyantları ile immün, inflamatuvar ve homeostatik yolaklar arasındaki ilişkiye yönelik tedavi seçeneklerini geliştirmeye yöneliktir. NOD2/CARD15 pozitif olgular, doğal bağışıklığı uyaran rekombinant GM CSF (sargramostim) gibi tedavilerden yarar görebilir. GWAS analizleri kullanılarak hangi hastalarda anti-TNF ajanlarının, hangilerinde seçici adezyon molekül antagonistlerinin tedavide kullanılacağına karar verilebilir (22).

Son yıllarda yapılan İBH'nın genetik temellerine özellikle genom ilişkilendirme ile ilgili çalışmalar hastalığın patofizyolojisini anlamamıza yardımcı olmaktadır. 200'den fazla tek nükleotid gen polimorfizmi İBH ile ilişkili bulunmuş ve hastalık riskini arttırdığı gösterilmiştir (38).

2.3.5. İmmunolojik Faktörler

İmmün sistemin sitokin aracılığı ile İBH patogenezindeki rolü hayvan deneyleri ile gösterilmiştir (39). İnflamasyonun pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik nedeniyle olduğu bilinmektedir. İnflamasyonu başlatan ve sürekliliğini etkileyen sitokinler; IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ ve TNF- α 'dır (40). İBH'da görülen lokal inflamasyon ve periferik organ tutulumunda TNF- α 'nın pro-inflamatuvar etkileri, spesifik TNF- α antikörlerinin, bağırsak inflamasyonunu ve piyoderma gangrenozum gibi ekstraintestinal belirtileri azaltması ile net bir şekilde ortaya konmuştur (41). Nükleer Faktör κ B (NF κ B) inflamasyonun ilerlemesinde önemli role sahiptir. Aktif NF κ B pro-inflamatuvar

sitokin salınımını arttırır. İnflamatuvar yanıtta NFκB aktivitesinin düzenlenmesi belirsizdir ancak; TNF-α, Toll-like reseptör (TLR), CARD15 proteini ve bakteri lipopolisakkaridinin doğrudan etkili olduğu bilinmektedir. Bu bağırsak mikrobiyotasının İBH patogeneğinde inflamasyonun başlaması ve ilerlemesindeki rolünü ortaya koymaktadır (42).

2.3.6. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı ve İntestinal Flora

Gastrointestinal sistem insan vücudunun en büyük kommensal bakterini içeren sistemidir. Bakteri konsantrasyonları midede mililitrede $<10^2$ koloni, kolonda mililitrede $>10^{12}$ kolonidir. Normal flora veya fekal hücresel materyalin % 50'si, 400'den fazla tür içerir. Bu bakterilerin çoğuna kültür yapılamamaktadır. Normal bakteriler homeostazis için gereklidir. Kommensal bakterilerin bariyer etkisi bağırsak mukozasına patojenlerin invazyonunu engeller. Bağırsaktaki bakteriler iki büyük gruba ayrılır: *Firmitus*'un temsil ettiği gram negatif bakteriler ve *Bacteriodes*'in temsil ettiği gram pozitif bakterilerdir. Bakteri türlerinin geniş çeşitliliğine rağmen *Clostridium coccoides*, *Eubacterium rectale*, *Clostridium leptum*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Bifidobacterium* ve *Atopobium* türleri baskın gruplardır (42).

Sağlıklı konakta TLR ve hücre içi nod-like reseptör (NRL) ile ilişkili pro-inflamatuvar yollar insan ve bakteri kaynaklı inhibitör moleküller tarafından baskılanır (43). Bakteri florası, insan inflamatuvar hastalıklarında inflamasyonun sürmesine neden olan esansiyel faktörlerden biri olarak görülmektedir. Crohn hastalığında, intestinal T lenfositler, bakteri antijenlerine karşı aşırı aktiftir ve bu hastalarda lokal tolerans mekanizmaları ortadan kalkmıştır. Ayrıca CH ve ÜK hastalarının bağırsak mukozasında, geniş bir bakteri spektrumuna karşı artmış immunglobulin G (IgG) tipinde antikor salınımı mevcuttur. IgG aracılı immünolojik yanıtlar, bağırsak mukozasında hasara neden olabilir, kompleman sistemini ve inflamatuvar mediatör basamaklarının aktive olmasına neden olabilir. Dahası, İBH olan hastaların, bağırsak epitel yüzeylerine daha fazla bakterinin tutunduğunu, bunlardan bazılarının da epitel tabakaları arasında ve hücre içinde bulunduğu gösterilmiştir. Tüm bunlardan anlaşılabileceği üzere, floranın etkisiyle intestinal immün sistemin kontrolsüz aktivasyonu, İBH'nın patofizyolojisinde anahtar rol oynamaktadır.

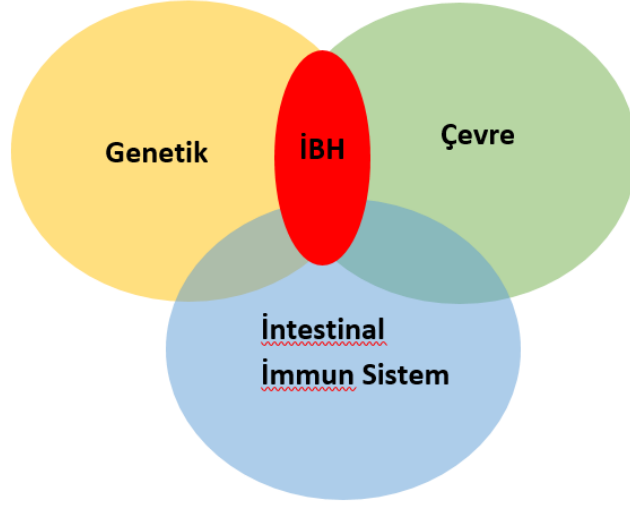
Bazı Crohn hastalarının (%17-25) NOD2/CARD15 geninde mutasyon mevcuttur ve bu gen bakteriye karşı konakçı yanıtının düzenlenmesine etkili olur (44). Çeşitli hayvan modellerinde, farklı tipte immün değişiklikler yapılarak (örneğin; IL-10 ve IL-2 gen "knockout" fareler), insandaki İBH'ya benzer şekilde kontrolsüz intestinal inflamasyon oluşturulabilir. Bu çalışmalar kontrolsüz intestinal inflamasyon gelişimi için, aktif CD4 T hücrelere ve bakteri florasına gereksinim olduğunu göstermektedir (45). CD4+ T hücreleri azaltılan veya mikroorganizmasız ortamda yetiştirilen hayvanlarda, İBH'na benzer hayvan modelleri oluşturulamamıştır. Hayvan modellerinde, bakteri hücre duvarı içeriklerinin enjeksiyonu, kronik granülatöz inflamasyona ve bağırsak dışı bulgulara neden olmaktadır. CH'nda küratif cerrahi rezeksiyon sonrası diversiyon işlemi yapılması ve antibakteriyel tedavi ile intestinal inflamasyonun kontrol altına alması, intestinal bakteri florasının kontrolsüz inflamasyondaki önemini gösteren diğer bulgulardır (46).

Farklı bakteri türleri immüno-inflamatuvar mekanizmalar üzerinde farklı değişikliklere neden olabilir. Bazı anaeroblar kolite sebep olduktan sonra mukozaya yayılır, çeşitli *Bacteroides* türleri ise transmural inflamatuvar lezyon oluşturmaya karşı daha eğilimlidir. İntestinal alevlenmenin engellenmesi ve antibakteriyel tedavinin intestinal inflamasyonu belirgin şekilde kontrol altına alması, intestinal bakteri florasının kontrolsüz inflamasyondaki rolünü gösteren bulgulardır (47).

Enterik bakterilerin fibrojenik kapasiteleri farklıdır ve bu da oluşturdukları inflamatuvar yanıtın tipi ile ilişkilidir. Bazı aerobik bakteriler fokal apse alanlarını çevreleyen akut inflamasyonu tetiklerken, sebep oldukları lokal kolajen birikimi önemsizdir. Bazı anaeroblar ise (*Bacteroides fragilis*, *Bacteroides uniformis* ve *Clostridium ramosum*) hafif bir granülosit yanıtına sebep olurken, dokularda kolajen birikimiyle giden yaygın bir mononükleer hücre infiltrasyonuna da yol açabilirler (47).

2.4. Patogeneze

Birçok araştırmacı, intestinal mukozada inflamasyona sebep olan çevresel faktörlerin genetik olarak duyarlı kişilerde geliştiği konusunda hemfikirdir. Bu genetik etkinin inflamasyonun devam etmesindeki büyük rolü vardır. İBH'nın alt tiplerinde muhtemelen farklı bağırsak florasının düzenlediği farklı genetik ve çevresel faktörler rol oynamakta ancak hepsinde benzer klinik semptomlara neden olmaktadır (**Şekil 2**).



Şekil 2: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının multifaktöriyel patogenezi

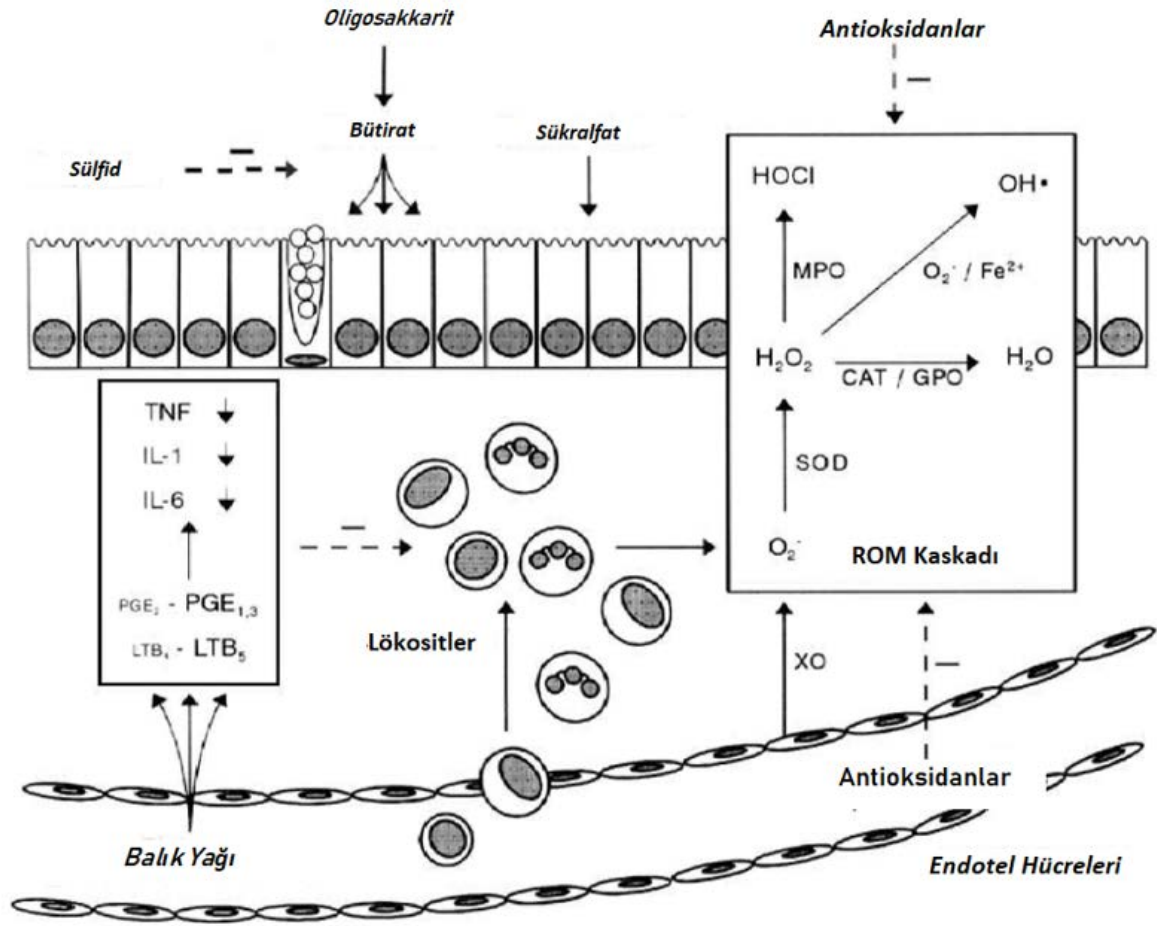
Gastrointestinal sistemde immün olayların gerçekleştiği alan mukozanın lamina propria tabakasıdır. Lamina propria'ya ulaşan antijenler antijen sunan hücrelerce değerlendirilerek 'T-helper' (Th) lenfositlere sunulur. Bu hücrelerarası etkileşimde $TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$ ve bir dizi sinyalizasyon molekülünün rolü vardır. T-helper lenfositler özellikle IL-17, IL-23, IL-4, IL-10 aracılığıyla Th1, Th2 veya Th17 yönüne farklılaşma gösterir. Th1 yönüne farklılaşan hastalarda hücresel immün yanıtın daha baskın olduğu CH fenotipi, Th2 yönünde farklılaşanlarda ise humoral immün yanıt baskın ÜK fenotipi görülür. Eğer farklılaşma Th17 yönüne olursa immün yanıt azalarak söner (3).

Bağırsak homeostazını sağlamak için normal mukozal immün sistem; pro- inflamatuvar, anti-inflamatuvar, düzenleyici sitokinler ve inflamatuvar mediyatörler arasında bir denge kurmuştur. T 'helper' yönünde farklılaşma bunu sağlar. İnflamasyon yönüne farklılaşma İBH'da tipiktir. Bu farklılaşmayı takiben inflamasyon alanındaki endotelde başlıca hücrelerarası hücre adezyon molekülü-1, mukozal adesin hücre adezyon molekülü-1 gibi mukozal adesinler belirir. Daha sonra bu bölgeye lökosit göçü başlar, inflamasyon alanına göçen lökositler, enterositlerin membranında prostaglandin, lökotrien, platelet aktive edici faktör, reaktif oksijen radikalleri sentezlenmesine sebep olur ve inflamasyon artarak genişler (5).

İnflamasyona bağlı mukozal mukus kaybı, ülserasyon, erozyon, kolon bezlerinin distorsiyonu, goblet hücrelerinin azalması, mukoza ve submukozada ödem, mukoza ve submukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonu, kript absesi, granülom formasyonu aktif İBH'nın histolojik bulgularıdır (48).

2.5. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı ve Oksidatif Stress

İmmun sistem hastalıkları, nörolojik hastalıklar, akciğer ve karaciğer hastalıkları, ateroskleroz, iskemik hasar, karsinogenez, ürolojik hastalıklar gibi birçok durumda olduğu gibi, İBH'nın patogenezinde de inflamatuvar hücreler tarafından oluşan mukozal oksidatif stres ve redoks dengesinin bozulması önemli rol oynar. Reaktif oksijen metabolitlerinin(ROM) üretimi, nötrofil infiltrasyonu ve kolitin aktivasyonuna eşlik eder (49). *In vivo* yapılan deneylerde oksidanların inflamasyona aracılık ettiği bilinmektedir. Meckenzie ve arkadaşlarının yaptığı (50) *in vitro* bir çalışmada GPx seviyesinin kolon kript hücrelerinde azalması ile Hipokloröz asit (HOCl)'e bağlı doku hasarının oluştuğu gösterilmiştir. İnflamasyonun gelişiminde bağırsak mukozasına göç eden inflamatuvar hücreler, burada oksidanları ve birtakım proteazları salarak mukozal hasara neden olurlar. Bağırsakta kronik inflamasyonun başlamasına ve devam etmesine katkısı olan oksidatif strese neyin sebep olduğu hala bilinmemektedir. *In vivo* deneysel modeller ve insan inflamatuvar bağırsak hastalıklarında, ROM'un artmış olduğu ve bunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, İBH hastalarının kolon biyopsilerinde MDA ve 4-hidroksi-nonenal seviyelerinin yükselmesi, etan solunumu ve pentan boşaltımının artması, yüksek lipid peroksidasyonunun bir kanıtıdır. ROM'lar ile oluşan protein hasarı ile ilgili olarak, hücre ve dokuların karbonil içeriği, oksidatif protein hasar belirleyicisi olarak kullanılmaktadır. Proteinlerdeki tirozin kalıntılarının nitrasyonu sonucu oluşan, 3-nitrotirozin ise peroksinitrit ile modifiye olmuş proteinlerin belirteci olarak kullanılır. ÜK'li hastaların kolon biyopsilerinde proteinlerin karbonil içeriğinin arttığı ve esas olarak lamina propriadaki mononükleer hücrelerde 3-nitrotirozin sentezinin arttığı immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir (51).



Şekil 3: İnflamatuvar bağırsak hastalığında oksidan hasar ve antioksidan etkileri(52).

CAT: Katalaz, GPO: Glutasyon peroksidaz, MPO: Myeloperoksidaz, SOD: Süperoksit dismutaz, XO: Ksantin oksidaz

Reaktif oksijen metabolitlerinin üretimi (**Şekil 4**), süperoksit oksijen ($O_2^{\cdot -}$) molekülünün bir elektron indirgemesi ile başlar. Kendisi de orta düzeyde oksidan olan $O_2^{\cdot -}$ süperoksit dismutaz ile reaksiyona girerek daha reaktif bir oksidan olan hidrojen peroksit (H_2O_2) metabolize olur.

Daha uzun yarı ömürlü ve kolaylıkla difüze edilen H_2O_2 hücre içinde katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri ile suya dönüştürülerek vücuttan uzaklaştırılabildiği gibi, ikincil ROM'leri olan hidroksil ($OH^{\cdot}$) ve $HOCl^{\cdot}$ ye metabolize olabilir. Metaller ile katalizlenen bir

dizi reaksiyon ile OH⁻ çok güçlü bir reaktivite kazanarak bir çok molekül ile etkileşebilir. Hipokloröz asit aktif fagositler tarafından MPO ile aktive edilen güçlü bir ROM olup oksitleyici ve klorlayıcı etkilere sahiptir. Ayrıca, HOCl proteaz inhibitörlerini (α -1 antitripsin gibi) inaktive ederek proteaz-antiproteaz dengesini bozması sonucu ekstrasellüler matriksin bozulmasına ve mukoza hasarına neden olur (52).

2.6. Histopatoloji

Ülseratif kolitte CH'dan farklı olarak hedef doku sadece kolon olup, sadece kolonun mukoza ve submukozasında inflamasyona neden olur. Daha derin dokular fulminan hastalık haricinde tutulmaz. Lezyonda tutulum devamlı ve simetrik, normal mukoza görülmez. (29). Hastalık sadece rektuma (proktit), sigmoid kolona yayılarak sigmoid kolonu (proktosigmoidit), splenik fleksuraya kadar olan bölgeyi (sol kolon), transvers kolonu (yaygın tutulum), ya da çekuma kadar tüm kolonu (pankolit) tutabilir. Hastaların %40-50'inde proktit veya proktosigmoidit, %20'sinde pankolit %30-40 kadarında ise sol kolon tutulur. Hastalık distalde daha şiddetli seyrederek (53).

Pankolitli olguların %18'inde "backwash ileitis" şeklinde terminal ileumda inflamasyon görülebilir (54). Eğer yeter şekilde tedavi edilmezse anatomik lokalizasyon proksimale doğru yayılım gösterebilir. Histopatolojik olarak aktif ÜK'te mukoza ve mukozal ülserasyon, submukozal ödem, lamina propria plazma hücresi, nötrofil infiltrasyonu, kriptlerde distorsiyon, kript apseleri ve kript düzeninde bozulma görülür. Kript apseleri ÜK'i CH'ndan ayıran en önemli özelliktir. Uzun süreli hastalıkta kolon mukozasında displastik değişiklikler gelişebilir; kolon kanseri açısından risk artmıştır (55).

Kronik hastalıkta psödopolipler görülür. Psödopolipler lümene uzanan mukozanın rejenerasyonu ve proliferasyonu ile karakterize inflamatuvar oluşumlardır ve malignleşme riski çok azdır. Ülseratif kolitte görülmekle birlikte CH'da da görülebilir. Psödopolipler ÜK'in lokal komplikasyonu olup sayılca rektumdan proksimale doğru artış gösterir (56).

CH ağızdan anüse kadar sindirim kanalının herhangi bir yerini tutabilen kronik granülomatöz inflamatuvar bir hastalıktır. En sık terminal ileumu tutar. Genellikle kolon ve ileum tutulumu birliktedir. CH terminal ileum ve sağ kolonu %40 oranında tutarken; izole ince bağırsak ve izole kolon tutulumu %30'dur (54). Proksimal gastrointestinal sistem

tutulumu yaklaşık %5'tir. Granülomlar daha çok submukozal yerleşimli olmakla beraber muskularis mukoza ve serozada, mezenterde ve lenf bezlerinde de görülebilen kazeifiye olmayan lenfoid birikimlerdir. Kazeifiye olmayan granülomlar CH'nın en önemli histolojik bulgusu olmakla birlikte çoğu hastanın biyopsi örneğinde granülomlar gözlenmez (48). CH'nda inflamasyon transmuraldir ve segmental tutulum görülür. Akut dönemde genellikle aftöz ülserler, bağırsak uzun eksenine paralel derin ülser alanlar, asimetric inflamatuvar bulgular gözlenir. Uzun dönemde segmental lezyonlar bağırsakta kısalmaya ve darlıklara sebep olur. Derin ülserler nedeniyle mukozada hastalığa özgü "kaldırım taşı manzarası" oluşur. İnflamatuvar sürecin komşu organ duvarı boyunca ilerlemesi ve batin duvarından dışarı ulaşması fistülle sonuçlanır. Bağırsak duvarına penetre olan ülserler aynı zamanda apse oluşumuna da neden olabilir. Apseler Crohn hastalarının %15-20'sinde ve genellikle terminal ileumda görülür. Fistüller ise en çok komşu bağırsak anslarına, mesane, vajina, uterus, ve peritona olur (57).

2.7 Klinik

İBH tanı kriterleri Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Derneği (ESPGHAN) tarafından yayınlanmıştır (58). ESPGHAN dört hafta ya da daha uzun süreli ya da altı ay içinde iki kez ya da daha fazla karın ağrısı, ishal, hematokezya ve kilo kaybı varlığında İBH'ndan şüphelenilmesi gerektiğini belirtmiştir. Karın ağrısı, kilo kaybı, ishal ve iştahsızlık İBH'nda en çok görülen belirtiler olmasına karşın ÜK ve CH'nın temel belirtileri birbirinden farklılık göstermektedir. Hastalığın klasik bulgusu olarak kabul edilen karın ağrısı, ishal ve kilo kaybı hastaların ancak %25'inde görülmektedir (59). Hastalığın diğer belirtileri arasında ateş, malnütrisyon, büyüme geriliği, bulantı ve/veya kusma, eritema nodozum, artropati ve ikincil amenore bulunmaktadır. Birinci dereceden akrabalarda İBH öyküsünün bulunması özellikle çocuk hastalarda İBH kuşkusunu arttırmaktadır.

2.7.1. Ülseratif Kolit

ÜK genellikle rektumun proksimalinden başlayan, kronik tekrarlayıcı inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. Hastalar tipik olarak kronik ishal (% 90), rektal kanama, hematokezya (% 90), periumblikal veya sol alt kadrana lokalize karın ağrısı yakınmaları ile başvururlar. Karın ağrısı genellikle dışkılama öncesi, ishale birlikte kramp tarzındadır, ancak şiddeti CH'nda olduğundan daha hafiftir. Dışkılama sık ve sulu olup sabah, yemekten sonra ve gece

görülebilmektedir. Şiddetli olgularda kilo kaybı olsa da lineer büyüme etkilenmemiştir. Ekstraintestinal bulgulara ÜK'te, CH'na göre daha nadir rastlanmaktadır (60).

Klinik semptomların şiddeti farklılık göstermektedir. Çocuk ve adolesanların %50'sinde hafif hastalık tablosu söz konusudur: günde dört kezden daha az dışkılama, sadece aralıklı hematokezya olup sistemik semptomlar ve ağırlık kaybı daha hafiftir. Fizik muayene bulguları genellikle normaldir, karın palpasyonunda hafif bir hassasiyet olabilir. Dışkıda makroskopik olarak çizgi şeklinde kanama veya gizli kan pozitifliği görülebilir. Daha ağır hastalık tablosunun görüldüğü hastaların 1/3'lük kısmında kilo kaybı, dışkılama sıklığında artış ve sistemik bulgular belirgindir. Laboratuvar bulgularında orta derecede lökositoz, hafif anemi ve akut faz reaktanlarında yükselme görülebilir. Pediatrik ÜK hastalarının % 10-15'i akut fulminan hastalık tablosu izlenir: Ateş, derin anemi, hipoalbuminemi, lökositoz ve beş gün boyunca beşten daha fazla kanlı dışkılama fulminan koliti düşündürmelidir.

Hafif şiddette hastalığı olan hastaların %90'ından fazlasında ilk ataktan sonra remisyon görülür. Ancak bazı hastalarda semptomları kontrol altına almak mümkün olmayabilir. Ağır şiddette atak geçirenlerin genel durumları iyi değildir; karında distansiyon, timpanizm, bağırsak seslerinde azalma görülebilir. Sıvı kaybı, elektrolit dengesizliği, özellikle hipokalemi ciddi sorun oluşturabilir. Demir eksikliği anemisi kronik kan kaybı kadar, azalmış alımın da bir sonucudur. Folat eksikliği folat emilimiyle etkileşen sülfasalazin ile tedavi edilmekte olan çocuklarda görülebilmektedir. Kronik inflamasyon eritropoezi etkileyerek kronik hastalık anemisine sebep olabilir. Büyük kızlar çocuklarında hastalığın aktif dönemleri sırasında ikincil amenore sık gözlenmektedir. Ülseratif kolitin aktivite derecesinin belirlenmesi için çocuklarda Pediatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (PUKAI) kullanılmaktadır. Skorlama <10 remisyon, >35 hafif, <65 orta, ≥65 şiddetli enfeksiyon olarak değerlendirilir (61) (**Tablo 3**).

Tablo 3 : Pediatrik Ülseratif Kolit Aktivite İndeksi (PUKAİ) (61)

Ölçütler	Puan
Karın ağrısı	
Yok	0
Önemszenmeyen ağrı	5
Önemsenen ağrı	10
Rektal kanama	
Yok	0
Az miktarda kan (dışkıların< %50)	10
Az miktarda kan (dışkıların çoğunda)	20
Çok miktarda kan (dışkı içeriğimin > %50)	30
Dışkı kıvamı	
Şekli	0
Kısmen şekilli	5
Tamamen şekilsiz	10
24 saatteki dışkılama sayısı	
0-2	0
3-5	5
6-8	10
>8	15
Gece dışkılama	
Yok	0
Var	10
Aktivite düzeyi	
Aktivitede kısıtlama yok	0
Aktivitede sınırlı kısıtlılık	5
Belirgin olarak kısıtlanmış aktivite	10
Toplam	0-85

2.7.2. Crohn Hastalığı

Başlangıç semptomları ÜK'e göre daha sinsidir, tutulum yerine ve yaygınlığına göre değişiklikler gösterir. Karın ağrısı başlangıçta en sık rastlanan tek semptomdur, hastaların % 75'inde gece uykudan uyandıran karın ağrısı görülür. Terminal ileum veya çekumu tutan hastalıkta sağ alt kadrana vuran ağrı; kolon veya yaygın ince bağırsak tutulumunda periumblikal ağrı siktir. Akut gelişen ağrıda, akut apendisitten ayırıcı tanısını yapmak önemlidir. İshal, etkilenen hastaların 2/3'sinde görülür, ağır ve noktürnal olabilir. İshalde sol kolon tutulumu olmadıkça kan gözlenmez, dışkıda kan perianal fissürü düşündürmelidir. Ateş, bulantı, kusma, yorgunluk, iştahsızlık dışında Crohn hastalığında; kilo kaybı, büyüme hızında yavaşlama ve puberte gecikmesi, ÜK'e göre daha sık görülür. Boy kısalığı intestinal semptomlardan önce saptanabilir. Boya göre ağırlık normal olduğu halde, yaşa göre boy kısa olabilir. İştahsızlık ve proinflatuvar sitokinlere ikincil kronik beslenme bozukluğunun büyüme geriliğine yol açtığı düşünülmektedir. Anal muayenede fissür, fistül veya "skin tag"ların eşlik ettiği perianal inflamasyon görülebilir (62).

