



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL KOLİT
MODELİ ÜZERİNE PROPOLİS ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Levent BOLAT
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Cem Kaan PARSAK**

ADANA-2022



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL KOLİT
MODELİ ÜZERİNE PROPOLİS ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Levent BOLAT
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Cem Kaan PARSAK**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonunun TTU-2022-14631 nolu
Projesi ile desteklenmiştir.**

ADANA-2022

TEŞEKKÜR

Dünyanın en güzel ülkesinde, ilkokul çağlarımdan itibaren Cumhuriyet değerlerine bağlı olarak eğitim almamı ve çocukluğumdan beri hayalini kurduğum hekimlik mesleğini özgür bir birey olarak icra etmemi sağlayan Türkiye Cumhuriyeti Devleti'nin kurucusu Başöğretmen Mustafa Kemal ATATÜRK'e sonsuz saygılarımla...

Uzmanlık tezi hazırlama sürecimde deneyimlerini paylaşan tez hocam Prof. Dr. Cem Kaan PARSAK'a ve cerrahi eğitim hayatım boyunca bana her konuda yardımcı olan Doç. Dr. İsmail Cem ERAY'a; Ç.Ü.T.F. Genel Cerrahi Kliniği'nin tüm kıymetli hocalarına, Ç.Ü.T.F. Genel Cerrahi Kliniği'nde eğitimim süresince birlikte çalıştığım herkese, çocukluğumdan beri desteklerini her zaman her konuda hissettiğim babama, anneme ve kardeşime teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
KISALTMA LİSTESİ	VII
ÖZET.....	X
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kolon Embriyolojisi	3
2.2. Kolon Histolojisi	4
2.2.1. Tunika Mukoza.....	4
2.2.2. Tunika Submukoza	4
2.2.3. Tunika Muskularis.....	5
2.2.4. Tunika Seroza	5
2.3. Anatomi	6
2.3.1. Çekum	7
2.3.2. Çıkan Kolon	8
2.3.3. Transvers Kolon	8
2.3.4. İnen Kolon.....	8
2.3.5. Sigmoid Kolon	9
2.3.6. Rektum	9
2.3.7 Anal Kanal ve Anüs.....	9
2.3.8. Kolonun Arteryel Sistemi.....	9
2.3.9. Kolonun Venöz Sistemi	11
2.3.10. Kolonun Lenfatik Sistemi	12
2.3.11. Kolonun Sinirleri.....	12
2.4. Kolonun Fizyolojisi.....	12

2.4.1. Kolonda Sıvı Elektrolit Fizyolojisi	13
2.4.2. Motilite	14
2.5. Ratlarda Kolon Anatomisi ve Histolojisi	15
2.6. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları	18
2.6.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Epidemiyolojisi	22
2.6.2. Crohn Hastalığı	23
2.6.3. Ülseratif Kolit	23
2.6.4. İBH Patogenezi	24
2.6.5. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında Tedavi	28
2.6.5.1. Kortikosteroidler	31
2.6.5.2. Salisilatlar	32
2.6.5.3. İmmün Modülatör Tedavi (tiyopürin analogları)	32
2.6.5.3.1. Metotreksat	32
2.6.5.3.2. Azatioprin	32
2.6.5.3.3. Siklosporin	33
2.6.5.4. Biyolojik İlaçlar	33
2.6.5.4.1. İnfliksımab	33
2.6.5.4.2. Adalimumab	33
2.6.5.4.3. Certolizumab pegol	33
2.6.5.4.4. Natalizumab	34
2.6.5.5. İBH’de Cerrahi Tedavi	34
2.6.6. Deneysel Kolit Modelleri	35
2.6.6.1. Asetik Asit Kolit Modeli	35
2.6.7. Serbest Radikaller	37
2.6.8. Serbest Radikal Çeşitleri	38
2.6.8.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)	38
2.6.8.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	38
2.6.8.3. Hidroksil Radikali (OH^-)	39
2.6.8.4. Nitrik Oksit (NO)	39
2.6.8.5. Serbest Radikallerin Etkileri	39
2.6.9. Antioksidan Sistem	41
2.6.9.1. Endojen Antioksidanlar	42
2.6.9.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	42

2.6.9.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	42
2.6.9.1.1.2. Katalaz (CAT)	42
2.6.9.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx).....	42
2.6.9.1.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR).....	43
2.6.9.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	43
2.6.9.1.2.1. Glutasyon (GSH)	43
2.6.10. Apoptozis Mekanizmaları	44
2.6.10.1. Kaspazlar	44
2.7. Propolis.....	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	50
3.1. Gruplar	50
3.2. Propolisin Hazırlanışı	56
3.3. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme	56
3.3.1. Mikroskopik Değerlendirme	58
3.3.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme (Kaspaz-3 İncelemesi)	61
3.4. Gaita Kıvamı ve Skorlaması	64
3.5. Ağırlık Kaybı Değerlendirilmesi	64
3.6. Biyokimyasal İnceleme	65
3.6.1. Elisa Deneyleri	65
3.6.2. Homojenizasyon.....	65
3.6.3. Miyeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Ölçümü	66
3.6.4. Malondialdehid (MDA) Ölçümü.....	66
3.6.5. TNF- α Düzeyi Ölçümü.....	67
3.6.6. IL-10 Düzeyi Ölçümü	67
3.7 İstatistiksel Analiz	69
4. BULGULAR	70
5. TARTIŞMA	78
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	85
7. KAYNAKLAR	86
8. EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
8.1. Etik Kurul Onayı	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

TABLO LİSTESİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri (ROS)	37
Tablo 2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)	38
Tablo 3. Antioksidanlar	41
Tablo 4. Apoptozis ve genler	45
Tablo 5. Propolis içeriğinde belirlenen bileşikler	48
Tablo 6. Gruplar	51
Tablo 7. Makroskopik skorlama kriterleri	57
Tablo 8. Mikroskopik skorlama kriterleri	58
Tablo 9. Gaita kıvamı skorlaması	64
Tablo 10. Ağırlık kaybı skorlaması	65
Tablo 11. Gruplara göre ağırlık kaybı, gaita kıvamı, makroskopik ve mikroskopik skorlar	70
Tablo 12. Klinik parametrelerin istatistiksel analizi	71
Tablo 13. Biyokimyasal ve immünohistokimyasal parametrelerin istatistiksel analizi	71

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No

Sayfa No

Şekil 1. Fetüs (15. Hafta).....	3
Şekil 2. Kolonun histolojik yapısı.....	5
Şekil 3. Kolorektal anatomi.....	6
Şekil 4. Kolorektal arteriyel sistem.....	10
Şekil 5. Kolon venöz sistemi	11
Şekil 6. Ratlarda kolon anatomisi	16
Şekil 7. Ratlarda kolon histolojik yapısı.....	17
Şekil 8. Sıçan kolorektal sisteminin X-ray görüntüsü.....	18
Şekil 9. İBH patogenezinde etkili faktörler.....	20
Şekil 10. İBH patogenezi.....	28
Şekil 11. Hafif – orta şiddetli ülseratif kolit tedavi algoritması.....	29
Şekil 12. Şiddetli ülseratif kolitte tedavi algoritması.....	29
Şekil 13. Fistülizan Crohn hastalığında tedavi algoritması	30
Şekil 14. Hafif-orta aktiviteli Crohn hastalığında tedavi algoritması.....	30
Şekil 15. Orta-ağır aktiviteli Crohn hastalığında tedavi algoritması.....	31
Şekil 16. %4 Asetik asit uygulanan ratta 4. gün kolon mikroskop görüntüsü.....	36
Şekil 17. Rektal yoldan uygulama.....	54
Şekil 18. İP Anestezi Uygulanması.....	55
Şekil 19. Ameliyat pozisyonu.....	55
Şekil 20. İntrakardiyak kan alınması	55
Şekil 21. Laparotomi yapılması.....	55
Şekil 22. Kolon ve rektumun izolasyonu	55
Şekil 23. Kolon ve rektumun çıkarılması	55
Şekil 24. Çıkarılan kolon örneklerinin makroskopik görünümü	57
Şekil 25. Dokudan kesitlerin alınması	58
Şekil 26. Hazırlanmış patoloji blokları.....	58
Şekil 27. Kontrol grubu mikroskop görüntüsü.....	59
Şekil 28. Asetik asit grubu mikroskop görüntüsü	59
Şekil 29. Asetik asit+propolis grubu mikroskop görüntüsü	60
Şekil 30. Propolis grubu mikroskop görüntüsü	60
Şekil 31. Asetik asit+zeytinyağı grubu mikroskop görüntüsü	61
Şekil 32. Kontrol grubu Kaspaz-3 incelemesi	62
Şekil 33. Asetik asit grubu Kaspaz-3 incelemesi.....	62
Şekil 34. Asetik asit+propolis grubu Kaspaz-3 incelemesi.....	63
Şekil 35. Propolis grubu Kaspaz-3 incelemesi	63
Şekil 36. Asetik asit+zeytinyağı grubu Kaspaz-3 incelemesi	64
Şekil 37. Kuyucuklara doku ve kan örneklerinin yerleştirilmesi.....	68
Şekil 38. Stop çözeltisi eklenmeden önce mavi renk gözlenmesi	68
Şekil 39. Ağırlık değişimi.....	73
Şekil 40. Kilo kaybı yüzdesi.....	74
Şekil 41. Gruplara göre Kaspaz-3 Değerleri.....	74
Şekil 42. Gruplara göre ortalama MPO değerleri.....	75
Şekil 43. Gruplara göre ortalama MDA değerleri	76
Şekil 44. Gruplara göre ortalama IL-10 değerleri	76
Şekil 45. Gruplara göre ortalama TNF- α değerleri	77

KISALTMA LİSTESİ

APC	: Antijen sunan hücre
BT	: Bilgisayarlı tomografi
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CH	: Crohn hastalığı
Cl	: Klor
COX	: Siklooksijenaz
Cu	: Bakır
ÇÜTF	: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
Fe	: Demir
G-CSF	: Granülosit stimüle edici faktör
GIS	: Gastrointestinal sistem
GM-CSF	: Granülosit-Monosit stimüle edici faktör
Gpx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
HCO₃	: Bikarbonat
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
H&E	: Hematoksilen eozin
I	: İyot
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
IP	: İntraperitoneal
IR	: İntrarektal
İBH	: İnflamatuvar bağırsak hastalığı

İMA	: İnferior mezenterik arter
İMV	: İnferior mezenterik ven
K	: Potasyum
kD	: Kilodalton
LTB4	: LökotrienB4
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
ml	: Mililitre
Mn	: Manganez
MPO	: Myeloperoksidaz
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NF-kB	: Nükleer faktör kappa B
NK	: Natural Killer
NO	: Nitrik Oksit
NSAİİ	: Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
OH-	: Hidroksil Radikali
O2	: Oksijen
O2⁻	: Süperoksit radikali
PAS	: Periyodik asit-Schiff
PGE2	: ProstoglandinE2
PMN	: Polimorfonükleer lökosit
RNA	: Ribo nükleik asit
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
SMA	: Süperior mezenterik arter
SOD	: Süperoksit dismutaz
STAT3	: Sinyal dönüştürücü ve aktive edici transkripsiyon 3

TGF-β	: Değiştirici büyüme faktörü- β
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
TxA2	: Tromboksan A2
Tyk2	: Tirozin kinaz 2
�K	: Ülseratif kolit
Zn	: Çinko
5-ASA	: 5-aminosalisilat

ÖZET

Ratlarda Oluşturulan Deneysel Kolit Modeli Üzerine Propolis Etkinliğinin Araştırılması

Amaç: Bu çalışmada asetik asitle indüklenmiş deneysel kolit modelinde propolis etkinliğinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Ortalama ağırlıkları 200-260 gr olan toplam 30 adet Wistar Albino türü dişi rat çalışmada kullanıldı. Ratlar 5 gruba (n:6) ayrıldı. Ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Birinci grup kontrol grubu olarak belirlendi. İkinci, üçüncü ve beşinci gruba kolit oluşturmak için rektal yolla 1 ml %4 asetik asit verildi. Üçüncü gruba rektal yolla 1 ml propolis çözeltisi (50mg/ml) verildi. Dördüncü gruba yalnızca propolis çözeltisi verildi. Beşinci gruba ise kolit oluşturulduktan sonra rektal yoldan 1 ml zeytinyağı verildi. Tüm grupların ağırlıkları 120. saatte tekrar ölçüldü. Gaita kıvamı değerlendirildi. Ratlardan intrakardiyak kan örneği alındıktan sonra laparotomi yapılarak kolon doku örneği alındı. Gaita kıvamı, ağırlık kaybı, mikroskopik ve makroskopik skorlar değerlendirildi. Dokuda MDA, MPO, kaspaz-3 düzeyleri, kan örneklerinde ise TNF- α ve IL-10 düzeyleri incelendi.

Bulgular: Asetik asit grubu ile asetik asit+propolis grubu kıyaslandığında propolisin gaita skoru, MDA, MPO, TNF- α , düzeylerini istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalttığı saptandı. ($p<0.05$) Propolis ve zeytinyağının asetik asit grubuna göre kilo kaybı üzerinde istatistiksel olarak olumlu etkisi saptanmadı. Histolojik değerlendirme skorları her ne kadar asetik asit ve asetik asit+propolis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık içermese de ortalama değerlerin tedavi verilen grupta daha düşük bulunmuş olması dikkat çekicidir.

Sonuç: Çalışmamızda asetik asitle indüklediğimiz kolit modelinde rektal yolla verilen propolisin kolit yapılan gruba göre MDA, TNF- α ve MPO düzeylerini istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalttığı saptandı. Rektal yolla verilen propolisin deneysel kolit modelinde tedavi edici etkisi olabileceği; ancak daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Asetik asit, Kolit, Propolis, Zeytinyağı.

ABSTRACT

Effectiveness Of Propolis On Experimental Colitis Model In Rats

Aim: In this research, it was aimed to investigate if propolis was effective in treating experimental colitis induced by acetic acid.

Materials and Method: 30 female Wistar albino rats with an average weight of 200-260 g were used in this study. Rats were divided into 5 groups (n:6). Their weights were measured and documented. The first group was the control group. In the second, third and fifth groups, 1 ml of 4% acetic acid was administered rectally to induce colitis. One ml of propolis solution (50 mg/ml) was rectally administered to the third group. The fourth group was given only rectal propolis solution. The fifth group was given 1 ml of olive oil rectally after the onset of colitis. The weights of all groups were measured again at the 120th hour. Stool consistency was evaluated. The rats' intracardiac blood samples were collected, and then a laparotomy was done to acquire a sample of colon tissue. Assessments included stool consistency, weight loss, microscopic and macroscopic scores. MDA, MPO, caspase-3 levels in tissue and TNF- α and IL-10 levels in blood samples were examined.

Results: When the acetic acid group was compared with the acetic acid+propolis group, it was found that propolis statistically significantly reduced the stool score, MDA, MPO, and TNF- α levels. ($p<0.05$) When compared to the acetic acid group, propolis and olive oil had no significant statistical impact on weight loss. Although there was no statistically significant difference in the histological assessment scores between the acetic acid and acetic acid+propolis groups, it was remarkable that the mean values were lower in the treatment group.

Conclusion: Rectal treatment of propolis reduced MDA, TNF- α , and MPO levels significantly when compared to the colitis group in our study's acetic acid-induced colitis model. Rectal administration of propolis might be beneficial in the experimental colitis model, although more study is undoubtedly necessary.

Keywords: Acetic acid, Colitis, Propolis, Olive oil.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar bağırsak hastalığı tanımlamasında 2 adet kronik idiyopatik inflamatuvar hastalık yer alır: Ülseratif kolit ve Crohn. Bunları birbirinden ayırmak için klinik, histolojik, endoskopik ve radyolojik özellikler değerlendirilir. Yaklaşık %7-10'luk kısmı tanımlanamayan kolit sınıfına girer.^{1,2} Bu terim başlangıçta patologlar tarafından her iki hastalığın özelliklerine sahip olan şiddetli kolit için kullanıldı. Ancak bu durum Crohn kolitini ülseratif kolitten kesin olarak ayırt etmeyi zorlaştırdı. Şimdi ise giderek artan bir şekilde klinikopatolojik bir tanım olarak kullanılmaktadır.³ İnflamatuvar bağırsak hastalıkları insidansı ve prevalansı tüm dünyada artış göstermektedir. Her yaş grubunda görülebilir ve yaşamın tüm yönlerini etkiler.⁴ İBH'nin etiyojisi büyük ölçüde bilinmemekle beraber; genetik, çevresel ve mikrobiyal faktörler ile immün yanıt arasında bir etkileşimden kaynaklandığı öngörülmektedir.⁵⁻⁷ İBH'nin patogeneğinde, genetik olarak yatkın bireylerde bağırsak florası ile etkileşime giren, bilinmeyen bir çevresel tetikleyiciye karşı kontrolsüz çalışan immün sistem ve öncelikle sindirim sistemini etkileyen bir inflamatuvar yanıt olduğu düşünülmektedir.⁸⁻¹³

Ülseratif kolit, rektumdan proksimale uzanan ve ağırlıklı olarak distal kolonu tutan, değişen derecelerde yaygın mukozal inflamasyonu içerir. Şiddetli inflamasyon ve karmaşık bir inflamatuvar mediatör karışımının tesadüfi üretimi ile birlikte, kapsamlı yüzeyel mukozal ülserasyon gelişir.¹⁴ Crohn ise ağırlıklı olarak terminal ileum ve çekum olmak üzere gastrointestinal sistemin ağızdan anüse kadar herhangi bir bölümünü tutabilen, granümatöz inflamasyonun segmental, tam kat (tüm bağırsak tabakalarının tutulduğu) asimetrik dağılımı ile kendini gösterdiği bir hastalıktır.¹⁵

Tipik olarak, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının ana klinik özellikleri kronik ishal, yaygın karın ağrısı ve ülseratif kolit durumunda peranal kanamadır.¹⁶

Tıbbi tedavideki asıl amaç, inflamasyon düzeyini azaltmak, sonrasında ise klinik remisyon halini devam ettirmektir. İBH tedavisi için kullanılan ilaçlar: 5-aminosalisilat (5-ASA), kortikosteroidler, tiyopurinler, metotreksat, kalsinörin inhibitörleri, infliksimab ve adalimumab gibi ilaçlardır.¹⁷⁻²¹ Medikal tedaviye yanıtız hastalık, perforasyon, malignite, kanama, kolon perforasyonu, bağırsakta striktür oluşması, apse ve fistül oluşması gibi durumlarda cerrahi tedavi uygulanır.²²

Asetik asit (%4-10), bir feeding kateter ile rektal yoldan verilerek sıçanlarda, farelerde,

tavşanlarda ve kobaylarda akut kolit oluşturabilmektedir.²³ Asetik asite bağlı kolit mukoza epitelinde nekroz ve ödem ile karakterize olup, ilerleyen aşamalarda mukoza ve submukoza inflamasyonu ve diğer inflamatuvar hücre ve mediyatörlerin etkisiyle şiddetli doku hasarına gidişat görülür.²⁴ Ratlarda kolit oluşturmak için murin, trinitrobenzen sülfonik asit, dekstran sülfat sodyum gibi ajanlar da kullanılabilmektedir.