Enteroenterik ve enterokolik fistüller genellikle yakınmaya neden olmaz, ancak debisi yüksek ise emilim bozukluğuna veya bakteriyel aşırı çoğalmaya yol açabilir. Enterovezikal fistüller ileum veya sigmoid kolondan köken alırlar ve idrar yolu enfeksiyonu, pnömotüri veya fekalüri gibi bulgulara yolaçarlar. Enterovajinal fistüller rektumdan köken alır, dışkılı vajinal akıntıya yol açar ve tedavileri zordur. Entreokutanöz fistüllere sıklıkla daha önceki bir cerrahinin sızıntılı anastomozu sebep olur. Anorektal apseler hemen anüsün üzerindedir, Morgagni kriptlerinden köken alır. Perianal apse genellikle ağrılıdır. Pürülan akıntı perianal fistüllerle ilişkilidir. Bağırsak fistüllerine bağlı psoas apsesi; kalça ağrısı, kısıtlı kalça eklem ekstansiyonu ve ateş ile kendini gösterir. Crohn hastalığında tedaviye cevabı değerlendirmek için Pediatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi (PCDAI) geliştirilmiştir. **(Tablo 4)** Skor <10 remisyonda, 10-27,5 hafif, 30-37,5 orta, >40 şiddetli hastalık olarak değerlendirilir (63).

Tablo 4: Pediatrik Crohn Hastalığı Aktivite İndeksinin(PCHAI) Hesaplanması

KLİNİK BULGULAR				PUANLAMA
<u>Karın Ağrısı</u>				
• yok				0
• Orta (aralıklı, günlük aktiviteyi kısıtlamayan)				5
• Şiddetli (sık tekrarlayan, devamlı, günlük aktiviteyi kısıtlayan)				10
<u>Dışkılama (sarı/gün)</u>				
• 0-1 sulu ,kan yok				0
• 2-5 sulu ya da en fazla 2 şekilsiz hafif kanlı				5
• Şiddetli (şiddetli kanama, >6 sulu veya nokturnal ishal)				10
<u>Önceki 7 gün içinde aktivite durumu</u>				
• Aktivite kısıtlaması yok				0
• Yaşa göre aktiviteleri yapmada ara sıra zorlanma				5
• Yaşa göre aktiviteleri yapmada belirgin zorlanma				10
FİZİK MUAYENE				
<u>Vücut Ağırlığı</u>				
• Kilo kaybı yok ya da istemli kilo kaybı				0
• %1-9 istemsiz kilo kaybı				5
• >%10 istemsiz kilo kaybı				10
<u>Boy</u>				
• Boy uzama hızı >-1 SD				0
• Boy uzama hızı <- 1SD >-2 SD				5
• Boy uzama hızı <-2 SD				10
<u>Karın Muayanesi</u>				
• Normal				0
• Hassasiyet ya da hassasiyet olmaksızın kitle varlığı				5
• Hassasiyet, defans, abdominal kitle varlığı				10
<u>Anorektal Lezyon</u>				
• Normal, asemptomatik polip				0
• 1-2 adet drene olmayan fistül,abse				5
• Aktif fistül,abse				10
<u>Ekstraintestinal Komplikasyon</u>				
Haftanın üç günü >38,5 C ateş, artrit, üveit, eritema				
• Yok				0
• Biri var				5
• İki'den fazla var				10
LABORATUVAR				
<u>Hct</u>				
<10 yaş	11-14	11-19 yaş (Kız)	15-19 yaş	
≥33	yaş(Erkek)	≥34	(erkek)	0
28-33	≥35	29-33	≥37	2,5
<28	30-34	≥29	32-36	5
	<34		≥32	
<u>Sedimentasyon</u>				
<20				0
20-50				2,5
>50				5
<u>Albümin (g/L)</u>				
>35				0
31-34				5
<30				10

2.8. Laboratuvar Bulguları

İBH tanı ve ayırıcı tanısında kullanılabilecek laboratuvar testlerinin başında hemogram, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP), total protein ve albümin yer almaktadır. Öyküsü İBH ile uyumlu bir hastada anemi varlığı, akut faz belirteçlerinin (lökosit, trombosit, ESH ve CRP) yüksek olması İBH'nı düşündürmelidir. Akut faz belirteçlerinden özellikle CRP, İBH'na benzer klinik bulgularla seyreden ve inflamatuvar olmayan bağırsak hastalıklarının ayırt edilmesinde faydalı olabilir. Ancak İBH olgularında bazen alevlenme anında bile akut faz belirteçlerinin normal olabileceği akılda tutulmalıdır (58).

Laboratuvar testlerinin tanıdaki rolüyle ilgili çalışmalar, birden fazla test sonucunun bir arada değerlendirilmesinin tanısal açıdan daha yararlı olacağını göstermektedir; örneğin anemi ve trombositoz birlikteliğinin İBH açısından pozitif prediktif değeri %90 negatif prediktif değeri %81 bulunmuştur (58). İBH'ndaki anemi demir eksikliği, vitamin B12, folik asit eksikliği ya da kronik hastalık anemisine bağlı olabileceğinden eritrosit morfolojisi mikro, makro ya da normositer olabilir (64).

Hipoalbuminemi CH'nda ÜK'e göre daha sık gözlenmektedir. Hipalbuminemi sıklığı CH'nda %65, ÜK'te %15 düzeyindedir (64). Karaciğer enzimleri bağırsak dışı komplikasyonları arasında yer alan sklerozan kolanjiti ayırt etmekte yararlı olabilir.

Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antikor ve anti-nükleer sitoplazmik antikor İBH'nda saptanabilen immünolojik belirteçlerdir (65). Bu testlerin rutin tarama testi olarak kullanımı önerilmemektedir (58).

Özellikle ishal yakınmasıyla başvuran hastalarda dışkı incelemesi yapılmalıdır. Dışkı direkt incelemesinin yanı sıra dışkı kültürü enfeksiyöz nedenlerin ayırt edilmesi için gereklidir. Dışkıda *Clostridium difficile* toksininin saptanması ve *Entamoeba histolytica* açısından inceleme yapılması bu patojenlerin tanı ve tedavisine katkı sağlar. İBH'nın enfeksiyöz ishallerden sonra görülebilmesi nedeniyle dışkıda patojen saptanması İBH'nı kesin olarak dışlamaz (66-68).

Ağırlıklı olarak nötrofillerde, daha az olarak da makrofaj ve monositlerde bulunan kalsiyum bağlayıcı sitozolik bir protein olan kalprotektinin İBH tanı ve tedavisinin izleminde,

hastalık aktivitesinin ve nükslerin belirlenmesinde invazif olmayan bir belirteç olarak kullanımıyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır (69).

2.9. Tedavi

Kısa dönem tedavi hedefleri karın ağrısı ishal gibi semptomları azaltmak iken uzun dönemde komplikasyonları en aza indirerek hastalık seyrini hafifletmektir. Buna yönelik hastaya uygun farmakolojik, nütrisyonel ve gerekirse cerrahi yaklaşım önerilir. Büyümenin yeterli olması tedavi başarısının önemli bir ölçütüdür. Sonuç olarak, hastanın yaşam kalitesi arttıran, yan etkiye en az sebep olacak tedavi rejimleri belirlenmelidir. Terapötik rejimin sadeliğini sağlamak yaşam kalitesini arttırırken tedaviye uyumu en üst düzeye çıkarır (59).

2.9.1. Farmakolojik Tedavi

Sulfasalazin ve Oral 5-aminosalisilik asit

İBH'nın temel tedavi ajanı, hem remisyonu sağlamada hem de sürdürülmesinde kullanılan anti-inflamatuvar etkili aminosalisilatlardır. Doza bağlı yan etkilerde tedavi bir süreliğine durdurulurken, alerjik yan etkilerde tedavi kesilmelidir. Sülfasalazinin kontrendike olduğu hastalarda kullanılmak üzere yeni 5-ASA taşıyıcı sistemleri oluşturulmuş ve kullanılmaya başlanmıştır (Olsalazin, mesalamin, balsalazid gibi). Bu ilaçların yan etki sıklığı %5'in altındadır ve sulfasalazin kullanamayan hastaların %90'ında güvenli kullanım sağlar. Tedavi etkinliği bakımından sulfasalazin ve diğer 5-ASA bileşikleri farklılık göstermez ancak, sulfasalazin çok daha ucuzdur. Bu nedenle ilk tedavi seçeneği sulfasalazin olmalıdır (54, 70-72).

Kortikosteroidler

Oral kortikosteroidler (KS) remisyonu sağlayıcı tedavide etkili iken remisyonun sürdürülmesinde kullanılmamaktadır. Remisyonun sağlanmasında tedavide en yaygın kullanılan immunosupresif ilaç kortikosteroidlerdir. Olguların %20-30' unda steroide yanıt alınamaz, doz bağımlılığı gelişebilir ya da yan etkiler ortaya çıkabilir. Yeni geliştirilen steroidlerde (örneğin budesonid) steroidlerin bilinen yan etkileri azaltılmıştır. KS tedavisi fekal kalprotektin düzeyini azaltabilir ancak negatifleştirmez. Bu nedenle hasta klinik remisyonda ise kalprotektin düzeyi KS tedavi devamı için değerlendirilmemelidir. En önemli yan etkilerinden biri olan lineeer büyümede azalma, alternatif günlük kullanımla ortadan

kalkar. Kortikosteroidler intestinal kalsiyum Emilimini azaltırken ürener kalsiyum atılımını artırırklar, sekonder hiperparatiroidizm ve kemikte kalsiyum kaybı oluşur. D vitamini ve kalsiyumun diyetle eklenmesi ile bu etki azalır. Hiperkalsiüri, aseptik nekroz, göz komplikasyonları, enfeksiyona duyarlılık yönünden hastaların izlenmesi gerekir. Kortikosteroidle yanıt alınamayan hastalarda siklosporin veya takrolimus kullanılabilir. Bunlar, T ‘helper’ hücrelerde IL-2 üretimini baskılayarak hücresele immüniteyi inhibe ederler. Nefrotoksisite, parestezi, hipertrikoz, tremor, bulantı, kusma diğere yan etkileri arasındadır (73).

Antibiyotikler ve Probiyotikler

Metronidazol ve siprofloksasin; perianal lezyon, fistül, abse, CH’nın ve ÜK’in remisyona girmesini kolaylaştırıcı olarak, ÜK’de operasyon komplikasyonu olan ‘poşitis’ tedavisinde kullanılır (53).

Probiyotiklerin etkinliği çocuk ve yetişkin ÜK olgularında ‘VSL #3’ (probiyotik karışımı) ve ‘*Escherichia coli* Nissle’ için gösterilmiştir. Probiyotikler immunsuprese bireylerde dikkatli kullanılmalıdır. Katater ilişkili sepsis bildirilmiştir. Ayrıca bulantı, şişkinlik, probiyotik kullanımı sırasında görülebilmektedir (74, 75).

İmmünmodülatörler

Tiyopürinler (azatioprin ve 6-merkaptopürin), çocuklarda ÜK remisyunun sürdürülmesi için 5-ASA kullanamayan veya tedavi yanıtı alınamayan, sık alevlenmelerle seyreden, steroide bağımlı olan olgularda sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak remisyunun sağlanmasında etkisizdirler. Etkileri geç başlar (ortalama üç ay). Tiyopürinlerin dozdan bağımsız yan etkileri; ateş, bulantı, kusma, ishal, pankreatit, döküntü ve artraljidir. Doza bağılı yan etkileri ise lökopeni, trombositopeni, enfeksiyonlar ve hepatittir (76). Enfeksiyon en korkulan komplikasyon olup, ciddi enfeksiyonlar nadir olarak görülür (77, 78). İmmunsupresif tedavi alacak hastalara inaktif aşılar uygulanmalı, pnömokok, HPV ve yıllık influenza aşıları yapılmalıdır (79).

Thiyopürinler Non-Hodgkin lenfoma riskini ortalama dört kat artırır. Ancak bu risk yaş küçüldükçe azalır (80). Bunun yanında hepatosplenik T hücreli lenfoma riski tek başına

azotiyopürin ve anti-TNF ajan ile kombinasyonunda genç erişkinlik döneminde özellikle erkeklerde artış göstermektedir (81).

Metotreksat DNA sentezini, folik asidin tetrahidrofolata dönüşümünü inhibe ederek azaltır. Ayrıca IL-1 üretimini azaltarak ve T hücre topluluklarının apoptozunu artırarak antiinflamatuvar etki gösterir. Potansiyel yan etkileri nedeniyle henüz geniş pediatrik serilerde yapılan klinik çalışmalar bulunmamaktadır (53).

Oral takrolimus tedavisi çocuklarda akut ciddi kolit tedavisinde (kolektominin önlemesinde) kısa süreli etki sağlamaktadır (82). Bunun yanında akut ciddi koliti olmayan çocuklarda steroid bağımlılığından koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Ancak bu konuyla ilgili daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır (83).

Enteral ve/veya Parenteral Beslenme

Beslenme tedavisi, birincil olduğu kadar yardımcı da olan etkili bir tedavidir. Diyetle esas hastaya idame ve yeterli büyümeyi ve ağırlık artışını sağlayacak total kalori, protein, mikrobesleyicileri içeren uygun besinlerin verilmesidir. Sıvı beslenmede ilave besinleri verirken uygun beslenmeye engel olmamak amacıyla iştahın kesilmemesine dikkat edilmelidir (84).

Son yıllarda glutaminin enterosit yenilenmesindeki etkisi düşünülerek tedavide glutaminden zengin formüller kullanılmış, ancak farmakoterapiye üstünlüğü gösterilememiştir (85). İlave beslenme desteği parenteral yolla veya polimerik enteral ürünlerle enteral yolla verilebilir. Polimerik enteral ürünlerle beslenmenin ÜK'in primer tedavisinde yararı henüz gösterilememiştir. Buna karşın, sıvı diyet tedavisi aktif CH' nda kortikosteroid tedavisine alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Biyolojik Ajanlar

Biyolojik ajanların en önemlileri intraselüler adezyon molekülü-1'e karşı geliştirilen antisens oligonükleotidler, IL-10 tedavisi, antikor bazlı tedavi ve rekombinant proteinlerdir. Bunlar içinde en ümit verici tedavi anti TNF- α (Infliximab) tedavisidir. TNF- α intestinal inflamasyonda birçok basamakta rol oynayan anahtar sitokindir. Infliximab, spesifik olarak TNF- α ' ya bağlanan IgG-1 izotipinde anti-TNF- α monoklonal antikorudur ve TNF- α 'nın

etkisini doza bağılı olarak nötralize eder. İlaça cevap ikinci haftada başlayıp 12 hafta sürer. Özellikle fistüllü CH’nda yeni ve umut vaad eden tedavi seçeneği olarak gözükmektedir (86).

2.9.2. Cerrahi Tedavi

Ülseratif Kolit’te cerrahi tedavi; medikal tedaviye yanıt vermeyen akut fulminant kolit, kronik persistan semptomlar, sessiz hastalık seyrinde, perforasyon, toksik megakolon gelişimi kontrol kolonoskopide displazi saptanan hastalarda düşünülmelidir. CH’nda ise cerrahi tedavi; medikal tedaviye dirençli semptomlar ve intestinal komplikasyonlar olan obstrüksiyon, serbest perforasyon, intraabdominal abse, enteroveziküler fistül, veya kalıcı hemoraji durumlarında düşünülmelidir. Ancak CH için cerrahi tedavi kür edici değildir, anastomoz proksimalinde hastalık tekrarlayabilir. Cerrahi sonrası semptomatik tekrarlama riski; ileostomi ile yapılan operasyonlarda, uygun immünosüpresif ve nütrisyonel tedavi başlanan hastalarda r daha düşük görülmektedir (87-89).

2.10. Dekstran Sülfat Sodyum ile Oluşturulmuş Kolit Modeli

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, çeşitli fenotipik alt tipleri ve klinik görünümleri olan, multifaktöriyel bir etiyopatogeneze sahip çok heterojen bir bozukluktur. Bu sebeple İBH tablosunu oluşturan çok sayıda hayvan modeli bulunmaktadır. Bunlar; spontan kolit modelleri, genetik olarak modifiye modeller (transgenik veya gen hedefli fare suşları), adoptif hücre transferi ve kimyasallar yoluyla oluşturulan modelleridir. Bu modeller, insan hastalıklarının karmaşıklığını tam olarak yansıtmamasına rağmen, ülseratif kolit patogenezinin neden olan faktörleri ve farklı terapötik ajanların etkilerini araştırmak açısından önemlidir. Kimyasallar yoluyla oluşturulan hayvan modelleri, hastalığı kolay olarak oluşturması, inflamasyonun başlangıç, ilerleme ve şiddetinin kontrol edilebilir olması bakımından en çok kullanılan modeller arasındadır (89-91).

Dekstran sülfat sodyum, ilk defa 1985 yılında Ohkusa ve arkadaşları tarafından hamsterlarda kolit oluşturmak amacıyla kullanılmış ve daha sonra farelerde denenmeye başlamıştır. Günümüzde kolit patogenezinin ve etkileyen faktörleri araştırabilmek için DSS ile oluşturulan kolit modelinin kullanıldığı pek çok çalışma vardır. DSS ile oluşturulan kolit modeli, DSS’nin molekül ağırlığı, konsantrasyonu (çoğunlukla %1-%5), uygulama süresi

(C3H / HeJ ve Balb / c fareler suşları daha duyarlı), deneğin cinsiyeti (erkek fareler daha duyarlı) ve hayvanların mikrobiyolojik ortamı ile ilişkilidir (91). DSS ile oluşturulan kolit modelinin diğer modeller ile karşılaştırıldığında bazı avantajları vardır. Akut, kronik, nüksedici ve karsinogenez modelleri, uygulanan DSS'nin konsantrasyonunun değiştirilmesi yoluyla kolaylıkla oluşturulabilmektedir (92).

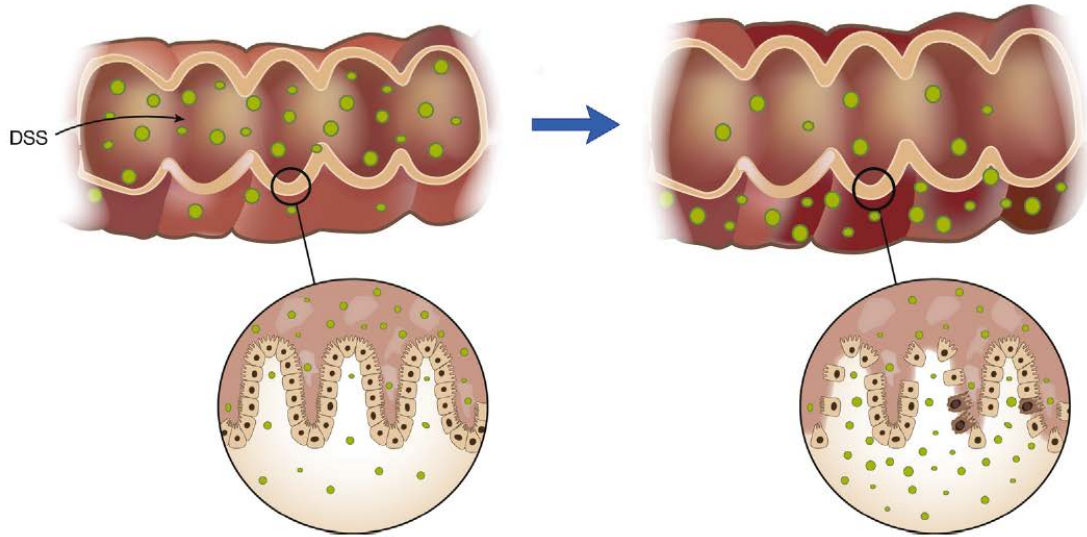
Dekstran sülfat sodyum 5 kDa'dan 1400 kDa'a kadar farklı moleküler ağırlıklarda bulunabilmektedir. DSS'nin moleküler ağırlığı kolitin uyarılması açısından önemli bir faktördür (93). BALB/c farelerde en şiddetli kolit 40 kDa'luk DSS uygulandığında gözlemlenmiştir; 5 kDa'luk DSS verilmesi ise, daha hafif bir kolit gelişimi ile sonuçlanmıştır. 40 kDa'luk DSS'nin hücrelerce alınımı ve dokulardaki dağılımının histokimyasal analizleri, DSS'nin bağırsak epitel hücre membranlarından nüfuz ettiği gösterilmiştir. DSS vücuttan idrar ve feçes yoluyla atılmaktadır (93).

Akut kolit genellikle % 2-5'lik DSS'nin sürekli olarak genellikle 4-9 gün süreyle uygulanmasıyla oluşturulur. Akut fazda DSS ile oluşturulan kolitin klinik belirtileri; ağırlık kaybı, diyare, dışkıda gizli kan, piloereksiyon ve anemidir. Tipik histolojik değişiklikler ise, münin artışı, epitel dejenerasyonu, nekroz, lamina propria ve submukozada nötrofil infiltrasyonu, kript apseleri ile mukozal ve submukozal inflamasyondur. Nötrofillerin mukozal epitelde kriptlerin lümenine geçişi, kript apselerinin oluşumuna neden olur. Kript apseleri insanlardaki hastalığın yaygın görülen bir histolojik özelliği olmasına karşın, DSS ile oluşturulan akut kolitte nadiren gözlenmektedir (94).

Farelerde DSS kolit patogeneğinde bağırsak florasının da etkili olduğunu gösteren bazı çalışmalar vardır. Okayasu ve arkadaşları (1990) (95), kolit modelinde kolondaki bakteriler ve onların ürünlerinin kolitin gelişimine katkısının olup olmadığını incelemişler ve DSS uygulanan farelerin kolon dokularında *Enterobacteriaceae*, *Bacteroidaceae* ve *Clostridium spp.* sayılarının arttığını tespit etmişlerdir. Bağırsak inflamasyonunun gelişiminde doğal immünitenin ve kommensal bakterilerin rolünün araştırıldığı bir çalışmada, bağışıklık sistemi sağlam olan BALB/c fareler ile, T ve B hücreleri olmayan immün yetmezlikli fareler normal şartlarda yetiştirilmiş ve DSS uygulaması ile kolit uyarılmıştır. DSS verilmesinden sonra iki soyun da kolon mukozalarında şiddetli infiltrasyon ve epitelde kayıplar tespit edilmiştir. Aynı fareler bağırsak mikroflorasının bulunmadığı germ-free şartlarda yetiştirildiğinde ise, DSS

uygulamasından sonra iki soyda da az miktarda mukozal inflamasyon görülmüştür (96). Bu bulgular, DSS ile oluşturulan kolitte mikrofloranın inflamasyonu kolaylaştırdığını kanıtlamaktadır.

İnsanlarda görülen ülseratif kolitte olduğu gibi DSS kolitte de genetik faktörler önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin C3H/HeJ, NOD/Ltj ve NOD-scid inbred soylar DSS ile oluşturulan lezyonlara daha çok yatkın iken; 129/SvPas ve DBA/2J inbred soyların yatkınlığı daha azdır. BALB/c fareler DSS ile oluşturulan kolite, C57BL/6 farelerden daha az duyarlıdır. Duyarlılıktaki bu farklılıklar, mukozanın inflamatuvar hasara dayanma gücündeki genetik farklılıklar veya inflamatuvar cevabın oluşturulmasındaki farklılıklardan kaynaklanabilir. DSS bir siklus uygulandıktan sonra, BALB/c farelerde kolit iyileşirken; C57BL/6 farelerdeki kolit kronik faza ilerlemektedir (94).



Şekil 4: Dekstran Sülfat Sodyumun Etki Mekanizması (97)

DSS; Dekstran Sülfat Sodyum.

DSS kolon epitel hücreleri üzerinde toksik etkiye sahiptir ve epitel bariyerin geçirgenliğinde bozulmalara yol açar. Böylece kolon mukozasının permeabilitesi artarak, DSS gibi büyük moleküllerin, intestinal mikroorganizmaların ve onların ürünlerinin lamina propriaya geçişine imkan verir. Bu geçiş lenfoid elemanlardan kemokin ve sitokin salınımına nedeni olur (97) (**Şekil 4**). DSS'nin mukozal epitel hücrelerden geçiş mekanizması hala tam

olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, DSS kolitin akut fazında sıkı bağlantı proteinleri olan, okludin, sıkı bağlantı proteini-1, kladin-1, -3, -4 ve -5'in kaybı ve yeniden dağılımı sonucu epitelde bariyer fonksiyonlarının bozulduğu bilinmektedir (98). Sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonundaki değişimler ve epitel hücrelerde apoptozun artışı insanlardaki İBH'da da izlenmektedir. Apoptoz ve proliferasyon arasındaki dengenin bozulması epitel bariyerden sızıntılara neden olmaktadır. Bu bulgular, akut DSS kolit modelinde epitelin artmış apoptozu ve azalmış proliferasyonu ile desteklenmektedir (99). DSS ile oluşturulan kolitte, çeşitli sitokinlerin, kemokinlerin ve nitrik oksitin üretimi artmaktadır. DSS uygulamasının ilk gününde TNF- α , IL-1 β , IFN- γ , IL-10 ve IL-12 ekspresyonlarının arttığı gözlenmiştir (100). DSS kolitin kronik fazında TNF- α ve IL-17 seviyeleri düşük, IL-4, IL-6, IL-10 ve IFN- γ seviyeleri ise yüksek olarak tespit edilmektedir (101).

Hastalık Aktivite İndeksi (HAİ), kolondaki inflamasyonun yayılımı ve şiddetinin değerlendirilmesi amacıyla; vücut ağırlığı, dışkı kıvamı ve rektal kanama düzeylerinin belirlenmesiyle hesaplanır. DSS ile oluşturulan kolit modelinde HAİ günlük olarak hesaplanır ve hastalığa yönelik tedavilerde HAİ skorlarında azalma saptanması tedavi edici ajanın terapötik etkinliği hakkında önemli bilgi verir (102).

2.11. Tiyamin

Tiyamin, 1930'lu yıllarda ilk kez tanımlanmış olan bir B kompleks vitamindir. Ancak, bu tarihten çok daha önceki yıllarda çok miktarda pirinç tüketen Asya toplumlarında ve beslenmesinin büyük bölümü beyaz undan oluşan Avrupalı toplumlarda kas güçsüzlüğü, iştahsızlık, nörolojik bozukluklar ile seyreden Beriberi Hastalığı saptanmıştır. Tiyamin bu şekliyle tanımlanan ilk suda çözünen vitamin olup bilinen en eski vitamindir (103).

Tiyamin, bir diğer ismiyle B1 vitamini, kimyasal formülü ' $C_{12}H_{17}ClN_4OS$ ' olan renksiz bir bileşiktir. İçeriğindeki sülfür dolayısıyla tiyovitamin olarak da adlandırılır. Doğal olarak bazı gıdalarda, gıda ürünlerine eklenmiş olarak ve diyet takviyesi olarak bulunur. Bu vitamin enerji metabolizmasında, hücresel fonksiyonlarda, büyüme ve gelişmede kritik rol oynar (6).

Besinlerle alınan tiyamin aktif taşınma ile ilaç olarak alınan tiyamin ise pasif taşınma ile ince bağırsaktan emilir. Gıdalardaki tiyamin çoğunlukla fosforile edilmiş formdadır, intestinal

fosfatazlar tarafından emilim öncesi hidrolize edilir (7). İnsan vücudunda az miktarda tiyamin depolanır ve depo yeri karaciğerdir (104). Yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle diyetle sürekli alınması gerekmektedir.

Yetişkin insan vücudunda bulunan 25-30 mg'lık tiyaminin yaklaşık % 80'i metabolik olarak aktif form olan tiyamin difosfat (TDP)'dir. Kalın bağırsakta bulunan bazı bakteriler de serbest tiyamin ve TDP sentezler, ancak günlük tiyamin ihtiyacına katkısı tam olarak bilinmemektedir (105).

Kan tiyamin düzeyinin ölçülmesi, tiyamin durumunu göstermede güvenilir değildir. Tiyamin durumu çoğunlukla indirekt olarak TDP'nin koenzimi olduğu transketolaz aktivite tayini ile değerlendirilir. 'TDP etkisi' olarak bilinen sonuç transketolazın TDP'ye doymuşluğunu ve doymamışlığını gösterir. Sonuçlar %0-%15 arası normal, %15-%25 arası sınırda, %25'in üzerinde ise eksiklik olarak değerlendirilir. Tiyamin durumunu gösteren bir diğer ölçüt ise idrarla tiyamin atılımıdır ancak bu ölçüt sadece diyetle alımı değerlendirirken depolanan tiyamin yansıtmaz (106). Yetişkinlerde 100 mcg/gün'ün altında tiyamin atılımı alımın yetersiz olduğuna işaret ederken, 40 mcg/gün'ün altındaki değerler aşırı düşük alımı göstergesidir (11).