Propolis, arıların; bitki tomurcuk ve eksüdalarından topladığı özleri, arı enzimleri, polen ve mum ile karıştırarak ürettikleri reçineli bir maddedir.²⁵ Antiseptik, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitümör, immunmodülatuvar ve antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir.²⁶

Propolis, %30 oranında balmumu, %50 oranında bitkisel balzam ve reçine, %10 oranında esansiyel ve aromatik yağlar ile %5 polen ve %5 oranında diğer organik bileşenleri ve mineralleri içermektedir. İçeriğinde yaklaşık olarak 180 farklı bileşik tespit edilebilmiştir. Flavonoidler, hidroksiflavonlar, aminoasitler, benzoik asit ve türevleri, esterler, benzaldehit türevleri, ketonlar, fenoller, alkoller, aromatik bileşikler, terpen, sekuterpen ve türevleri, alifatik hidrokarbonlar, steroller, steroid hidrokarbonlar, mineraller ve şeker içerir. İçeriğinde kafeik asit ve ferulik asit, Ca, Mg, K, I, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementlerle B1, B2, B6, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır.²⁷⁻²⁹

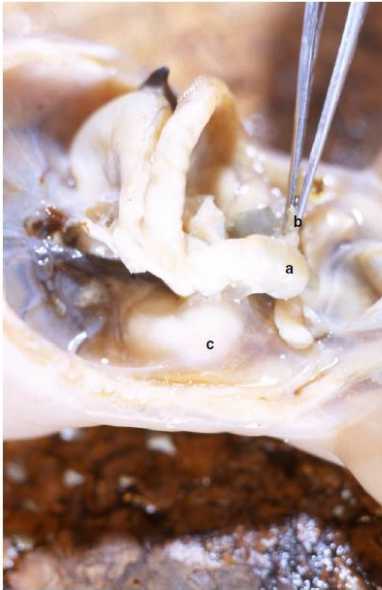
Bu çalışmada literatür bilgileri dahilinde asetik asitle kolit oluşturulan ratlarda propolis etkinliğinin incelenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Embriyolojisi

Gastrointestinal sistem, embriyonik dönemde dördüncü haftada ön bağırsak (foregut), orta bağırsak (midgut) ve arka bağırsak (hindgut) olmak üzere üç bölümden gelişmeye başlar.^{30,31} Özefagus, mide, pankreas ve onikiparmak bağırsağının ampulla vatre kadar olan kısmı ön bağırsaktan (foregut) oluşur. Onikiparmak bağırsağının distal kısmı, jejunum, ileum, çekum, çıkan kolon ve transvers kolonun 3'te 2'lik proksimal bölümü orta bağırsaktan (midgut) gelişir. Transvers kolonun 3'te 1'lik distal tarafı, inen kolon, sigmoid kolon ve rektum arka bağırsak (hindgut) kısmından gelişir.³²

Gastrulasyon, gelişimin erken döneminde meydana gelen ve üç ana germ tabakasını oluşturan bir süreçtir: Endoderm, mezoderm ve ektoderm. Endoderm, bağırsak mukozasının epitel tabakası olan bağırsağın en iç tabakasını oluşturur. Mezoderm, kas tabakasını ve lamina propria'yı oluşturur. Ektoderm, nöral krest hücrelerinden gelişen enterik sinir sistemini oluşturur.³³ (Şekil 1)



Şekil 1. Fetüs (15. Hafta)³⁴

a. Çekum, b. İnce bağırsak, c. Sağ böbrek



a. İnen kolon

2.2. Kolon Histolojisi

Kolonun tabakaları; mukoza (epitel, lamina propria ve muskularis mukoza), submukoza, muskularis propria (iç sirküler kas, dış longitudinal kas) ve serozadan oluşur. Kolonu kaplayan mukozanın epitelı glandülerdir ve ana hücre tipi kolumnar epitel hücredir. Lamina propria ve submukoza kollajen iplikçikleri içerir. Kolonun ana düz kasları iki katmandan oluşur; üçtenyadan kalınlaşmış dış longitudinal kas tabakası ve anal kanalda rektumdan itibaren kalınlaşan ve çevresel olan iç sirküler kas tabakası.³⁵ (Şekil 2)

2.2.1. Tunika Mukoza

Bu katman esas olarak; epitel tabakası, kolorektal bezler, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşur.³⁶

Epitel tabakası, esas olarak emici hücreler ve goblet hücreleri içeren tek katmanlı bir kolumnar epitele sahiptir ve bağırsak lümeninden patojenlere karşı koruyucu bir bariyer görevi görür. Goblet hücreleri belirgin mükün damlacıkları içerir ve bağırsak lümenine mukus salgılar.

Lamina propria esas olarak kollajenden oluşan bir bağ dokusu yapısına sahiptir ve yaygın bir lenfoid organ olarak fonksiyonel önem içerdiğine dair kanıtlar giderek artmaktadır. Plazma hücreleri, T lenfositler, fibroblastlar, makrofajlar gibi birçok hücre grubu lamina propria tabakasında yer almaktadır.

Mukozayı submukozadan ayıran muskularis mukoza tabakası, düz kas liflerinden oluşan ince bir tabakadır ve esas olarak destekleyici role sahiptir.^{37,38}

2.2.2. Tunika Submukoza

Submukoza kollajen lif ağından oluşmaktadır. Kolon duvarının en güçlü kısmı olduğu bilinmektedir. Enterik sinir sisteminin iki ana bölümünden biri olan submukozal pleksusu içerir.

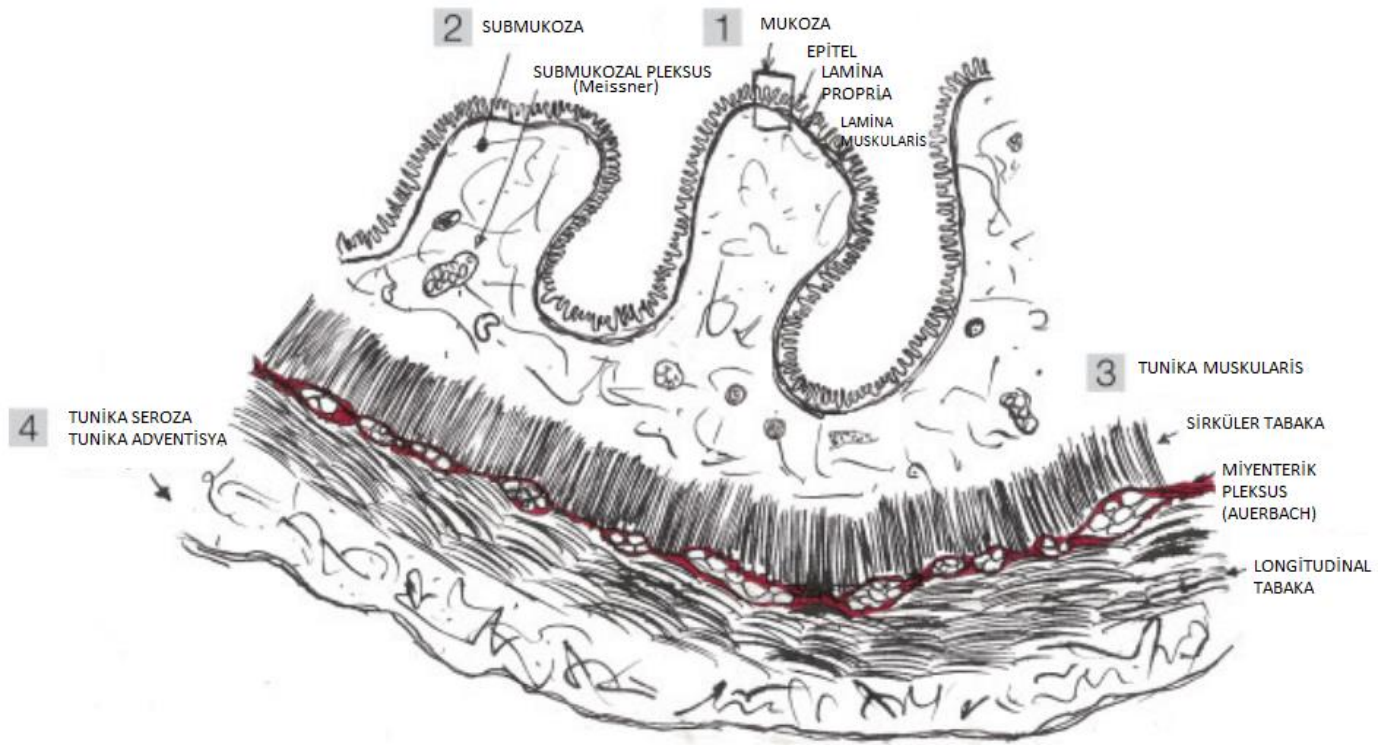
Enterik sinir sistemi, sindirim sisteminin tüm işlevlerinin düzenlenmesinde ana unsurdur. İki ana pleksustan oluşur: Longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasında yer alan ve gastrointestinal kasların mekanik aktivitesini kontrol eden miyenterik plexus ve submukoza içinde bulunan, mukozayı ve submukozal kan damarlarını innerve ettiği düşünülen submukozal plexus.³⁹⁻⁴²

2.2.3. Tunika Muskularis

İç kısmını sirküler, dış kısmını ise longitudinal kaslar oluşturur. Bu iki kas tabakası arasında Auerbach pleksusu yer alır.⁴³

2.2.4. Tunika Seroza

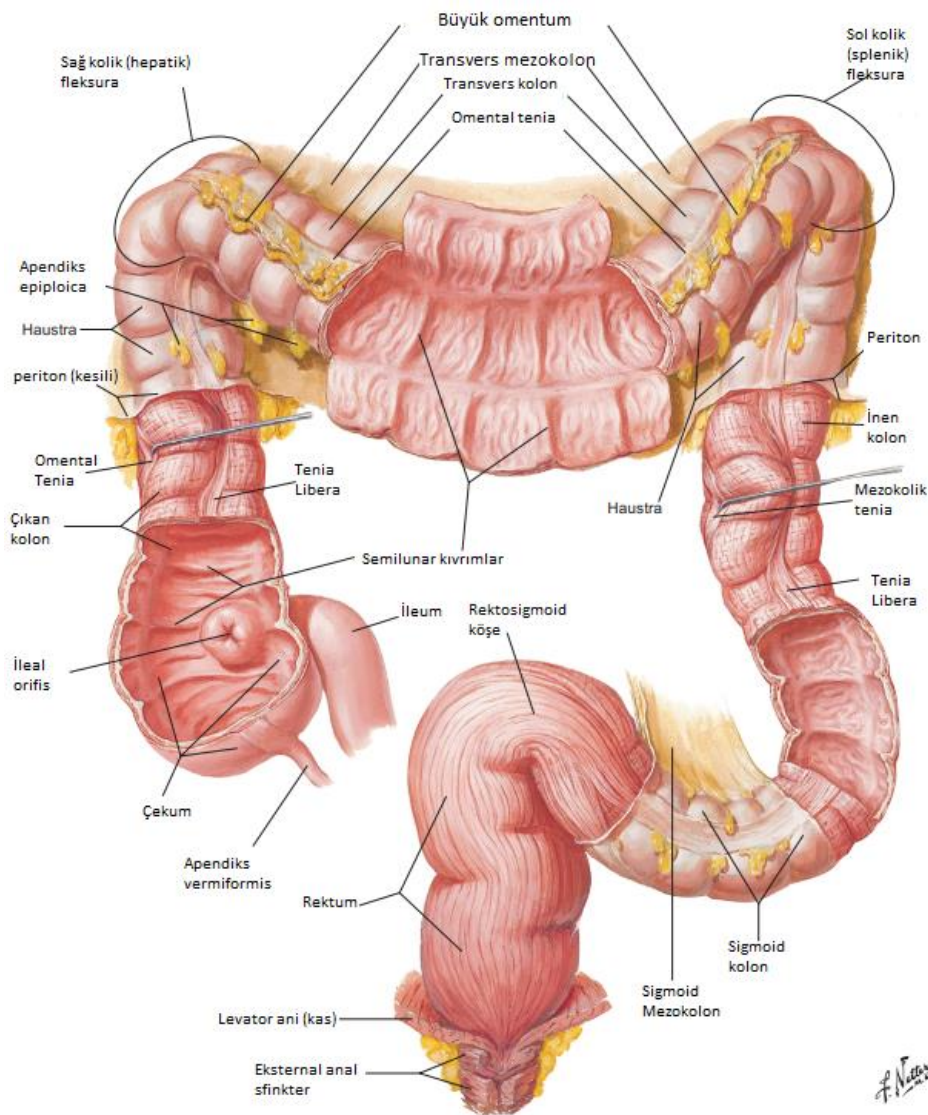
Tunika seroza birkaç bağ dokusu katmanından oluşur ve en dış tabakayı oluşturur. İntraperitoneal gastrointestinal sistem organları seroza ile kaplı olup; seroza, sindirim hareketleri sırasında sürtünmeyi azaltan mezotel denilen skuamöz epitel ile kaplı bağ dokusundan oluşur.^{44,45}



Şekil 2. Kolonun histolojik yapısı⁴⁶

2.3. Anatomi

Kalın bağırsak ileoçekal kavşaktan başlar. Çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon kısımlarını içerir. Devamında ise rektum ve anal verge (anüste perineal cilt ve anal mukozanın birleştiği yer) düzeyine kadar uzanan anal kanal bulunur. Tüm kısımlar endoderm kökenlidir ve otonom sinirler ile innerve edilir. Anal kanalın proksimal ve distal kısımları arasındaki birleşme çizgisi, anal valvler (kapak) bölgesine karşılık gelir. (Şekil 3)



Şekil 3. Kolorektal anatomi⁴⁷

Erişkin kalın bağırsağı 1-1,5 metre uzunluktadır. Çıkan kolon, inen kolon ve rektum ekstrapéritoneal yapılardır. Transvers kolon, transvers mezokolon tarafından periton boşluğunda askıya alınır ve sigmoid kolonun pelvik kısmı sigmoid mezokolon tarafından askıya alınır. Mezenter, retroperitoneal yapılara doğru uzanan, visseral peritonun yağ ve bağ dokusunu, damarları, sinirleri ve lenfatikleri kaplayan çift tabakasından meydana gelir. Transvers mezokolon ve diyafram arasındaki boşluğa supramezokolik (suprakolik) alan ismi verilir. Transvers mezokolonun ve transvers kolonun altındaki bölüm, ince bağırsağın mezenterinin kökü tarafından eşit olmayan iki boşluğa bölünmüş olan inframezokolik (infrakolik) boşluktur. Sigmoid kolon mezosu ise proksimalde sol mezokolon ve distalde mezorektum arasına uzanır.

Çekum ve apendiks vermiformis genellikle sağ iliak fossada bulunur. Çıkan (sağ) kolon, çekumdan, sağ flank bölgeden yukarı doğru uzanır ve sağ hipokondriyuma geçer. Midaksiller çizginin yakınındaki dokuzuncu ve onuncu kosta kıkırdakların altındaki hepatik fleksura hizasında sola doğru bükülür.

Buradan itibaren transvers kolon adını alır. Transvers kolon, sol hipokondriuma doğru anteroinferior bir dışbükeylik ile karaciğerin alt yüzeyinin hemen altında karın boyunca uzanır; splenik fleksurada dalağın posterolateral yüzeyine yakın bir yerde tekrar bükülür.

Sol kanatta inen (sol) kolon olarak devam eder ve sol iliak krest seviyesinde sigmoid kolon haline gelir.

Sigmoid kolonun devamında, 3. sakral vertebra düzeyinde rektum başlar ve pelvik taban seviyesine kadar uzanır. Pelvik taban seviyesinin devamındaki bölüm ise anal kanaldır.

Kolonun dış longitudinal kas tabakası süreksizdir ve üç longitudinal bant formundadır. Bu bant yapısı tenia coli ismini alır. Sigmoid kolonda daha geniş görünümündedir.

Kolonun serbest yüzeyinin büyük bir kısmına dağılmış küçük yağ projeksiyonları apendiks epiploika ismini alır. Bunlar genellikle çekum, apendiks vermiformis ve rektumda bulunmazlar. Direkt grafilerde bağırsak duvarından kaynaklanan tamamlanmamış septasyonlar olarak görülebilirler.⁴⁸

2.3.1. Çekum

Çekum (kör uçlu kese anlamına gelir) sağ iliak fossada bulunur ve ileoçekal kavşak seviyesinin altına iner. Uzunluğu yaklaşık 5-7 cm'dir. Çekumun üç tenia kolisi (biri yüzeyin ön tarafında, biri arka yüzeyde ve biri medial tarafta) apendiks vermiformisin tabanında birleşir.

Apendiks vermiformis, çekumun posteromedial tarafında, ileoçekal valvin yaklaşık 2,5

cm aşağı tarafında ortaya çıkan kör bir divertiküldür. Ortalama uzunluğu 7-8 cm'dir. Uzunluğu 1-20 cm arasında değişebilir.⁴⁹

2.3.2. Çıkan Kolon

Çıkan kolon 15 cm uzunluğundadır ve ileoçekal kavşaktan karaciğerin sağ lobunun alt (visseral) yüzeyine doğru dikey olarak yukarı doğru uzanır. Transvers kolon haline gelmeden önce, hepatik fleksiyon seviyesinde keskin bir şekilde bükülür. Hepatik fleksura, kolonun hareketsiz bir segmentidir ve hemen arkasında sağ böbreğin alt kısmını çevreleyen fasyal örtüler bulunur.

2.3.3. Transvers Kolon

Transvers kolon, karın boyunca hepatik fleksuradan sol kolik fleksiyona (splenik fleksura) kadar uzanır. Ortalama 45 cm uzunluğundadır. Kalın barsağın en hareketli segmentidir. Transvers mezokolon tarafından askıya alınır.

2.3.4. İnen Kolon

Transvers kolonun distal (sol) kısmı, splenik fleksiyonda aşağı ve biraz arkaya dönerek inen kolon olarak devam eder. Splenik fleksura genellikle hepatik fleksiyondan belirgin şekilde daha yüksektir.

Lateral, süperior ve posterior olarak uzanan dalak fleksiyonu, diyaframın sol kubbesinin alt yüzeyini kaplayan periton ile birleşen frenikokolik ligaman ile bağlantılı bir yapı olup peritonun kısa, çift katmanlı bir katlantısıdır. Dalak fleksiyonu ve frenikokolik ligament dalağın ön kutbu ile üstten temas halindedir.

İnen kolon yaklaşık 25 cm uzunluğundadır ve dalak fleksiyonundan sol iliak fossaya dikey olarak uzanır ve burada sigmoid kolonla (eskiden pelvik kolon olarak bilinir) sürekli hale gelir.

2.3.5. Sigmoid Kolon

Sigmoid kolon, inen kolonun devamı olarak gelmekte olup iki defa kıvrım yapar ve ardından üçüncü sakral vertebra düzeyinde rektum ile birleşir. Pelvik kolon kısmı olarak bilinir. S harfi şeklinde olup yaklaşık olarak 30-40 cm uzunluğunda ve 5-6 cm çaptadır.⁴⁹

2.3.6. Rektum

Rektum, sakral kemiğin içbükeyliği boyunca posterior pelvisi kaplayan kalın bağırsağın son segmentidir. 12-18 cm uzunluğundadır. Proksimalde promontoriumdan başlayıp distalde anal kanala kadar devam eder. Rektum, duvarı içinde tam bir dış longitudinal kas tabakası içerdiğinden dolayı kolondan farklıdır. Haustra ve tenialar kaybolmuştur. Rektumun duvarı, muskularis mukoza, submukoza, muskularis propria ve çevresindeki mezorektal yağlı dokudan oluşur. Apendiks epiploica içermez.

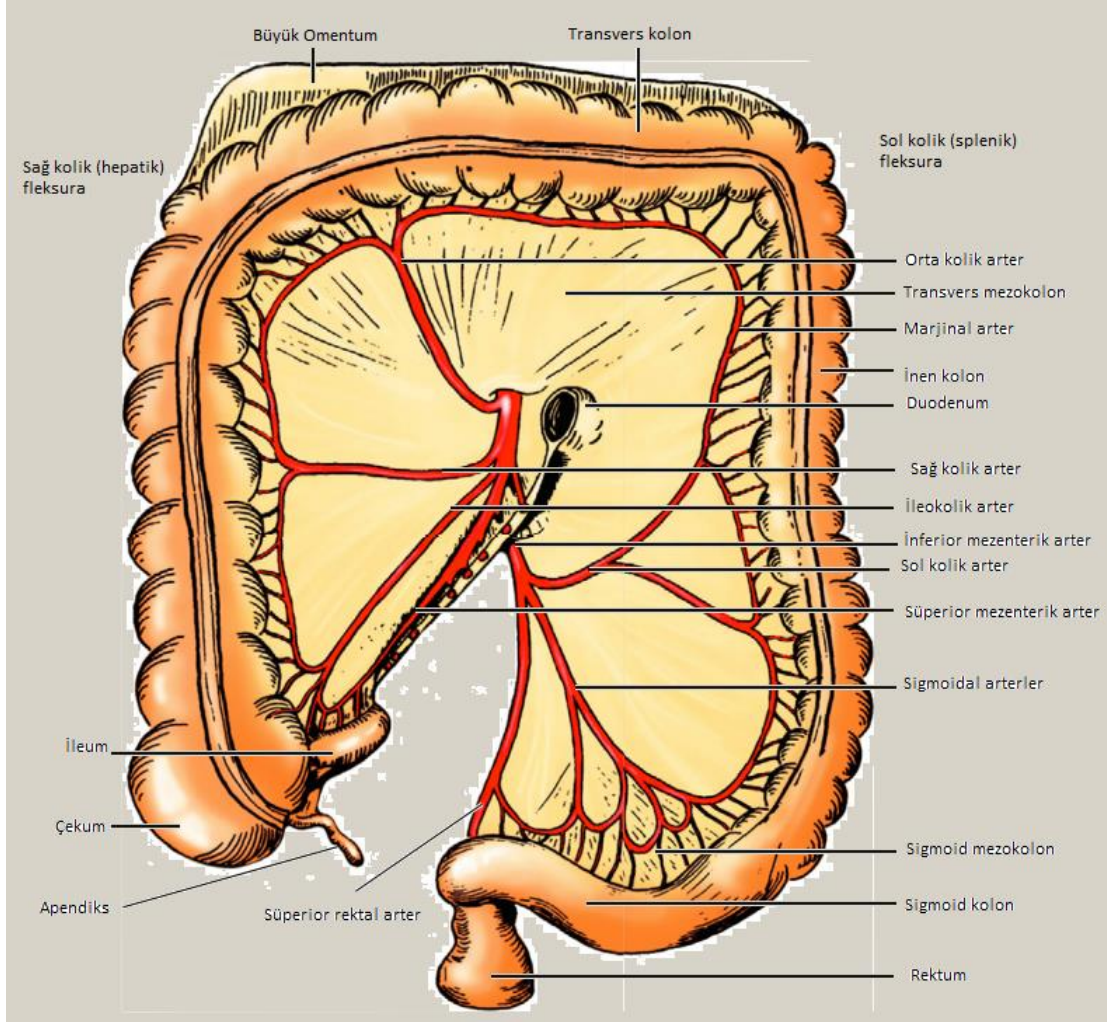
2.3.7 Anal Kanal ve Anüs

Anüs sindirim sisteminin terminal kısmıdır. Anal kanal ve anal marjinden oluşur. Anal kanal, levator hiatusun üst sınırındaki anorektal bileşkeden anal vergeye kadar uzanır. Anal verge, işaret parmağını kullanarak dijital rektal muayene sırasında muayene eden kişinin başparmağının anoderme temas noktasıdır. Anal kanal kadınlarda 2.5-3.5 cm; erkeklerde 3-4 cm uzunluğundadır. Anal kanal, sfinkter kas kompleksi tarafından oluşturulan ve dışkı tahliyesine uyum sağlamak için genişleyebilen fonksiyonel bir birimdir.⁵⁰

2.3.8. Kolonun Arteryel Sistemi

Kolonun arteryel akımı süperior mezenterik arter ve inferior mezenterik arterden kaynaklanır. SMA, çölyak arterin yaklaşık 1 cm altında aorttan çıkar ve çekum yönünde aşağı doğru ilerleyerek ileokolik arter olarak sonlanır. Middle kolik arter, sağ kolik arter, inferior pankreatikoduodenal arter, jejunal ve ileal dallar SMA'dan çıkan dallardır. Middle kolik arter proksimal SMA'dan çıkar ve transvers kolonun proksimal ve orta kısmını besler. (Şekil 4)

Sağ kolik arter, çıkan kolonun orta ve distal kesimini besler. İleokolik arter ise, distal ileum, çekum ve çıkan kolonun proksimalini besler.⁵²



Şekil 4. Kolorektal arteriyel sistem⁵¹

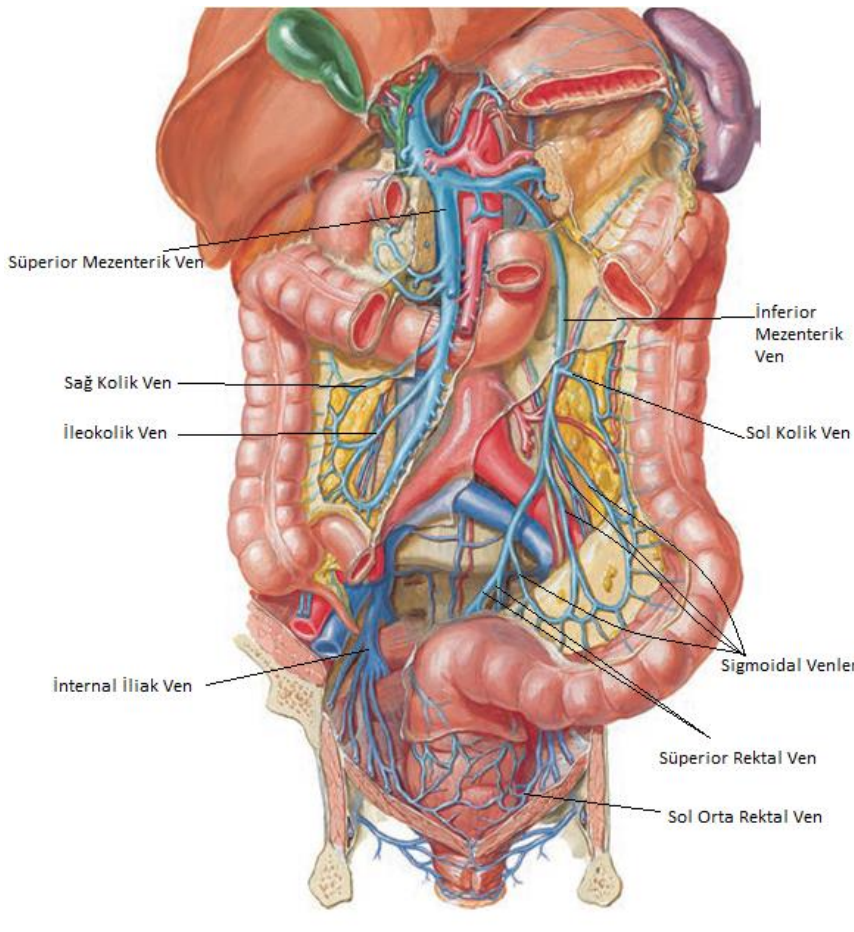
Mevcut veriler, inferior mezenterik arterin genellikle transvers kolonun sol 1/3'lük kısmının, inen kolonun, sigmoid kolonun ve rektumun kanlanmasını sağladığını göstermektedir.⁵³ İnferior mezenterik arter, aortun ön yüzünden çıkar; lumbar 2-3 vertebra seviyesinde aort bifurkasyonun 3-5 cm yukarısından sola ve aşağı döner. İMA sol kolik arter ve sigmoidal arter dallarını verir. Verdiği dal sayısı 2-6 arasında değişebilir. Sol kolik arter İMA'nın ilk dalıdır. İMA, sol iliak arteri geçtikten sonra superior hemoroidal arter veya superior rektal arter olarak adlandırılır.⁵⁴

2.3.9. Kolonun Venöz Sistemi

Kolonu drene eden venöz damarlar, inferior mezenterik ven hariç, karşılık gelen arterlerle aynı rotayı takip etmektedir. İnen kolon, sigmoid kolon ve rektumun proksimalini inferior mezenterik ven drene eder. İMV, retroperitoneal lokasyonda Treitz'ın sol tarafından splenik vene drene olur. (Şekil 5)

Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonu süperior mezenterik ven drene eder. Splenik ven ile pankreas boynunun arkasında birleşerek portal veni oluşturur.

Rektumun venöz drenajı portal veya sistemik (kaval) dolaşım yoluyla olur. Üst ve orta rektum, portal sisteme İMV yoluyla giren superior rektal ven tarafından boşaltılır. Alt rektum ve anal kanalın süperior kısmı, internal iliak venlere ve daha sonra kaval sisteme boşalan middle rektal ven tarafından drene edilir. Inferior rektal venler, anal kanalın inferior kısmını drene eder ve internal iliak damarlar yoluyla kaval sisteme açılan pudendal damarlara açılır.⁵⁵



Şekil 5. Kolon venöz sistemi⁵⁶

2.3.10. Kolonun Lenfatik Sistemi

Kolonun lenfatik drenajı, muskularis mukozasındaki bir lenfatik ağdan sağlanır. Lenfatik damarlar ile lenf nodları aynı bölgedeki arterleri takip ederler. Lenf düğümleri bağırsak duvarında(epikolik), arter duvarına bitişik bağırsağın iç kenarı boyunca (parakolik), isimlendirilmiş mezenterik damarların çevresinde (intermediate) ve üst ve alt mezenterik arterlerin (ana) kökünde bulunur.

Rektumun lenfatik drenajı vasküler yapılarla paraleldir. Üst ve orta rektumdaki lenfatik kanallar, üstte alt mezenterik lenf düğümlerine drene olur. Alt rektumdaki lenfatik kanallar hem üstten alt mezenterik lenf düğümlerine hem de yanal olarak internal iliak lenf düğümlerine drene olur.

Anal kanalın lenfatik drenaj sistemi biraz daha karmaşıktır. Dentat çizginin proksimal kısmının lenfatik drenajı, inferior mezenterik lenf düğümlerine ve aynı zamanda internal iliak lenf düğümlerine olur. Dentat çizginin distal kısmının lenfatik drenajı öncelikli olarak inguinal lenf nodlarına olur; ancak internal iliak ve inferior mezenterik lenf nodlarına da drene olabilir.⁵⁷

2.3.11. Kolonun Sinirleri

Kolon, arterlere paralel seyreden sempatik (inhibitör) ve parasempatik (uyarıcı) sinirler tarafından innerve edilir. Sempatik sinirler T6-T12 ve L1-L3'ten kaynaklanır. Sağ kolon ve transvers kolondaki parasempatik innervasyon vagus sinirinden kaynaklanırken; sol kolonun parasempatik sistemi sakral sinirlerden (S2-S4) kaynaklanır.

Rektumun sempatik sinir lifleri L1-L3'ten çıkar ve preaortik sinir pleksusuna katılır. Preaortik pleksus sinir lifleri aortun altında uzanır ve hipogastrik pleksusu oluşturur ve daha sonra pelvik pleksusu oluşturmak için parasempatik liflere katılır. Rektumun parasempatik sinir liflerine nervi erigentes denir ve bu lifler S2-S4'ten kaynaklanır. Sempatik ve parasempatik lifler ayrıca anorektum ve bitişik ürogenital organları innerve eder.⁵⁷

2.4. Kolonun Fizyolojisi

Kolonun başlıca görevleri: salgılama, taşıma, emilim ve depolamadır. Sindirilen besinler kolonda depolanır ve rektuma doğru iletilir. Ortalama olarak günlük 1500 ml kimus kalın

bağırsağa geçer. Kolondaki kimusta bulunan su ile elektrolitler büyük ölçüde emilir. Emilim daha çok proksimal kolonda gerçekleşir. Distal kolonun asıl görevi depolamadır.⁵⁸

Ortalama olarak günde 600-1000 ml'lik ileum içeriği kolona geçmektedir. Bu içeriğin 10'da 9'u sudur. Suyun kolondaki emiliminin büyük kısmı çekum ve çıkan kolonda gerçekleşir. Yaklaşık 180 ml kadar su dışkı ile atılır. Suyu ek olarak sodyum, klor, sakkaroz ve laktoz da emilir.

Kolonun iki hareket şekli bulunur. İtici hareket çok sayıda haustranın birlikte kasılması sayesinde kütleli itme etkisiyle gerçekleştirilerek kolon içeriğinin distale doğru taşınmasını sağlar. İtici olmayan hareketler ise haustraların sırayla kasılmasıyla gerçekleşir ve mukozal temas sağlanarak kolonik içeriğin karışmasını, emilimin kolaylaşmasını sağlar. Ağızdan alınan besinler ortalama 4-5 saatte çekuma ulaşır, 6 saat içinde çıkan kolonu doldurur ve hepatic fleksuraya ulaşır. 12. saatte splenik fleksuraya ulaşır ve ortalama 20 saat sonra rektosigmoid bileşkeye ulaşmış olur.

Emilimi tamamlanan dışkı ve bazı gazlar distal kısımda depolanır.

Emilim, iletim ve depolamanın gerçekleşebilmesi için kolon salgılama işlevine de sahiptir. Lümeni bikarbonat salgılanmasına bağlı olarak alkalidir. pH: 8-8,4 aralığındadır. Mukus ile birlikte potasyum da lümene salınmaktadır.⁵⁸⁻⁵⁹

2.4.1. Kolonda Sıvı Elektrolit Fizyolojisi

Kolonun bir görevi de sıvı ve elektrolit dengesini sağlamasıdır. Sodyum, klor ve su lümeninden emilir. Mukus, potasyum ve bikarbonat lümene salınır. Kolonun proksimal kısmında içeriğindeki suyun ve elektrolitlerin yaklaşık %90'lık kısmının emilimini sağlar. 24 saat içinde bağırsaklara geçen yaklaşık 8 litre sıvının 6,5 litresi ince bağırsaklarda emilir; ayrıca yaklaşık 1,4 litresi de kolonda emilmektedir. Kalan yaklaşık 100 ml su ise dışkı ile atılmaktadır.

Kolon 24 saat içinde ortalama 6 litre su ve 1000 mEq NaCl absorbe edebilecek yapıdadır. Su ve sodyum büyük oranda sağ kolon ve transvers kolon tarafından emilmektedir. Sodyum yüksek gradiyentten düşük gradiyente doğru absorbe edilir. Lümen içi asidite artışı ile beraber klor emilimi artar. Lümen içinde klor artışı, bikarbonat salınımını artırır. Klor emilimi NaCl ve HCO₃ değişimi aracılığıyla gerçekleşir. Yani aktif ve pasif taşıma mekanizmaları Cl emiliminde rol oynar. Na aktif transportu ile oluşan gradiyent ile K sekrete edilmektedir. Kolondaki bakterilerin metabolizması sonucu ortaya çıkan kısa zincirli yağ asitleri ve lifli gıdaların

sindirilemeyen karbonhidratları da pasif olarak emilmektedir. Aldosteron ve glukokortikoidler sodyum emilimini arttırırken; aldosteron ve epinefrin potasyum sekresyonunu arttırır.

2.4.2. Motilite

Retrograd hareket sayesinde kolon içeriği ile kolon mukozasının temas süresi ve temas yüzey alanı artarak kolonik içeriğin geçiş zamanı uzar.

Segmental kontraksiyon en sık görülen kontraksiyon şekli olmakla beraber, yiyecekler ve kolinerjik ilaçlarla aktive olur. En sık sağ kolonda görülür. Sigmoid kolonda meydana gelen segmental kontraksiyonların divertikül oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir.

Kitle hareketi, GİS içeriğine bağlı olarak uyarı oluşan bölgenin proksimalinde kasılma ve distalinde gevşeme şeklinde meydana gelerek, lümen içeriğinin distale doğru ilerlemesini sağlayan hareket tipidir. Eş zamanlı olarak 200 mmHg'yi bulan basınç değerleri ölçülebilir.

Kolon peristaltizminin en önemli uyararı oral yolla alınan gıdalardır. Gıdalar mideye geldiğinde 2 refleks kolon peristaltizmini arttırıcı yönde harekete geçer. Bu refleksler gastrokolik ve duodenokolik reflekslerdir. Kolonu uyarak peristaltizm artışına sebep olurlar. Buna sekonder olarak dışkılama isteği oluşmasına sebep olurlar. Yağdan zengin içerikli gıdaların oluşturduğu uyarıcı etki daha fazladır. Kolon peristaltizminin düzenlenmesinde; nöral uyarı, kolesistokinin, gastrin, gastrik inhibitör peptid de etkili faktörler arasında yer alır. Uyku, anksiyete, korku gibi faktörler kolon peristaltizmini azaltırken; distansiyon, fiziksel aktivite gibi faktörler ise kolon peristaltizmini arttırır.

Kolon innervasyonu, enterik sinir sistemi ve otonom sinir sisteminin etkileşimi ile sağlanır. Enterik sinir sistemindeki sinirler, peristaltizmi, salgılanmayı, kan akışını ve muhtemelen bağışıklık fonksiyonunu yerine getiren lokal refleksleri oluştururlar. Enterokromaffin hücreler lamina propria serotonin salgırlar. Bu sayede kimyasal ve mekanik uyarılara cevap sağlamış olurlar. P maddesi, asetilkolin ve serotonin, lokal peristaltik hareketlerin başlamasında etkili nörotransmitterlerdir. Nitrik oksit inhibitör olarak etki göstermektedir. Bunların reseptörlerine karşı agonist ve antagonist etkili olarak üretilen ilaçlar, kolon motilitesi, sekresyonu üzerinde düzenleyici etkili olarak kullanılabilir. İnhibitör nöronların konjenital yokluğunda Hirschsprung hastalığı görülür ve etkilenen bölgede peristaltik hareketlerde gevşeyememe problemi ile karakterizedir.

Sağ kolonun otonomik innervasyonunu sağlayan parasempatik sinirler vagus kaynaklıyken, sol kolonun otonomik innervasyonu sakral sinirlerden kaynaklanır. Parasempatik

sinirler uyarıcı, sempatik sinirler inhibe edici roldedir.

Otonom sinirler ile kolondaki enterik sinirler birbirleriyle ilişkili olup otonom gangliyon, omurilik ve beyin düzeyinde sinirsel reflekslere katılır. Otonom sistem ile enterik sistem bağlantısı, iç uyaranların algılanması ve merkezi sistem uyaranlarına yanıt olarak kolonik fonksiyonun düzenlenmesini sağlar. Akut stres, bu bağlantı ile kolon aktivitelerini değiştirebilen merkezi uyaran örneğidir. Akut streste kortikotropin salgılayıcı hormon (CRH) gibi merkezi sistem hormonlarının salınmasıyla kolondaki motiliteyi uyaran parasempatik yollar aktive olur.⁶⁰

2.5. Ratlarda Kolon Anatomisi ve Histolojisi

Çekum ve rektum dahil olmak üzere kolon, yetişkin beyaz sıçanda yaklaşık 21-27 cm uzunluğundadır. (Şekil 6)

Çekum 5-7 cm uzunluğundadır ve kolonun diğer kısımlarına göre oldukça geniştir. İçbükey hafif bir eğriliğe sahiptir ve böbrek şekline benzemektedir. Distal ileum ve proksimal kolon birleşim yerleri dışbükey eğriliğe sahiptir. Çekumda apendiks yoktur. Çekumda tübüler tipteki mukozal bezler, silindirik epitel hücreleri ve goblet hücreleri ile kaplıdır. (Şekil 7)

Proksimal kolon 5,5-6,5 cm uzunluğundadır. Müköz membranın palmiye yaprağına benzer belirgin eğik bir katlanması mevcuttur. Karaciğerin sağ kısmına yakın olan proksimal kolon, kraniokonveks majör fleksura olarak devam eder. Major fleksura 3-3,5 cm uzunluktadır ve mezenterik kök etrafında kraniyokonveks bir viraj şeklindedir. Proksimal kolondaki mukoza zarının karakteristik görünümü, majör fleksiyonda genellikle daha çıkıntılı bir mukoza zarına sahip bir geçiş bölgesi olarak uzunlamasına kıvrımlara dönüşür. Bu çıkıntılar kolonun 4.5-6.5 cm uzunluğundaki distal kısmı ve 3-3.5 cm uzunluğunda rektum için tipiktir. Proksimal kolondaki tübüler bezler dallı yapıya sahiptir ve bu bezler oldukça büyük, soluk, kadeh benzeri oluşumlara sahiptir. Bunlar goblet hücrelerinden farklı boyanma özelliklerine sahiptir ve PAS boyanmaları negatiftir. (Şekil 8)

Distal kolondaki mukoza, majör fleksiyondaki mukozadan daha incedir.