2.11.1. Tiyamin Pirofosfat

Tiyamin pirofosfat (TPP), tiyaminin aktif metabolitidir. Tiyaminin tiyamin pirofosfokinazla karaciğerde fosfatlanması ile TPP oluşur. TPP tüm canlı sistemlerinde yer alan bir koenzimdir ve birçok kimyasal reaksiyonun katalizörü olarak görev alır. İlk defa tiyamin eksikliğine bağlı periferik sinir sistemi hastalığı olan beriberide esansiyel vitamin olarak keşfedilmiştir (107).

2.11.2. Tiyamin Pirofosfat Fonksiyonları

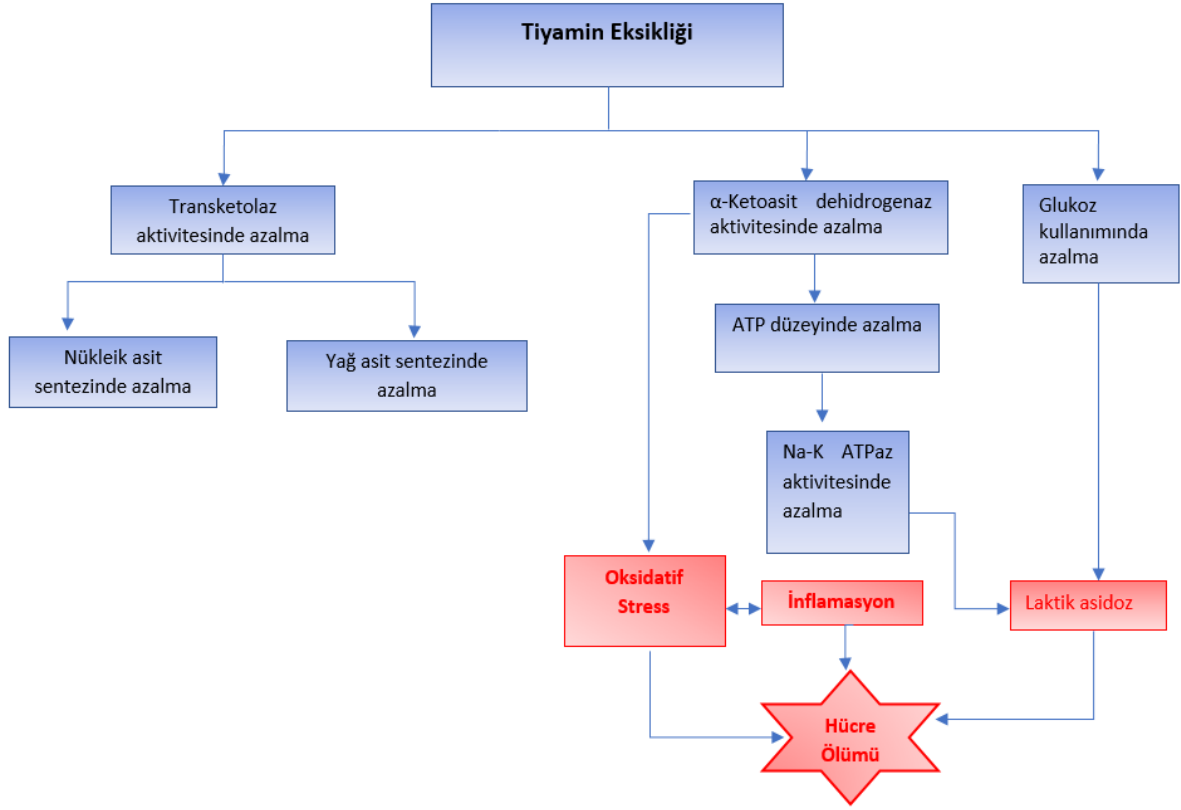
Memeli hücrelerdeki metabolik reaksiyonlarda, TPP'nin 24'ün üzerinde ko-enzimde rolü olduğu sanılmaktadır. Özellikle enerji metabolizmasında anahtar rol oynar. TPP bağımlı enzimler; nükleik asit ve lipid biyosentezinde rol alan pentoz fosfat yolunda görevli sitozolik transketolaz, glikoliz ile krebs siklusu arasındaki bağlantıyı sağlayan piruvat dehidrogenaz kompleksi, krebs siklusunda hız kısıtlayıcı basamak olan α -ketoglutarat dehidrogenaz

kompleks ve dallı zincirli aminoasitlerin krebs siklusuna girmesini sağlayan dallı zincirli α -ketoasit dehidrogenaz komplekstir (108).

Tiyamin bağımlı enzim aktivitesinde azalma; enerji durumunda azalma, oksidatif stress, laktik asidoz, glukoz kullanımında azalma ve inflamasyon ile sonuçlanır (109).

İdeal redoks ortamı hücresel işlevler için gereklidir ve normal enerji metabolizmasındaki enzimler tarafından korunmaktadır (10). Bu enzim sistemindeki bozukluklar oksijen radikallerinin üretimi ile sonuçlanır ve özellikle mitokondride hücrenin yaşamsal bileşenleri olan proteinler, lipitler ve DNA üzerinde olumsuz etkilere sebep olur. Tiyamin eksikliğine bağlı gelişen oksidatif stress üzerinde oksijen radikallerinin metabolizmasındaki dengesizlikler önemli rol oynar (11). Tiyamin eksikliğinde oluşan oksijen radikalleri lipid peroksidasyonunu ve hücre membranındaki iyon kanallarının işlevini bozarak hücre hasarına neden olmaktadır (12).

Tiyamin eksikliğinde piruvatın ve α -ketoglutaratın oksidatif dekarboksilasyonu inhibe edilerek ATP üretimi azalır, piruvat birikimi olur ve laktik asit üretimi artar (110). Tiyamin eksikliğinde, hayvan beynindeki laktik asit sentezindeki artış uzun yıllardır bilinen bir fenomendir (111). Tiyamin eksikliğinde oluşan laktik asidoz B tipinde (iyi doku perfüzyonu ve oksijenizasyon varlığında asidoz) olup alkalizasyona yanıtıdır. Tiyamin replasmanı ile 24 saat içerisinde önlenabilir (112).



Şekil 5: Tiyamin Eksikliğinin Etkileri

Tiyamin, apoptoz öncülü proteinlerden Bcl-2 ailesinin, kaspaz-3 aktivasyonunun ve poli- (ADP-riboz) polimerazın (PARP) bölünmesinin engellenmesini sağlar. Mitokondriyal membran potansiyelini, sitokrom C salınımını, apoptozu indükleyen faktörü ve fosforilasyonunu ve daha sonra p38-MAPK, stresle aktive olan kinazları (SAPK / JNK), protein kinaz C'yi ve sitoplazmik fosfolipaz A2'yi aktive eder. Makrofajlar üzerine etki eden tiyamin potansiyel bir anti-inflamatuar etki yaparak oksidatif stres kaynaklı NF-kappaB aktivasyonunu baskılamaktadır (103).

2.11.3 Tiyamin Kaynakları

Tiyaminden zengin doğal gıda kaynakları; tahıllar, balık ve kırmızı ettir. Çoğu gelişmiş ve gelişmekte olan ülkede ekmekler, tahıllar ve bebek formülasyonları tiyaminden zenginleştirilmiştir. Süt ürünleri ve çoğu meyve az miktarda tiyamin içerir (7). Gıdaların ısı ile maruziyeti tiyamin içeriğini azaltabilir. Örneğin; ekmek ham içeriğine göre pişirildiğinde

tiyamin miktarı %20-%30 oranında azalır. Bunun sebebi tiyaminin suda çözünen bir vitamin olup ısıtma ile su içeriğinin azalmasıdır. İşlenmiş gıdalarda da tiyamin miktarı azalmaktadır (104). Örneğin, beyaz pirinç tiyamin ile zenginleştirilmediği sürece kahverengi pirinçteki tiyamin miktarının onda birine sahiptir (113).

Gıdalardaki tiyamin biyoyararlanımı ile ilgili veriler sınırlıdır (114). Bununla birlikte, bazı çalışmalar, alım düşük olduğunda tiyamin emiliminin arttığını göstermektedir (6).

Tiyamin multivitamin/ multimineral takviyeleri içerisinde tipik yaklaşık 1,5 mg bulunur. Takviyelerde tiyaminin en çok kullanılan biçimleri tiyamin mononitrat ve tiyamin hidroklorür olup tiyaminin stabil ve suda çözünür formlarıdır (113). Benfotiyamin, bazı diyet takviyelerinde kullanılan sentetik bir tiyamin türevidir, suda çözünmez aktif formuna vücutta dönüşür (115).

2.11.4 Tiyamin Eksikliği

Diyetten yeterli miktarda alınamaması dışında, tiyamin eksikliğinin nedenleri arasında alkol bağımlılığı, HIV/ AIDS gibi durumlara bağlı düşük absorpsiyon veya yüksek atılım olması ve bazı ilaçların kullanımı bulunmaktadır (104).

Tiyamin eksikliğinin başlangıç döneminde kilo kaybı, anoreksiya, kısa süreli hafıza kaybı, konvulziyon, kas güçsüzlüğü gibi semptomlar görülebilmektedir. Tiyamin eksikliğinin en erken belirtisi, mide bulantısıdır. Tiyamin yetersizliğindeki sindirim sistemi belirtileri; hazımsızlık, şiddetli kabızlık, mide hareketlerinde bozukluk, hidroklorik asit sekresyonunda azalma şeklindedir (116). Düşük tiyamin düzeyi memelilerde beriberi hastalığına yol açar. Beriberi hastalığı iki tipe ayrılmıştır: ödemle birlikte ve ani olarak görülen tipe kardiyovasküler (yaş ve ödemsiz) beriberi; periferik nöropati ile seyreden nörolojik (kuru) beriberidir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, DEÜTF Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilen hayatlarının 6- 8. haftalarında (adolesan dönem) olan Wistar albino cinsi 30 adet erkek sıçan kullanılmıştır.

Tüm hayvanlar deney sonlanıncaya kadar Deney Hayvanları Laboratuvarlarında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 20–22 °C oda sıcaklığında ve %40-60 nisbi nem makroçevre koşullarında ve standart sıçan kafeslerinde barındırılmıştır. Hayvanlar dinlendirilmiş musluk suyu ve standart pelet yem ile “ad libitum ” beslenmiştir. Çalışma boyunca her gün aynı saatte, vücut ağırlık değişimlerinin belirlenmesi amacıyla, ağırlıkları tartılmış ve su/DSS’li içtikleri su miktarları kaydedilmiştir. Farelerde kolit oluşumunun sağlanması amacıyla kullanılan % 3 DSS (NeoFroxx, 1138GR250, Almanya) solüsyonu her gün taze olarak otoklavlanmış steril musluk suyu ile hazırlanmıştır.

Deney süresince, hayvan hakları ile ilgili olarak “National Institute of Health (NIH)/ABD” tarafından belirlenen kriterler esas alınmıştır. Herhangi bir nedenle deneye devam edemeyecek ya da deneyler bitmeden yaşamı sonlanacak olan denekler, deney ve istatistik kapsamından çıkarılmıştır.

3.2. Dekstran Sülfat Sodyum ile Kolit Oluşturulması

Deney protokolü yedi gün %3 DSS ile kolit oluşturulması şeklinde planlanmıştır. (117-120). Deneye başlamadan önce iki adet Wistar albino erkek sıçan ile ön çalışma yapılmıştır. Ön çalışma sonucunda %3 DSS yedi gün kullanılarak kolit modelinin oluştuğu gözlenmiş ve ana deneye geçilmiştir.

Gaitada gizli kan varlığı, ‘Hemocult Gizli Kan Testi’ Kiti (Hema- Screen Occult Blood Test, Stanbio Laboratory, ABD) kullanılarak araştırılmıştır. Gizli kan içeren dışkı, guaiac (guaiakonik asit gibi fenolik bileşenler)’lı test kağıdına uygulandığında hemoglobin ile guaiac temas eder ve reaksiyonu geliştirici solüsyonun eklenmesiyle gelişen peroksidaz reaksiyonu sonucu oluşan oksijen guaiac’ı okside ederek mavi renk oluşturur. Renk oluşumu hemoglobin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve dışkıda kan bulunduğunun kanıtıdır. Kolit oluşumu, günlük olarak Hastalık Aktivite İndeksi (HAI) hesaplanarak değerlendirilmiştir. Sakrifikasyon sonrası kolon dokusunun histopatolojik ve immun histokimyasal incelemesi yapılmıştır.

3.3 Tiyamin Uygulaması

Daha önce sıçanlarda toksik hepatit, Wernicke Korsakoff, gastrotoksisite modellerinde tiyamin sıklıkla intraperitoneal ve oral gavaj tekniği ile farklı dozlarda kullanılmıştır (121-124).

Literatürde daha önce sıçanlarda kolit modelinde tiyamin uygulamasına rastlanmamıştır. Bu sebeple antioksidan etkinliği açısından daha önce farklı endikasyonlarda yapılan uygulamalar değerlendirilerek bu çalışmada Tiyamin Hidroklorid 600 mg/kg (T-260-10, Gold Biotechnology, MO 63132, USA) 21 gün süreyle oral gavaj yöntemi ile uygulanmıştır (125).

3.4. Deney Protokolü

Sıçanlar rastgele dört gruba ayrılmış ve her grup yedi adet sıçandan oluşturulmuştur (**Tablo 5**). Deneyin ilk gününden başlanarak %3 DSS yedi gün süreyle içme suyuna katılmıştır. Tiyamin hidroklorid 1cc otoklavlanmış distile su ile sulandırılarak deneyin sekizinci gününde başlanarak 21 gün süreyle oral gavaj ile 600 mg/kg/dozda günde iki doz olacak şekilde uygulanmıştır. Uygulama her gün aynı saatte yapılmıştır. Birinci gruba (kontrol grubu) normal içme suyu ve oral gavaj ile 1cc (tiyamin ile eşit volümde) steril distile su verilmiştir. İkinci grubun (DSS grubu) içme suyuna yedi gün süreyle %3 DSS eklenmiş ve oral gavaj ile 1cc steril distile su verilmiştir. Üçüncü gruba (Tiyamin grubu) normal içme suyu ve 600 mg/kg/dozda tiyamin hidroklorid günde iki doz oral gavaj ile verilmiştir. Dördüncü grubun içme suyuna yedi gün süreyle %3 DSS eklenmiş ve 600 mg/kg/dozda tiyamin hidroklorid günde iki doz oral gavaj ile verilmiştir. Ratlar standart kafeslerde barındırılmış, standart sıçan yemi ile istedikleri kadar beslenmeleri sağlanmıştır. Deney protokolü **Şekil 6**'da verilmiştir.

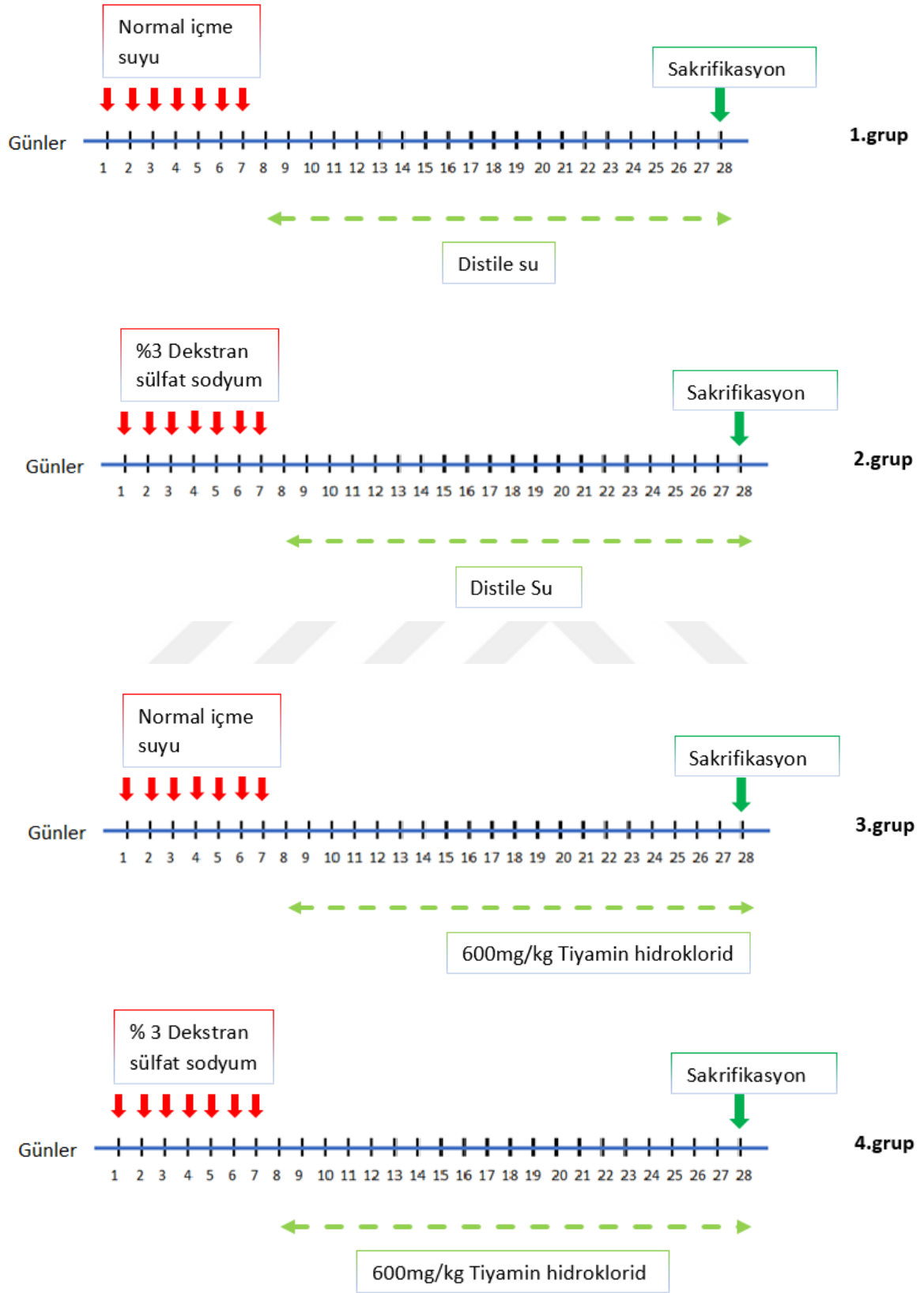
Tablo 5: Hayvan deneyi çalışma grupları

1.Grup	Kontrol Grubu (n= 7)	Normal içme suyu ve oral gavaj ile distile su*
2.Grup	DSS Grubu (n= 7)	%3 DSS + içme suyu ve oral gavaj ile distile su*
3.Grup	Tiyamin Grubu (n= 7)	Normal içme suyu ve oral gavaj ile 600 mg/kg/doz, iki doz/gün tiyamin hidroklorid
4.Grup	DSS+Tiyamin Grubu (n=7)	%3 DSS + içme suyu ve oral gavaj ile 600 mg/kg/doz iki doz/gün tiyamin hidroklorid

DSS: Dekstran sülfat sodyum, * Tiyamin hidroklorid ile eşit miktarda distile su

3.5. Deney Hayvanlarında Yüzde (%) Vücut Ağırlık Oranının Tespiti

Tüm gruplardaki sıçanların % vücut ağırlığı değişimlerinin tespit edilmesi amacıyla deney süresince her gün aynı saatte farelerin ağırlıkları ölçülerek kaydedilmiştir. Sıçanların günlük vücut ağırlıkları ile deney başlamadan önceki ağırlıkları oranlanarak, % vücut ağırlığı değişimleri günlük olarak hesaplanmış ve kayıt edilmiştir. Deney boyunca her gün tüm gruplardaki fareler arasında % vücut ağırlık değişimi istatistiksel olarak değerlendirilerek, gruplara göre farelerin % vücut ağırlık değişim grafiği çizilmiştir.



Şekil 6: Gruplara ait deney protokoller

3.6. Hastalık Aktivite İndekslerinin Belirlenmesi

Kolitin klinik değerlendirmesi, Okayasu ve ark. (95) tarafından geliştirilmiş bir yöntem olan *Hastalık Aktivite İndeksi* (HAI)'nin hesaplanması ile yapılmıştır. HAI için kullanılan her bir parametre 0 (hasarsız) - 4 (şiddetli hasar) arasında skorlandırılmış ve üç parametreye ait skorlar toplanarak, aritmetik ortalaması alınmıştır. En yüksek skor, birey hayvan için 4 kabul edilmiştir. Çalışmamızda sıçanların HAI'leri günlük olarak hesaplanarak kayıt edilmiştir. HAI skorlandırılması **Tablo 6**'da gösterilmiştir (102).

Tablo 6: Sıçanların kolit şiddetini yapısal ve işlevsel olarak değerlendirmek için kullanılan hastalık aktivite indeksi (102).

Skor	Kilo kaybı	Dışkı kıvamı	Rektal kanama
0	Yok	Normal	Yok
1	%1-5	-	-
2	%5-10	Yumuşak	Mikroskobik kanama
3	%10-20	-	-
4	>%20	İshal	Görünür kan

3.7. Sıçanların Kolon Ağırlık ve Uzunluklarının Ölçülmesi

Deneyin son günü (28. gün) eter anestezisi altındaki sıçanların orta hat kesileri yapılmıştır. Hayvanların kolon dokuları tümüyle (çekumdan anüse kadar) çıkarılmıştır. Fekal içerik temizlenerek tüm kolon dokusunun uzunluğu ve ağırlığı ölçülerek kayıt edilmiştir. Tüm farelerin kolon ağırlık ve uzunluklarına ait değerler istatistiksel olarak değerlendirilerek gruplara göre kolon uzunluklarına ait ölçüm grafiği çizilmiştir.

3.8. Dalak Ağırlığının Değerlendirilmesi

Sistemik inflamasyonun göstergesi olarak dalak ağırlığındaki artış hastalık şiddeti ile ilişkilendirilmiştir (126). Hayvanların değerlendirme gününde aseptik şartlarda dalak çıkarılmış ve ağırlığı ölçülmüştür.

3.9. Kolitin Histopatolojik ve Makroskopik Değerlendirilmesi

Deneyin değerlendirilme gününde (28.gün), eter anestezisi altında hayvanların kolonları total olarak çıkartılmıştır. İleoçekal valv'den anüse kadar çıkarılan kolon dokusu % 9 tuzlu su ile yıkandıktan sonra tartılmış ve sabit yük gerimi altında (3.2 gram) boyları ölçülmüştür. Kolon uzunlamasına açılarak makroskopik skorlama yapılmış ve uzunluktaki değişiklikler inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir (126). Histopatolojik hasarlanma skorlaması **Tablo 7**'de makroskopik skorlama ve **Tablo 8**'de, gösterilmiştir (127, 128). Geriye kalan analizler için kalan numuneler -80 °C'de saklanmıştır.

Tablo 7: Histopatolojik Hasarlanma Skorlaması (127, 128)

Skor	Epitelyal Hücre Kaybı	İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	Kript Hasarı	Goblet Hücre Hasarı
0	Etkilenme Yok	Etkilenme Yok	Etkilenme Yok	Etkilenme Yok
1	Hafif Etkilenme	Hafif Etkilenme	Kriptanın Bazal 1/3 'ünde Hasar	Etkilenme Var
2	Orta Düzeyde Etkilenme	Orta Düzeyde Etkilenme	Kriptanın Bazal 2/3 'ünde Hasar	-
3	Şiddetli Etkilenme	Şiddetli Etkilenme	Kript Kaybı Var, Sadece Yüzeyel Epitel Sağlam	-
4	-	-	Kript Yapısı ve Yüzeyel Epitel Kaybı	-

Tablo 8: Kolit makroskopik skorlaması (129)

Makroskopik bulgu	Skor
Mukozal lezyon yok	0
Hiperemi ödem ufak erozyon ve ülserasyon alanları	1
Yaygın ve belirgin ülserasyon ve erozyon	2

3.9.1. Histokimyasal İncelemeler

Deneklerden alınan kolon ve rektum doku örnekleri mikroskopik incelemeler için %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Fikse edilen dokular Fikse edilen dokular rutin histolojik doku takibi protokolü aşamalarından geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan mikrotom ile polilizin kaplı lamlara 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlere Hematoksilen-Eozin ve PAS boyama protokolleri uygulanarak ışık mikroskobu altında değerlendirme işlemleri yapıldı. Hematoksilen-Eozin boyaması ile kolon ve rektum genel morfolojik yapısı incelendi. PAS boyaması ile kolon ve rektum yüzey epitel ve kript goblet hücre tespiti yapıldı.

3.10. İmmünohistokimyasal İncelemeler

Kolon immünohistokimyasal boyamaları Avidinbiyotin- peroksidaz yöntemi (ABC Metodu) ile gerçekleştirilmiştir. Kolon doku kesitlerinin deparafizasyon işleminden sonra kesitler azalan alkol serilerinden geçirilerek distile suya getirilmiştir. Dokular dakopen ile sınırları çizildikten sonra formaldehitin kapattığı reseptör bölgeleri açmak için antijen 'retrieval' işlemi ile Tripsin enzimi muamele edilip 'Phosphate Buffer Saline' (PBS) ile yıkandıktan sonra endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 10 dakika %3'lük Hidrojen peroksit uygulanmıştır. PBS ile yıkanan kesitler özgün olmayan reseptör bağlanmaları bloke etmek için bloklama solüsyonu ile enkübe edildikten sonra bloklama solüsyonu yıkanmadan primer antikör TNF- α (1:50, EGM0321, Elabscane, Almanya) ve IL- 6 (1:50,

EGM0380, Elabscane, Almanya) +4 C de bir gece bekletilmiştir. Biyotinlenmiş sekonder antikor ve ardından enzimle işaretli (peroksidaz) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) (859043, Novex, USA) uygulanmıştır. İmmünreaksiyonun görünürlüğünü sağlamak için '3,3' Diaminobenzidine' (DAB) (11718096001-Roche, İsviçre) muamele edilerek entellan (un 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatılmıştır. TNF- α ve IL-6 boyaması ile kolon dokusunda pozitif boyanma immünreaktivitesi semikantitatif olarak, boyanma yok: 0 (-), zayıf boyanma: 1 (+), orta boyanma: 2 (++), şiddetli boyanma: 3 (+++) şeklinde değerlendirilmiştir (130, 131, 132).

3.10.1 Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α) ve İnterlökin 6 (IL-6) Boyama Yöntemi

İmunohistokimyasal boyama Avidinbiyotin- peroksidaz yöntemi (ABC Metodu) ile gerçekleştirilmiştir. 5 μ m kalınlığında alınan kesitler iki gece 37 C'lik etüvde bekletildikten sonra deparafizasyonu hızlandırmak için bir gece 60 C'lik etüvde bekletilmiştir. Daha sonra deparafinizasyon işlemi için ksilolde (ksilol I-II-III) 3 kez 20 şer dk tutulmuştur. Deparifinize edilen kesitler ikişer dakika azalan alkol (%100, %96, %80, %70) serilerinden geçirilmiştir. Dokular dehidrate edildikten sonra alkolü uzaklaştırmak için beş dakika distile suda yıkanmıştır. Suyu uzaklaştırılan dokuların dakopen ile sınırları çizilerek 'Phosphate Buffer Saline' (PBS) ile yıkanmıştır. Ardından formaldehitin kapattığı reseptör bölgeleri açmak için antijen retrieval işlemi ile Tripsin enzimi (1/3) muamele edilip 15 dakika 37 C'lik etüvde bekletilmiştir. PBS ile üç kez yıkamanın ardından doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 10 dakika %3'lük Hidrojen peroksit uygulanmıştır. Üç kez PBS ile yıkanan dokular özgün olmayan reseptör bağlanmaları bloke etmek için bloklama solüsyonu ile 30 dakika oda ısısında enkübe edilmiştir. Bloklama solüsyonu yıkanmadan primer antikor TNF- α ile +4 C de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün kesitler oda ısısına getirildikten sonra PBS ile üç kez önce 30 dakika biyotinlenmiş sekonder antikor daha sonra da 30 dakika enzimle işaretli (peroksidaz) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) (859043, Novex, USA) uygulanmıştır. Oda ısısında '3,3' Diaminobenzidine' (DAB) (11718096001-Roche, İsviçre) 1-1.5 dakika uygulanarak immünreaksiyonun görünürlüğü sağlanmıştır. PBS ile reaksiyon durdurulduktan 'Mayer's Harris hematoksilen' ile zıt boyama yapıldıktan sonra kesitler artan alkol (%70, %80, %96, %100) ve ksilol (ksilol I-II-III) serilerinden geçirildikten sonra entellan (un 1866, Merck, Darmstadt, Almanya) ile kapatılmıştır.