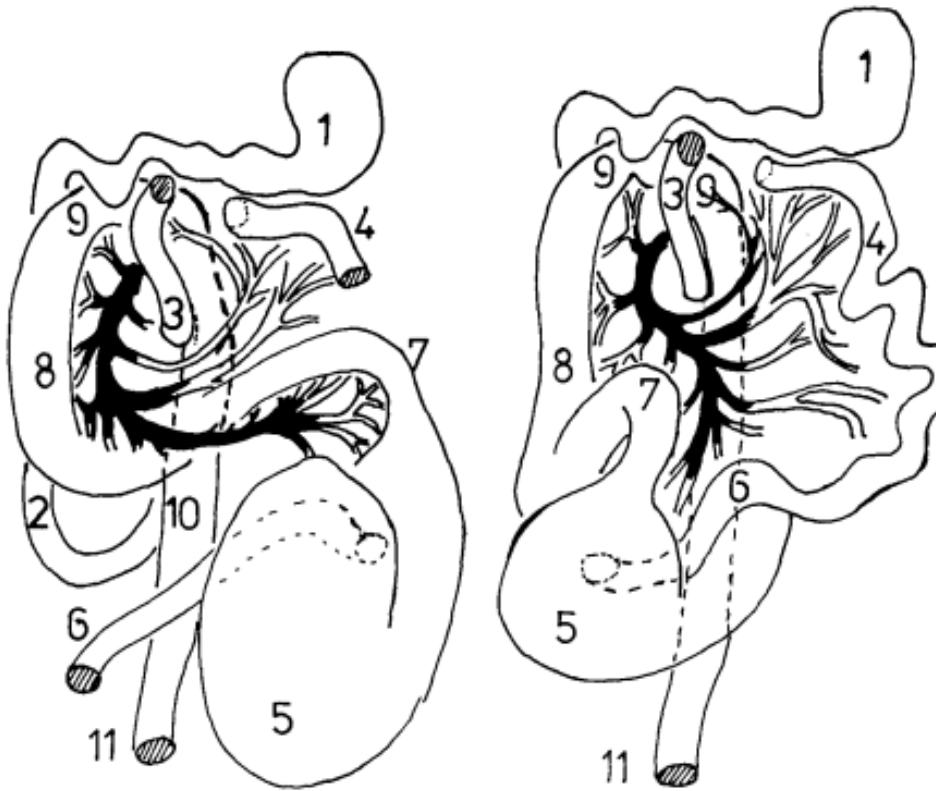
Mezenterik kök ile süperior mezenterik arter, orta hatta sabitlenmiştir ve distal mezokolonla omurga boyunca bağlıdır. Ortak mezenter, ince bağırsakları, çekumu ve proksimal kolonu besleyen yelpaze şeklinde mezenterik kökten yayılmıştır.

Rektumdaki tübüler bezlerin epitel tabakasında distal kolondakine kıyasla önemli bir fark yoktur. Özellikle yaşlı sıçanlarda bezler genellikle anorektal bileşke düzeyinde biraz daha

gevşek bir şekilde düzenlenmiştir.

Ratların kolonunda haustra ve tenia yoktur.

Sıçan kolonu, lenfoid plaklara sahip iyi gelişmiş lenfoid aparatlara sahiptir. Bu aparatlar kolonun bazı bölgelerinde düzenli olarak dağılmıştır. 4 bölgede görülürler: Çekum (4,5x3 mm boyutunda), proksimal kolon (çekum-proksimal kolon birleşiminden itibaren yaklaşık 45 mm mesafede ve 4,5x3,5 mm boyutunda), major fleksuranın distal kısmında (4,5x3 mm boyutunda) ve distal kolon-rektum sınırında (8,5x4mm boyutunda) anüse yaklaşık 32,5mm uzaklıkta.⁶¹

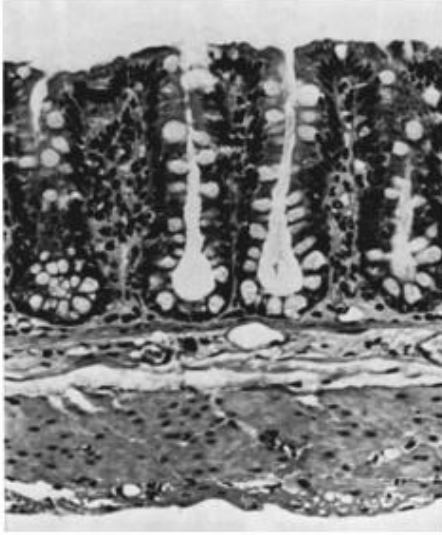


a. çekum sol tarafta

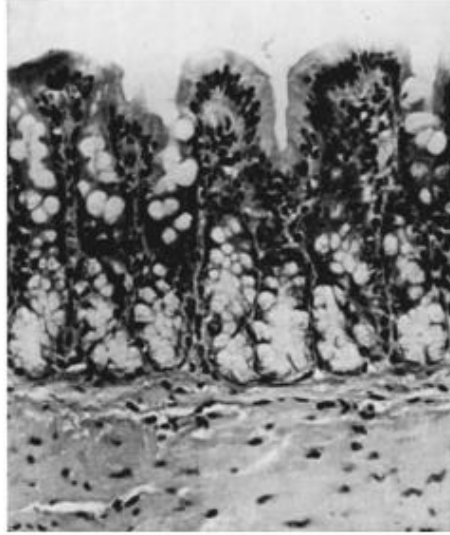
b. çekum sağ tarafta

- | | |
|-----------------|----------------------|
| 1. Mide | 7. Proksimal kolonun |
| 2. İnen kolon | küçük fleksurası |
| 3. Çıkan kolon | 8. Proksimal kolon |
| 4. İnce barsak | 9. Major fleksura |
| 5. Çekum | 10. Distal kolon |
| 6. Distal ileum | 11. Rektum |

Şekil 6. Ratlarda kolon anatomisi⁶¹



A. ÇEKÜM: Glandüler kriptlerde eşit olarak dağıtılmış goblet hücreleri



B. Çok sayıda, büyük, soluk goblet benzeri tipik hücreler

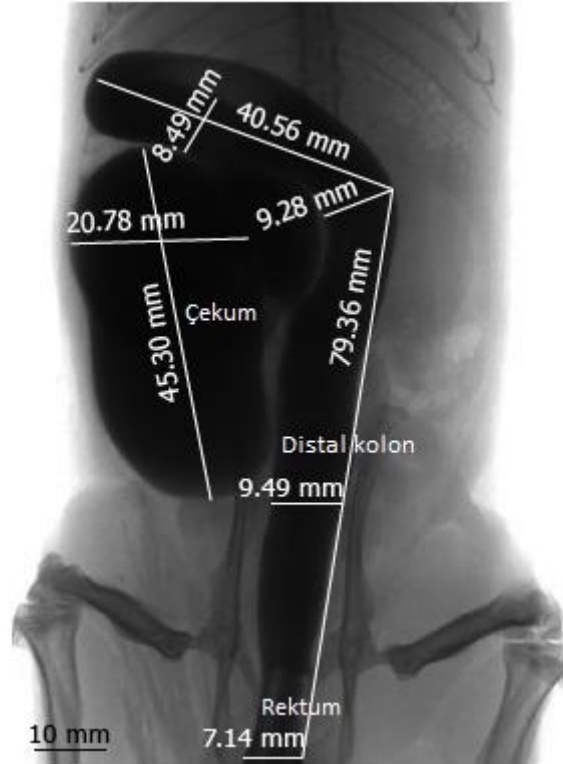


C. MAJOR FLEKSURA: Mukozanın değişmesine bağlı geçiş zone. Muköz membran daha yüksek görünümde. Bezler, hem proksimal hem de distal kolonun bazı özelliklerine sahip olan epitel ile kaplıdır.



D: DİSTAL KOLON: Goblet hücreleri glandüler kriptlerin üst kısımlarında biraz daha belirgindir. Mukoza rektum mukozası ile benzer yapıdadır.

Şekil 7. Ratlarda kolon histolojik yapısı⁶¹



Şekil 8. Sıçan kolorektal sisteminin X-ray görüntüsü⁶²

2.6. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

İnflamatuvar bağırsak hastalığı; Crohn ve Ülseratif kolit hastalıklarını kapsayan kronik, tekrarlayıcı gastrointestinal inflamasyon ile seyreden hastalık olarak tanımlanır. Çocuklar, adolesanlar ve genç yetişkinler diğer yaş gruplarına göre daha sık etkilenir. Yaşam kalitesi üzerinde etkisi olup hastaneye yatış ve ameliyat riskinin artmasıyla ilişkilidir.

Son on yılda İBH yönetiminde önemli gelişmeler yaşandı. Hastalığın patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması, yeni tanı araçlarının kullanılabilirliği bu gelişmelerin başında gelmektedir. Tedavinin amacı sadece semptom kontrolünün ötesine geçmiştir ve "hedefe yönelik bir tedaviye" dayanmaktadır.

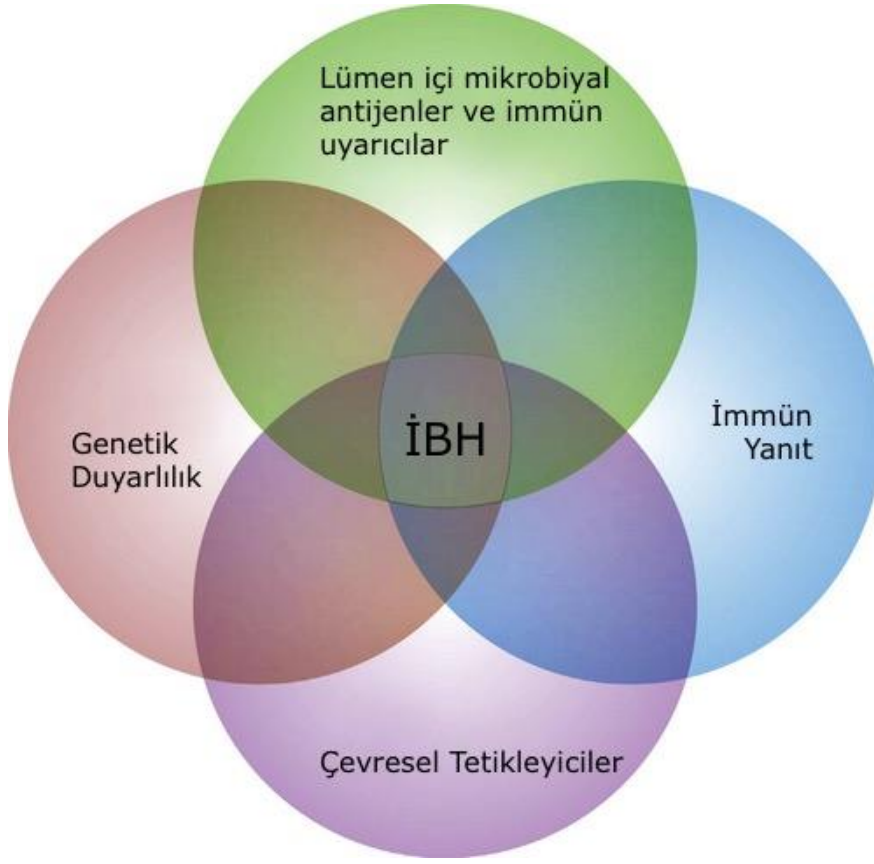
İBH, son yarım yüzyılda gelişmiş ülkelerde artan insidansla seyretilmektedir. Avustralya dünyadaki en yüksek insidans oranlarından birine sahip olup oran: 100 binde 29.3'tür. Bununla birlikte, bu hızlı yükseliş son on yılda gelişmiş ülkelerde yaygınlaştı. Asya gibi dünyanın gelişmekte olan bölgelerinde insidansla çarpıcı bir artış gözlenmektedir. Crohn hastalığı ve ülseratif kolitin doğal öyküsü, seyrek semptomları olan hafif formlardan hastaneye yatış,

ameliyat ve kalıcı hasara neden olabilecek zayıflatıcı hastalığa kadar değişkendir. Çoğu hasta için İBH alevlenen ve hafifleyen bir seyir izler. Nüks, nesnel inflamasyon belirtileri olan semptomlarla karakterizedir. Öyle anlaşılmıştır ki remisyon dönemlerinde, özellikle Crohn hastalığında subklinik inflamasyon sıklıkla devam eder, bu nedenle inflamasyona bağlı darlık ve delinme gelişmesi riski artmaktadır. Bu tür yapısal bağırsak hasarları sıklıkla ameliyat gerektirir. Bu nedenle, tedavide sadece semptom kontrolünün ötesine geçip tüm inflamasyonu önlemek hedefleniyor. 5 yıllık takip sürecinde ülseratif kolit için %12, Crohn için %33 oranında cerrahi yapılmaktadır.

İBH, genetik olarak yatkın bireylerde çevresel faktörlere karşı uygun olmayan bir bağışıklık yanıtından kaynaklanır. Genom analizi ve diğer genetik analizler sonucunda 163 gen lokusunun İBH duyarlılığı keşfedilmiştir. Bu lokuslar bağırsak mikrobiyotasına anormal bir bağışıklık tepkisinde rol oynar. Bununla birlikte, hastalık insidansındaki hızlı artış ve monozygotik ikizlerde %50'den daha az bir uyum gösteren çalışmalar göz önüne alındığında, hastalığın nedenini açıklamak için genetik yatkınlık tek başına yeterli değildir. (Şekil 9)

Bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği ve bileşimi bağırsak homeostazını etkileyen başlıca faktörlerdir. Bağırsak mikrobiyotasının bileşimindeki bir dengesizlik de İBH ile ilişkilendirilmiştir. İBH için potansiyel bir tedavi olarak fekal mikrobiyota transplantasyonu da dahil olmak üzere mikrobiyal manipülasyona ilgi artmıştır.

Diyet, sigara ve antibiyotik kullanımı gibi çevresel faktörlerin gastrointestinal mikrobiyotayı etkilemesi muhtemeldir ve hastalığın gelişiminde rol oynayabilirler. Batılılaşmış yaşam tarzlarının giderek benimsenmesiyle birlikte doğu ülkelerindeki İBH insidansındaki hızlı artış, özellikle hastalık patogenezinde rol oynadığı düşünüldüğü için diyetle odaklanmayı artırmıştır. Bugüne kadar, İBH'ye doğrudan neden olan, önleyen veya tedavi eden spesifik bir diyet gösterilmemiştir, ancak bazı belirlemeler yapılmıştır. Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek lif alımının ve meyve alımının İBH gelişimine karşı koruyucu olabileceğini, yağ oranı yüksek diyetlerin (özellikle omega-6 çoklu doymamış yağ asitleri) ise riski artırabileceğini göstermiştir.⁶³



Şekil 9. İBH patogeneğinde etkili faktörler⁶³

Klinisyeni İBH'ye karşı uyaraabilecek klinik semptomlar arasında karın ağrısı ve / veya ishal (genellikle kan veya mukoza ile) bulunur. Bu semptomlar dalgalı seyir gösterebilir ve genellikle sadece birkaç gün boyunca mevcut olan enfeksiyöz gastroenterit semptomlarına kıyasla haftalar hatta aylarca devam eden bir süreci kapsayabilir. Birçok fonksiyonel gastrointestinal sistem rahatsızlığından farklı olarak semptomlar yalnızca gündüz değil, geceleri de devam edebilmektedir. Kilo kaybı ve ateş bu semptomlara eşlik edebilir. Perianal fissür, fistül ve apse öyküsü Crohn hastalığı ihtimalini artırır. Döküntü, iritis, ağız ülseri ve artralji gibi bağırsak dışı semptomların varlığı, hastalığın aile öyküsüyle ilişkili olduğunu gösterebileceği gibi İBH için tanı koydurucu da olabilir.

Kan testleri artmış beyaz küre sayıları, C-reaktif protein seviyeleri veya eritrosit sedimentasyon hızlarını gösterebilir, ancak bu değerler normal de olabilir. Nötrofillerden salınan sitoplazmik bir ürün olan fekal kalprotektin, İBH'yi fonksiyonel gastrointestinal bozukluklardan ayırmak için nispeten yeni ve yararlı bir testtir ve İBH'nin tek başına C-reaktif protein seviyesine göre teşhisi için daha fazla duyarlılık ve özgüllük sunar. Fekal kalprotektin testi, gastrointestinal semptomları olan bir hastanın ilk araştırmasının bir parçası olarak

düşünülmelidir. Yüksek bir fekal kalprotektin seviyesi (>50 mikrogram/gram), İBH'ye sahip olma olasılığı daha yüksek olan ve kolonoskopi yapılması gereken hastaları ifade eder. Fekal kalprotektin düzeyi <50 mikrogram/gram olan hastalarda İBH tanısı pek olası değildir.

Özellikle Crohn hastalığında inflamasyonun varlığını güvenli, kolay ve gerçekçi bir şekilde tespit edebilen görüntüleme ile hastalık durumunun düzenli olarak yeniden değerlendirilmesi önemlidir. Kümülatif radyasyona maruz kalma risklerinden kaçınmak için, mümkün olduğunda bilgisayarlı tomografi (BT) taraması yerine manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve / veya bağırsak ultrasonu yapılmalıdır. MRG genellikle Crohn hastalığının lokalizasyonunun daha ayrıntılı değerlendirmesinin bir parçası olarak tedavide kullanılır. Bağırsak ultrasonu, düşük finansal maliyet, taşınabilirlik, kullanılabilirlik, tekrarlanabilirlik, gerçek zamanlı değerlendirme, radyasyona maruz kalma ve potansiyel olarak nefrotoksik kontrast ajanların bulunmaması dahil olmak üzere MRG ve BT taramasına kıyasla birçok avantaj sunan bir görüntüleme yöntemidir.

Kolonoskopi, İBH'nin teşhisi ve değerlendirilmesi için altın standart olmaya devam etmektedir. Ülseratif kolitli hastalarda displazi sürveyansı için kolonoskopi kritik öneme sahiptir. Tanıdan bu yana geçen sürveyans aralıklarının değerlendirilmesinde kolonoskopi yararlıdır. Ayrıca önceki displazi öyküsü varlığı, primer sklerozan kolanjit varlığı veya yokluğu ve ailede kolorektal kanser öyküsü olan hastalarda kolonoskopik tarama evrensel olarak önerilmektedir.

İBH tedavisi öncelikle remisyon sağlamayı, sonrasında da remisyonu sürdürmeyi amaçlamaktadır. İBH'de ilaç tedavisi sadece semptomları iyileştirmek yerine mukozal inflamasyonu kontrol etmelidir. Bağırsak hasarını en aza indirmek için remisyonun indüksiyonu 3 ay kadar sürmelidir. İnflamasyonun uzun süreli kontrollü olmasını sağlamak için tedavinin izlenmesi stratejik öneme sahiptir.

Kortikosteroidler, aktif hastalıkta remisyon indüksiyonu için en önemli tedavidir, ancak bir tedavi stratejisinin parçası olarak kullanılmalrı gerekir. 4-8 hafta boyunca kullanılırlar. İBH tedavisinde uzun süreli steroidlerin rolü yoktur.

Sülfasalazin ve mesalazin de dahil olmak üzere 5-Aminosalisilik asit (5-ASA) türevi ilaçlar, hem aktif hastalığın remisyonunu sağlamak hem de remisyondaki hastalığın nüks etmesini önlemek için etkili ve güvenli ilaçlardır. Bu ilaçlar hafif ile orta şiddette ülseratif kolitte tedavinin temelini oluştururlar.

Ülseratif kolitin aksine, 5-ASA tedavileri Crohn hastalığının tedavisinde sınırlı etkinliğe sahiptir ve bu tedavinin Crohn hastalığında sadece hafif ileal hastalıkta ve sadece yeterince

yüksek dozlarda (günde 3-4 g) faydalı olması muhtemeldir.

Tiyopurinler (azatioprin ve 6-merkaptopurin) dahil olmak üzere immünomodülatörler, optimal dozda uygulanan 5-ASA tedavisine rağmen aktif kalan orta ile şiddetli Crohn hastalığı ve ülseratif kolit için remisyonun sürdürülmesinde tedavinin temelini oluşturur. Tiyopurinlerin İBH tedavisinde etkinliğinin iyi olduğu tespit edilmiştir. Metotreksat genellikle sadece tiyopurinlere cevap vermeyen veya bunlara tolerans gösteremeyen hastalar için kullanılmaktadır ve Crohn hastalığında etkinliği gösterilmiştir, ancak ülseratif kolitte kanıtlar daha azdır.