3.11. Oksidatif Stress ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi

3.11.1. Biyokimyasal Değerlendirme

Tüm sıçanların hafif eter anestezisi altında kolon dokuları çıkarılmıştır. Örnekler serum fizyolojik ile temizlendikten sonra tartılmış ve ultrasonik homojenizatörde (Bandelin Sonopuls, Almanya) fosfatlı tampon (PBS, pH 7.4) ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işlemleri buzla soğutulmuş ortamda yapılmıştır. Homojenatlar 10 000 rpm, +4°C’de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlar ölçümler gerçekleştirilene kadar -80°C’de saklanmıştır. Doku hasarını göstermek için Malondialdehit (MDA) seviyeleri, antioksidan durumu değerlendirmek için Glutasyon (GSH) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx) seviyeleri ticari kitlerle kit prosedürlerine göre ölçülmüştür.

3.11.2. Enzim aktiviteleri ve Malondialdehit (MDA) düzeylerinin saptanması

Malondialdehit değerleri The Bioxytech MDA-586 (Oxis International, USA) ticari kiti ile spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür. Kitin çalışma yöntemi kromojenik bir reaktif ile MDA’nın 45°C’de reaksiyona girmesi temeline dayanmaktadır. 586 nm’de absorbans ölçülerek standart eğrisinden MDA değerleri her sıçan için belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar μM olarak ifade edilmiştir.

Glutasyon ve GPx enzim aktiviteleri Oxis Research kitleri (T80, PG instruments, UK) kullanılarak spektrofotometre ile ölçülmüştür. Enzim aktiviteleri hazırlanan süpernatantlardan ölçülmüştür.

Glutasyon seviyeleri Bioxytech GSH-420 (Oxis International, USA) kiti ile ölçüldü. Kitin çalışma yöntemi ‘chromophoric thione’ oluşumu temeline dayanmaktadır. Tamponla karıştırılan süpernatana indirgeyici ajan eklenerek oksidize glutasyon indirgenmiş forma dönüştürülür. Daha sonra kromojen eklenip pH arttırılarak ‘chromophoric thione’ oluşturulur. 420 nm’de absorbans ölçümü yapılarak GSH konsantrasyonları her sıçan belirlendi. Sonuçlar μM olarak ifade edilmiştir.

Glutasyon peroksidaz aktivitesi Bioxytech GPx-340 (Oxis International, USA) kiti ile saptanmıştır. Bu kit Paglia ve Valentine’nın tanımladığı yöntemle göre hazırlanmıştır. GPx, kümen hidroperoksit ile glutasyonun (GSH) oksidasyonunu katalizler. Glutasyon redüktaz ve

NADPH varlığında, okside glutatyon (GSSG) indirgenmiş formuna (GSH) çevrilir, bu sırada NADPH okside olarak NADP' ye dönüşür. Spektrofotometrede 340 nm'de absorbandsaki azalma ölçülerek GPx aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar mU/mg protein olarak ifade edilmiştir.

3.11.3. *TNF α* ve *IL-6* seviyesinin ölçümü

Dokular tartıldıktan sonra eppendorf tüplerine alınarak üzerine 1:10 hacimde PBS tamponu eklenerek homojenize edilmiştir. Homojenatlar 10000 g +4°C'de 20 dk santrifüj edilerek TNF- α ve IL-6 için süpernatantlar hazırlanmıştır. Süpernatantlar analiz basamağına kadar -80°C'de saklanmıştır. Süpernatantlardan ELISA yöntemi ile analiz planlanmıştır. Homojenatlardan ayrıca protein de çalışılıp, protein başına düşen TNF- α ve IL-6 düzeyleri saptanarak ölçüm standardize edilmiştir. Kitlerin temininde yaşanan aksaklıklar nedeniyle sitokin seviyelerinin ölçümü tez basımına yetişmemiştir. BAP sonuç raporunda ve yayın aşamasında eklenecektir.(130)

3.12. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz, SPSS 21,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin homojen dağılımı Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İki'den fazla grup karşılaştırılmasında verilerin homojenitesine göre Kruskal-Wallis testi veya tek yönlü varyans analizi testi (ANOVA) uygulanmıştır. Bağımsız iki grup verilerinin karşılaştırılmasında yine grup homojenitesine bakılmış; homojen dağılım gösteren verilerin karşılaştırılmasında Student t-testi, homojen dağılım göstermeyen verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Grup oranlarının karşılaştırılmasında ki-kare testi uygulanmıştır. Grupların karşılaştırılmasında elde edilen p değerinin <0,05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

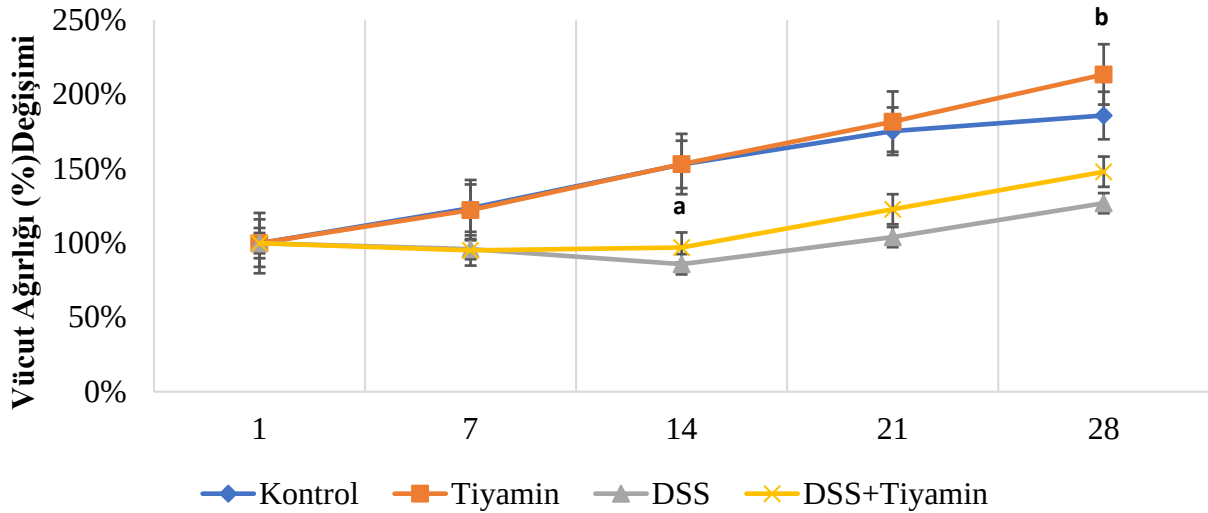
3.13. Etik Kurul Onayı

Bu deneysel çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisiplin Laboratuvarı Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)'nun 20.04.2016 tarihli 53 sayılı karar yazısı ile onay almıştır.

4. BULGULAR

4.1. Sıçanlarda Vücut Ağırlığı Yüzde (%) Değişimine Ait Bulgular

Deney süresince gruplara göre sıçanların vücut ağırlıklarındaki yüzde değişimler **Şekil 7**'de ve **Tablo 9**'da gösterilmektedir. Ölçümler sonucunda deneyin dördüncü gününde DSS uygulanan grupların uygulanmayan gruplara göre vücut ağırlığında azalma olduğu gözlemlendi ($p<0.001$). Deney süresince ilk 14 gün içinde DSS grubu ile DSS+ tiyamin grubu arasında vücut ağırlıkları yüzde değişimleri açısından farklılık gözlenmezken 14. gününde sonra DSS+ tiyamin grubunda kilo alım hızında belirgin artış olduğu gözlenmiştir ($p=0.030$). Sakrifikasyon gününde DSS+ tiyamin grubunun % vücut ağırlığı artışı DSS grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0.008$). Kolit modeli oluştuktan sonra DSS+tiyamin grubundaki % vücut ağırlık artışı kontrol grubu ve tiyamin grubuna göre deneyin son gününe kadar daha azdır ($p<0.001$). Deneyin son gününde gruplar arasında yapılan vücut ağırlığı % değişimi değerlendirildiğinde tiyamin grubundaki vücut ağırlığı artışının kontrol grubuna göre daha fazla olduğu gözlenmiştir ($p=0.002$).



Şekil 7: Sıçanlarda DSS ve tiyamin uygulaması sonrası gruplar arası günlere göre yüzde ağırlık değişimi

Veriler ortalama $\pm$ Standart sapma olarak verilmiştir. DSS: Dekstran sülfat sodyum, (a)14.günde DSS ve DSS+tiyamin grupları arasında vücut ağırlığı farkı ($p=0.030$) (b) 28. Gün kontrol ve tiyamin grupları arasında vücut ağırlığı farkı ($p=0.002$)

Tablo 9 : Gruplara göre Sıçanların Yüzde Vücut Ağırlığı Değişimi

Gruplar	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün	28.gün
Kontrol	100.00±0.00 ^a	123.57±3.86 118-129 ^b	153.43±7.89 141-166	176.14±10.41 163-191	187±12.06 170-204
Tiyamin	100.00±0.00	122.00±3.95 119-130	153.29±5.82 148-165	182.29±11.33 170-203	214.29±13.51 194-238
DSS	100.00±0.00	95.86±4.59 93-106	86.14±5.78 81-95	104.14±9.61 95-120	126.86±9.94 112-139
DSS+Tiyamin	100.00±0.00	95.00±7.30 90-111	97.14±6.96 89-109	123.71±8.07 113-136	149.29±12.88 135-172

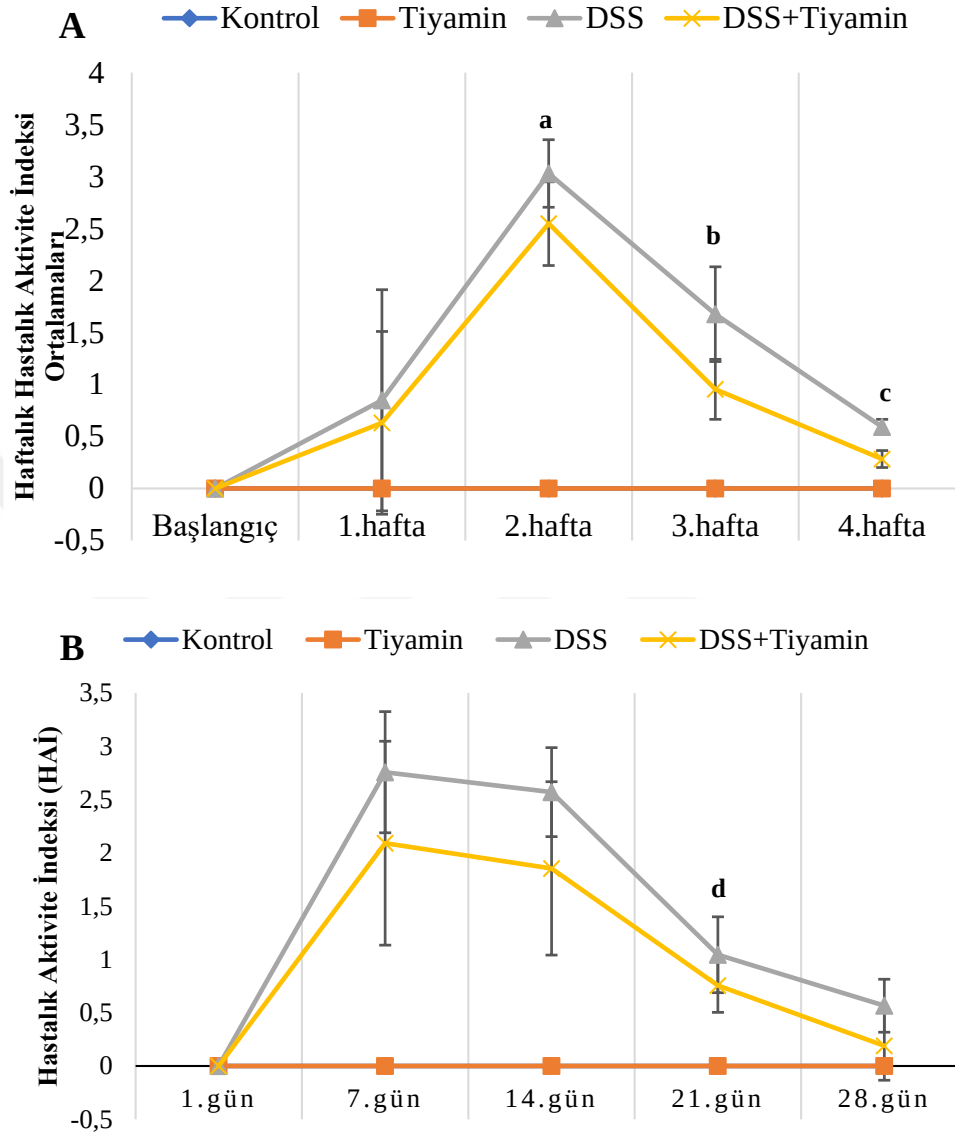
DSS: Dekstran Sülfat Sodyum, (a)Ortalama±standart sapma, (b)En düşük-En yüksek

4.2. Gruplar Arası Hastalık Aktivite İndeksinin Değerlendirilmesi

Gruplara göre sıçanlara DSS uygulamasını takiben 28 gün boyunca günlük olarak hesaplanan HAİ skorları Tablo 10’da, Tablo 11’de ve Şekil 8’de özetlenmiştir. HAİ’nin kolit oluşumu ile birlikte belirgin olarak yükseldiği tespit edilmiştir. DSS uygulamasını takiben kolit oluşturulan gruplar ile kontrol ve tiyamin gruplarının HAİ skorları karşılaştırıldığında farklılık gözlenmiştir ($p<0.001$).

Günlük değerlendirilen HAİ skorlarının haftalık ortalama değerleri DSS grubu, DSS+tiyamin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında birinci hafta ($p=0.556$) HAİ skorları arasında farklılık saptanmamıştır. İkinci hafta ($p=0.011$), üçüncü hafta ($p=0.005$) ve dördüncü hafta ($p<0.001$) HAİ skorları arasında farklılık mevcuttur. DSS grubu ile DSS+ tiyamin uygulanan grupların 7.gün, 14.gün, 21.gün ve 28.gün HAİ skorları karşılaştırıldığında 7.günde ($p=0.210$), 14.gün ($p=0.068$) ve 21.günlerde ($p=0.064$) farklılık saptanmamıştır. 28.günde ($p=0.037$) farklılık mevcuttur. HAİ skorunun 1-4 arasında seyrettiği gün sayısı değerlendirildiğinde DSS grubunda ortalama 16.14±1.21(min:14 mak:17) DSS+tiyamin

uygulanan grupta ise ortalama 12.14 ± 2.54 (aralık: 9-16) olarak saptanmıştır. Bu iki grup arasında HAI'nin 1-4 arasında seyrettiği gün sayısı açısından fark gözlenmiştir ($p=0.005$).



Şekil 8: Hastalık aktivite indeksinin gruplar arası karşılaştırılması

DSS: Dekstran sülfat sodyum, Veriler ortalama $\pm$ Standart sapma A. Haftalık hastalık aktivite indeksi (HAI) ortalamalarına göre, (a) $p=0.011$, (b) $p=0.005$, (c) $p=0.001$, B. Günlere göre Hastalık aktivite indeksi (HAI) (d) $p=0.037$.

Tablo 10: Gruplara göre hastalık aktivite indeksi (HAİ)

Gruplar	1.gün	7.gün	14.gün	21.gün	28.gün
Kontrol	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Tiyamin	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
DSS	0.00±0.00	2.75±0.56 1.66-3.33 ^b	2.57±0.41 2.00-3.00	1.04±0.35 0.66-1.66	0.56±0.24 0.00-0.66
DSS+Tiyamin	0.00±0.00	2.09±0.95 0.66-3.33	1.85±0.81 0.66-3.00	0.75±0.25 0.66-1.33	0.18±0.32 0.00-0.66

DSS: Dekstran Sülfat Sodyum, (a)Ortalama±standart sapma, (b)En düşük-En yüksek

Tablo 11 : Gruplara göre haftalık ortalama hastalık aktivite indeksi (HAİ)

Gruplar	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta
Kontrol	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
Tiyamin	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
DSS	0.54±1.06 0.00-2.76 ^b	3.03±0.32 2.57-3.38	1.67±0.45 1.04-2.33	0.59±0.07 0.57-0.76
DSS+Tiyamin	0.63±0.87 0.00-2.09	2.54±0.40 1.85-2.90	0.95±0.28 0.52-2.52	0.28±0.82 0.19-0.43

DSS: Dekstran Sülfat Sodyum, (a)Ortalama±standart sapma, (b)En düşük-En yüksek

4.3. Sıçanlarda İshal, Rektal Kanama ve Ödem Oluşumuna Ait Bulgular

Deney süresince tüm gruplardaki sıçanların gaita kıvamı günlük olarak gözlemlenmiştir. DSS grubundaki sıçanların gaita kıvamları değerlendirildiğinde; birinde (%14.3) DSS uygulamasının üçüncü gününde, üçünde (%42.9) dördüncü gününde, ikisinde (%28.6) beşinci gününde, birinde yedinci gününde (%14.3) gaita kıvamının yumuşamaya başladığı gözlenmiştir. DSS+ tiyamin grubunda ise DSS uygulamasının dördüncü gününde bir sıçanda (%14.3), beşinci gününde dört sıçanda (%57.1), altıncı gününde ise iki sıçanda (%28.6) gaita kıvamının yumuşamaya başladığı görülmüştür. Bu iki grubun gaita kıvamında yumuşamanın başladığı günler karşılaştırıldığında farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p=0.209$). Kontrol ve tiyamin gruplarında ise gaita kıvamında herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

DSS uygulanan grupların gaita kıvam değişikliği süreleri değerlendirildiğinde DSS uygulanan gruptaki bir sıçanın (%14.3) gaita kıvamının 23. günde normale döndüğü geri kalan altı sıçanın (%85.7) deneyin son günü olan 28. günde gaita kıvamının normale dönmediği gözlenmiştir. DSS+ tiyamin grubundaki sıçanların ise üçünün (%42.9) 22. günde, birinin (%14.3) 24. günde, birinin (%14.3) 24. günde normale döndüğü geriye kalan iki sıçanın (%28.6) ise deneyin son günü olan 28. günde gaita kıvamının normale dönmediği gözlenmiştir. DSS grubunun, DSS+ tiyamin grubuna göre gaita kıvam değişikliğinin daha uzun süre devam ettiği saptanmıştır ($p=0.037$).

Kolitin klinik bulgularından bir diğeri olan kanlı dışkılama DSS ile kolit oluşturulan gruplarda değerlendirildiğinde, DSS grubundaki sıçanların birinde (%14.3) beşinci günde, dördünde (%57.1) altıncı günde, ikisinde (%28.6) yedinci günde gaitada gizli kan saptanmıştır. DSS+ tiyamin grubundaki sıçanların ikisinde (%28.6) altıncı günde, üçünde (%42.9) yedinci günde, birinde (%14.3) dokuzuncu günde ve birinde (%14.3) 11. günde gaitada gizli kan pozitifleşmiştir. Bu iki grup arasında gaitada gizli kanın pozitifliğinin başladığı gün açısından farklılık saptanmamıştır ($p=0.066$). DSS grubundaki sıçanların birinde (%14.3) makroskopik kanama gelişmemiş olup geri kalan altı sıçanın dördünde (%57.1) yedinci günde, ikisinde (%28.6) sekizinci günde makroskopik kanama gözlenmiştir. DSS+ tiyamin grubundaki sıçanların ikisinde (%28.6) makroskopik kanama gözlenmemiş olup birinde (%14.3) yedinci günde, birinde (%14.3) sekizinci günde, ikisinde (%28.6) dokuzuncu günde, birinde (%14.3) onuncu günde makroskopik kanama saptanmıştır. Bu iki

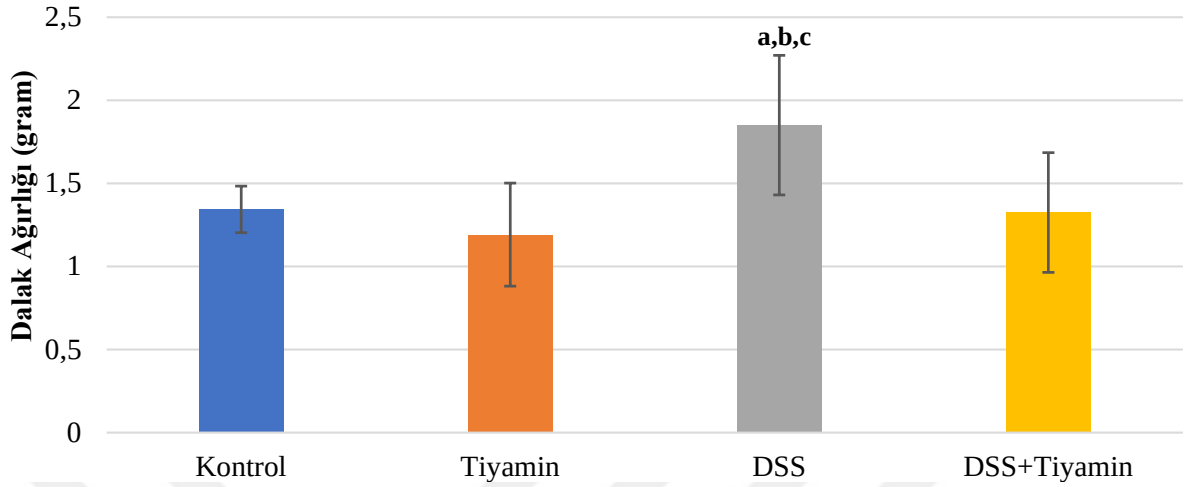
grup makroskopik kanama gelişimi açısından karşılaştırıldığında farklılık gözlenmemiştir ($p=0.391$). Gaitada kanamanın devam ettiği gün sayısı karşılaştırıldığında, bu iki grup arasında farklılık gözlenmemiştir ($p=0.520$). Kontrol ve tiyamin grubunda ise gaitada kan deney süresince gözlenmemiştir.

Kolitin klinik değerlendirmesinde kullandığımız bulgulardan bir diğeri olan rektal ödem tüm gruplar için günlük gözlemlenmiş ve kayıt edilmiştir. DSS ile kolit oluşturulan sıçanlar değerlendirildiğinde, DSS grubundaki sıçanların hepsinde rektal ödem gelişmiş olup ortalama 5.29 ± 0.95 günde olduğu gözlenmiştir. DSS+ tiyamin grubunda da benzer şekilde tüm sıçanlarda rektal ödem gelişmiş olup ortalama 6.43 ± 1.39 günde gözlenmiştir. Bu iki grup arasında rektal ödem gelişim zamanı karşılaştırıldığında farklılık saptanmamıştır ($p=0.110$). Rektal ödemin DSS grubunda DSS+tiyamin grubuna göre daha uzun süre devam ettiği saptanmıştır ($p=0.042$).

4.4. Dalak Ağırlıklarının Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Tüm sıçanların dalak ağırlıkları deneyin son günü, sakrifikasyon sonrasında ölçülmüş ve kayıt edilmiştir. Elde edilen veriler **Tablo 12**'de ve **Şekil 10**'da özetlenmiştir. Tüm gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubu ile tiyamin grubu ve DSS+ tiyamin grubu dalak ağırlıkları arasında farklılık saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.456$, $p= 0.749$).

DSS grubunun dalak ağırlığında kontrol grubuna göre artış mevcuttur ($p=0.045$). Yine benzer şekilde DSS grubunun dalak ağırlığında tiyamin grubuna göre artış görülmüştür ($p=0.024$). DSS grubu ile DSS+tiyamin grubu karşılaştırmasında ise DSS grubunun dalak ağırlığının belirgin şekilde artmış olduğu görülmektedir ($p=0.035$).

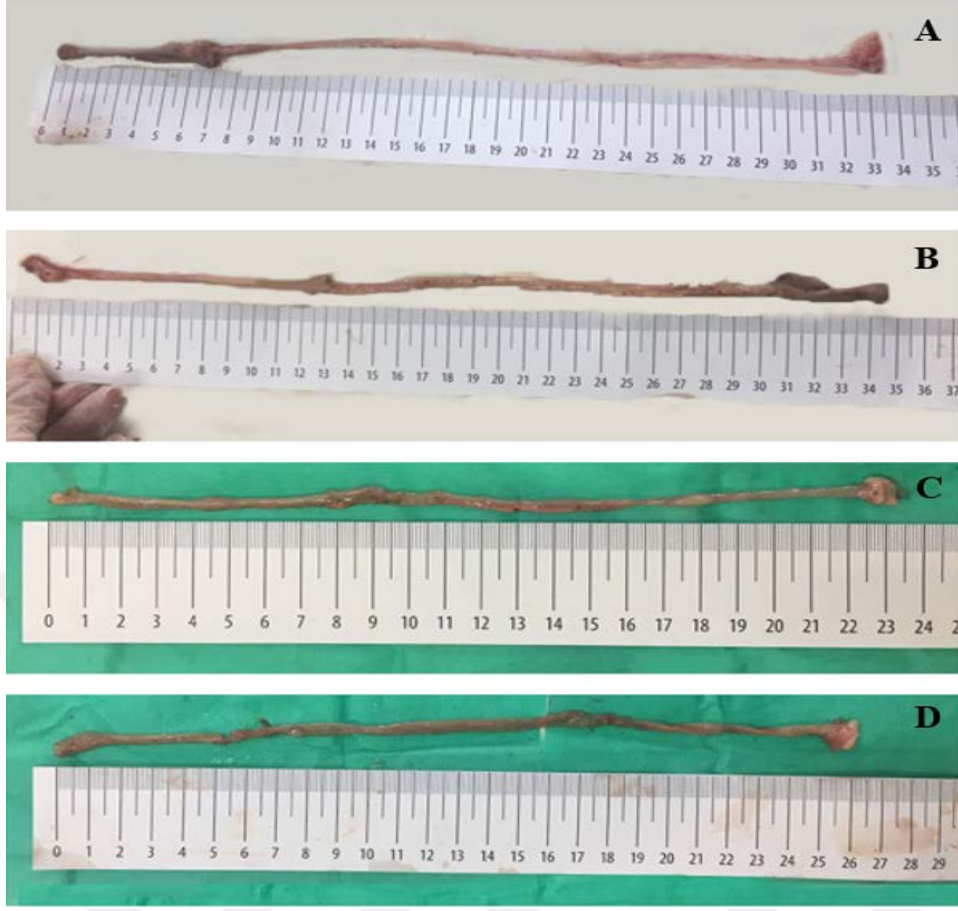


Şekil 9 : Gruplar arası dalak ağırlık karşılaştırılması

DSS: Dekstran Sülfat Sodyum, veriler ortalama $\pm$ Standart sapma olarak verilmiştir. (a) Kontrol grubuna göre ($p=0.045$), (b) Tiyamin grubuna göre ($p=0.024$), (c) DSS+tiyamin grubuna göre ($p=0.035$).