Tiyopurinlerin yan etkileri bazı hastalar için zayıf tolere edilebilirlik ile sınırlıdır, ancak hastaların çoğunluğu tedavide önemli yan etkiler yaşamayacaktır. Yan etkiler arasında lökopeni ve enfeksiyöz komplikasyonlar (özellikle viral enfeksiyonlar) ve küçük fakat kesin olarak artmış lenfoma ve melanom dışı cilt kanseri riski bulunur. Çoğu durumda, bu tür riskler klinik olarak gerekliyse bu ajanların kullanımını kontrendike duruma getirmez, ancak hasta eğitimi önemlidir.

Hem remisyonun indüksiyonu hem de sürdürülmesi için biyolojik ilaç tedavisine geçiş, bir hastanın hastalığı tek başına immünomodülatör tedavi ile yeterince kontrol edilmediğinde endikedir. Biyolojik bir ilacın kullanımının onaylanması için en az 3 ay immünomodülatör ve 6 hafta kortikosteroid tedavisi kullanımına rağmen klinik olarak aktif hastalığın devam etmesi gerekir. Anti-tümör nekroz faktörü α (TNF- α), monoklonal antikorları adalimumab ve infliksimab İBH tedavisinde devrim yaratmıştır. Bunlar güvenli ve etkili biyolojik ajanlardır. Golimumab da son zamanlarda ülseratif kolit tedavisi için kullanım onayı almıştır. Vedolizumab ve Ustekinumab da kullanılan monoklonal antikor türünde biyolojik ajanlardır.

Fekal mikrobiyata transplant tedavisi İBH için henüz çok erken aşamadır. Pratik hususlar ve bu terapiye erişim zor olmaya devam etmektedir. Henüz deneme aşamasında olup rutin tedavi olarak kullanılamamaktadır.⁶³

2.6.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Epidemiyolojisi

İnflamatuvar bağırsak hastalığı insidansı ve prevalansı bazı bölgelere göre artmakta olup bununla birlikte coğrafi faktörlere göre de farklılık gösterebilmektedir. Örnek vermek gerekirse Rochester Epidemiyoloji Projesi verileri göz önünde bulundurularak yapılan bir çalışmada hem Ülseratif kolit hem de Crohn hastalığı prevalansı 2000 ile 2011 yılları arasında artış göstermiştir. Bu çalışmada ülseratif kolitte % 34, Crohn'da ise % 41 oranında bir artış olduğu

belirtilmiştir. Ortalama yaşam süresinin uzaması da bu artışın bir sebebi olarak düşünülmektedir.⁶⁴⁻⁶⁵

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları Yahudilerde daha sık görülmektedir. Siyah ırkta beyaz ırka göre insidansı daha düşüktür.⁶⁶

Türkiye’de yapılan İBH prevalansı ile ilgili çalışmalarda birbirinden farklı sonuçlar bildirilmiştir. Trakya Bölgesi’nde 2003 yılında yapılan bir çalışmada, ÜK prevalansı 4.9/100.000, insidansı ise 0.59-0.89/100.000 olarak bulunmuştur.⁶⁷ İnflamatuvar bağırsak hastalığı çalışma grubunun 2009 yılındaki çok merkezli bir çalışmasında, ÜK için insidans 4.4/100.000, CH için 2.2/100.000 olarak bildirilmiştir.⁶⁸

2.6.2. Crohn Hastalığı

Sıklıkla terminal ileum ve ileoçekal bölgeyi etkileyen, gastrointestinal kanalda ağızdan başlayıp anüse kadar herhangi bir bölgeyi tutabilen bir hastalıktır. Yalnızca ince bağırsak tutulumu % 30, izole kolon tutulumu % 25, ileum ve çekum eş zamanlı tutulumu % 40 oranında görülmektedir. Crohn, segmental tutulum gösterir ve inflamasyon intestinal tabakaların tümünü tutar. Ayrıca tutulumun olduğu segmentlerin arasında sağlam alanlar olabilir (atlamalı tutulum).⁶⁹⁻⁷⁰ Karın ağrısı, ishal ve sağ alt kadranda kitle asıl semptomlardır. Ayrıca bulantı, kusma ve lümende daralma olduğunda ani kolik karın ağrısı da görülebilmektedir. Hastaların çoğunda ishal görülmektedir; ancak kanlı ishal Crohn hastalığında nadir, rektum tutulum olanlarda tenezm ile birlikte sıktır. Tutulum yeri, yaygınlık ve ekstraintestinal organların tutulumu gibi etmenler prognozu belirleyen esas faktörlerdir.⁷¹ Gastrointestinal sistem dışı bulgular da görülebilir. Eklemlerde, gözlerde ve ciltte iltihaplanma ve çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği ekstraintestinal bulgulardandır.⁷²

Crohn hastalığı üç tiptir: İnflamatuvar, penetran ve stenoizan. Klinik olarak ateş, karın ağrısı ve ishalin en belirgin olduğu inflamatuvar tiptir. Stenoizan tip obstruksiyonlar ile karakterizedir. Ara ara bu formlar arasında geçişler olabildiği için stenoizan tipte eş zamanlı inflamatuvar ve penetran tablo da izlenebilir.⁷³⁻⁷⁴

2.6.3. Ülseratif Kolit

Ülseratif kolit; kolon mukozasının idiopatik, kronik inflamatuvar bir hastalığıdır.

Rektumda başlar ve genellikle kolonun bir kısmı veya tamamı boyunca sürekli bir şekilde proksimale doğru uzanır. Bununla birlikte, proktit veya sol taraf tutulumlu bazı hastalarda çekal inflamasyon yaması da görülebilir. Kanlı ishal karakteristik bir semptomdur. Klinik seyir tahmin edilemez, değişen alevlenme ve remisyon dönemleri ile kendini gösterir.

Ülseratif kolitte inflamasyon, mukozal yüzeyle sınırlı olması yönünden karakteristiktir. Ülseratif kolitte inflamasyon rektumdan başlayarak proksimale doğru başlıca kolon mukozasında kesintisiz olarak ilerler ve diğer kolon segmentlerine doğru tutulum gösterebilir. Crohn hastalığının aksine mukozal tutulum atlamalı değil sürekli dir.⁷⁵

Ülseratif kolit, Crohn hastalığından daha yaygındır. Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa, ülseratif kolitin en yüksek insidans ve prevalans oranlarına sahiptir; insidans 100.000 kişi başına 9-20 vaka arasında değişmekte olup, prevalans oranları 100.000 kişi başına 156-291 vaka arasındadır.⁷⁶⁻⁸⁴

Ülseratif kolit bimodal bir insidans paternine sahiptir, ana başlangıç zirvesi 15-30 yaşları arasında ve ikinci küçük tepe noktası 50-70 yaşları arasındadır.⁸⁵⁻⁸⁶

Ailede inflamatuvar bağırsak hastalığı öyküsü en önemli bağımsız risk faktörüdür. Ülseratif kolitli hastaların %5.7-%15.5 oranında birinci derece akrabalarında ülseratif kolit görülmektedir.⁸⁷⁻⁸⁹

İnflamasyonun şiddetine bağlı olarak farklı klinik durumlar meydana gelebilir. Bunlardan bazıları; kilo kaybı, halsizlik ve anemidir.⁹⁰ İnflamasyonun şiddeti ve hastalığın görülmeye başladığı yaşa göre farklı tablolar ortaya çıkabilir. Çocukluk yaşında büyüme ve gelişme geriliğiyle seyredebilir. Ayrıca göz, eklem, cilt ve karaciğer de ekstraintestinal tutulum alanları olarak karşımıza çıkabilir.⁹¹

Oluşan derin ülserlere bağlı ciddi kanama, şiddetli distansiyon, perforasyon, medikal tedavilere cevabın sağlanamaması gibi komplikasyonlar mevcuttur. Ülseratif kolitte malignite riski artmıştır. Malignite oluşumunda hastalığın süresi, inflamasyonun şiddeti, tutulan kolon segmenti ve genetik faktörler etkili olabilir.⁹²

2.6.4. İBH Patogenezi

İBH'nin etiyolojisi büyük ölçüde bilinmemekle birlikte, son araştırmalar bireyin genetik duyarlılığının, çevresel faktörlerinin, bağırsak florasının ve immün sisteminin hepsinin İBH'nin patogenezinde yer aldığını ve işlevsel olarak patogeneze dahil olduğunu göstermiştir.⁹³ Yeni

bilgilere göre esas patoloji immün sistemin antiinflamatuvar mekanizmasının işlevselliğini yitirmesi ve bağırsak florasına karşı bozulmuş bir immün yanıt oluşturmaları şeklindedir. Bakteriyel ürünler ile immünmediatörlerin sürekli teması veya bariyer işlevindeki bozukluğa sekonder olarak sürekli temas ve ardından tolerans kaybı sebebiyle immün sistemdeki baskılanma işlevinin yerine getirilemediği belirlenmiştir. Tüketilen besinlerin içeriğindeki ve beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler gastrointestinal floranın da değişmesine sebep olabilmektedir. Aynı zamanda genetik faktörler de sindirim sistemi florasında kolonize olacak bakteri çeşitlerinde değişikliğe sebep olabilmektedir. Floradaki bu değişim İBH patogenezinde rol oynayabilmektedir.⁹⁴ Ayrıca Th1 ve Th2 lenfositlerinin aktivasyon problemi veya proinflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-gama, TNF-alfa, LTB4, TxA2) ve antiinflamatuvar sitokinler (IL-1ra, TNF bağlayan proteinler, PGE2, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13) arasındaki dengenin bozulması da patogenezinde suçlanmaktadır. Sitokin dengesinin proinflamatuvar sitokinlerin lehine bozulmasıyla, Th1 hücre sayısı inflamasyon cevabı sırasında artar. Th1 hücreleri proinflamatuvar sitokinleri salgılamakta, Th2 hücreleri antiinflamatuvar sitokinleri salgılamakta. Crohn hastalığında Th1 lenfositler proinflamatuvar etkiyle IL-2 ile IFN-gama üretimini artırır. Ülseratif kolitte ise Th2 lenfositler antiinflamatuvar etkiyle IL-4 ve IL-10 salınımını hızlandırır.⁹⁵ (Şekil 10)

TNF- α ; monosit, aktive makrofaj ve T lenfositlerden proinflamatuvar sitokin olarak salınır. Aynı zamanda Kupffer hücreleri, PMN, NK hücreleri, astrositler ve endotel hücrelerinde üretilmektedir. Makrofaj aktivasyonu, kemik iliği tarafından PMN salınımını, PMN aktivasyonu, migrasyonu ve degranülasyonu, IL-6'nın indüksiyonu ile akut faz reaktanlarının yapımını arttırmak gibi etkileri mevcuttur. Yara iyileşmesi ve remodeling, endotelial prokoagülan aktivite, lökosit adezyonu, vasküler endotel permeabilite, kollajen sentezi ve fibroblast proliferasyonunu arttırmaktadır.⁹⁶

TNF- α , İBH'deki temel sitokinlerdendir. 20-50 kD ağırlığındadır. Polipeptid yapıda bir hormondur. Tümör hücrelerinde hemorajik nekroz yapmaktadır. TNF- α daha çok inflamatuvar olaylarda rol almakta olup, enfeksiyöz ajanların varlığında veya doku hasarı meydana geldiğinde 4-8 saat içinde artar, 16-24 saatte en üst düzeye ulaşır ve uyarının devamlılığına göre salınımı devam eder. TNF- α düzeylerinin İBH hastalarında normale göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. TNF- α solum ve membrana bağlı şekilde bulunur ve reseptörlerine bağlanarak sinyalizasyon kaskadını başlatmaktadır. Ayrıca inflamatuvar sitokin salınımı, lökosit migrasyonu, tromboz, apoptoz ve fibrinoliz, granülom oluşumu gibi etkileri mevcuttur.⁹⁷

IL-10 antiinflamatuvar etkili bir sitokindir ve insan sitokin sentez inhibitör faktör olarak bilinir. Homodimerik bir sitokindir ve heterodimerik bir reseptöre bağlanır. STAT3 aracılığı ile bir sinyal yolağını tetikler. Bu yolak Jak1 ve Tyk2 aracılığı ile düzenlenir. İmmünsüpresif etkilere sahip olup, Th2 hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Th1 hücreleri tarafından sentezlenen bazı sitokinleri inhibe etmektedir. Genel olarak proinflamatuvar mediyatörlerin (TNF- α , IL-1B, IL-6, IL-8, G-CSF ve GM-CSF) sentezlerini inhibe eder. İnflamasyonu sınırlandırmak ve doku hasarını azaltmak için üretilmektedir.⁹⁸

Genetik faktörlerin her iki hastalıkta da etkili olduğu bilinmektedir. Crohn hastalığının genetik ilişkisi ülseratif kolite göre daha anlamlı bulunmuştur. İBH hastalığına sahip kişinin 1. ve 2. derece akrabasında hastalığın %6 – %32 oranında görüldüğü bildirilmiştir. Hem anne hem babasında İBH olan çocukların hastalığa yakalanma oranının %35'in üzerinde olduğu belirlenmiştir. Crohn'un monozigot ikizlerde görülme oranı (%58.3) dizigotik ikizlerden (%3.9) yüksek bulunmuştur. Ülseratif kolit ise monozigot ikizlerde %6,3 beraber görülürken dizigot ikizlerde oran %0 olarak saptanmıştır. Genetik faktörleri mendelyan kalıtım ile açıklamak yerine çoklu genetik bozukluk ile açıklamak daha anlamlıdır. Crohn hastalığında özellikle NOD2, IL23R ve ATG16 genleriyle ilgili olarak çalışmalar yapılmış fakat ÜK ile ilişkili olduğuna dair kesin kanıtlar elde edilememiştir.⁹⁹

Crohn'da 16. kromozomda, sitoplazmik bir protein olan NOD2 (Nücleotide-binding oligomerization domain-containing protein) veya CARD-15 (Caspase recruitment domain-containing protein) kodlayan gende mutasyon olduğuna dair bulgular mevcuttur.¹⁰⁰⁻¹⁰¹ İnflamatuvar bağırsak hastalığı gelişmesi için yalnızca NOD2 yolundaki bozukluğun bağırsaktaki inflamasyonu uyarmak için yetmediği, NOD2 mutasyonu olan hastalarda, Crohn hastalığı gelişmesi için başka faktörlere de ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Hastalığın yaygınlığı, şiddeti ve tedaviye yanıtı etkileyen genlerin de birbirinden farklı olabileceği düşünülmektedir.¹⁰²

Sigara içicilerinde ülseratif kolit görülme sıklığı görece az olmasına rağmen Crohn hastalığında sigara, tetikleyici bir ajandır. Ayrıca sigara içip bırakmış olan kişiler hiç sigara içmeyenlere göre Crohn açısından daha fazla riske sahiptirler.¹⁰³

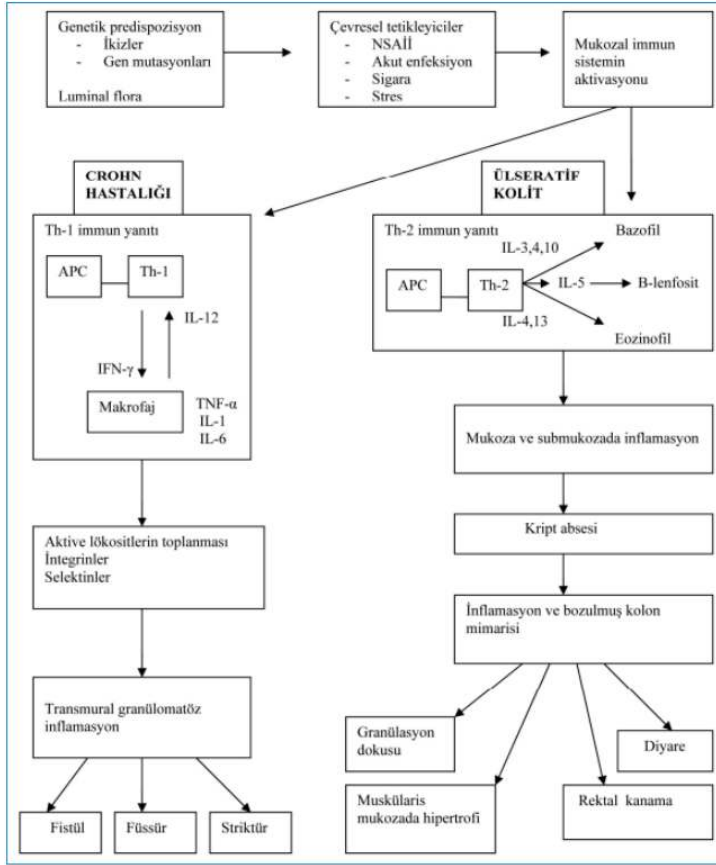
Enfeksiyöz ajanların da rol oynadığı düşünülmektedir. Crohn hastalığında genellikle Mycobacterium tuberculosis ve Yersinia enterocolitica tespit edilebilmektedir. Bunların oluşturduğu granülom yapıları Crohn hastalığında oluşan granülomlarla benzer yapıdadır. Shigella, Amip ve Campylobacter gibi enfeksiyöz ajanların bağırsaktaki enfeksiyonları ülseratif kolite benzer tabloyla karşımıza çıkabilmektedir. Enfeksiyöz ajanların da tek başına hastalık

tablosu oluřturmada yetersiz olduđu dűřűnűlmektedir.¹⁰⁴

Epitelyal sıkı bađlantılar ve mukus katmanı lűmendeki bakterilerin translokasyonunu engeller. Goblet hűcrelerinden salgılanan mukus, epitel tabakasının űzerini kaplar. Epitelyal onarım, fibroblastlar ve lamina propriya mononűkleer lűkositlerden salınan keratinosit bűyűme faktűrű (KGF) ve transforming bűyűme faktűrű- β (TGF- β) yardımıyla sađlanır. Epitel hűcreleri, paneth hűcreleri ve plazma hűcrelerinden salınan sekretuar IgA (sIgA) tarafından yapılan defensinler patojenlere karřı savunmada majűr olarak rol alır. Defensinler bakteriyel parçalanmadan sorumludur. Salgılanan IgA bakteriyel antijenlerin artıřını űnler. Ayrıca PGE2 gibi prostaglandinler epitelin bariyer fonksiyonunu sađlamada etkilidir.¹⁰⁵

Polimorfonűkleer lűkosit ve makrofajlar tarafından űretilen reaktif oksijen metabolitlerinin, hűcrelerin bakterilere karřı savunma mekanizmaları arasında yer aldıđı bilinmektedir. Reaktif oksijen metabolitlerinin űretim miktarı antioksidan savunma mekanizmalarının kapasitesini ařarsa doku hasarına yol açaabilirler.¹⁰⁶⁻¹⁰⁷ Bűylece plazma membranı gibi lipit içeren biyolojik sistemlerin çođunda, oksidatif stresin sonucu olarak doku yıkım űrűnű olan Malondialdehit (MDA) seviyesinin arttıđı gűrűlűr.¹⁰⁸

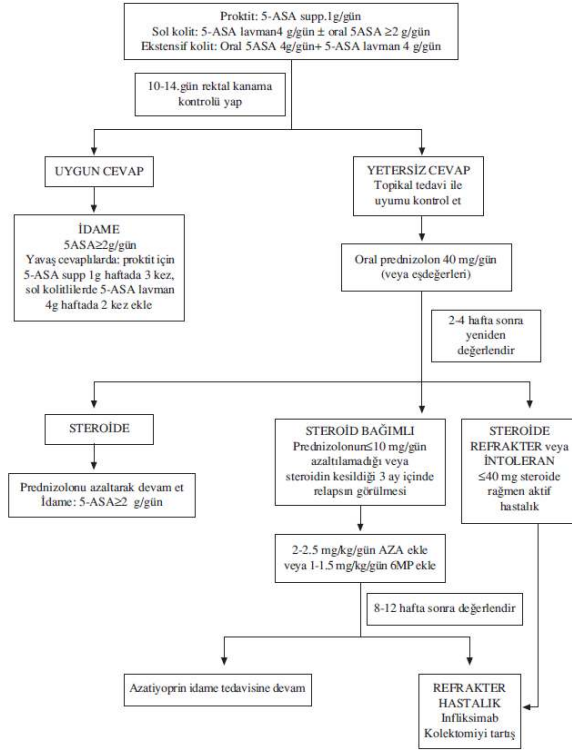
Mast hűcreleri tarafından salgılanan histamin de İBH'nin patogenezinde űnemli rol oynamaktadır. İnflamatuvar bađırsak hastalıklarının aktif dűneminde mukoza ve submukozadaki mast hűcreleri sayısının ve histamin salgısının arttıđı bilinmektedir.¹⁰⁹



Şekil 10. İBH patogenezi¹¹⁰

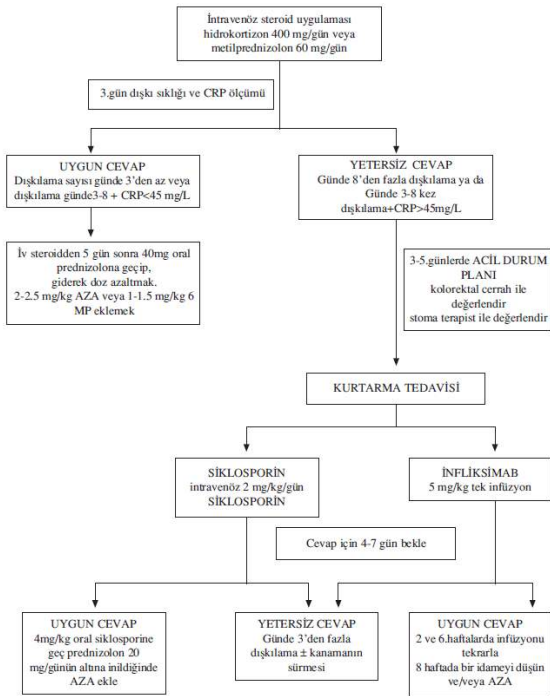
2.6.5. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında Tedavi

Mevcut ilaç tedavileri, altta yatan patojenik mekanizmayı değiştirmek veya tersine çevirmek yerine, hastayı remisyona sokmayı ve remisyon halini sürdürmeyi; ayrıca hastalığın ikincil etkilerini iyileştirmeyi amaçlamaktadır.¹¹¹ Kortikosteroidler, aminosalisilatlar (ASA) ve azatiyopürin gibi immünsupresif ajanlar rutin olarak kullanılmaktadır.¹¹² Metronidazol ve geniş spektrumlu antibiyotikler gibi diğer ilaçlar bazı durumlarda yardımcı olurken, kolestiramin, sodyum kromoglikat, bizmut ve arsenik tuzları, metotreksat ve balık yağları alternatif tedaviler sağlar. İBH'nin insan monoklonal antikor preparatları kullanılarak tedavisine yönelik yeni yaklaşımlarla da cesaret verici sonuçlar elde edilmektedir ve bu antikor tedavileri etkilenen biyokimyasal inflamatuvar yolları değiştirdiği için geleneksel tedavilere alternatif sağlayabilir. Hastalığın akut alevlenmesini kontrol etmek, remisyonu sürdürmek ve fistüller gibi spesifik komplikasyonları tedavi etmek medikal tedavinin esas amaçlarını oluşturmaktadır.¹¹³ (Şekil 11-12)



Şekil 11. Hafif – orta şiddetli ülseratif kolit tedavi algoritması¹¹⁴

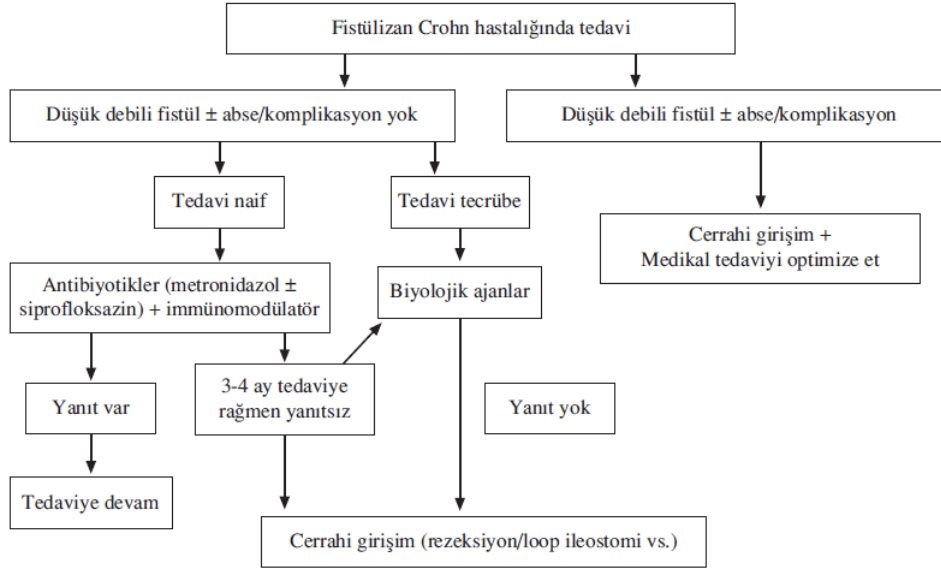
(5-ASA: 5 asetilsalisilik asit, AZA: azotiyopürin, 6MP:6-merkaptopürin)



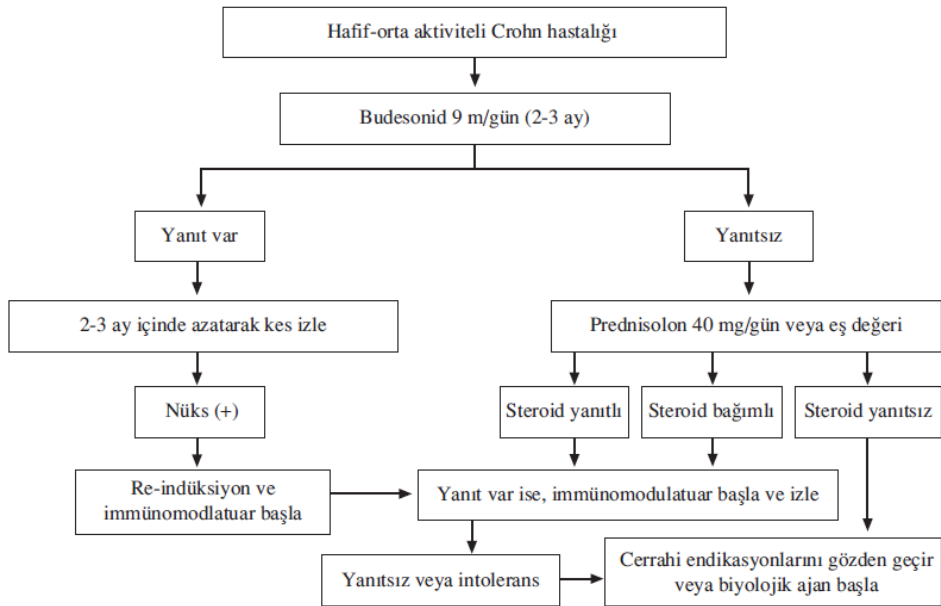
Şekil 12. Şiddetli ülseratif kolitte tedavi algoritması¹¹⁴

(5-ASA: 5 asetilsalisilik asit, AZA: azotiyopürin, 6MP:6-merkaptopürin)

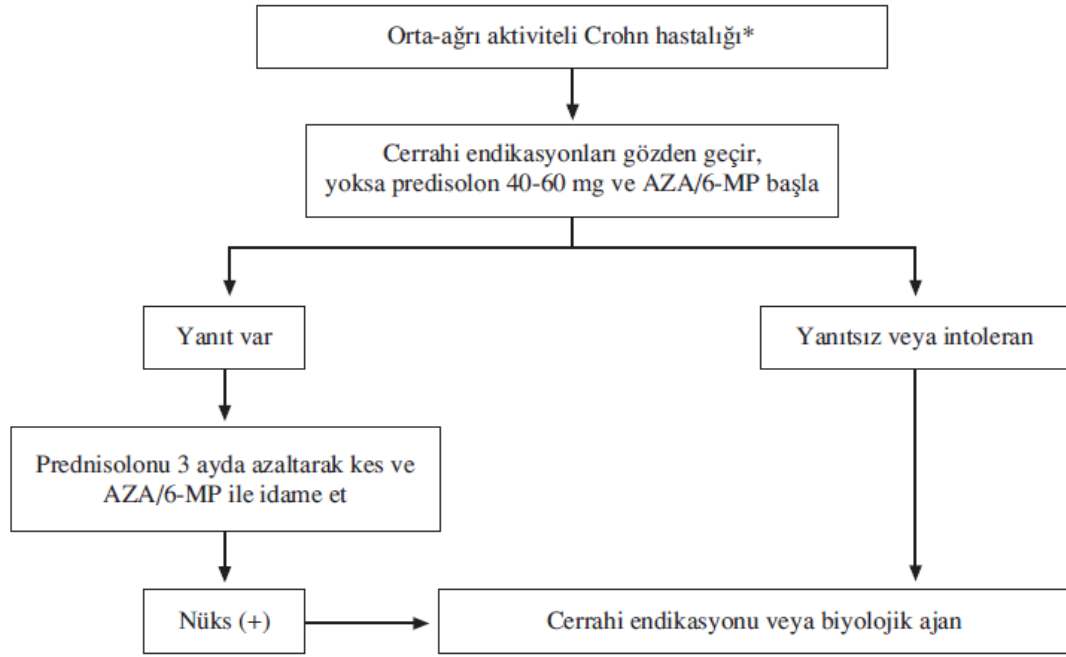
Fistülizan Crohn, hafif-orta aktiviteli Crohn ve orta-ağır aktiviteli Crohn hastalığında tedavi algoritması Şekil 13-14-15'te verilmiştir.



Şekil 13. Fistülizan Crohn hastalığında tedavi algoritması¹¹⁵



Şekil 14. Hafif-orta aktiviteli Crohn hastalığında tedavi algoritması¹¹⁵



Şekil 15. Orta-ağrı aktiviteli Crohn hastalığında tedavi algoritması¹¹⁵

(AZA: azatiyopürin, 6-MP: 6- merkaptopürin)

2.6.5.1. Kortikosteroidler

Kortikosteroidler, Crohn ve ülseratif kolitin akut alevlenmesinde oral veya parenteral yolla kullanılan antiinflamatuvar etki gösteren ilaçlardır. Hastaların %75-90'ında bu ilaçların kullanımıyla iyileşme sağlanmaktadır. Yan etkileri nedeniyle uzun süreli kullanımları uygun değildir. Kortikosteroidlerin kesilememesi cerrahi tedavi için göreceli endikasyondur.¹¹⁶

Budesonid, beklametazon dipropiyonat ve tiksokortol pivalat gibi ajanlar hızla karaciğerde metabolize olurlar ve bu nedenle sistemik toksik etkileri azalmaktadır. Budesonid oral preparat şeklinde verilebilmektedir. Kortikosteroidli lavmanlar, proktit ve proktosigmoidit için lokal tedavi sağlamakla beraber sistemik kortikosteroidlere göre daha az yan etkiye sahiptirler.¹¹⁶

Prednizolon 40-60 mg/gün, metil prednizolon 32-48 mg/gün olarak başlanır ve 14 gün içinde remisyon sağlandıktan sonrasında haftada 4-5 mg azaltılarak kesilir. Ülseratif kolitte kortikosteroid tedavisi hastalığın tuttuğu bölge ve tutulum şiddetine göre düzenlenir.¹¹⁷

2.6.5.2. Salisilatlar

Salisilatlar, bağırsak mukozasında siklooksijenaz ve 5-lipooksijenazı inhibe ederek antiinflamatuvar mekanizmayla etki gösterirler. Etki etmeleri için mukozaya temas etmeleri şarttır.¹¹⁶ Sülfasalazin maddesi sülfapiridin ve 5-ASA birimlerinden oluşmaktadır. Sülfapiridin ilacın yan etkilerinden sorumludur. 5-ASA ise inflamatuvar bağırsak hastalığında etkili olan parçasıdır. Kolona ulaşan sülfasalazin, flora bakterilerinin azoredüktaz enzimi ile sülfapiridin ve 5-ASA'ya parçalanır. 5- ASA'nın %25'i kolonda emilirken, geri kalanı dışkı ile atılır.¹¹⁸

Sülfasalazinin yan etkileri doz ile ilişkili olup en korkulan yan etkisi kemik iliği depresyonudur.¹¹⁹

2.6.5.3. İmmün Modülatör Tedavi (tiyopürin analogları)

Bu ilaçlar orta ve şiddetli aktiviteli İBH'de remisyonun devamı için kullanılmaktadır. Remisyon sağlanmasında steroidsiz tedavinin temelini oluştururlar. Özellikle ÜK'de sınırlı etkiye sahip olup, bazen yetersizdir.¹²⁰

Tiyopürin kullanımının lenfoma riskini 4 kat arttırdığına dair veriler mevcuttur.¹²¹

2.6.5.3.1. Metotreksat

Metotreksat, folik asit antagonisti olup DNA sentez inhibitörüdür. İnterlökin-1'i inhibe ederek T hücre fonksiyonunu baskılayarak etki gösterir. Steroid bağımlı Crohn hastalığının hem indüksiyon hem de idame tedavisinde kullanılmaktadır.¹²²

2.6.5.3.2. Azatioprin

6-merkaptopürinin ön ilacı olan azatioprin, 2-3 mg/kg/gün dozunda verilir. Tiyopürin analoglarının ilk 12 haftada klinik yanıtlarının yavaş olması en önemli dezavantajlarıdır. Allerjik reaksiyon, kemik iliği depresyonu, pankreatit, bulantı, hepatotoksisite ve malignite (özellikle lenfoma) yan etkileri arasında sayılabilir.¹²³

2.6.5.3. Siklosporin

Siklosporin, kalsinörin inhibitörüdür ve proinflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir. Kalsinörin inhibitörlerinin İBH’de kullanımı ile bilgiler yeterli olmayıp tekrarlayan ÜK’de remisyonun başlatılmasında etkili görünmekle birlikte CH’de kullanımının etkinliği ile ilgili bilgiler tatmin edici değildir.¹²⁴

2.6.5.4. Biyolojik İlaçlar

Biyolojik ilaçlar güncel olarak araştırılan tedavi yöntemleridir.

2.6.5.4.1. İnfliksımab

İnfliksımab, monoklonal antikordur. TNF-alfa’ya bağlanarak onun proinflamatuvar etkisini geriye çevirir. İlk kez 1998 yılında, steroide dirençli hastalarda remisyonu sağladığı gösterilmiş ve orta-şiddetli veya fistülü olan Crohn hastalığı için kullanılmaya başlanmıştır.¹²⁵

2.6.5.4.2. Adalimumab

Rekombinan teknoloji ile üretilen Adalimumab, bir anti-TNF antikorudur. Adalimumab tedavisi, Crohn’da hem İnfliksımab yanıtını kaybetmiş hastalarda hem de fistülü olan hastalarda remisyonun sağlanması ve idamesinde etkili bulunmuştur.¹²⁶

2.6.5.4.3. Certolizumab pegol

Certolizumab pegol bir insan anti-TNF antikorunun pegile edilmiş Fab parçasıdır. Antikor bağımlı hücrel sitotoksiteye yol açmaz. Ülseratif kolit ve Crohn’daki kullanımı Adalimumab ile benzer olup kullanımı sınırlıdır. Orta-şiddetli Crohn’da ve fistül iyileşmesi üzerine sınırlı düzeyde etkinliği mevcuttur.¹²⁷

2.6.5.4.4.Natalizumab

Natalizumab adhezyon molekülü inhibitörü olarak işlev gösterir. Selektif olarak bağırsak ve beyne lökosit geçişine katılan alfa-4-integrinlere karşı bir humanize monoklonal immünglobulin G4 antikorudur olup konvansiyonel tedavilere dirençli orta-şiddetli Crohn tedavisinde kullanılmaktadır.¹²⁸

Adalimumab, Golimumab ve Vedolizumab da diğer monoklonal antikorlardır. Ustekinumab insan monoklonal antikorudur. Crohn hastalığında IL-12 ve IL-23 aktivitesini inhibe ederek etki gösterir. Primer ve sekonder anti-TNF yanıtı Crohn'da kullanılması gündemdedir.¹²⁹

2.6.5.5. İBH'de Cerrahi Tedavi

Ülseratif kolit için acil cerrahi endikasyonlar şunlardır:

- 1- Medikal tedaviye cevap vermeyen fulminan kolit
- 2- Toksik megakolon
- 3- Masif kanama
- 4- Tıkanma

Elektif cerrahi endikasyonlar şunlardır:

- 1- Medikal tedaviye yanıtınlık,
- 2- Kanseri riski (displazi varlığı) veya kanser
- 3- Çocuklarda büyüme geriliği

Ülseratif kolitin cerrahi tedavisinde total proktokolektomi + ileal poş-anal anastomoz tekniği uygulanmaktadır.

Crohn hastalığı için cerrahi prosedür komplikasyon geliştiği zaman uygulanır. Nüks ihtimalinin yüksek olması nedeniyle cerrahi tedavi kür sağlayıcı olarak uygulanamamaktadır. Hastalığın lokalizasyonuna, tutulum şiddetine ve komplikasyonun ciddiyetine göre cerrahiye karar verilir. Crohn hastalarının yaklaşık %70'inde yaşamlarının bir döneminde cerrahi tedavi endikasyonu doğmaktadır. Medikal tedaviye yanıtınlık, striktür, apse, fistül, kanser gelişmesi, masif kanama, perforasyon, toksik megakolon gibi komplikasyonlar gelişmesi halinde cerrahi düşünölmelidir.¹³⁰

2.6.6. Deneyisel Kolit Modelleri

Çeşitli ajanlar ile deneyisel hayvan modelleri üzerinde akut ve kronik inflamasyon oluşturulabilir. Kullanılan ajanlardan bazıları ve referans hayvan modelleri:

- Dekstran sodyum sülfat (DSS), Swiss Albino ratlar¹³¹
- Dinitrobenzen sülfonik asit (DNB), C3H fareler¹³²
- Dinitroklorobenzen (DNCB), Wistar Albino ratlar¹³³
- Asetik asit, Ratlar¹³⁴
- Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), BALB/c fareler¹³⁵, Ratlar¹³⁶, C57BL/6 fareler¹³⁷
- Karajenan¹³⁸
- Oksazolon¹³⁹⁻¹⁴⁰
- İodoasetamid¹⁴¹
- Formalin¹⁴²

2.6.6.1. Asetik Asit Kolit Modeli

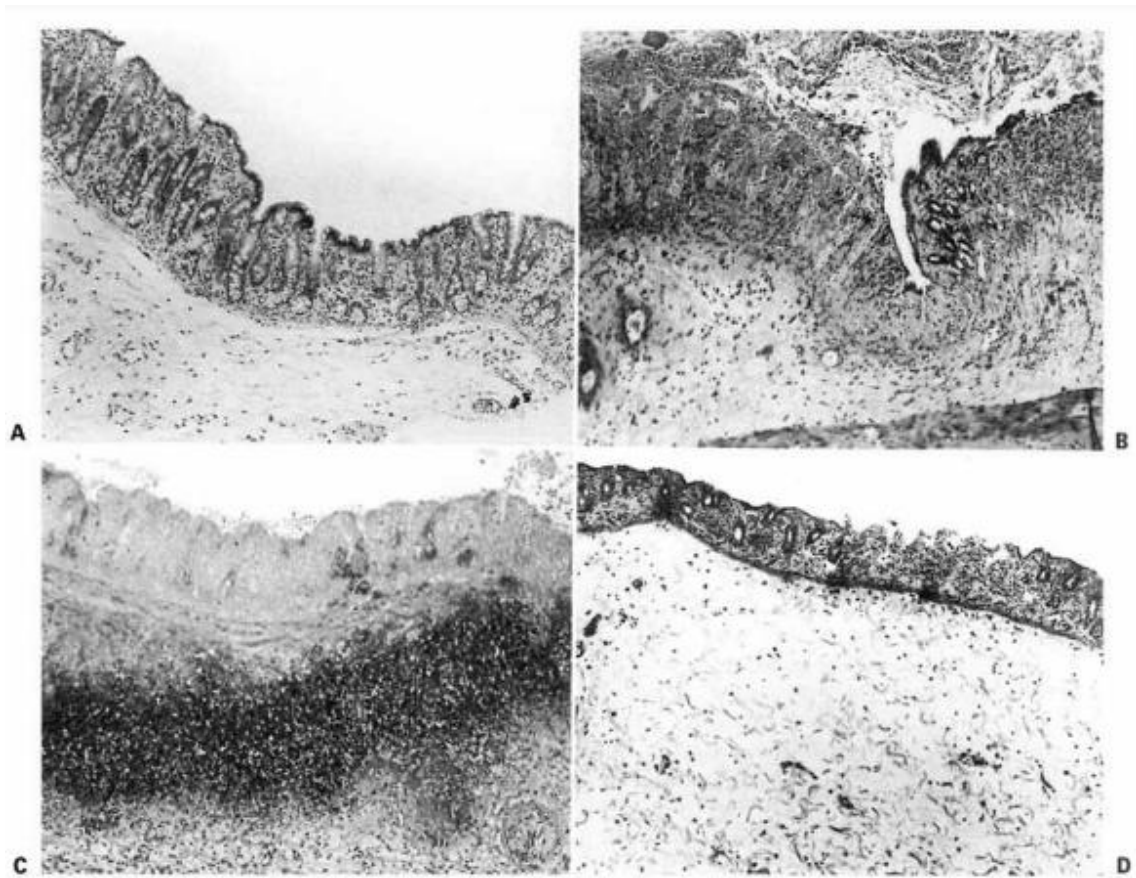
Asetik asit (%4-10), bir feeding kateter ile rektal yoldan verilerek sıçanlarda, farelerde, tavşanlarda ve kobaylarda akut kolit oluşturulabilmektedir.¹⁴³ Asetik asit kaynaklı kolitin insanlardaki ülseratif kolite çok benzer özellikler gösterdiği bildirilmiştir. Asetik asite bağlı kolit mukoza epitelinde nekroz ve ödem ile karakterize olup, ilerleyen aşamalarda mukoza ve submukoza inflamasyonu ve diğer inflamatuvar hücre ve mediyatörlerin etkisiyle şiddetli doku hasarına gidişatı içerir. Asetik asit etkisi ile kolit oluşumu rektuma enjeksiyondan sonra 4. saatte başlar ve 7. güne kadar devam eder. 7. Günden sonra kolitin regrese olmaya başladığı görülür.¹⁴⁴