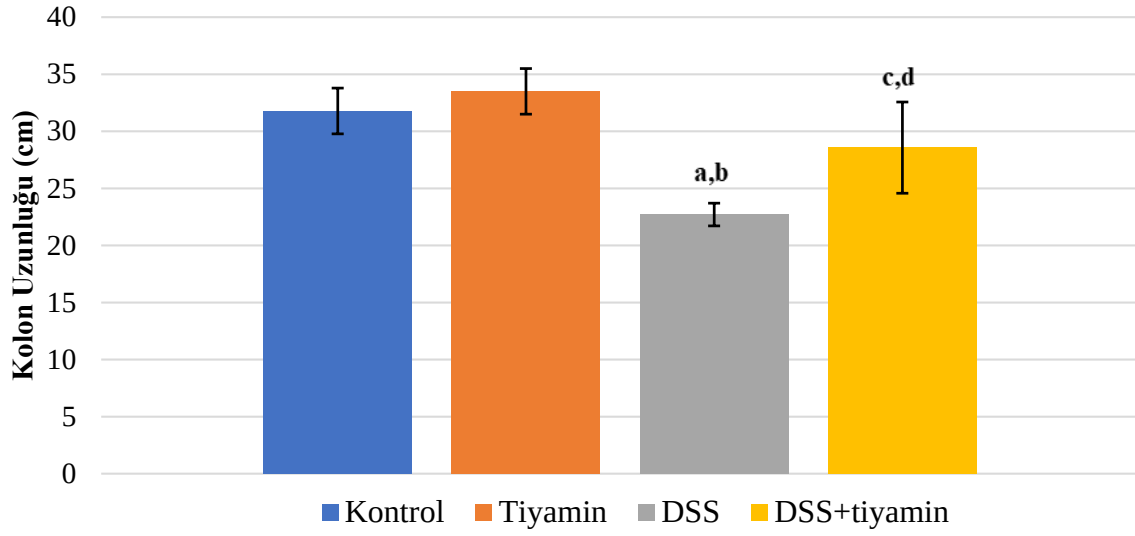
4.5. Kolon Uzunluk ve Ağırlık Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Deneyin 28. gününde tüm sıçanlar sakrifiye edildikten sonra çekumdan itibaren kolon rektum dahil olmak üzere çıkarılarak uzunluk ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Deney gruplarına ait kolon rektum uzunluk ölçümlerine ait veriler **Tablo 12**'de ve **Şekil 11**'de, kolon ağırlık ölçümlerine ait veriler ise **Tablo 12** ve **Şekil 12**'de belirtilmiştir. Kolon dokularının uzunluk ölçümünde; DSS grubunda kontrol grubuna göre ($p<0.001$) ve tiyamin grubuna göre ($p<0.001$) azalma olduğu saptanmıştır. DSS grubu, DSS+ tiyamin grubu ile karşılaştırıldığında ($p=0.008$) kolon uzunluğunun belirgin kısa olduğu görülmektedir. DSS+tiyamin grubu ile kontrol grubu arasında kolon uzunluk farkı gözlenmezken ($p=0.345$), tiyamin grubuna göre ($p=0.032$) kolon uzunluğunun kısa olduğu saptanmıştır. Deney gruplarına ait kolon ağırlık ölçümünde; DSS grubunda kontrol grubuna göre ($p<0.001$) ve tiyamin grubuna göre ($p<0.001$) azalmış olduğu saptanmıştır. DSS grubu, DSS+tiyamin grubu ile karşılaştırıldığında ($p<0.001$) kolon ağırlığında azalma olduğu görülmektedir. DSS+tiyamin grubu ile kontrol ve tiyamin grupları arasında kolon ağırlığı açısından farklılık gözlenmemiştir.



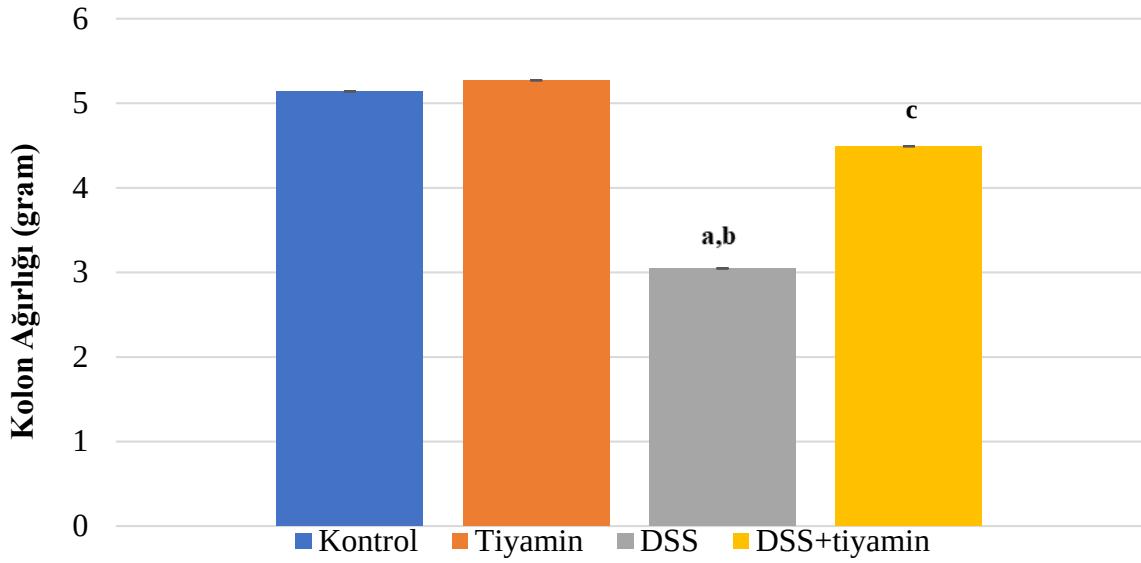
Şekil 10 : Gruplara göre kolon uzunluk ölçümleri

(A) Kontrol grubu (B) Tiyamin grubu (C) Dekstran grubu (D) Dekstran ve Tiyamin grubu



Şekil 11 : Gruplar arası kolon uzunluğu karşılaştırması,

DSS: Dekstran sülfat sodyum (a) DSS grubu ile kontrol ve tiyamin grupları arasında $p<0.001$, (b) DSS grubu ve DSS+tiyamin uygulanan grup arasında $p=0.008$, (c) DSS+tiyamin grubu ile kontrol grubu arasında $p=0.345$, (d) DSS+tiyamin grubu ile tiyamin grubu arasında $p=0.032$.



Şekil 12: Gruplar arası kolon ağırlığı karşılaştırması

DSS: Dekstran sülfat sodyum (a) DSS grubu ile kontrol ve tiyamin grupları arasında $p<0.001$, (b) DSS grubu ve DSS+tiyamin grubu arasında $p<0.001$

Tablo 12: Gruplar göre kolon uzunluğu, kolon ağırlığı ve dalak ağırlığı ölçüm değerleri

	Denek sayısı (n)	Kolon Uzunluğu (cm)	Kolon Ağırlığı (gr)	Dalak Ağırlığı (gr)
Kontrol	7	31.78±4.40 ^a 28.00-33.50 ^b	5.14±0.17 4.88-5.42	1.34±0.14 1.07-1.52
Tiyamin	7	33.50±2.94 28.00-37.50	5.27±0.60 4.17-5.99	1.29±0.31 0.80-1.71
DSS	7	22.71±1.79 21.00-26.00	3.04±0.19 2.73-3.32	1.85±0.42 1.32-2.56
DSS+ Tiyamin	7	28.57±4.47 21.50-35.00	3.04±0.19 2.73-3.32	1.32±0.36 0.90-1.92

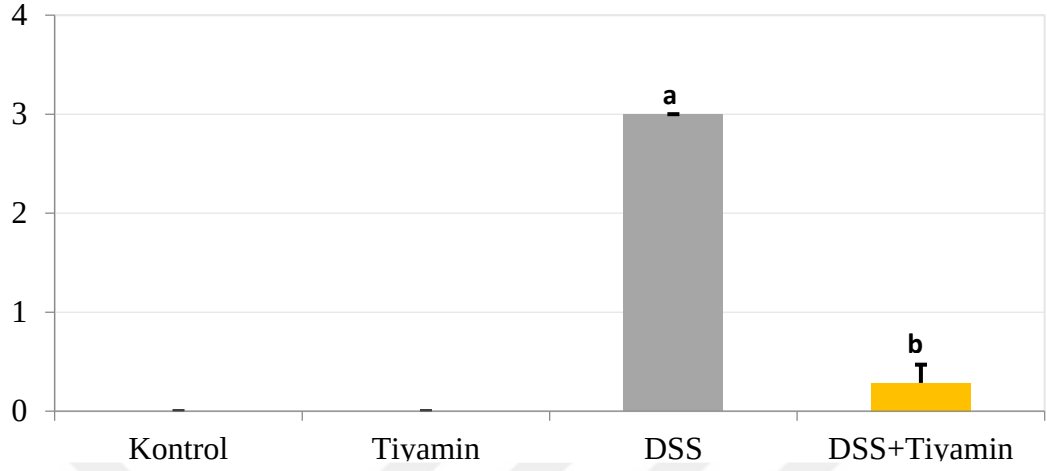
DSS: Dekstran Sülfat Sodyum, (a)Ortalama±standart sapma, (b)En düşük-En yüksek

4.6. Kolitin Histopatolojik Değerlendirilmesi

4.6.1. Histolojik Hasarlanma Skorlaması

Histolojik incelemede kolon yapısında değerlendirilen parametreler epitelyal hücre kaybı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, goblet hücre hasarı, kript hasarı ve hasarın yaygınlığı şeklinde skorlama yapılmıştır (127, 128). Histolojik skorlama sonucunda DSS grubunda oluşan doku hasarı diğer gruplar ile karşılaştırıldığında artmış olduğu bulundu ($p<0.001$). Tiyamin+DSS grubunda histolojik skor DSS grubuna göre azaldığı tespit edildi ($p<0.001$). Kontrol ve tiyamin grubu arasında herhangi bir fark saptanmadı ($p=0,142$).

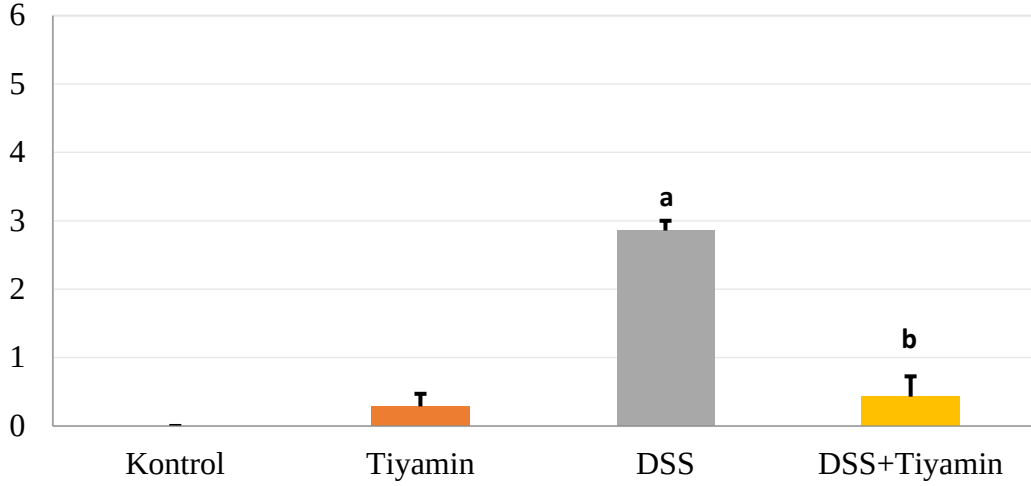
Epitel Hücre Hasarı



Şekil 13 : Gruplara göre epitel hücre hasarı skorlaması,

DSS: Dekstran Sülfat Sodyum (a)Kontrol grubuna göre farklı ($p<0.001$), (b) DSS grubuna göre farklı ($p<0.001$)

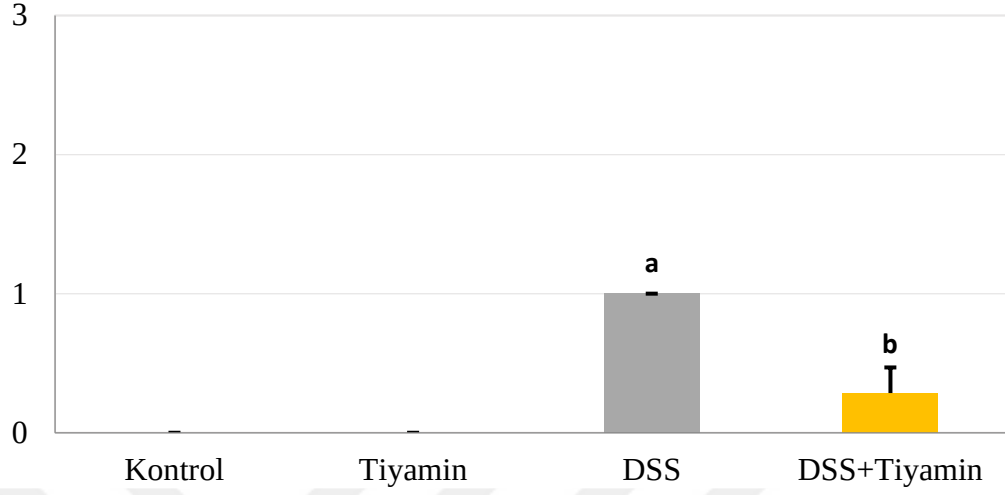
İnflamatuvar Hücre Hasarı



Şekil 14 : Gruplara göre epitel hücre hasarı skorlaması

DSS: Dekstran Sülfat Sodyum (a)Kontrol grubuna göre farklı ($p<0.001$), (b) DSS grubuna göre farklı ($p<0.001$).

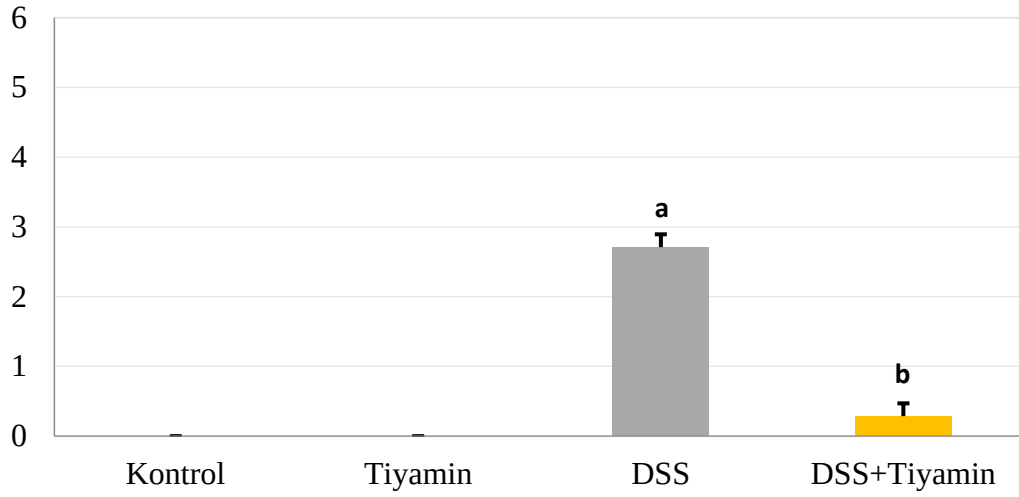
Goblet Hücre Hasarı



Şekil 15: Gruplara göre goblet hücre hasarı skorlaması

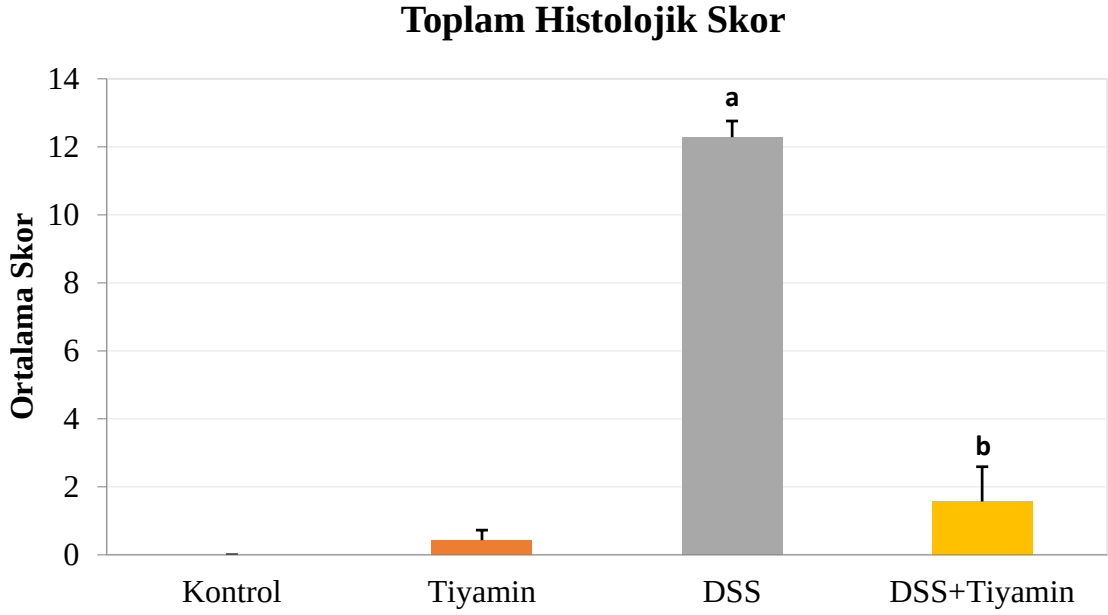
DSS: Dekstran Sülfat Sodyum (a) Kontrol grubuna göre farklı ($p < 0.001$), (b) DSS grubuna göre farklı ($p < 0.001$).

Kript Hasarı



Şekil 16 : Gruplara göre kript hasarı skorlaması

DSS: Dekstran Sülfat Sodyum (a) Kontrol grubuna göre farklı ($p < 0.001$), (b) DSS grubuna göre farklı ($p < 0.001$).



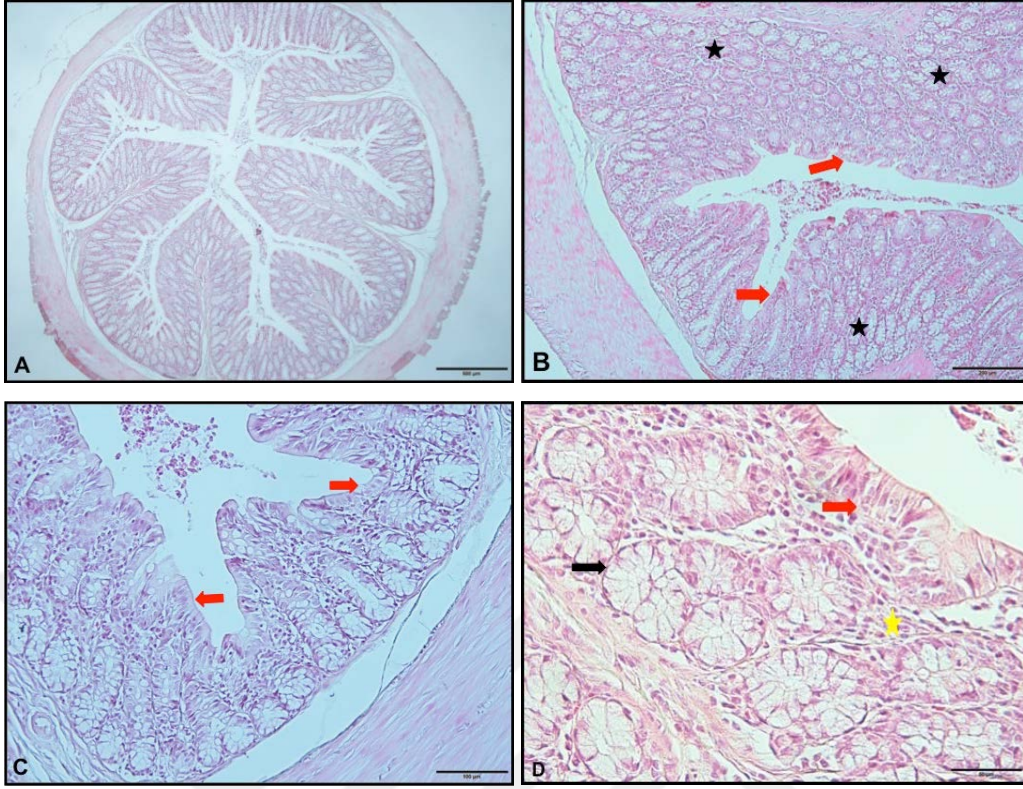
Şekil 17 : Gruplara göre toplam histolojik skorlama

DSS: Dekstran Sülfat Sodyum (a) Kontrol grubuna göre farklı ($p<0.001$), (b) DSS grubuna göre farklı ($p<0.001$).

4.6.2. Kolonun Hematoksilen-Eozin ile Değerlendirilmesi

Hematoksilen-Eozin boyama yöntemiyle, kolon ve rektum morfolojik yapıları değerlendirilmiştir. Kolon ve rektum epitelyal hücreleri ve goblet hücreleri, kript yapısı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, lenf nodu, Tunika mukoza, Tunika muskularis mukoza, Tunika submukoza, Tunika Seroza/Adventisya tabakaları incelenmiştir.

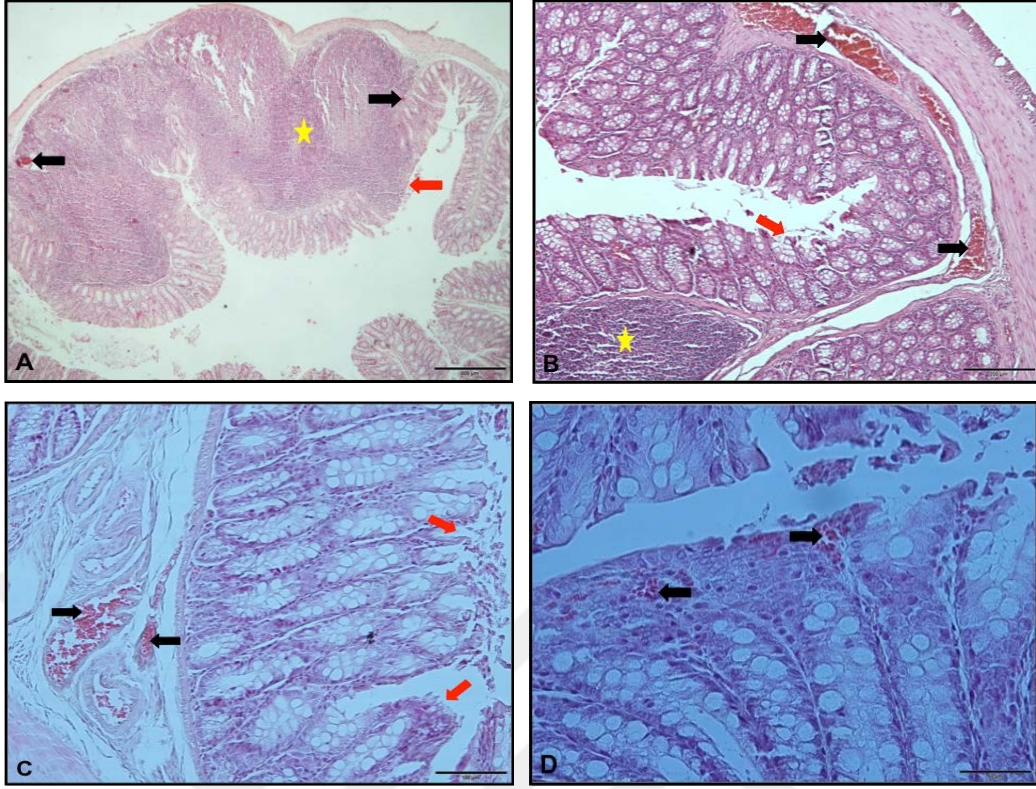
Kontrol Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde, kolonun genel morfolojik yapısı normal izlenmiştir. Kolon mukoza yapısı normal olup epitel yapısı devamlılık göstermektedir. Kript yapıları ve goblet hücreleri normal, kriptler arası lamina propria oldukça ince yapıda izlenmiştir (Şekil 18).



Şekil 18 : Kontrol grubuna ait bir sıçanın kolon histolojik (H&E) görüntüleri

(A: 4x, B: 10x, C: 20x, D: 40x) gösterilmektedir. Görüntülerde (A-D), kolon genel morfolojik yapısı normal görülmekte olup siyah yıldız (*) yaygın goblet hücrelerine sahip kript yapısını, kırmızı ok (→) devamlılık gösteren tek katlı prizmatik yüzey epitelinin, sarı yıldız (*) kriptler arası ince lamina propria yapısını göstermektedir.

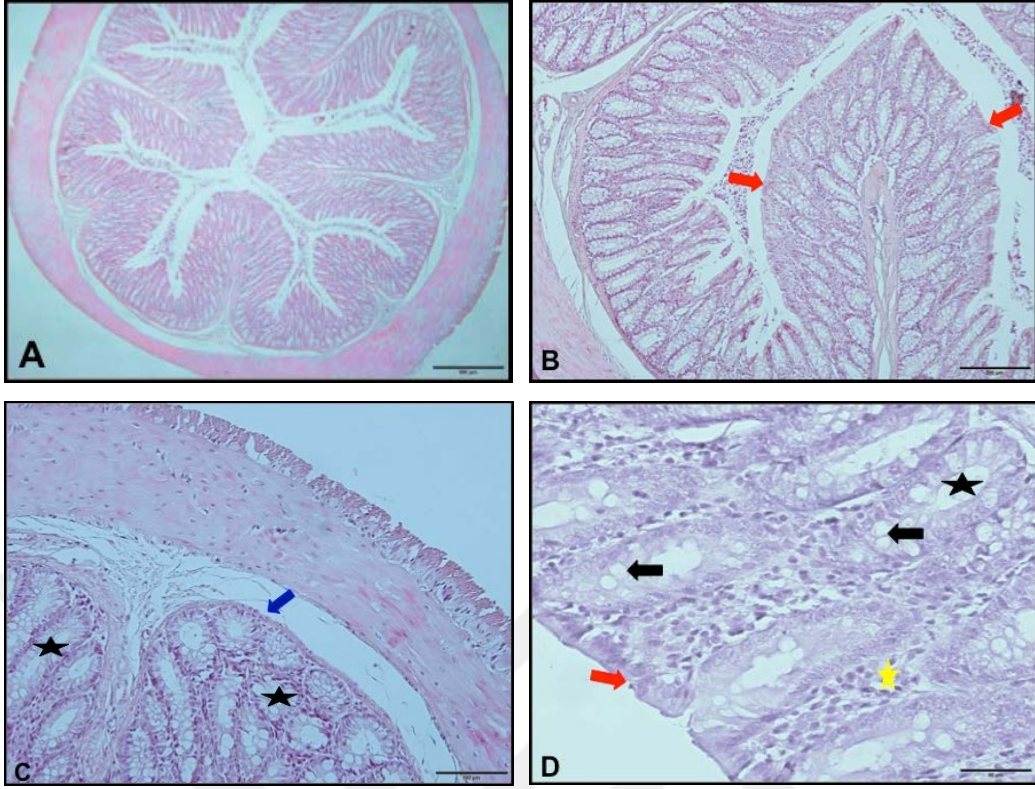
Dekstran Sülfat Sodyum Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde, kolon doku örneklerinde şiddetli epitelyal hücre hasarı mevcut olup yüzey epitelinin devamlılığı bozulmuştur. Lamina epitelyaliste şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Aynı zamanda mukozada kript yapıları mevcut olup sayıları önemli derecede azalmıştır. Kriptler arası lamina propriada ödem izlenmiştir. Birçok alanda muskuler tabakadan mukoza tabakasına uzanım gösteren mononükleer hücre toplulukları tespit edilmiştir. Ayrıca şiddetli mukoza ve goblet hücre kaybı, mukozada ve submukozada şiddetli konjesyon alanları gözlenmiştir (Şekil 19).



Şekil 19: Dekstran sülfat sodyum grubuna ait bir sıçanın kolon histolojik (H&E) görüntüleri

(A: 4x, B: 10x, C: 20x, D: 40x) gösterilmektedir. Görüntülerde (A-D), kırmızı ok (→) epitelyal hücre hasarını göstermektedir. Siyah ok (→) konjesyon alanları göstermektedir. Sarı yıldız (*) inflamatuvar hücre topluluklarını göstermektedir.

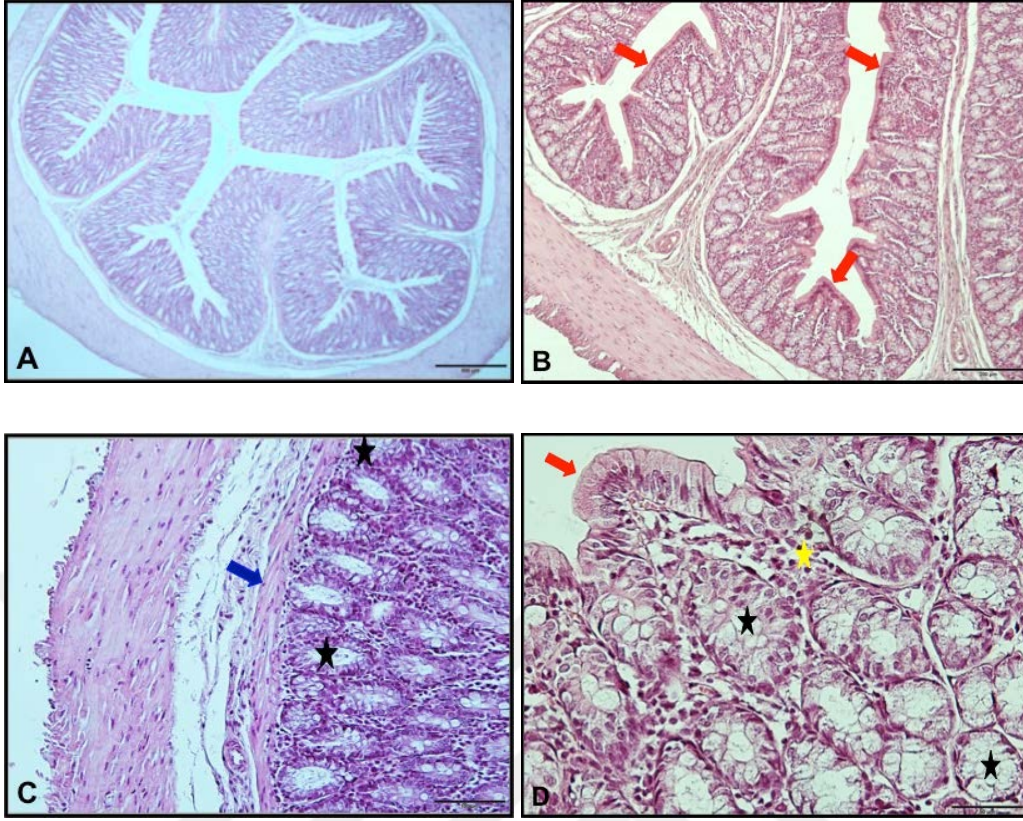
Tiyamin Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde, kontrol grubuna yakın histomorfolojik özellikler izlenmiştir (Şekil 20).



Şekil 20 : Tiya min grubuna ait bir sıçanın kolon histolojik görüntüleri

(H-E) (A: 4x, B: 10x, C: 20x, D: 40x) gösterilmektedir. Görüntülerde (A-D), kırmızı ok (→) tek katlı prizmatik yüzey epitelin, siyah ok (→) kript goblet hücrelerini, siyah yıldız (*) normal kript yapısını, sarı yıldız (*) kriptler arası ince lamina propria yapısını, mavi ok (→) T. muskularisin normal morfolojik yapısını göstermektedir.

Dekstran Sülfat Sodyum+ Tiya min grubu: Doku kesitleri incelendiğinde, yüzey epitelinin birçok alanda devamlılık gösterdiği, kript ve yüzey epiteli goblet hücre yapılarının kontrol grubuna benzer özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Kriptler arası lamina propriada hafif ödem gözlenmiştir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu belirgin azalmış olup mononükleer hücre toplulukları izlenmemiştir. Mukozada ve submukozada konjesyon gözlenmemiştir. (Şekil 21).

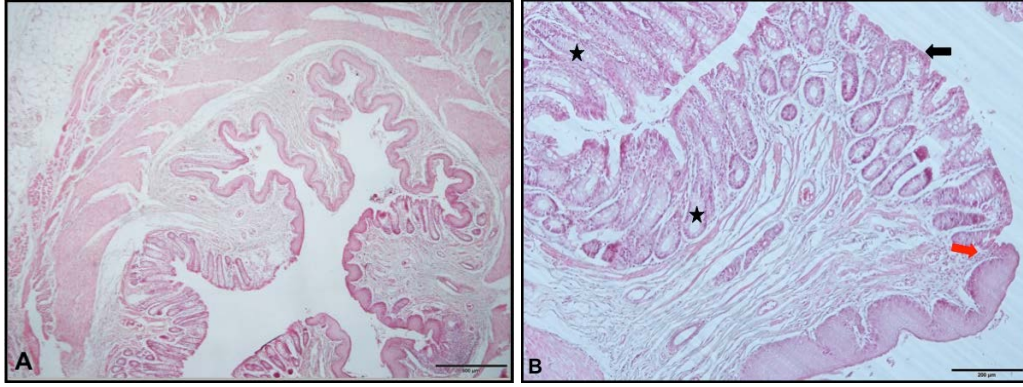


Şekil 21: Dekstran sülfat sodyum+ tiyamin grubuna ait kolon histolojik (H&E) görüntüleri

(A: 4x, B: 10x, C: 20x, D: 40x) gösterilmektedir. Görüntülerde (A-D), kırmızı ok (→) tek katlı prizmatik yüzey epiteli, mavi ok (→) T. muskularisin normal morfolojik yapısını siyah yıldız (*) yaygın goblet hücrelerine sahip kript yapısını göstermektedir (K:Kript). Sarı yıldız (*) kriptler arası ince lamina propria yapısını göstermektedir.

4.6.3. Rektum Örneklerinin Hematoksilen-Eozin ile Değerlendirilmesi

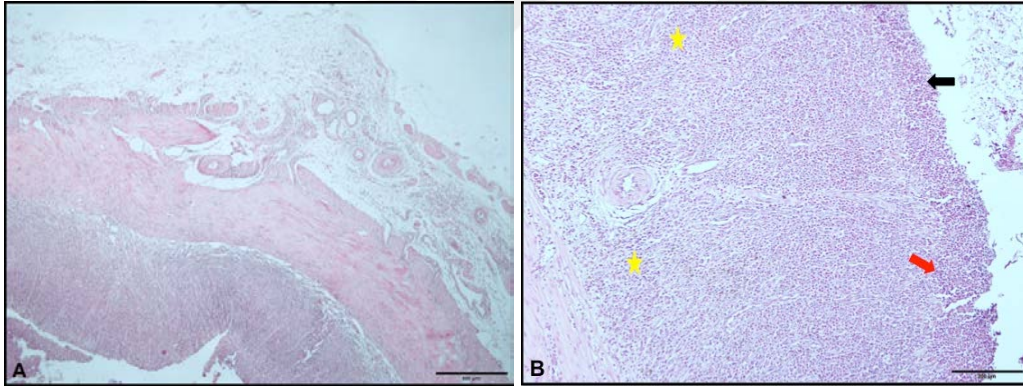
Kontrol grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektum morfolojik yapısı normal bulunmuştur. Yüzey epiteli sağlam ve devamlıdır. Derin kript yapısı, kript ve yüzey epiteli yaygın goblet hücreleri mevcuttur. Normal anorektal geçiş gözlenmiştir. Yer yer inflamatuvar hücreler görülmüş, lenf nodu izlenmemiştir. (Şekil 22).



Şekil 22: Kontrol grubuna bir sıçana ait rektum histolojik (H&E) görüntüleri

(A: 4x, B: 10x) göstermektedir. Görüntülerde (A-B), siyah ok (→) rektumun tek katlı prizmatik yüzey epitelini, kırmızı ok (→) anorektal geçişi göstermektedir.

Dekstran Sülfat Sodyum Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektumda yaygın yüzey epitel hasarı ve kaybı, goblet hücresi ve kript kaybı tespit edilmiştir. Mukozada ve submukozada şiddetli ödem gözlenmiştir. Submukozada yoğun lenf nodları izlenmiştir. (Şekil 23).

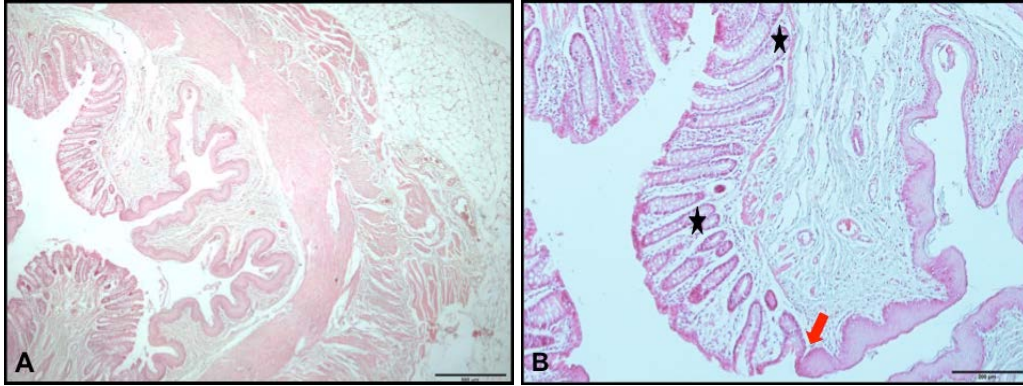


Şekil 23: Dekstran sülfat sodyum grubuna ait bir sıçanda rektum histolojik (H&E) görüntüleri

(A: 4x, B: 10x) göstermektedir. Görüntülerde (A-B), siyah ok (→) yüzey epitel kaybını, kırmızı ok (→) kript kaybını, sarı yıldız (*) T. mukozada yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonunu göstermektedir.

Tiyamin Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektum yapısının normal, anorektal geçiş ve rektum yüzey epitelinde devamlı olduğu tespit edilmiştir. Kript yapısı ve kriptler

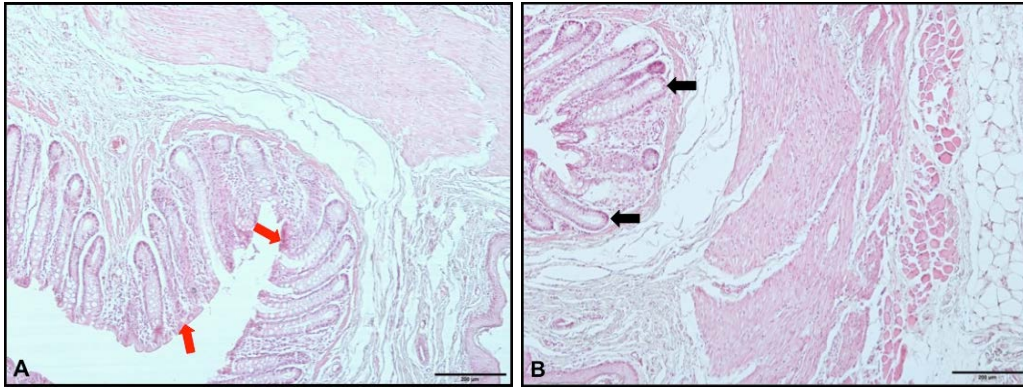
arası stromada ödem gözlenmemiştir. Mukoza ve submukozda inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmemiştir. Lenf noduna rastlanmamıştır (Şekil 24).



Şekil 24: Tiyamin grubuna ait bir sıçanda rektumun histolojik (H&E) görüntüleri

(A: 4x, B: 10x) göstermektedir. Görüntülerde (A-B), kırmızı ok (→) anorektal geçişi, siyah yıldız (*) derin kript yapılarını göstermektedir.

Tiyamin+ Dekstran Sülfat Sodyum Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektum yüzey epitelinin birçok alanda devamlılık gösterdiği lamina propriada hafif ödem ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu gözlenmiştir (Şekil 25).



Şekil 25: Tiyamin +DSS grubuna ait bir sıçanın rektum histolojik (H&E) görüntüleri

(A: 4x, B: 10x) gösterilmektedir. Görüntülerde (A-B), Kırmızı ok (→) yüzey epitelini göstermektedir. Siyah ok (→) derin kript yapısını göstermektedir.

4.6.4. Kolonun Periyodik- Asit Schiff (PAS) Değerlendirilmesi

Kontrol grubu: Doku kesitleri incelendiğinde kolon mukozasında yüzeyel kript ve goblet hücreleri yoğun ve olağan şekilde izlenmiştir.

Dekstran Sülfat Sodyum grubu: Doku kesitleri incelendiğinde kolon mukozası yüzey epitelinde ve kriptlerde şiddetli goblet hücre hasarı ve sayıca belirgin bir azalma gözlenmiştir.

Tiyamin Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde kolon mukozası yüzey epitelinde ve kriptlerde goblet hücresi yoğunluğu kontrol grubu ile benzer izlenmiştir.

Tiyamin+ Dekstran Sülfat Sodyum Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde kolon mukozası yüzey epitelinde ve kriptlerde goblet hücrelerinde artış ve kontrol grubuna yakın görünümde olduğu izlenmiştir.

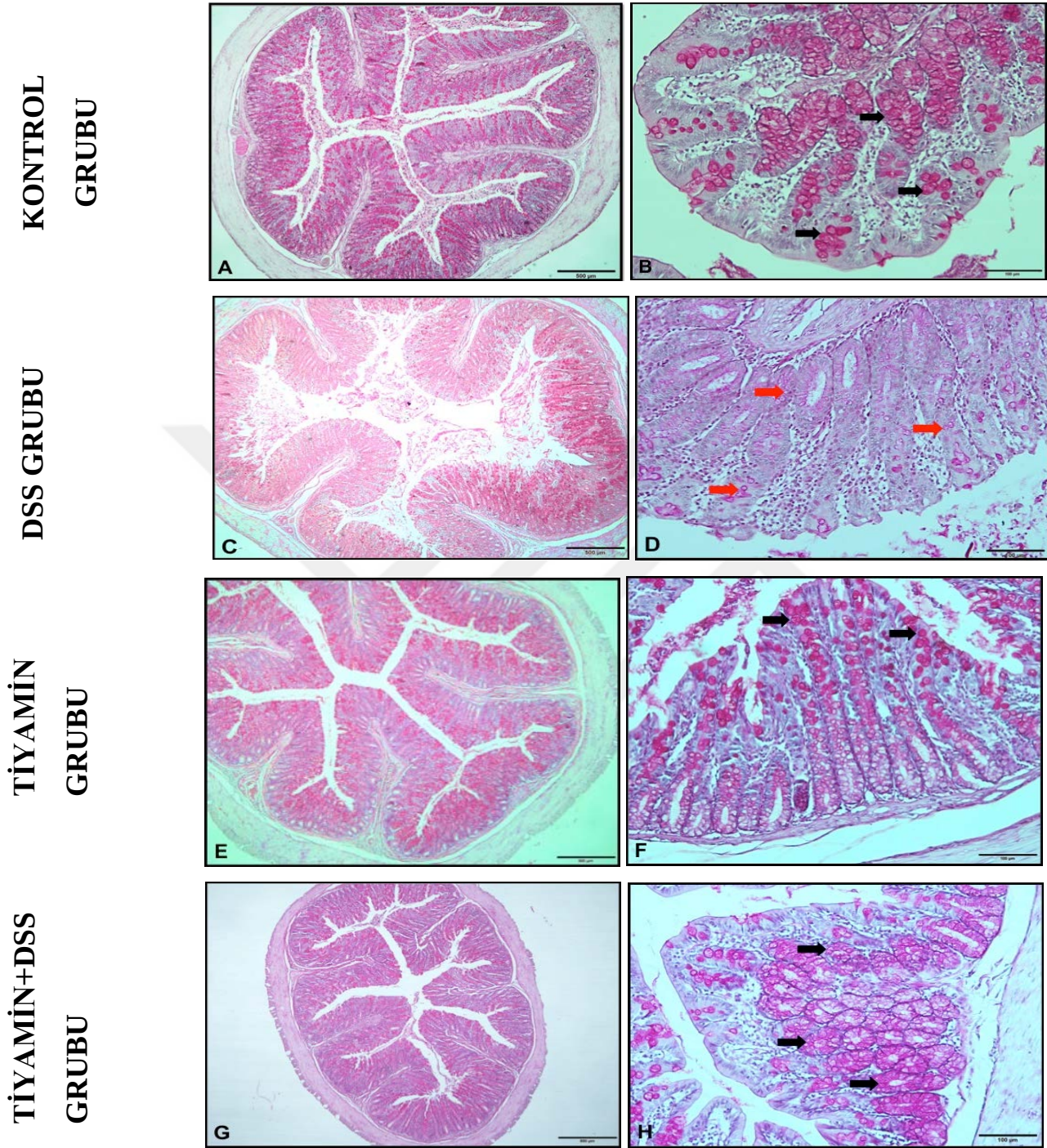
4.6.6. Rektum Periyodik-Asit (PAS) Boyama Değerlendirilmesi

Kontrol Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektum yüzey epiteli ve kript goblet hücreleri yoğun gözlenmiştir.

Dekstran Sülfat Sodyum Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektum yüzey epitel ve kript kaybı izlenmiştir. Goblet hücre hasarı artışı ve miktarı azaldığı tespit edilmiştir (**Şekil 26**). Şiddetli yüzey epitel kaybı, lamina propriada yoğun inflamasyon, subkriptlerde inflamatuvar hücre yığılmaları, muskularis mukoza hasarı tespit edilmiştir.

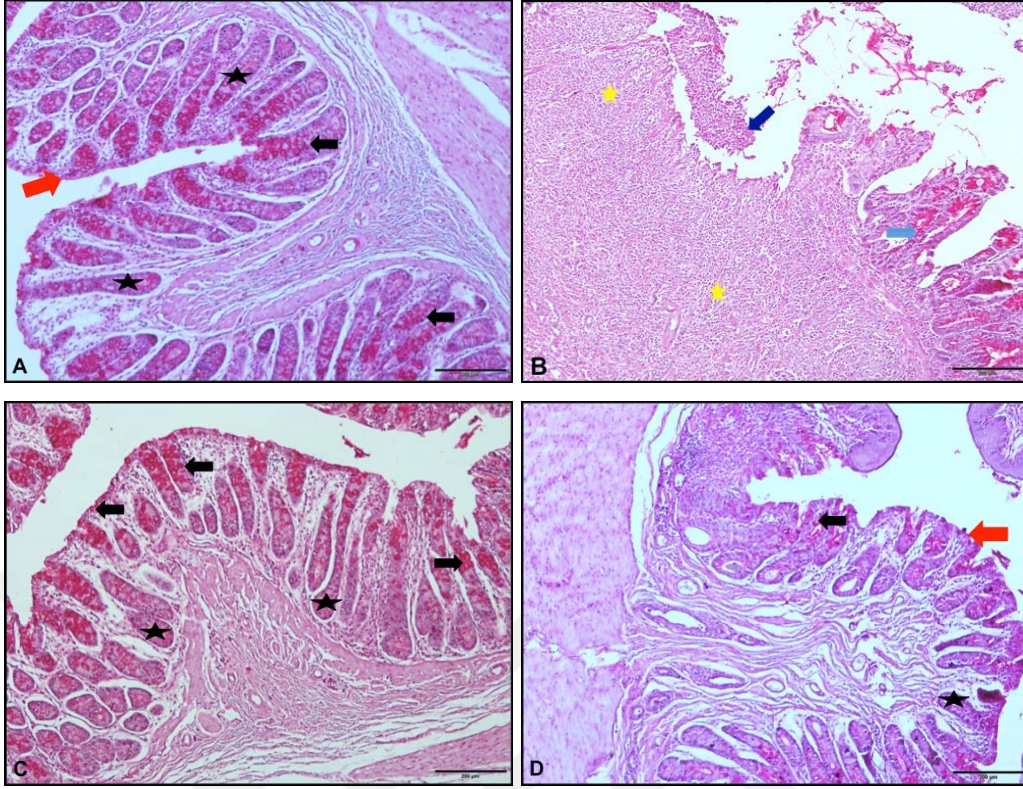
Tiyamin Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektum yüzey epitel ve kript goblet hücre yapısı ve sayısı kontrol grubuna yakın izlenmiştir.

Tiyamin+ Dekstran Sülfat Sodyum Grubu: Doku kesitleri incelendiğinde rektum yüzey epitel devamlılık göstermektedir. Yüzey epiteli ve kript goblet hücre miktarı artışı izlenmiştir.



Şekil 26: Görüntülerde kolon dokusu histolojik PAS görüntüleri

(A,C,E,G 4x, B,DF,H: 20x) gösterilmektedir. Görüntülerde (A,B,E-H), siyah ok (→) yoğun goblet hücrelerini, (D), kırmızı ok (→) sayıca azalan goblet hücrelerini göstermektedir.



Şekil 27: Rektum dokusu histolojik PAS görüntüleri

(A-D: 10x) göstermektedir. (A) Kontrol grubu, (B) Dekstran sülfat sodyum grubu, (C) Tiyamin grubu (D) Dekstran sülfat sodyum+tiyamin grubuna ait görüntülerdir. Görüntülerde (A,D), kırmızı ok (→) devamlılık gösteren yüzey epiteli, (A,C), siyah ok (→) yoğun goblet hücrelerini, (A,C,D), siyah yıldız (*) derin kript yapılarını, (B), açık mavi ok (→) kript yapısında sayıca az goblet hücrelerini, sarı yıldız (*) submukozada yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, koyu mavi ok (→), mukoza kaybını göstermektedir.

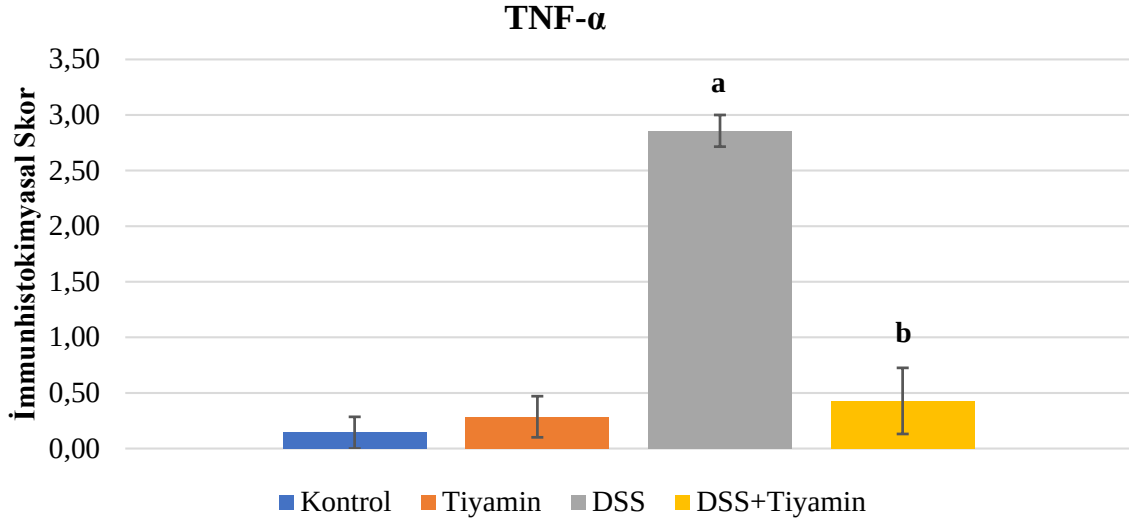
4.7. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.7.1. Tümör Nekroz Faktör alfa Boyama Değerlendirilmesi

Deneklerden elde edilen kolon kesitlerinde pozitif hücre TNF alfa boyanma derecesi semikantitatif olarak, boyanma yok: 0 (-), zayıf boyanma: 1 (+), orta boyanma: 2 (++), şiddetli boyanma: 3 (+++) değerlendirilmiştir (130, 131).

Tüm grupların istatistiksel karşılaştırılmasında; DSS grubunda şiddetli pozitif hücre TNF- α aktivasyonun kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiştir ($p<0,0001$). DSS+ tiyamin grubunda pozitif hücre TNF- α aktivasyonun DSS grubuna göre azaldığı saptanmıştır ($p<0,0001$). Tiyamin grubunda pozitif hücre TNF- α aktivasyonun kontrol grubuna göre farklı

olmadığı görülmüştür ($p= 0.530$, $p>0.05$). Tiyamin grubu ile DSS+ tiyamin arasında grubu fark saptanmamıştır ($p=0,872$, $p>0,05$).



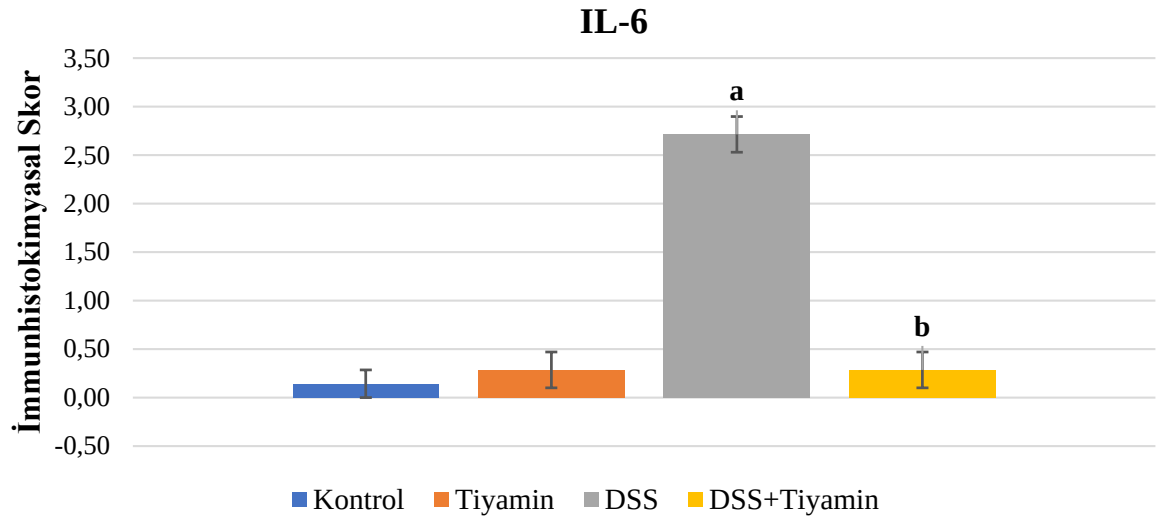
Şekil 28: Gruplar arası Tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) 'nın immünohistokimyasal değerlendirilmesi

DSS: dekstran sülfat sodyum, (a) Kontrol grubuna göre artmış ($p<0,0001$), (b) DSS grubuna göre azalmıştır ($p<0,0001$).

4.7.2. IL-6 Boyama Değerlendirilmesi

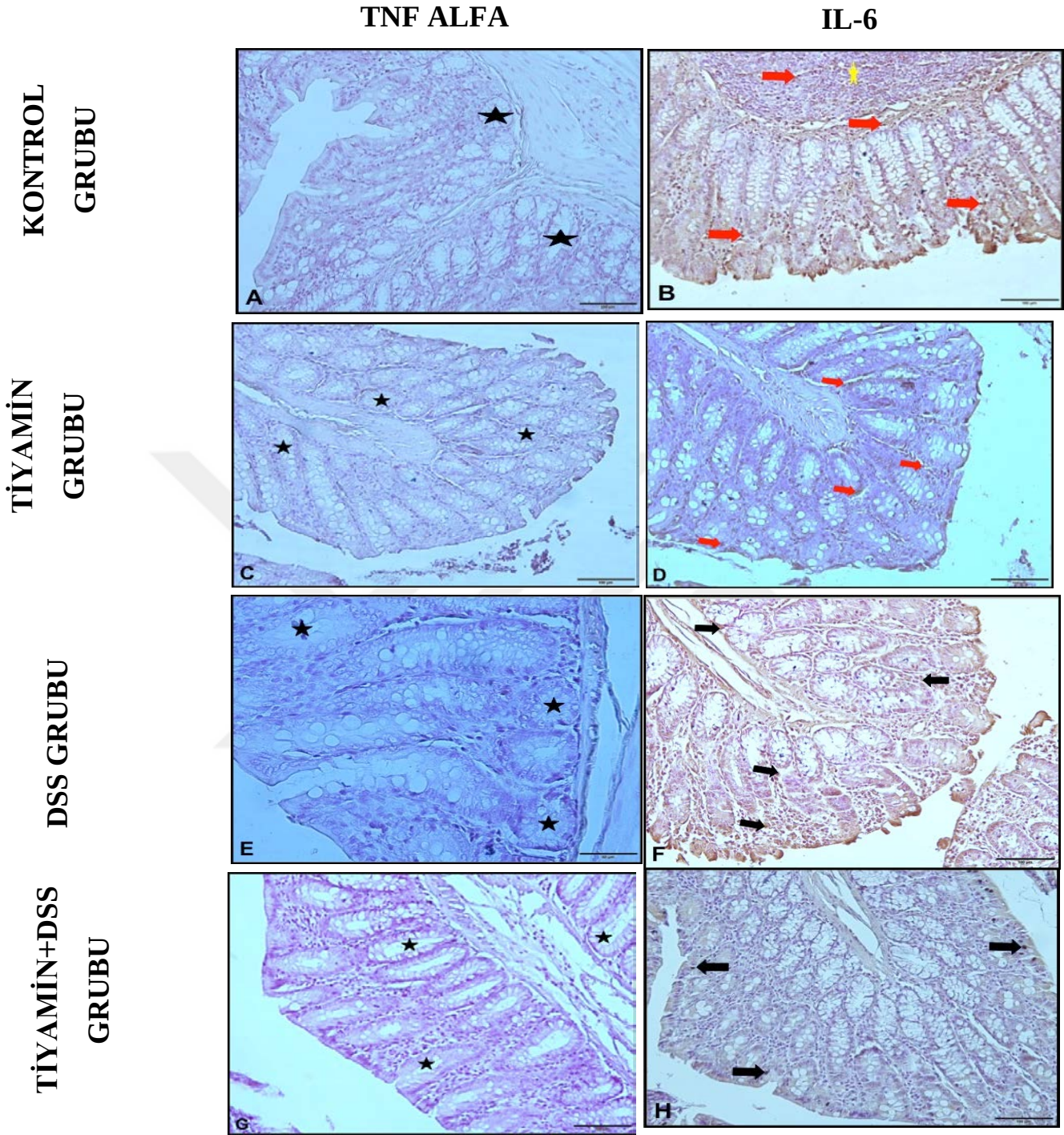
Deneklerden elde edilen kolon kesitlerinde pozitif hücre IL-6 boyanma derecesi semikantatif olarak, boyanma yok: 0 (-), zayıf boyanma: 1 (+), orta boyanma: 2 (++), şiddetli boyanma: 3 (+++) şeklinde değerlendirilmiştir (131, 132).

Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak pozitif hücre IL-6 aktivasyonu açısından, DSS grubu ile kontrol, tiyamin ve DSS+ tiyamin grupları karşılaştırıldığında, DSS grubunda protein ekspresyonunda artış olduğu gözlenmiştir (sırasıyla $p<0,0001$, $p<0,0001$). DSS+ tiyamin grubu ile kontrol ve tiyamin grupları arasında ise istatistiksel fark saptanmamıştır (sırasıyla, $p=0.530$, $p=1.000$). DSS+ tiyamin grubu, DSS grubu ile karşılaştırıldığında ise DSS grubuna göre azalma gözlenmemiştir ($p<0.001$).



Şekil 29: Gruplar arası İnterlökin-6 (IL-6)'nın immünohistokimyasal değerlendirilmesi

DSS: Desktran sülfat sodyum, IL-6: İnterlökin 6, (a) Kontrol grubuna göre artmış($p<0,0001$), (b) DSS grubuna göre azalmış($p<0,0001$).



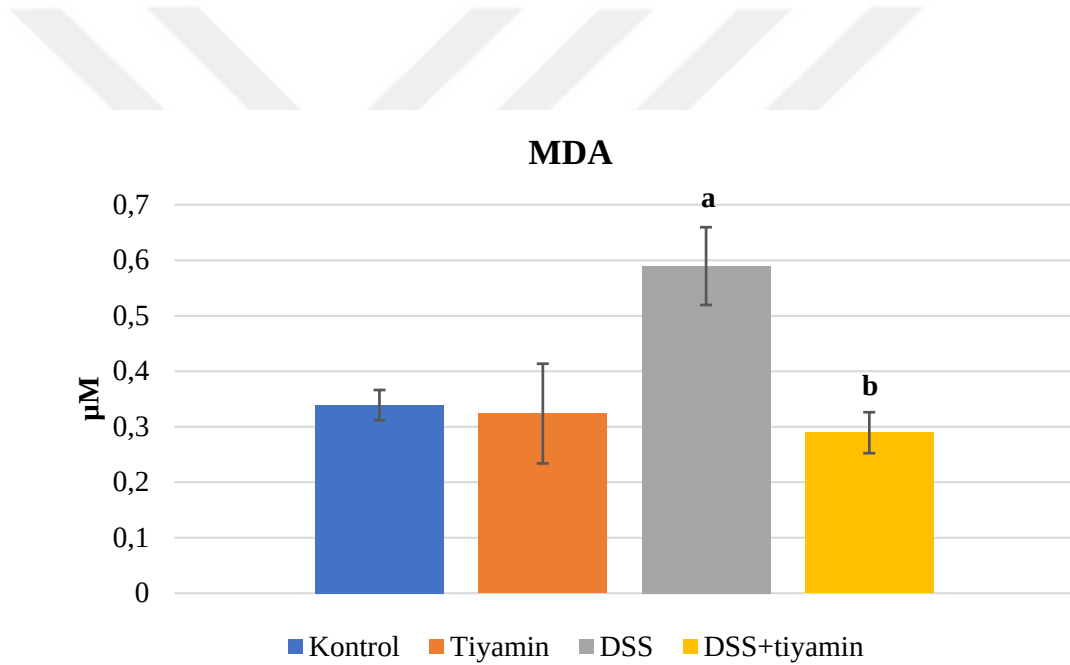
Şekil 30: Kolon kesitlerinin histolojik TNF-alfa görüntüleri

DSS: Dekstran sülfat sodyum, (A-D: 20x) gösterilmektedir. Görüntülerde (B), sarı yıldız (*) inflamatuvar hücre toplulukları, (B,D), kırmızı ok (→) pozitif hücre TNF alfa aktivasyonunu, (A,C), siyah yıldız (*) kript yapılarını göstermektedir. Kolon kesitlerinin histolojik IL-6 görüntülerinde (E-H: 20x), (F,H), siyah ok (→) pozitif hücre IL-6 aktivasyonunu, (E,G), siyah yıldız (*) kript yapılarını göstermektedir.

4.8. Oksidatif Stress ve İnflamasyonun Değerlendirilmesi

4.8.3. Kolon Dokusu Malondialdehit (MDA) değerleri

Tüm grupların MDA değerleri **Tablo 13**'de, ortalama MDA sonuçları **Şekil 31**'de gösterilmektedir. DSS grubunun MDA değerleri kontrol ve tiyamin gruplarına göre yüksek bulunmuştur ($p<0.005$). DSS+ tiyamin grubunda MDA değerleri DSS grubuna göre düşük bulunmuştur ($p=0.002$). Tiyamin grubunda MDA değerleri DSS grubuna göre düşük bulunmuştur ($p=0.005$). Kontrol ve tiyamin grupları arasında farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).

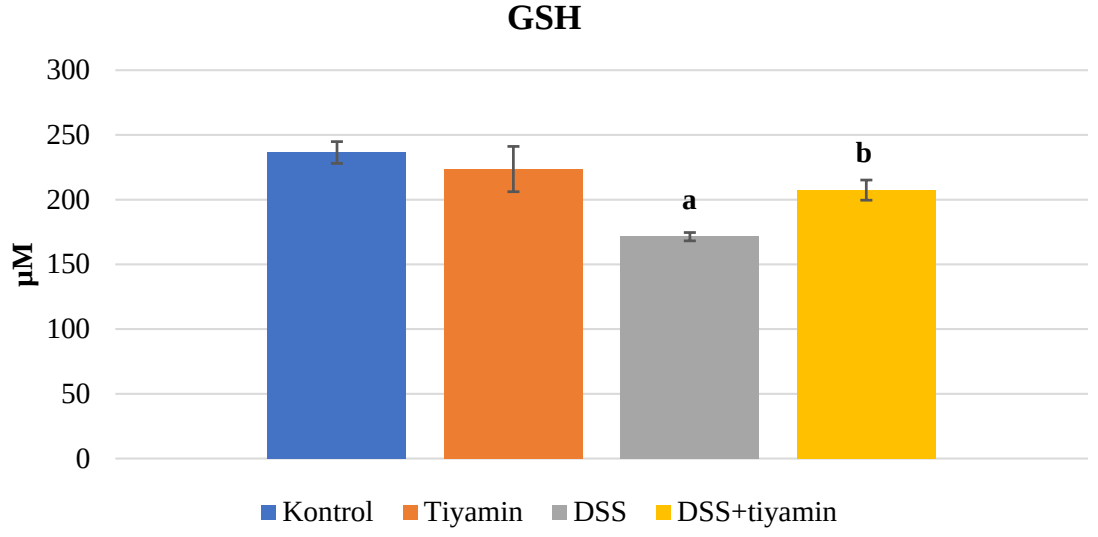


Şekil 31: Gruplar arası Malondialdehit (MDA) seviyelerinin karşılaştırılması

DSS: Dekstral sülfat sodyum (a) Kontrol ve tiyamin gruplarına göre farklı ($p<0.005$), (b) DSS grubuna göre farklı ($p=0.005$).

4.8.4. Kolon Dokusu Glutasyon (GSH) değerleri

Tüm grupların GSH değerleri **Tablo 13**'de, ortalama GSH sonuçları **Şekil 32**'de gösterilmektedir. DSS grubunda GSH değerleri kontrol ve tiyamin gruplarına göre düşük bulunmuştur ($p<0.005$). DSS+ tiyamin grubunda GSH değerleri DSS grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Tiyamin grubunda GSH değerleri DSS grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p=0.002$). Kontrol ve tiyamin grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

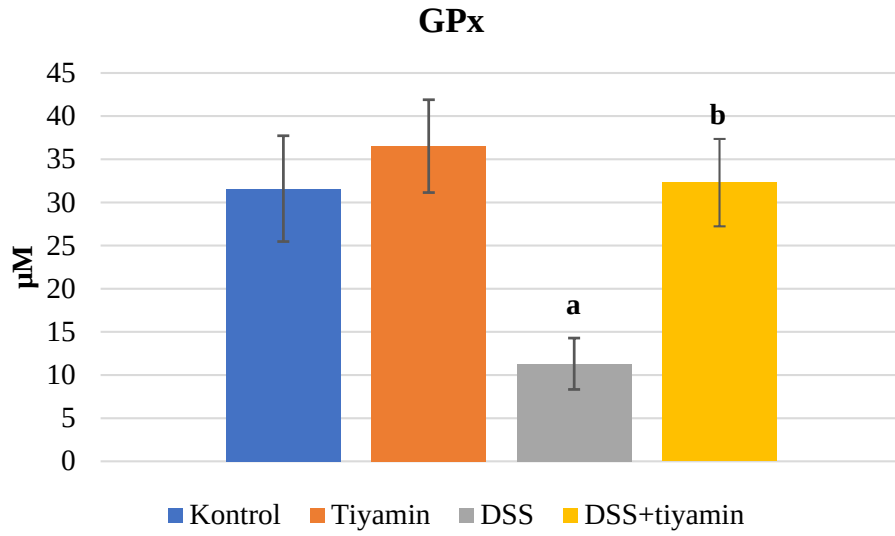


Şekil 32 : Gruplar arası Glutatyon(GSH) seviyelerinin karşılaştırılması

DSS: Dekstral sülfat sodyum (a) Kontrol ve tiyamin gruplarına göre farklı ($p<0.005$), (b) DSS grubuna farklı ($p<0.05$).

4.8.5. Kolon Dokusu Glutatyon Peroksidaz (GPx) Değerleri

Tüm grupların GPx değerleri **Tablo 13**'de, ortalama GPx sonuçları **Şekil 33**'de gösterilmektedir. DSS grubunda GPx değerleri kontrol ve tiyamin gruplarına göre düşük bulunmuştur ($p<0.05$). DSS+ tiyamin grubunda GPx değerleri DSS grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p=0.007$). Tiyamin grubunda GPx değerleri DSS grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p=0.002$). Kontrol ve tiyamin grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 33: Gruplar arası Glutasyon peroksidaz (GPx) seviyelerinin karşılaştırılması
DSS: Dekstran sülfat sodyum, (a) Kontrol ve tiyamin gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p < 0.05$), (b) DSS grubuna göre anlamlı olarak farklı ($p = 0.007$).

Tablo 13: Gruplar arası Malondialdehit (MDA), Glutasyon (GSH), Glutasyon Peroksidaz (GPx) seviyeleri

Grup	MDA (µM)	GSH (µM)	GPx (mU/mg pr)
Kontrol	0.33 ± 0.02 ^a	236.43 ± 8.40	31.59 ± 6.13
Tiyamin	0.32 ± 0.08	223.66 ± 17.47	36.52 ± 5.37
DSS	0.58 ± 0.07	171.40 ± 3.21	11.30 ± 2.97
DSS+Tiyamin	0.28 ± 0.03	207.35 ± 7.78	32.29 ± 5.06

DSS: Dekstran sülfat sodyum, (a) Ortalama ± standart sapma

5. TARTIŞMA

Günümüzde inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde kullanılan geçerli immunsupresif ve antiinflamatuvar tedavilerle uzun süreli remisyonu sağlamak her zaman mümkün olmamaktadır (119). Farmakolojik ve cerrahi tedavi seçenekleri, infeksiyon, perforasyon, inatçı rektal kanama gibi ciddi yan etki ve komplikasyonlara neden olabilmektedir (133). Bu nedenle, daha etkin ve güvenli tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalara ihtiyaç vardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda alisin (134), kardomonin (135), boehmeria niva (136), kızılıcık (137), askorbik asit (126) gibi bitkisel bileşenlerin ve vitaminlerin İBH şiddetini azaltıcı antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğuna göstermektedir. Araştırmacılar sulfazaline benzer etkilere sahip bazı ilaç ve ürünlerin kullanılabileceğini savunmaktadır (138, 139).

İBH patogenezinin anlaşılmasına ve yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yönelik birçok hayvan modeli geliştirilmiştir (97, 140). Hayvan çalışmalarında kolit modelleri DSS, 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit, asetik asit ve karregeean gibi kimyasalların uygulanmasıyla, transgenik ve “knock out” gibi genetik değişikliklerle oluşturulabilmektedir (141, 142). DSS ile oluşturulan kolit modeli, deneysel olarak ilk kez kullanılmaya başlandığı 1990’lı yılların başlarından bu yana insanlarda görülen ÜK hastalığının pek çok klinik ve histopatolojik bulgusunu yansıtmaması nedeniyle sık tercih edilmektedir (102).

DSS ile oluşturulan kolit modeli, DSS konsantrasyonu da dahil olmak üzere (genellikle %1 -%5), uygulama süresi ve sıklığı (akut veya kronik), molekül ağırlığı, denek türleri (C3H / HeJ, C57BL / 6 ve BALB / c fareleri daha duyarlı) ve hayvanların mikrobik çevresi (yani mikropsuz spesifik patojenlere karşı) ile ilişkilidir (143). DSS aracılı kolit modelinin küçük yaştaki sıçanlarda daha büyük yaştaki sıçanlara kıyasla daha yavaş oluştuğu gözlenmiştir. Buna sebep olarak, genç sıçanların görece daha az yem ve su tüketmesi gösterilmiştir. En etkili yaş aralığı 6-8 hafta olarak belirlenmiştir. DSS hem dişi hem de erkek sıçanlarda kolit oluşturmaktadır ancak erkeklerde daha hızlı oluşmakta ve ağır seyretmektedir. Görüldüğü üzere DSS ile oluşturulan kolit modeli genetik kökenin yanı sıra birçok faktörle ilişkilidir (144). Çalışmamızda kolit modeli 6-8 haftalık erkek cinsiyette Wistar Albino cinsi sıçanlarda oluşturulmuştur.

DSS uygulama süresi değiştirilerek akut, kronik, tekrarlayan kolit ve kolon kanseri modelleri oluşturulabilmektedir. DSS ile oluşturulan kolit modelinin %1-9 konsantrasyonda, değişen sürelerde uygulanması ile oluşturulmuş birçok hayvan çalışması bulunmaktadır (144). Akut kolit modelinde sık tercih edilen %3-5 konsantrasyonda yedi gün süre ile DSS uygulamasıdır. Kronik kolit modelinde ise 2-3 döngü olacak şekilde %2-3 konsantrasyonda yedi gün DSS, 7-14 gün içme suyu uygulaması yaygın olarak kullanılmaktadır (145). Cooper ve ark. (102) yedi gün %3 DSS uygulaması sonrası 14-21 gün içme suyu ile döngüsel DSS ile oluşturulan kronik kolit modeline benzer klinik ve histolojik sonuçlar elde edilebileceğini ortaya koymuştur. Yaptığımız çalışmada yedi gün %3 DSS uygulamasını takiben 21 gün içme suyu ile kolit modeli oluşturulmuştur.

Tiyamin (B1 vitamini), Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik proteinlerini, kaspaz-3 aktivasyonunu ve poli- (ADP-riboz) polimerazın (PARP) bölünmesinin engellenmesinin sağlar. Mitokondriyal membran potansiyelini, sitokrom C salınımını, apoptozu uyaran faktörü ve daha sonra p38-MAPK, stresle aktive olan kinazları (SAPK / JNK), protein kinaz C'yi ve sitoplazmik fosfolipaz A2'yi aktive eder. Makrofajlar üzerine etki eden tiyamin potansiyel bir anti-inflamatuar etki ve oksidatif stres kaynaklı NF-kappaB aktivasyonunu baskılayarak antioksidan etki göstermektedir (103). Kohda ve arkadaşlarının (146) yaptığı çalışmada yüksek doz oral tiyamin uygulamasının sıçanlarda heksozamin biyosentezini baskılayarak antioksidan etki ile kardiyomyopati gelişimi önlediği ortaya konmuştur. Işık ve arkadaşlarının (147) yaptığı başka bir çalışmada sıçanlarda diabetik retinopatiji, Babei ve arkadaşlarının (148) yaptığı bir başka çalışmada da diabetik nefropatiyi önlediği gösterilmiştir. Günümüzde Avrupa'da yüksek doz oral tiyamin takviyesi diabetik nöropati olgularında kullanılmaktadır (147).

Daha önce hepatotoksisitenin oluşturulduğu farklı hayvan modellerinde de tiyaminin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir (149). Magee ve ark. (150) İBH olduğu bilinen hasta grubunda yaptığı bir çalışmada, hastaların bir kısmının B kompleks vitamin takviyesi aldığını ancak almayan grup ile hastalık şiddeti açısından klinik olarak bir farklılık olmadığını belirtmiştir. Aynı çalışmada tiyamin eksikliğine neden olan kafein tüketimi, yüksek karbonhidrat içerikli gıda alımı gibi beslenmenin hastalık şiddetini arttırdığını, tiyaminin bağırsak florası için gerekli olduğunu ancak tek başına tiyamin

takviyesinin yeterli olmadığını ileri sürmüştür (150). Çalışmamızda antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği bilinen tiyaminin DSS ile oluşturulan kolit modeli üzerinde klinik, histopatolojik ve proinflamatuvar sitokin düzeyi üzerine etkinliğini değerlendirdik. Çalışmamızın sonuçlarına göre DSS ile sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde oral tiyamin uygulaması ile klinik, histolojik, immunhistokimyasal ve biyokimyasal olarak antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinin varlığını ortaya koyduk.

Kilo kaybı, gaita kıvamı ve gaitada kan varlığı parametrelerinin günlük olarak hesaplanması ile değerlendirilen HAI kolon hasarının değerlendirilmesinde önemli bir belirteçtir (151). Çalışmamızda DSS uygulanan gruplarda HAI skorunda belirgin artış gözlenirken, kontrol ve tiyamin gruplarında bir artış olmaması, klinik olarak DSS uygulanan gruplarda kolit oluşumunu destekler niteliktedir. DSS uygulamasının sonlandırılması ile birlikte günler içerisinde DSS ve DSS+ tiyamin gruplarında HAI skorunda azalma gözlenmiştir. DSS+ tiyamin grubunda HAI skorundaki azalma DSS grubuna göre daha erken dönemde ve daha belirgin olarak gözlenmiştir. Bu sonuç klinik bulgular üzerine tiyaminin iyileştirici etkisini göstermektedir.

DSS ile oluşturulan kolit modellerinde dalakta konjesyon ve ağırlık artışı ile kolon uzunluğunda kısalma olması inflamasyonun yani kolitin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (152). Bu çalışmada DSS uygulanan gruplarda kontrol ve tiyamin gruplarına göre, dalak ağırlığında artış ve kolon uzunluğunda azalma olmuştur. DSS+ tiyamin grubu dalak ağırlığının DSS grubuna göre daha az, kolon uzunluğunun ise daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu durum tiyamin uygulaması ile inflamasyonun baskılandığını ortaya koymaktadır.

DSS ile oluşturulan kolit modelinde kolon mukoza hasarını değerlendirmede, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, goblet hücre kaybı ve kolon duvar kalınlığında incelmeye önem taşımaktadır (153). Birçok çalışma kolon mukozasına olan nötrofil infiltrasyonunun İBH'lılarda belirgin artış gösterdiğini ortaya koymuştur (154, 155). Diffüz nötrofil infiltrasyonu kolondaki inflamasyonu daha da arttırmaktadır (156). Çalışmamızda DSS uygulanan gruplarda kolon dokusunda iltihabi hücre infiltrasyonu, goblet hücre kaybı, mukozal submukozal ödem varlığı gözlenmiş olup DSS+ tiyamin grubunda DSS grubunda bu değişikliklerde belirgin düzelme olduğu hatta kontrol grubuna yakın histolojik bulgular

olduğu görülmüştür. Bu durum tiyamin uygulaması ile histolojik olarak iyileşme görüldüğünü ortaya koymuştur.

TNF- α en önemli proinflamatuvar sitokinlerden birisi olup seviyelerindeki anormal artışlar bağışıklık sisteminin fonksiyon bozukluğu ile yakından ilişkilidir (157, 158). TNF- α 'nın aşırı salınımı, kazanılmış bağışıklık sistemini uyarak çok sayıda nötrofil ve makrofajın kolon mukozasına sızması ile kolon hasarının artmasına yol açar (159). Bu sebeple İBH tedavisinde TNF- α yapımını baskılayan birçok immunsupresif ajan kullanılmaktadır. Ayrıca, IL-6 da inflamasyonun oluşumundan ve diğer birçok proinflamatuvar sitokin salınımından sorumlu olması ile İBH patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (160). Yapılan çalışmalar DSS ile sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde de TNF- α ve IL-6 seviyelerinde artış olduğunu göstermektedir (97). Çalışmamızda da DSS grubundaki sıçanların TNF- α ve IL-6 seviyelerinde kontrol grubuna, tiyamin grubunda ve DSS+tiyamin grubuna göre anlamlı seviyede yükseklik olduğu görülmüştür. Bu durum bizlere tiyamin uygulaması ile dokuda TNF- α ve IL-6 salınımını baskıladığını göstermektedir.

Antioksidan kullanımı, kardiyak, nörolojik, gastrointestinal sistem hastalıklarının tedavisinde yer almaktadır (161). Oksidatif stress İBH patogeneğinde rol alan çok önemli faktörlerden biridir. Oksidatif stress DNA, lipid ve protein gibi hücrel makromoleküllere hasar vererek organ ve doku hasarına sebep olur (162). Lipid peroksidasyonunda son ürün olan MDA, dokudaki defans mekanizmalarını aşarak hasarlanmaya yol açması ile İBH patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (163). Yapılan çalışmalar DSS ile sıçanlarda oluşturulan kolit modellerinde kolon dokusundaki MDA seviyesinde belirgin artış olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda DSS ile kolit oluşturulan gruplarda kontrol gruplarına göre MDA seviyelerinde belirgin artış olduğu görülmüş olup, DSS+ tiyamin grubunda DSS grubuna göre daha düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir. Benzer sonuçlar farklı antioksidanların DSS ile kolit oluşturulmuş modellerinde de görülmektedir (126). Çalışmamızda tiyamin verilmesinin oksidatif stresi baskıladığı görülmüştür.

Antioksidan bir enzim olan GPx ve GSH lipid peroksidasyonunda önemli rol oynar (164). DSS ile sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde bu enzimlerin aktivitesinde azalma saptanmış ve bu etki ile kolit şiddeti arasında bir ilişki olduğu düşünülmüştür (126). Önceki çalışmalarla benzer şekilde (134, 162-164) DSS uygulaması sonrasında kolon dokusunda GPx

ve GSH aktivitelerinde azalma saptanmıştır. Çalışmamızda tiyamin uygulaması sonrasında GPx ve GSH aktivitelerinde belirgin artış gözlenmesi tiyaminin antioksidan enzim aktivitesini uyardığı ve kolit şiddetini azalttığını düşündürmektedir.

Bu çalışma tiyaminin antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliğini deneysel kolit modelinde gösteren ilk çalışma olması nedeniyle önem taşımaktadır. Elde ettiğimiz veriler tiyaminin İBH hastalığında antiinflamatuvar ve antioksidan etki gösterdiği yönünde öncü bilgilerdir. Bu konuda deneysel ve klinik yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. SONUÇLAR

1. DSS uygulanan grupta HAI skoru, histolojik hasarlanma skoru kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu durum sıçanlarda yedi gün %3 DSS uygulaması ile sıçanlarda kolit modelinin başarıyla oluşturulduğunu göstermektedir.
2. DSS+ tiyamin uygulanan grupta, DSS grubuna göre HAI skorunun erken dönemde azaldığı, rektal ödem, rektal kanama, ishal sürelerinin daha kısa sürdüğü, kilo artışının daha erken başladığı ve deney sonunda kilo alımının daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum tiyaminin kolitin klinik bulgularına olumlu etkileri olduğunu ortaya koymuştur.
3. DSS grubunda kolon dokusunda şiddetli epitelyal hücre hasarı olduğu, kript kaybı ve goblet hücre kaybının DSS+ tiyamin grubuna göre daha belirgin olduğu saptanmıştır.
4. DSS grubunda kolon dokusunda mukoza ve submukozada şiddetli konjesyon alanları, inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülürken DSS+ tiyamin grubunda konjesyon gözlenmemiş olup inflamatuvar hücre infiltrasyonunun DSS grubuna göre belirgin az olduğu görülmüştür.
5. DSS grubunda; kolon dokusunda IL-6 ve TNF- α immunreaktivitesinin kontrol grubuna göre belirgin arttığı görülmüştür. Bu durum sıçanlarda oluşan kolit modelinde inflamatuvar sitokinlerde artış olduğunu göstermektedir.
6. DSS+ tiyamin grubunda IL-6 ve TNF- α immunreaktivitesinin DSS grubuna göre azalmış olduğu görülmektedir. Bu durum tiyaminin sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde antiinflamatuvar etkinliğinin olduğunu göstermektedir.
7. DSS grubunda kontrol grubuna göre MDA düzeyinde artış, GSH ve GPx düzeylerinde ise azalma olduğu gözlenmiştir. Bu durum sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde oksidan stresin mevcudiyetini ortaya koymaktadır.

8. DSS+ tiyamin grubunda MDA düzeyinin DSS grubuna göre azalmış olduğu, GSH ve GPx seviyelerinin ise artmış olduğu gör÷lmektedir. Bu durum tiyaminin sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde antioksidan etkinliğinin olduğunu ortaya koymaktadır.