Asetik asit kolit modeli ile ilgili ilk çalışma MacPhersan ve Pfeiffer tarafından 1978 yılında yapılmıştır. 0.5 ml asetik asit %10-50 konsantrasyonla rektal yoldan ratlara uygulanmış ve 10 saniye beklendikten sonra üç defa 0.5 ml serum fizyolojik ile bağırsak lümeninin yıkanması gerektiği belirtilmiştir.¹⁴³

Daha sonra yapılan çalışmalarda asetik asit konsantrasyonu ve temas süresinde uygulama değişiklikleri yapılmıştır. Rektal yoldan yüksek konsantrasyonda uygulanan asetik asitin bağırsak lümeninde delinmelere yol açması üzerine, sonraki çalışmalarda 2 ml %4'lük asetik asitin, 2.7 mm yumuşak pediatrik kateter aracılığıyla rektal yoldan uygulanmasının ve 30-120 saniye maruziyet sağlanmasının daha uygun olacağı belirlenmiştir.¹⁴⁵⁻¹⁴⁷

Asetik asitle oluşturulan kolit modelinde gözlenen histolojik özellikler ülserasyon, epitelde mukus hücresi tükenmesi, kript apseleri, kistler, mukozal atrofi, ödem, inflamatuvar hücrelerin yoğunluğu ve lamina propriadaki dilate damarlardır.¹⁴⁸ Düşük maliyet ve kolay uygulanabilirlik asetik asit kolit modelinin avantajları arasındadır. Uygulamadan sonraki ilk 24 saat içinde epitel doku hasarı görülebilmektedir.¹⁴⁹

%4 asetik asit uygulanmasında 4. gün Hematoksilen-Eozin ile boyanan kolon dokusunun mikroskop görüntüsü Şekil 16'da görülmektedir.



Şekil 16. %4 Asetik asit uygulanan ratta 4. gün kolon mikroskop görüntüsü¹⁵⁰ (Hematoksilen-Eozin ile boyanan kolonun 25X büyütmedeki mikroskop görüntüsü)

- A. A. Hafif azalmış müsin üretimi ile neredeyse normal mukoza, stromadaki küçük inflamatuvar hücre reaksiyonu, doku üzerindeki küçük etkiyi yansıtır.
- B. B. Yüzeyde pürülan materyal, erozyon, kript apsesi ve submukozada şiddetli ödem ile ciddi toksik etki.
- C. C. Mukozada tama yakın nekroz, şiddetli inflamatuvar hücre reaksiyonu ve submukozada ödem
- D. D. Mukozadaki bezlerin ciddi toksik hasarı ve atrofi, submukozada şiddetli ödem ve inflamatuvar hücre reaksiyonu¹⁵⁰

2.6.7. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngesinde bir veya daha fazla sayıda eşlenmemiş elektronu bulunan, yüksek enerjiye sahip atom veya moleküllerdir.¹⁵¹ (Tablo 1) Eşlenmemiş elektron içerdikleri için diğer maddelerle kolayca tepkimeye girebilirler. Elektronlarını eşlenmiş halde bulunduran atom ve moleküller ise kararlı yapıya sahiptirler. Kararlı yapılarından dolayı başka moleküller ile reaksiyona girme istekleri serbest radikaller kadar fazla değildir. Bu nedenle kararlı yapıda bulunan, eşlenmemiş elektron içermeyen ve diğer maddeler ile radikallere kıyasla daha zayıf olarak tepkimeye giren moleküller nonradikaller olarak tanımlanır.¹⁵²

Hücrelerde birçok endojen radikal üretim kaynağı mevcuttur.¹⁵³

- 1- Mitokondriyal ve mikrozomal elektron transport zinciri.
- 2- Aktive fagositler; PMN fagositte ettiği bakterileri öldürmek için ve nekrotik dokuları temizlemek için proteazları ve oksijen radikallerini kullanır.¹⁵⁴
- 3- İskemi-reperfüzyon; Ateroskleroz, mikrosirkülasyon kaybı, hipoksi, şok, organ transplantasyonu.
- 4- Araşidonik asit kaskadının aktivasyonu.
- 5- Endojen bileşiklerin otooksidasyonu
- 6- Sitokrom p450, Ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz tarafından katalizlenen reaksiyonlar.

Eksojen radikal üretim kaynakları ise şunlardır:¹⁵³

- 1- Hiperoksi
- 2- İyonize radyasyon
- 3- Sigara içilmesi
- 4- Redoks sikling ksenobiyotikler.

Tablo 1. Reaktif oksijen türleri (ROS)¹⁵⁵

Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	$O_2^{\cdot -}$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	$OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^{\cdot}$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^{\cdot}$	Singlet oksijen	1O_2
Hidroperoksil	$HO_2^{\cdot}$	Ozon	O_3
Lipid peroksil	$LOO^{\cdot}$		

Tablo 2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)¹⁵⁵

Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	NO [•]	Nitrik asit	HNO ₂
Nitrojen dioksit	NO ₂ [•]	Nitrosil katyonu	NO ⁺
		Nitroksil anyonu	NO ⁻
		Dinitrojen tetroksid	N ₂ O ₄
		Dinitrojen trioksit	N ₂ O ₃
		Peroksinitrit	ONOO ⁻
		Peroksinitrik asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO ₂ ⁺
		Nitril klorid	NO ₂ Cl
		Alkil peroksinitrit	ROONO

Serbest radikaller elektron alarak lipid, protein, karbonhidrat molekülleri ile ve DNA ile reaksiyona girerler. Bu radikallerin miktarı arttığında membrandaki lipidlerin peroksidasyonuna yol açarak permeabilitenin bozulmasına ve hücrenin iyon dengesinin bozulmasına neden olmaktadır.¹⁵⁶ Serbest radikaller, DNA ve RNA gibi moleküllerin yapısal özelliklerini bozup değiştirerek bazı hastalıkların oluşumunda önemli roller almaktadırlar.¹⁵⁷

2.6.8. Serbest Radikal Çeşitleri

2.6.8.1. Süperoksit Radikali (O₂⁻)

Süperoksit radikali mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki Koenzim Q tarafından üretilmektedir.¹⁵⁸⁻¹⁵⁹ Süperoksit anyonu elektron taşıma zinciri tarafından diğer noktalarda da üretilmektedir. Diğer serbest radikalleri üreten bu radikal, üretildiği yerde etki göstermektedir.¹⁶⁰

2.6.8.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmamasına karşın; bir geçiş metali (Fe⁺²) ile tepkimeye girerek serbest radikal oluşumunu sağlar ve hücre zarları üzerinden hücreye

girebilir.^{160,161} Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit molekülünün (O_2^-) bir adet elektron bağlaması veya moleküler oksijenin iki adet elektron bağlaması neticesinde oluşan peroksitin, iki adet proton (H^+) ile birleşmesi sonucunda oluşur. Hidrojen peroksit biyolojik sistemlerde süperoksit dismutasyonu ile üretilir. Yağda çözünebilir özelliktedir. Oluştığı yerden uzakta bulunan ve demir içeren membranlarda bile hasar oluşturabilir.^{158, 159}

2.6.8.3. Hidroksil Radikali ($OH^\cdot$)

Hidroksil radikali, biyomoleküller ile çok güçlü reaksiyona girme isteğine sahiptir ve bu özelliğinden dolayı biyolojik sistemlere diğer radikallerden daha fazla zarar verir.

Hidrojen peroksitin, demir, bakır veya diğer geçiş elementleri (Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenip hidroksil radikaline dönüştüğü reaksiyona Fenton reaksiyonu denir. Süperoksit radikali Fenton reaksiyonu ile bağlantı kurar ve oluşan iyonların tekrar kullanılmasında rol oynar. Bu iki reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Geçiş metalleri bu şekilde hidroksil oluşmasında önemli bir role sahiptir.¹⁶²⁻¹⁶⁵

2.6.8.4. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit (NO) bir radikaldir. Fe^{+2} içerikli bileşiklere bağlanarak toksik etki gösterir. Bununla birlikte NO, inflamasyon sırasında çok yüksek derişime ulaşır ve peroksinitrit yapmak üzere süperoksitle ya da N_2O_3 yapmak üzere serbest oksijen ile enzimatik olmayan tepkimelerle birleşir. Serbest radikal olmayan peroksinitrit, kararlı, direk toksik etkili ve güçlü bir oksitleyici ajan olarak bilinmektedir.^{158,166,167}

2.6.8.5. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller biyolojik sistemlerde çeşitli zararlı etkiler yaratabilirler. Nükleik asitler, proteinler, aminoasitler, karbonhidratlar ve lipitler bu etkilere maruz kalabilir.

Örneğin, proteinlerin tiyol grubunu okside ederek, enzim fonksiyon kaybı (alfa 1 antitripsin gibi proteaz inhibitörlerinin oksijen radikalleri ile inaktive edilmesi, pulmoner amfizemde olduğu gibi aşırı elastaz aktivitesine yol açar), membran geçirgenliğinin bozulması ve kontraktıl fonksiyonlarda bozulma gibi etkiler yaratabilirler. Bu etkilere bağlı olarak ARDS,

demiyelinizan hastalıklar ve karsinogenez gibi durumlar ortaya çıkabilir.^{168,169,170}

Oksijen radikalleri poliansatüre yağ asitlerine etki ederek lipit peroksidasyonuna neden olur. Membran yapısında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin ansatüre bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrarlar. Böylece membran akışkanlığı ve geçirgenliği bozularak hücre zarına zarar verilmiş olur. Demir, lipit peroksidasyonu için zincir reaksiyonun başlamasında aktif rol alır.¹⁷¹

Lipit peroksidasyonu birçok yolla belirlenebilir. Lipit peroksidasyonunun ana yıkım ürünü Malondialdehit (MDA) olup, etan, pentan gibi alkan grubu son ürünler de yıkım ürünü olarak tespit edilebilmektedir. 4 hidroksi-2,3-trans-nonenal, konjuge lipit hidroksiperoksitler, aldehitler ve karbonil dienleri de lipit yıkım ürünleri doku hasarının belirlenmesinde önem arz etmektedir.^{172, 173}

Serbest radikaller proteinleri, içerdikleri aminoasit içeriklerine göre doğrudan etkilerler. Doymamış bağ ve sülfür içeren triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asitleri yapısında yüksek oranda bulunduran proteinler serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girer.¹⁷⁴

Serbest radikaller ile karbonhidratların oksidasyonu sonucu H₂O₂ ve okzoaldehitler oluşur. Bu moleküller DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak çapraz bağ oluştururlar ayrıca bağ dokuda bulunan hyalüronik asit de serbest radikallerle etkileşerek bağ dokusunun kararlılığının bozulmasına neden olabilir.¹⁷⁵

Antimikrobiyal etkileri: İmmün sistem hücreleri tarafından gerçekleştirilen fagositoz olayında fagosit edilmiş ajan solunumsal patlama sonucu açığa çıkan serbest radikallerin etkisiyle yok edilir. Antioksidan/oksidan oranı oksidanların lehine fazla arttığında normal hücrelere toksik etki yaparak bazı hastalıkların oluşumunda rol oynarlar.¹⁷⁶

İmmün sistem hücreleri lizozomlarında bir hem enzimi olan miyeloperoksidaz (MPO) içerirler. Polimorfonükleer lökositlerin azurofil granüllerinde fazla miktarda bulunur. İnflamasyon halinde nötrofil birikiminin göstergesi olarak MPO aktivitesinin ölçümü duyarlı bir testtir. İnflamasyon bölgesinde etkili olan lökositler MPO, elastaz, proteaz, kollejanaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimlerin ortaya çıkmasına sebep olurlar. Bu enzimler hem dokudaki hasarı artırır hem de gereğinden fazla serbest radikal oluşmasına neden olur.¹⁷⁷

Kronik granüloamatöz hastalığı (CGD) olan hastalarda MPO enzim eksikliğinden dolayı, granülositler O₂ üretemezler ve fagosit NADPH oksidaz aktivitesindeki eksikliğe bağlı olarak, özellikle mantar enfeksiyonuna, tipik olarak Aspergillus türlerine, aynı zamanda

Staphylococcus aureus ve *Burkholderia cepacia* dahil olmak üzere katalaz pozitif bakterilere karşı hassastırlar.¹⁷⁸

Nötrofillerin periferik kan ve dokularda aktivasyonu üzerine, MPO hem fagolizozomal bölmeye hem de hücre dışı ortama salınır. Klasik paradigma, MPO'yu fagositlerin hücre içi mikrobisidal sisteminin bir bileşeni ve dolayısıyla istilacı mikroorganizmalara karşı konakçı savunması için önemli bir doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir parçası olarak görür.^{179, 180}

2.6.9. Antioksidan Sistem

Antioksidanlar Tablo 3'te sınıflandırılmıştır.

Tablo 3. Antioksidanlar¹⁸¹⁻¹⁸²

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
VİTAMİN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

2.6.9.1. Endojen Antioksidanlar

2.6.9.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.6.9.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi ilk olarak 1969'da Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır.¹⁸³ Serbest oksijen radikallerine karşı ilk savunma SOD tarafından sağlanır.^{184,185} SOD, süperoksit radikalini (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizlemektedir. Hidrojen peroksit bu katalizleme işleminin ardından, CAT ya da GPx ile ortamdan uzaklaştırılmaktadır.¹⁸⁶

Ekstraselüler SOD, fibroblastlar, glia hücreleri ve endotel hücreleri tarafından sentezlenip salgılanmaktadır. Akciğerde tip II epitel hücreleri ve solunum yolları ile damar düz kas hücrelerinin fazla olması nedeniyle ekstraselüler SOD seviyeleri yüksektir. Ekstraselüler ortamda enzimatik olarak O_2^- 'leri etkisizleştiren antioksidan olması nedeniyle, ekstraselüler SOD oksidan hasarı, inflamasyon ve fibrozis ile seyreden birçok hastalıktan korunmada önemli bir role sahiptir.¹⁸⁷

2.6.9.1.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi tüm canlı hücrelerde değişen miktarlarda bulunur. Hücrelerdeki peroksizomlar, lizozomlar ve mitokondriler bulunduğu organellerdir. Ek olarak endoplazmik retikulum ve sitoplazmada da aktivite göstermektedir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranlarda fazla miktarlarda, destek dokularda ise düşük miktarlarda bulunur.^{188,189}

Katalaz enzimi hidrojen peroksiti (H_2O_2) moleküler oksijen(O_2) ve suya (H_2O) parçalar. Hidrojen peroksit bir radikal değildir ve biyolojik moleküllerin çoğuyla tepkimeye girmez; ancak demir ve bakır iyonlarının katalizör etkisiyle en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali (OH^-) oluşumunda (Fenton reaksiyonu) bir ön madde olarak rol oynamaktadır.¹⁹⁰⁻¹⁹²

2.6.9.1.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon, redoks döngüsü, hücre içi hidroperoksitlerin indirgenmesi sürecinde rol

oynamaktadır. GPx, dört adet selenyum bağladığı için seleno-sistein bileşiği sınıfına girer ve katalitik aktivitesini bu özelliği sağlar. Ko-substrat olarak glutatyona ihtiyaç duymaktadır. GPx, glutatyonu oksitleyerek H_2O_2 'yi H_2O 'ya indirger. Glutatyonun okside formunun tekrar glutatyona indirgenmesi ise glutatyon redüktaz (GR) tarafından sağlanır. SOD maksimum etkinlik için bakır, çinko ve manganez; GPx, selenyum ve katalaz ise demir gibi geçiş metallerinin kofaktörlüğüne gereksinim duyar.¹⁹³

Eritrosit ve diğer hücrelerde Gpx, hidrojen peroksit ve lipid hidroperoksitlerin olumsuz etkilerinin önlenmesinde, indirgenmiş glutatyonun yükseltgenmesini sağlayarak hücre zarı lipidlerini ve hemoglobini, oksijen radikallerinin oksidatif hasarına karşı korur. Glutatyon (GSH), peroksit ve serbest radikallerle tepkimeye girerek hasar vermelerini engeller ayrıca Glutatyon peroksidaz tarafından substrat olarak kullanılan hidrojen peroksit suya dönüştürülerek inaktif hale getirilir.¹⁹⁴

2.6.9.1.1.4. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz, yükseltgenmiş glutatyonu (GSSG) indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüştürür. Glutatyon redüktaz, bir flavin enzimi olup koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD'dir. Sitoplazma ve mitokondride bulunduğu tespit edilmiştir. Elektron kaynağı olarak NADPH'yi kullanan glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyon ile indirgenmiş glutatyon tekrar oluşur.^{195,196}

2.6.9.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.6.9.1.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutatyon (GSH), hücrelerde milimolar aralıkta meydana gelen en belirgin düşük molekül ağırlıklı tiyol olduğu için insan vücudu antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol oynar. Glutatyon, glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptittir ve iki karakteristik yapısal özelliğe sahiptir: bir g-glutamil bağlantısı ve bir sülfidril grubu. Bir nükleofil olarak glutatyon, endojen ve eksojen elektrofilik bileşiklerle reaksiyona girer, bu detoksifikasyon reaksiyonlarının çoğuna glutatyon S-transferaz aracılık eder.¹⁹⁷

Glutatyon eksikliği birçok dokuda mitokondriyel dejenerasyon ile ilişkili olarak hücre

hasarlanmaları meydana getirir. Normal bir hücrede, spesifik olarak hücresel bölümlere yerleşmiş olan oksidan ve antioksidan sistemlerdeki dengeli ilişkide meydana gelen herhangi bir bozukluk, birçok patofizyolojik durumu (nörodejeneratif hastalık, yaşlanma, kanser, immün sistem bozuklukları gibi) beraberinde getirmektedir. Glutasyon veya Glutasyon öncülleri sayesinde glutasyon eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkların önlenildiği veya geriye çevrilebildiği birçok çalışmada gösterilmiştir, bununla birlikte oksidatif hasara bağlı olarak hücre zarının yapısındaki lipidlerin peroksidasyonunu engellemek amacı ile vitamin E kullanımı da fayda sağlayabilmektedir; fakat in vitro deneylerde yüksek doz vitamin E kullanımında vitamin E'nin oksidan gibi davrandığı görülmüş olup, vitamin kullanımında dozun önemi anlaşılmaktadır.¹⁹⁸