6. KAYNAKLAR

1. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Clinical microbiology reviews*. 2002;15(1):79-94.
2. JF. M. Ulcerative Colitis. *Pediatric gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management Philadelphia*:. 1999: p. 419–32.
3. Itoh J, de La Motte C, Strong S, Levine A, Fiocchi C. Decreased Bax expression by mucosal T cells favours resistance to apoptosis in Crohn's disease. *Gut*. 2001;49(1):35-41.
4. JS. H. Crohn's Disease. *Pediatric gastrointestinal disease: pathophysiology, diagnosis, management Philadelphia*:. 1999:p. 401–18. .
5. Grisham MB. Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. *The Lancet*. 1994;344(8926):859-61.
6. Coates PM, Blackman M, Betz J, Cragg GM, Levine M, Moss J, et al. *Encyclopedia of dietary supplements: Informa Healthcare*; 2010.
7. Erdman Jr JW, MacDonald IA, Zeisel SH. *Present knowledge in nutrition: John Wiley & Sons*; 2012.
8. Costantini A, Pala MI. Thiamine and fatigue in inflammatory bowel diseases: an open-label pilot study. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 2013;19(8):704-8.
9. Quince C, Ijaz UZ, Loman N, Eren AM, Saulnier D, Russell J, et al. Extensive modulation of the fecal metagenome in children with Crohn's disease during exclusive enteral nutrition. *The American journal of gastroenterology*. 2015;110(12):1718.
10. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*. 2006;443(7113):787.
11. Gibson GE, Blass JP. Thiamine-dependent processes and treatment strategies in neurodegeneration. *Antioxidants & redox signaling*. 2007;9(10):1605-20.
12. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44-84.
13. Motil KJ, Grand RJ, Davis-Kraft L, Ferlic LL, Smith EB. Growth failure in children with inflammatory bowel disease: a prospective study. *Gastroenterology*. 1993;105(3):681-91.
14. Heuschkel R, Salvestrini C, Beattie RM, Hildebrand H, Walters T, Griffiths A. Guidelines for the management of growth failure in childhood inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(6):839-49.
15. Griffiths AM, Nguyen P, Smith C, MacMillan JH, Sherman PM. Growth and clinical course of children with Crohn's disease. *Gut*. 1993;34(7):939-43.
16. Wong S, Macrae V, McGrogan P, Ahmed S. The role of pro-inflammatory cytokines in inflammatory bowel disease growth retardation. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2006;43(2):144-55.
17. Cowan F, Warner J, Dunstan F, Evans W, Gregory J, Jenkins H. Inflammatory bowel disease and predisposition to osteopenia. *Archives of disease in childhood*. 1997;76(4):325-9.
18. Boot A, Bouquet J, Krenning E, de Muinck Keizer-Schrama S. Bone mineral density and nutritional status in children with chronic inflammatory bowel disease. *Gut*. 1998;42(2):188-94.
19. Ahmed S, Horrocks I, Patterson T, Zaidi S, Ling S, McGrogan P, et al. Bone mineral assessment by dual energy X-ray absorptiometry in children with inflammatory bowel

- disease: evaluation by age or bone area. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2004;38(3):276-80.
20. Ballinger AB, Savage MO, Sanderson IR. Delayed puberty associated with inflammatory bowel disease. *Pediatric Research*. 2003;53(2):205.
 21. Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *The Lancet*. 2007;369(9573):1641-57.
 22. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2005;19(Suppl A):5A-36A.
 23. Guandalini S. *Textbook of pediatric gastroenterology and nutrition*: CRC Press; 2004.
 24. Roth M-P, Petersen GM, McElree C, Feldman E, Rotter JI. Geographic origins of Jewish patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1989;97(4):900-4.
 25. Eszter Müller K, Laszlo Lakatos P, Papp M, Veres G. Incidence and paris classification of pediatric inflammatory bowel disease. *Gastroenterology research and practice*. 2014;2014.
 26. Gottrand F, Colombel J, Moreno L, Salomez J, Farriaux J, Cortot A. Incidence of inflammatory bowel diseases in children in the Nord-Pas-de-Calais region. *Archives francaises de pediatrie*. 1991;48(1):25-8.
 27. Lee J, Lennard-Jones JE. Inflammatory bowel disease in 67 families each with three or more affected first-degree relatives. *Gastroenterology*. 1996;111(3):587-96.
 28. Tozun N, Atug O, Imeryuz N, Hamzaoglu HO, Tiftikci A, Parlak E, et al. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. *Journal of clinical gastroenterology*. 2009;43(1):51-7.
 29. Both H, Torp-Pedersen K, Kreiner S, Hendriksen C, Binder V. Clinical appearance at diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease in a regional patient group. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1983;18(7):987-91.
 30. Mamula P, Telega GW, Markowitz JE, Brown KA, Russo PA, Piccoli DA, et al. Inflammatory bowel disease in children 5 years of age and younger. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(8):2005-10.
 31. Levenstein S, Prantera C, Varvo V, Scribano ML, Andreoli A, Luzi C, et al. Stress and exacerbation in ulcerative colitis: a prospective study of patients enrolled in remission. *The American journal of gastroenterology*. 2000;95(5):1213-20.
 32. Collins SM. IV. Modulation of intestinal inflammation by stress: basic mechanisms and clinical relevance. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2001;280(3):G315-G8.
 33. Derby LE, Jick H. Appendectomy protects against ulcerative colitis. *Epidemiology*. 1998;205-7.
 34. Koutroubakis I, Vlachonikolis I. Appendectomy and the development of ulcerative colitis: results of a metaanalysis of published case-control studies. *The American journal of gastroenterology*. 2000;95(1):171-6.
 35. Goldman L ADA. *Cecil Medicine* 23rd edition. 2007.
 36. Ananthakrishnan AN, Xavier RJ. How does genotype influence disease phenotype in inflammatory bowel disease? *Inflammatory bowel diseases*. 2013;19(9):2021-30.
 37. Abraham C, Cho J. Interleukin-23/Th17 pathways and inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2009;15(7):1090-100.

38. Liu JZ, van Sommeren S, Huang H, Ng SC, Alberts R, Takahashi A, et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. *Nature genetics*. 2015;47(9):979.
39. Brynskov J, Nielsen OH, Ahnfelt-Rønne I, Bendtzen K. Cytokines (immunoinflammatory hormones) and their natural regulation in inflammatory bowel disease (Crohn's disease and ulcerative colitis): a review. *Digestive Diseases*. 1994;12(5):290-304.
40. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*. 2003;3(7):521.
41. Brooklyn TN, Dunnill M, Shetty A, Bowden JJ, Williams JD, Griffiths CE, et al. Infliximab for the treatment of pyoderma gangrenosum: a randomised, double blind, placebo controlled trial. *Gut*. 2006;55(4):505-9.
42. Schreiber S. The complicated path to true causes of disease: role of nuclear factor κ B in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2005;54(4):444-5.
43. Fukata M, Chen A, Klepper A, Krishnareddy S, Vamadevan AS, Thomas LS, et al. Cox-2 is regulated by Toll-like receptor-4 (TLR4) signaling: Role in proliferation and apoptosis in the intestine. *Gastroenterology*. 2006;131(3):862-77.
44. Duerr RH. The genetics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America*. 2002;31(1):63-76.
45. Festen EA, Szperl AM, Weersma RK, Wijmenga C, Wapenaar MC. Inflammatory bowel disease and celiac disease: overlaps in the pathology and genetics, and their potential drug targets. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*. 2009;9(2):199-218.
46. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *science*. 2005;308(5728):1635-8.
47. Comito D, Romano C. Dysbiosis in the pathogenesis of pediatric inflammatory bowel diseases. *International journal of inflammation*. 2012;2012.
48. Seldenrijk C, Morson B, Meuwissen S, Schipper N, Lindeman J, Meijer C. Histopathological evaluation of colonic mucosal biopsy specimens in chronic inflammatory bowel disease: diagnostic implications. *Gut*. 1991;32(12):1514-20.
49. Keshavarzian A, Fusunyan RD, Jacyno M, Winship D, MacDermott RP, Sanderson IR. Increased interleukin-8 (IL-8) in rectal dialysate from patients with ulcerative colitis: evidence for a biological role for IL-8 in inflammation of the colon. *The American journal of gastroenterology*. 1999;94(3):704-12.
50. McKenzie S, Baker M, Buffinton G, Doe W. Evidence of oxidant-induced injury to epithelial cells during inflammatory bowel disease. *The Journal of clinical investigation*. 1996;98(1):136-41.
51. Kruidenier La, Verspaget H. oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease—radicals or ridiculous? *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2002;16(12):1997-2015.
52. Kruidenier L, Verspaget H. Antioxidants and mucosa protectives: realistic therapeutic options in inflammatory bowel disease? *Mediators of inflammation*. 1998;7(3):157-62.
53. Bishop J, Lemberg D, Day A. Managing inflammatory bowel disease in adolescent patients. *Adolescent health, medicine and therapeutics*. 2014;5:1.
54. Uko V, Thangada S, Radhakrishnan K. Liver disorders in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology research and practice*. 2012;2012.
55. Baran B KS. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları ve Karaciğer. *Güncel Gastroenteroloji*. 2013;17(4):326–338.

56. Diefenbach KA, Breuer CK. Pediatric inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2006;12(20):3204.
57. Rothfuss KS, Stange EF, Herrlinger KR. Extraintestinal manifestations and complications in inflammatory bowel diseases. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2006;12(30):4819.
58. Escher J. Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis-the Porto criteria. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2005;41(1):1-7.
59. Sawczenko A, Sandhu B. Presenting features of inflammatory bowel disease in Great Britain and Ireland. *Archives of disease in childhood*. 2003;88(11):995-1000.
60. Benchimol EI, Fortinsky KJ, Gozdyra P, Van den Heuvel M, Van Limbergen J, Griffiths AM. Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review of international trends. *Inflammatory bowel diseases*. 2011;17(1):423-39.
61. Turner D, Otley AR, Mack D, Hyams J, De Bruijne J, Uusoue K, et al. Development, validation, and evaluation of a pediatric ulcerative colitis activity index: a prospective multicenter study. *Gastroenterology*. 2007;133(2):423-32.
62. JS H. *Pediatric Gastrointestinal Disease. Crohn's Disease* In: Willie/Hyams (eds);2nd edition(Philadelphia W.B. Saunders Company; 1999: 401- 18.).
63. Dillman JR, Dehkordy SF, Smith EA, DiPietro MA, Sanchez R, DeMatos-Maillard V, et al. Defining the ultrasound longitudinal natural history of newly diagnosed pediatric small bowel Crohn disease treated with infliximab and infliximab–azathioprine combination therapy. *Pediatric radiology*. 2017;47(8):924-34.
64. Mamula P, Markowitz JE, Baldassano RN, Grossman AB, Kelsen JR. *Pediatric inflammatory bowel disease*: Springer; 2008.
65. Dubinsky MC. Serologic and laboratory markers in prediction of the disease course in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2010;16(21):2604.
66. Bjerke K, Halstensen T, Jahnsen F, Pulford K, Brandtzaeg P. Distribution of macrophages and granulocytes expressing L1 protein (calprotectin) in human Peyer's patches compared with normal ileal lamina propria and mesenteric lymph nodes. *Gut*. 1993;34(10):1357-63.
67. Sabery N, Bass D. Use of serologic markers as a screening tool in inflammatory bowel disease compared with elevated erythrocyte sedimentation rate and anemia. *Pediatrics*. 2007;119(1):e193-e9.
68. Walkiewicz D, Werlin SL, Fish D, Scanlon M, Hanaway P, Kugathasan S. Fecal calprotectin is useful in predicting disease relapse in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(5):669-73.
69. Di Ruscio M, Vernia F, Ciccone A, Frieri G, Latella G. Surrogate Fecal Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease: Rivals or Complementary Tools of Fecal Calprotectin? *Inflammatory bowel diseases*. 2017;24(1):78-92.
70. Griffiths A, Koletzko S, Sylvester F, Marcon M, Sherman P. Slow-release 5-aminosalicylic acid therapy in children with small intestinal Crohn's disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 1993;17(2):186-92.
71. Steinhart AH. Is mesalazine useful for treating Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Disease Oxford: Blackwell Scientific*. 2001:99-109.
72. Kundhal P, Zachos M, Holmes J, Griffiths AM. Controlled ileal release budesonide in pediatric Crohn disease: efficacy and effect on growth. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2001;33(1):75-80.

73. Kolho K-L, Raivio T, Lindahl H, Savilahti E. Fecal calprotectin remains high during glucocorticoid therapy in children with inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2006;41(6):720-5.
74. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL# 3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *The American journal of gastroenterology*. 2009;104(2):437.
75. Henker J, Müller S, Laass M, Schreiner A, Schulze J. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) for successful remission maintenance of ulcerative colitis in children and adolescents: an open-label pilot study. *Zeitschrift fuer Gastroenterologie*. 2008;46(09):874-5.
76. Sandborn W. A review of immune modifier therapy for inflammatory bowel disease: azathioprine, 6-mercaptopurine, cyclosporine, and methotrexate. *Am J Gastroenterol*. 1996;91:423-33.
77. De Greef E, Vandenplas Y, Veereman-Wauters G. Opportunistic infections in paediatric inflammatory bowel disease patients. *Archives of disease in childhood*. 2012;97(1):5-7.
78. Russell RK, Wilson ML, Loganathan S, Bourke B, Kiparissi F, Mahdi G, et al. A British Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition survey of the effectiveness and safety of adalimumab in children with inflammatory bowel disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011;33(8):946-53.
79. Veereman-Wauters G, De Ridder L, Veres G, Kolacek S, Fell J, Malmborg P, et al. Risk of infection and prevention in pediatric patients with IBD: ESPGHAN IBD Porto Group commentary. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2012;54(6):830-7.
80. Beaugerie L, Brousse N, Bouvier AM, Colombel JF, Lémann M, Cosnes J, et al. Lymphoproliferative disorders in patients receiving thiopurines for inflammatory bowel disease: a prospective observational cohort study. *The Lancet*. 2009;374(9701):1617-25.
81. Kotlyar DS, Osterman MT, Diamond RH, Porter D, Blonski WC, Wasik M, et al. A systematic review of factors that contribute to hepatosplenic T-cell lymphoma in patients with inflammatory bowel disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2011;9(1):36-41. e1.
82. Turner D, Griffiths AM. Acute severe ulcerative colitis in children: a systematic review. *Inflammatory bowel diseases*. 2011;17(1):440-9.
83. Ziring DA, Wu SS, Mow WS, Martín MG, Mehra M, Ament ME. Oral tacrolimus for steroid-dependent and steroid-resistant ulcerative colitis in children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2007;45(3):306-11.
84. Fernández-Bañares F, Cabré E, Esteve-Comas M, Gassull MA. How effective is enteral nutrition in inducing clinical remission in active Crohn's disease? A meta-analysis of the randomized clinical trials. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 1995;19(5):356-64.
85. Piquet M-A, Gloro R, Justum A-M, Reimund J-M. Traitements nutritionnels au cours des MICI: où en est-on? *Gastroentérologie clinique et biologique*. 2006;30(2):262-71.
86. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *The Lancet*. 2002;359(9317):1541-9.
87. Yuan Q, Winter HS. Crohn's disease. *Textbook of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* London, Newyork: Taylor and Francis. 2004:347-78.
88. Markowitz J, Grancher K, Kohn N, Daum F. Immunomodulatory therapy for pediatric inflammatory bowel disease: changing patterns of use, 1990–2000. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(4):928.
89. Brown S, Haboubi N, Hampton J, George B, Travis S. The management of acute severe colitis: ACPGBI position statement. *Colorectal Disease*. 2008;10(s3):8-29.

90. López-Posadas R, Becker C, Günther C, Tenzer S, Amann K, Billmeier U, et al. Rho-A prenylation and signaling link epithelial homeostasis to intestinal inflammation. *The Journal of clinical investigation*. 2016;126(2):611-26.
91. Perše M, Cerar A. Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks. *BioMed Research International*. 2012;2012.
92. Kanneganti M, Mino-Kenudson M, Mizoguchi E. Animal models of colitis-associated carcinogenesis. *BioMed Research International*. 2011;2011.
93. Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Histological analysis of murine colitis induced by dextran sulfate sodium of different molecular weights. *Experimental Animals*. 2000;49(1):9-15.
94. Melgar S, Karlsson A, Michaëlsson E. Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: correlation between symptoms and inflammation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2005;288(6):G1328-G38.
95. Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology*. 1990;98(3):694-702.
96. Hudcovic T, Štěpánková R, Cebra J, Tlaskalova-Hogenova H. The role of microflora in the development of intestinal inflammation: acute and chronic colitis induced by dextran sulfate in germ-free and conventionally reared immunocompetent and immunodeficient mice. *Folia microbiologica*. 2001;46(6):565-72.
97. Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Experimental models of inflammatory bowel diseases. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*. 2015;1(2):154-70.
98. Mennigen R, Nolte K, Rijcken E, Utech M, Loeffler B, Senninger N, et al. Probiotic mixture VSL# 3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. *American journal of physiology-Gastrointestinal and liver physiology*. 2009;296(5):G1140-G9.
99. Araki Y, Mukaisyo K-I, Sugihara H, Fujiyama Y, Hattori T. Increased apoptosis and decreased proliferation of colonic epithelium in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Oncology reports*. 2010;24(4):869-74.
100. Yan Y, Kolachala V, Dalmaso G, Nguyen H, Laroui H, Sitaraman SV, et al. Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis. *PloS one*. 2009;4(6):e6073.
101. Alex P, Zachos NC, Nguyen T, Gonzales L, Chen T-E, Conklin LS, et al. Distinct cytokine patterns identified from multiplex profiles of murine DSS and TNBS-induced colitis. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;15(3):341-52.
102. Cooper HS, Murthy S, Shah R, Sedergran D. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1993;69(2):238-49.
103. Spinass E, Saggini A, Kritas S, Cerulli G, Caraffa A, Antinolfi P, et al. Crosstalk between vitamin B and immunity. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2015;29(2):283-8.
104. Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR. *Nutrición en la salud y la enfermedad*: Wolters Kluwer Health; 2014.
105. Nabokina SM, Said HM. A high-affinity and specific carrier-mediated mechanism for uptake of thiamine pyrophosphate by human colonic epithelial cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2012;303(3):G389-G95.
106. Allen LH, De Benoist B, Dary O, Hurrell R, Organization WH. Guidelines on food fortification with micronutrients. 2006.

107. Pavia Donald L. Introduction to Organic Laboratory Techniques: A Microscale Approach, 4a. Ed, Cengage Learning, Brooks/Cole Laboratory Series, USA. 2006.
108. Gibson GE, Zhang H. Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. *Neurochemistry international*. 2002;40(6):493-504.
109. Jhala SS, Hazell AS. Modeling neurodegenerative disease pathophysiology in thiamine deficiency: consequences of impaired oxidative metabolism. *Neurochemistry international*. 2011;58(3):248-60.
110. Aikawa H, Watanabe IS, Furuse T, Iwasaki Y, Satoyoshi E, Sumi T, et al. Low energy levels in thiamine-deficient encephalopathy. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 1984;43(3):276-87.
111. Kinnersley HW, Peters RA. Carbohydrate metabolism in birds: Brain localisation of lactic acidosis in avitaminosis B, and its relation to the origin of symptoms. *Biochemical Journal*. 1930;24(3):711.
112. Chadda K, Raynard B, Antoun S, Thyrault M, Nitenberg G. Acute lactic acidosis with Wernicke's encephalopathy due to acute thiamine deficiency. *Intensive care medicine*. 2002;28(10):1499-.
113. S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27. 2014.;Nutrient Data Laboratory home page, 2014.
114. Intakes IoMSCotSEoDR. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline: National Academies Press (US); 1998.
115. Aguilar F, Charrondiere U, Dusemund B, Galtier P, Gilbert J, Gott D, et al. Benfotiamine, thiamine monophosphate chloride and thiamine pyrophosphate chloride, as sources of vitamin B1 added for nutritional purposes to food supplements. *The EFSA Journal*. 2008;864:1-31.
116. Lammes E, Törner A, Akner G. Nutrient density and variation in nutrient intake with changing energy intake in multimorbid nursing home residents. *Journal of human nutrition and dietetics*. 2009;22(3):210-8.
117. Yu W, Lu B, Zhang H, Zhang Y, Yan J. Effects of the Sijunzi decoction on the immunological function in rats with dextran sulfate-induced ulcerative colitis. *Biomedical reports*. 2016;5(1):83-6.
118. Ritchie LE, Taddeo SS, Weeks BR, Carroll RJ, Dykes L, Rooney LW, et al. Impact of novel sorghum bran diets on DSS-induced colitis. *Nutrients*. 2017;9(4):330.
119. Wang K, Jin X, You M, Tian W, Leu RKL, Topping DL, et al. Dietary Propolis Ameliorates Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis and Modulates the Gut Microbiota in Rats Fed a Western Diet. *Nutrients*. 2017;9(8):875.
120. Reddy KVK, Naidu KA. Oleic acid, hydroxytyrosol and n-3 fatty acids collectively modulate colitis through reduction of oxidative stress and IL-8 synthesis; in vitro and in vivo studies. *International immunopharmacology*. 2016;35:29-42.
121. Dief AE, Samy DM, Dowedar FI. Impact of exercise and vitamin B1 intake on hippocampal brain-derived neurotrophic factor and spatial memory performance in a rat model of stress. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 2015;61(1):1-7.
122. Uysal HB, Dağlı B, Yılmaz M, Kahyaoğlu F, Gökçimen A, Ömürlü İK, et al. Biochemical and Histological Effects of Thiamine Pyrophosphate against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2016;118(1):70-6.
123. Turan M, Cayir A, Cetin N, Suleyman H, Turan IS, Tan H. An investigation of the effect of thiamine pyrophosphate on cisplatin-induced oxidative stress and DNA damage in

rat brain tissue compared with thiamine: thiamine and thiamine pyrophosphate effects on cisplatin neurotoxicity. *Human & experimental toxicology*. 2014;33(1):14-21.

124. Arslan A, Kuyrukluıldiz U, Binici O, Cetin N, Balci MG, Kuzucu M, et al. Can thiamine pyrophosphate prevent desflurane induced hepatotoxicity in rats? *Acta chirurgica brasileira*. 2016;31(3):168-75.

125. Menezes RR, Godin AM, Rodrigues FF, Coura GM, Melo IS, Brito AMS, et al. Thiamine and riboflavin inhibit production of cytokines and increase the anti-inflammatory activity of a corticosteroid in a chronic model of inflammation induced by complete Freund's adjuvant. *Pharmacological Reports*. 2017;69(5):1036-43.

126. Yan H, Wang H, Zhang X, Li X, Yu J. Ascorbic acid ameliorates oxidative stress and inflammation in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *International journal of clinical and experimental medicine*. 2015;8(11):20245.

127. Appleyard CB, Wallace JL. Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1995;269(1):G119-G25.

128. Zhao H-W, Yue Y-H, Han H, Chen X-L, Lu Y-G, Zheng J-M, et al. Effect of toll-like receptor 3 agonist poly I: C on intestinal mucosa and epithelial barrier function in mouse models of acute colitis. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(6):999.

129. Camuesco D, Gálvez J, Nieto A, Comalada M, Rodríguez-Cabezas ME, Concha A, et al. Dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA and DHA (n-3) polyunsaturated fatty acids, attenuates colonic inflammation in rats with DSS-induced colitis. *The Journal of nutrition*. 2005;135(4):687-94.

130. Gao Y, Huang Y, Zhao Y, Hu Y, Li Z, Guo Q, et al. LL202 protects against dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice by inhibiting MAPK/AP-1 signaling. *Oncotarget*. 2016;7(39):63981.

131. Sugihara K, Masuda M, Nakao M, Abuduli M, Imi Y, Oda N, et al. Dietary phosphate exacerbates intestinal inflammation in experimental colitis. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. 2017;61(2):91-9.

132. Zhao Y, Sun Y, Ding Y, Wang X, Zhou Y, Li W, et al. GL-V9, a new synthetic flavonoid derivative, ameliorates DSS-induced colitis against oxidative stress by up-regulating Trx-1 expression via activation of AMPK/FOXO3a pathway. *Oncotarget*. 2015;6(28):26291.

133. Moss AC. Optimizing the use of biological therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology report*. 2015;3(1):63-8.

134. Pandurangan AK, Ismail S, Saadatdoust Z, Esa NM. Allicin alleviates dextran sodium sulfate-(DSS-) induced ulcerative colitis in BALB/c mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2015;2015.

135. Kim SL, Liu YC, Seo SY, Kim SH, Kim IH, Lee SO, et al. Parthenolide induces apoptosis in colitis-associated colon cancer, inhibiting NF- κ B signaling. *Oncology letters*. 2015;9(5):2135-42.

136. Shin EJ, Hur HJ, Sung MJ, Park JH, Yang HJ, Kim MS, et al. Ethanol extract of the *Prunus mume* fruits stimulates glucose uptake by regulating PPAR- γ in C2C12 myotubes and ameliorates glucose intolerance and fat accumulation in mice fed a high-fat diet. *Food chemistry*. 2013;141(4):4115-21.

137. Xiao X, Kim J, Sun Q, Kim D, Park C-S, Lu T-S, et al. Preventive effects of cranberry products on experimental colitis induced by dextran sulphate sodium in mice. *Food chemistry*. 2015;167:438-46.

138. Farombi EO, Adedara IA, Ajayi BO, Ayepola OR, Egbeme EE. Kolaviron, a natural antioxidant and anti-inflammatory phytochemical prevents dextran sulphate sodium-induced colitis in rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2013;113(1):49-55.
139. Xu L, Yang Z-l, Li P, Zhou Y-q. Modulating effect of Hesperidin on experimental murine colitis induced by dextran sulfate sodium. *Phytomedicine*. 2009;16(10):989-95.
140. Valatas V, Bamias G, Kolios G. Experimental colitis models: insights into the pathogenesis of inflammatory bowel disease and translational issues. *European journal of pharmacology*. 2015;759:253-64.
141. Kim H-S, Berstad A. Experimental colitis in animal models. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1992;27(7):529-37.
142. Blumberg RS, Saubermann LJ, Strober W. Animal models of mucosal inflammation and their relation to human inflammatory bowel disease. *Current opinion in immunology*. 1999;11(6):648-56.
143. Eichele DD, Kharbanda KK. Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis. *World journal of gastroenterology*. 2017;23(33):6016.
144. Chassaing B, Aitken JD, Malleshappa M, Vijay-Kumar M. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Current protocols in immunology*. 2014;15.25. 1-15.25. 14.
145. Podolsky DK, Gerken G, Eyking A, Cario E. Colitis-associated variant of TLR2 causes impaired mucosal repair because of TFF3 deficiency. *Gastroenterology*. 2009;137(1):209-20.
146. Kohda Y, Shirakawa H, Yamane K, Otsuka K, Kono T, Terasaki F, et al. Prevention of incipient diabetic cardiomyopathy by high-dose thiamine. *The Journal of toxicological sciences*. 2008;33(4):459-72.
147. Ceylan-Isik AF, Wu S, Li Q, Li S-Y, Ren J. High-dose benfotiamine rescues cardiomyocyte contractile dysfunction in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Journal of applied physiology*. 2006;100(1):150-6.
148. Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N, Battah S, Thornalley PJ. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. *Diabetes*. 2003;52(8):2110-20.
149. Demiryilmaz I, Sener E, Cetin N, Altuner D, Suleyman B, Albayrak F, et al. Biochemically and histopathologically comparative review of thiamine's and thiamine pyrophosphate's oxidative stress effects generated with methotrexate in rat liver. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. 2012;18(12):BR475.
150. Magee EA, Edmond LM, Tasker SM, Kong SC, Curno R, Cummings JH. Associations between diet and disease activity in ulcerative colitis patients using a novel method of data analysis. *Nutrition Journal*. 2005;4(1):7.
151. Diaz-Granados N, Howe K, Lu J, McKay DM. Dextran sulfate sodium-induced colonic histopathology, but not altered epithelial ion transport, is reduced by inhibition of phosphodiesterase activity. *The American journal of pathology*. 2000;156(6):2169-77.
152. Ren G, Sun A, Deng C, Zhang J, Wu X, Wei X, et al. The anti-inflammatory effect and potential mechanism of cardamonin in DSS-induced colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2015;309(7):G517-G27.
153. Hu S, Chen M, Wang Y, Wang Z, Pei Y, Fan R, et al. mTOR inhibition attenuates dextran sulfate sodium-induced colitis by suppressing T cell proliferation and balancing TH1/TH17/Treg profile. *PloS one*. 2016;11(4):e0154564.

154. Koelink PJ, Overbeek SA, Braber S, Morgan ME, Henricks PA, Roda MA, et al. Collagen degradation and neutrophilic infiltration: a vicious circle in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2013;gutjnl-2012-303252.
155. Liu W, Guo W, Hang N, Yang Y, Wu X, Shen Y, et al. MALT1 inhibitors prevent the development of DSS-induced experimental colitis in mice via inhibiting NF- κ B and NLRP3 inflammasome activation. *Oncotarget*. 2016;7(21):30536.
156. Murphy CT, Moloney G, Hall LJ, Quinlan A, Faivre E, Casey P, et al. Use of bioluminescence imaging to track neutrophil migration and its inhibition in experimental colitis. *Clinical & Experimental Immunology*. 2010;162(1):188-96.
157. Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Di Sabatino A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity reviews*. 2014;13(1):3-10.
158. Ben-Horin S, Kopylov U, Chowers Y. Optimizing anti-TNF treatments in inflammatory bowel disease. *Autoimmunity reviews*. 2014;13(1):24-30.
159. Zindl CL, Lai J-F, Lee YK, Maynard CL, Harbour SN, Ouyang W, et al. IL-22-producing neutrophils contribute to antimicrobial defense and restitution of colonic epithelial integrity during colitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(31):12768-73.
160. Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1756-67. e1.
161. Ginter E, Simko V, Panakova V. Antioxidants in health and disease. *Bratislavske lekarske listy*. 2014;115(10):603-6.
162. Lee I-A, Park Y-J, Yeo H-K, Han MJ, Kim D-H. Soyasaponin I attenuates TNBS-induced colitis in mice by inhibiting NF- κ B pathway. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(20):10929-34.
163. Amrouche-Mekkioui I, Djerdjouri B. N-acetylcysteine improves redox status, mitochondrial dysfunction, mucin-depleted crypts and epithelial hyperplasia in dextran sulfate sodium-induced oxidative colitis in mice. *European journal of pharmacology*. 2012;691(1-3):209-17.
164. Ashokkumar P, Sudhandiran G. Protective role of luteolin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2008;62(9):590-7.