2.6.10. Apoptozis Mekanizmaları

2.6.10.1. Kaspazlar

Apoptoziste çok önemli rol oynayan kaspazlar sistein-aspartik-proteazlardır. Bunlar iki gruba ayrılır: Başlatıcı (initiator) kaspazlar (2, 8, 9 ve 10) ve apoptozisin yıkım aşamasında rol oynayan cellat (executioner) kaspazlar (3, 6 ve 7). Birçok kanser tedavisi, kanser hücrelerini apoptozise yönlendirmek için bu kaspazlar üzerinden etki ederler. Daha yeni tedavi yöntemleri ise, gen terapisi yaklaşımlarını ve hücrede zaten mevcut olan kaspazların doğal inhibitörlerini baskılayan küçük molekülleri kullanarak kaspazların ayrı ayrı spesifik olarak aktive edilmesini kapsar.¹⁹⁹

Endonükleaz aktivasyonu, DNA fragmentasyonu, nükleer proteinlerin imhası, fagositik hücreler için ligand ekspresyonu ve apoptotik cisimlerin oluşumu cellat kaspazlar olan kaspaz 3, 6 ve 7 aktivasyonu ile gerçekleşir.²⁰⁰

İnsanlarda 15 farklı kaspaz keşfedilmiştir. Kaspazlar, prokaspaz olarak sentezlenir ve belirli kısımları kesilerek aktif kaspaz şeklini alırlar. Apoptotik yolda, bir protein tarafından uyarılan Kaspaz-9, etkili kaspaz olan Kaspaz-3 ün bazı bölümlerini keserek aktifleşmesini sağlar. Aktif Kaspaz-3, sitoplazmadaki ICAD (Inhibitor of caspase- activated deoxyribonuclease)'ı inaktifleştirerek normal haldeyken bağlı olduğu CAD (caspase- activated deoxyribonuclease)'dan ayırır. Serbest kalan CAD nükleusa girerek kromatin yoğunlaşması ve DNA kırıklarının oluşmasına böylece hücrenin apoptoza gitmesine neden olur.²⁰¹

Kaspaz-3 tespit yöntemiyle apoptotik hücrelerde görülen aktif Kaspaz-3

immunohistokimyasal yöntem ile belirlenir. Fakat bunun tespit edilebilmesi için dokuda apoptozise yol açan etkenin Kaspaz 3'ü aktive ettiğinden emin olunması gerekir. Bu sayede apoptotik hücreler bu metotla tespit edilebilirler.^{202,203,204}

Bölünmüş kaspaz-3'ün (17-20 kDa) son kısmındaki neoepitop peptidine yönelik poliklonal afinite ile saflaştırılmış bir tavşan antikoru, hücre sinyal teknolojileri sayesinde elde edilmiştir. Bu antikor, fare, sıçan ve insan kaspaz 3'teki bu neoepitop ile reaksiyona girer. Kaspaz aktivasyonunun (prokaspazın aktif kaspaza bölünmesi) hemen hemen tüm apoptotik sistemlerin ayırt edici bir özelliği olduğu açıktır.²⁰⁵ Parçalanmış kaspaz 3'ün neoepitopunun, klinik ve deneysel çalışmalarda kullanılan bu antikor ile olan çapraz reaksiyonu keşfedilen bu antikor başlıca memeli türlerinde çok faydalı kılmaktadır.²⁰⁶

Apoptozisi uyaran ve inhibe eden genler Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Apoptozis ve genler²⁰⁷

Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
• Bcl-2 grubundan; BHRL-1, bcl-xl, bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1 • c-abl geni • ras onkogeni • çözünebilir fas • p35 • A20	• Bcl-2 grubundan; Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, bid, bik, Hrk1 • c-myc • p53, p21 • fas (CD95/APO1) • FADD/MORT, RIP, FAST • interlökin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (İCE) • LOH (MTS1/CDK41)

2.7. Propolis

Arılar çiçeklerin koruyucu reçinelerini toplamakta, ağızda nemlendirerek yumuşatmakta ve bu sırada bazı enzimler sayesinde pelet haline getirip ve peleti ön bacaklarını kullanarak arka bacaklarındaki polen sepetine aktarmaktadırlar. Propolis bu şekilde üreilmeye başlanır.^{29,208}

Propolis Yunanlılar tarafından keşfedilmiştir. Yunanca'da pro ("ön") ve polis ("şehir") anlamına gelen kelimelerden oluşur. Arıcılar, arıların kovan girişini bu madde ile kapladıklarını keşfetmiş ve bu maddeye "şehirden önce" anlamına gelen "propolis" adını vermişlerdir.^{208,209}

Propolisin 1960 yıllarında bilim adamları tarafından keşfedilmiş ve son 50 yılda propolisin kimyasal yapısı, biyolojik etkinliği, farmakolojik ve tedavi edici aktivitesi üzerine yayınlar yapılmıştır. Bu konudaki ilk çalışmalar Ghisalberti tarafından 1979 yılında yapılmıştır.

Bu çalışmalardan 20 yıl sonra propolisin biyolojik etkinliği ve kimyasal özelliklerine ait önemli bilgiler edinilmiştir.

Propolis içeriği bitki çeşitliliğine ve toplandığı zaman dilimine göre değişiklik göstermektedir. İçerisinde yaklaşık 180 adet birbirinden farklı bileşik saptanmıştır. Propolisin kimyasal yapısı bal arılarının uğradığı bitkilerin geniş çeşitlilikte olmasına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Ayrıca balmumu içeriğindeki farklılık da saf propolisin kimyasal yapısını etkilemektedir.²¹⁰

Kavak, kestane, dişbudak, huş ve bazı erik türleri ile söğüt bilinen başlıca propolis kaynağı olan bitkilerdendir. Bunlar gibi yaklaşık 67 türde bitkiden toplanan özütlerin propolis kaynağı olabileceği belirlenmiştir. Arıların propolis kaynağı olan bitki türleri bölgelere göre farklılık gösterebilmektedir.

Farklı bölgelerden elde edilen propolis örneklerinin biyolojik etkinlikleri ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve farklı biyolojik aktiviteler belirlenmiştir. Örneğin, Brezilya propolisi, antibakteriyel, sitostatik, serbest radikal koruyucu aktivite gösterirken, Bulgar propolisi ön planda bakterisidal, anti fungal ve antiparaziter etkinlik göstermektedir. Türk propolisinin ise antibakteriyel, antifungal, antineoplastik, antioksidan biyolojik aktiviteleri olduğu belirlenmiştir.²¹¹

Propolis reçinenin kaynağıyla ilişkili olarak açık sarı, koyu kahverengi gibi farklı renklerde olabilir. 25-45 °C arasında yumuşak, esnek ve yapışkan haldedir. 15°C'den daha düşük sıcaklıklarda kısmen donmuş durumda olup, sert ve kırılgan bir yapıdadır. 45 °C'nin üzerinde yapışkanlığı artar, 60-70 °C'de sıvı hale gelir. Fakat bazı propolis türlerinin erime sıcaklığı 100 °C'ye ulaşabilmektedir.²⁹

Propolis, %45-55 flavonid, %25-35 mum ve yağ asitleri, %10 esansiyel yağ, %5 polen ve %5 mineral içerir. 300'den fazla birbirinden farklı madde içermesine rağmen, biyolojik aktivite açısından yaklaşık 180 bileşik tanımlanmıştır. İçeriği sıvı ve gaz kromatografisi sayesinde analiz edilmektedir. HPLC ve kütle spektrofotometresi tandemli sıvı komatografisinde propolisin içeriği tespit edilerek, propolis örneklerinin elde edildiği bölgelerdeki bitki örtüsü varyasyonları araştırılır ve hangi bitki örtüsünden toplanan propolisin daha zengin içerikli olduğu belirlenebilir. Suda ve organik çözücülerde çözünmeyen kısmın içeriği bu yöntemlerle tespit edilemez. Sıklıkla etanolde çözelti haline getirilmektedir ve bu şekilde oluşturulan ekstrenin de kuru ağırlığının büyük bir bölümünü fenolik bileşikler ve onların esterleri oluşturur.²¹²

Biyolojik açıdan asıl aktivite gösteren bileşikler flavonoidler ve fenolik asitlerdir.

Benzoik asit ve türevleri (m-hidroksibenzoik asit, p-hidroksibenzoik asit, gallik asit, vanilik asit, izovanilik asit, siringik asit), Sinamik asit ve türevleri (0-kumarik asit, p-kumarik asit, kafeik asit, ferullik asit, izoferullik asit, sinapik asit) en çok bulunan fenolik asitlerdir. Flavonoller ve glikozitlerden kuersetin, galangin, metil kuersetin, mirisetin, kuersetin glikozit, kaempferol ve türevlerini yüksek oranda içerir. Flavononlar grubundan ise naringenin, naringin, hesperidin, pinosembirin, soforaflavanone G ve türevleri propolis içeriğinde bulunan aktif maddelerdir. Kamferol ve kuersetin en fazla bulunan flavonoidlerdir.^{213,214} (Tablo 5)

Propoliste bulunan başlıca lipit yapılı bileşikler: Palmitik asit ve stearik asit, steroller ve uzun zincirli alkollerdir. İçeriğindeki aminoasitler ise toplam azot içeriğinin %0,7'sini oluşturur. Sodyum, Potasyum, Magnezyum, Kalsiyum, Baryum, Bor, Stronsiyum, Çinko, Kadmiyum, Alüminyum, Silisyum, Selenyum, Demir, Nikel, Krom, Mangan, Titanyum, Gümüş, Kobalt, Vanadyum içerdiği elementler olarak tespit edilmiştir. Toplandığı bölgelere göre farklılık göstermekle beraber Provitamin A (karoten), niasin, pantotenik asit, C vitamini, E vitamini ve B grubu vitaminleri açısından zengin bir içeriğe sahiptir. Yapılan içerik analizlerinde 2 farklı propolis alt grubu belirlenmiştir: Brezilya tipi (Baccharis-type) ve Avrupa tipi (poplar-type). Türkiye'nin de içinde bulunduğu Avrupa tipi, flavonoid içeriği bakımından zengindir.²¹⁵

Propolisin yapısındaki fenoller serbest radikal hasarını önleme, metal şelasyonu ve enzimatik aktivite düzenlenmesi gibi farklı yollardan güçlü antioksidan etki göstermektedir. Kafeik asit ve kafeik asit türevleri, ferulik asit, kafeik asit fenil ester (CAPE) gibi hidrosinnamik asitler, protokateşik asit ve gallik asit gibi hidrobenzoik asitler, emülsiyon ve lipit sistemi üzerinde güçlü antioksidan etkiye sahiptir. Flavonoid bileşikleri içerisinde bulunan kuersetin en etkin radikal temizleme özelliğine sahip bileşendir ve kuersetin ayrıca antiinflamatuvar etkisi en yüksek bulunan fenolik bileşiktir. Luteolinin antioksidan aktivitesi, reaktif oksijen ve nitrojen hasarını önleme, geçiş metallerini şelatlama, prooksidan enzimleri inhibe etme ve antioksidan enzimleri indüklemeye kapasitesi ile bağlantılı olmaktadır.²¹⁶

Tablo 5. Propolis içeriğinde belirlenen bileşikler²¹⁷

Tanımlanan Bileşikler	Bileşik Sayısı (ad)	Tanımlanan Bileşikler	Bileşik Sayısı (ad)
Flavanoidler	38	Alkoller, Ketonlar, Fenoller	8
Hidroksiflavonlar	27	Heteroaromatik Bileşikler	12
Hidroksiflavononlar	11	Terpen ve Sekuterpen ve Türevler	7
Aminoasitler	24	Alifatik Hidrokarbonlar	6
Benzoik Asit ve Türevleri	12	Sekuterpen ve Triterpen Hidrokarbonlar	11
Asitler	8	Steroller ve Steroid Hidrokarbonlar	6
Esterler	4	Mineraller	22
Benzaldehit Türevleri	2	Şeker	7

İçeriğindeki kafeik asit fenil ester ROS üretimini inhibe eder, H₂O₂ ve NO'nun hücresel düzeyde miktarını azaltıp, lipid peroksidasyonuna karşı hücre zarını korur. Bu şekilde güçlü antioksidan etki gösterir. Propolisin içeriğindeki flavonoidler bu yollar aracılığıyla serbest radikalleri temizleyip oksidatif stresin azalmasını sağlarlar.²¹⁸

Propolis bazı mediyatörlerin salınımı engelleyip, trombosit agregasyonu ve eikazonoidlerin sentezini (prostaglandin ve lökotrienler) inhibe eder ve inflamasyonun şiddetini azaltmaya yardımcı olur. Galangin ve kuersetin propolis içeriğinde bulunan, inflamasyonu önlemede en aktif flavonoidlerdir. Bu flavonoidler, uyarılmış COX-2 izoformu ekspresyonunu ve PGE-2 seviyelerini düşürerek siklooksijenaz ve lipooksijenaz etkinliğini

inhibe etmektedir. Kuersetinin IL-10 ve TGF- β 'nın (regülatör T hücreleri) mRNA düzeylerini arttırdığı; IL-17A, IL-21 ve IL-23'ün (Th17 hücreleri ile ilişkili sitokinlerin) mRNA ekspresyonlarını belirgin bir şekilde azalttığı belirlenmiştir. NLRP3'ün protein ekspresyonu inflamasyonun artmasına sebep olur. NLRP3, Caspase-1 ve IL-1 β ekspresyonunu belirgin şekilde arttırarak inflamasyonu derinleştirmektedir. Kuersetin bu artışı engelleyerek inflamasyonu azaltmaktadır. Ayrıca inflamasyon önlemede hemoksijenaz-1 (HO-1) enziminin rolü mevcuttur ve kuersetin HO-1 miktarını arttırır.

CD4⁺ T hücreleri timustan salındıktan sonra regülatör T hücreleri olarak adlandırılan Foxp3 + düzenleyici T hücreleri (Treg hücreleri) gibi farklı hücelere dönüşürler. Bu hücreler inflamasyonu önlemede görev alırlar. Efektör ve regülatör T hücreleri arasında bir denge mevcuttur. Özellikle kronik inflamatuvar süreçlerde bu denge bozulur. Kuersetin bozulmuş Th17 / T regülatör dengesini eski haline getirir ve inflamasyonu önler. Bunu T regülatör hücreleri ile ilişkili sitokinlerin seviyelerini artırarak ve efektör T hücreleri ile ilişkili sitokinlerin protein ve mRNA seviyelerinin down-regülasyonu ile yapar. İnflamasyonu arttıran TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve PGE2 miktarlarını belirgin bir şekilde düşürür. Propolisin önemli flavonoidlerinden biri olan kuersetin özellikle kronik inflamasyonlarda çok etkilidir.²¹⁹

Kafeik asit, COX-1 ve COX-2'nin enzimatik aktivitesini inhibe ederek ve arasıdonik asit sentezini baskılayarak propolisin antiinflamatuvar aktivite göstermesinde etkilidir. Ayrıca kafeik asit, COX-2 gen ekspresyonu, myeloperoksidaz, ornitin dekarboksilaz, lipoksijenaz ve tirozin kinazın enzimatik aktivitesini inhibe eder. Kafeik asit, T hücre aktivasyonunu ve spesifik olmayan bir yol olan iyon kanalları inhibisyonuyla, IL-2 gibi sitokinlerin salınımını inhibe ederek immünsüpresif etki eder. Türkiye ve iklimsel olarak ılıman bölgelerde elde edilen propolis örneklerinde özellikle bolca bulunan kafeik asit fenil ester, lenfokin üretimi ve T hücre proliferasyonu ile sitokin ve kemokin üretiminin inhibisyonunda rol alarak inflamasyonu azaltır. Kafeik asit fenil ester'in, NF-kB yollağını bloke ederek inflamasyonu engellediği söylenebilir.²²⁰⁻²²¹

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden (SABİDAM), etik kurul izni alınarak yapılmıştır. TTU-2022-14631 protokol numaralı projemiz Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 20.01.2022 tarihli 1 numaralı kararı ile onaylandı.

Deneylerde Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden (SABİDAM) sağlanan, ortalama ağırlıkları 200-260 gram olan 30 adet Wistar Albino türü dişi rat kullanıldı. Deney süresince 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ışık düzeni ayarlandı. Ratlar ayrı ayrı kafeslere yerleştirildi. Yaklaşık 22 °C oda sıcaklığında barındırılan ratlar, araştırma süresince musluk suyu ve standart pellet yem ile beslendiler.

Kolit Oluşturulması: Deneysel kolit oluşturmak için %4'lük asetik asit çözeltisi kullanıldı. 6 F poliüretan kateter rektal yoldan içeri yaklaşık 6-8 cm itilerek 1 cc asetik asit çözeltisi verildi. Daha sonra ratlar Trendelenburg pozisyonunda 30 saniye tutularak verilen maddenin geri kaçıışı engellenmeye çalışıldı. Sonrasında her rat kendi kafesine yerleştirildi.

3.1. Gruplar

Ratlar 5 deney grubuna ayrıldı. (Tablo 6)

Grup 1 (Kontrol grubu) (n=6): Bu gruptaki ratlara herhangi bir uygulama yapılmadı. Deneye başladıktan 120 saat sonra ratlar sakrifiye edildi.

Grup 2 (Asetik asit grubu) (n=6): Deney başlangıcında (0. Saat) intrarektal (IR) 1 cc %4 asetik asit, supine pozisyonunda 6F poliüretan kateter ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. 120. Saatte ratlar sakrifiye edildi.

Grup 3 (Asetik asit + Propolis grubu) (n=6): Deney başlangıcında (0. Saat) İntrarektal 1 cc %4 asetik asit, supine pozisyonunda 6F poliüretan kateter ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Bu işlemten 4 saat, 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonra birer defa rektal yolla, 6F kateterle anal kanaldan 6-8 cm proksimale zeytinyağında çözülerek hazırlanmış olan %5 propolis çözeltisinden 1 cc verildi. (250mg/kg) 120. Saatte ratlar sakrifiye edildi.

Grup 4 (Propolis grubu) (n=6): Deney başlangıcında herhangi bir işlem yapılmadı. 4.

saatte, 24. 48. ve 72. saatlerde zeytinyağında çözdürülerek hazırlanmış olan propolis çözeltisinden 1 cc intrarektal olarak anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. (250mg/kg) 120. saatte ratlar sakrifiye edildi. Bu grup, propolisin kolon mukozasına olası etkilerini araştırmak için planlanmıştır.

Grup 5 (Asetik asit + Zeytinyağı grubu) (n=6): Deney başlangıcında (0. Saat) intrarektal 1 cc %4 asetik asit, supine pozisyonunda 6F poliüretan kateter ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Bu işlemten 4 saat, 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonra birer defa rektal yolla, 6F kateterle anal kanaldan 6-8 cm proksimale 1 cc sızma zeytinyağı verildi. 120. saatte ratlar sakrifiye edildi.

Tablo 6. Gruplar

GRUPLAR	PROTOKOL					
Grup 1 (n=6)	-	-	-	-	-	Sakrifiye
Grup 2 (n=6)	Asetik asit	-	-	-	-	Sakrifiye
Grup 3 (n=6)	Asetik asit	Propolis	Propolis	Propolis	Propolis	Sakrifiye
Grup 4 (n=6)	-	Propolis	Propolis	Propolis	Propolis	Sakrifiye
Grup 5 (n=6)	Asetik asit	Zeytinyağı	Zeytinyağı	Zeytinyağı	Zeytinyağı	Sakrifiye
Saatler	0	4	24	48	72	120

Deneye başlamadan önce tüm ratlar tartıldı, ağırlıkları kaydedildi ve tek tek ayrı kafeslere konuldu.

Kontrol grubundaki ratlar 0. saatte ağırlıkları tartılıp kafeslere konduktan sonra herhangi bir işlem yapılmadı. Standart pellet yem ve çeşme suyuyla beslendiler. 120. saatte ratlar tekrar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Ratlarda, 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (XYLAZIN BIO®, % 2, Bioveta PLC Ivanovice na Hane-Çek Cumhuriyeti) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol®, Richter Pharma AG, Wels-Avusturya) intraperitoneal enjekte edilerek sedasyon sağlandı. Ratlardan 2 cc intrakardiyak olarak kan alındı. Daha sonra Y insizyon ile laparotomi yapıldı. Kan EDTA'lı tüplere konuldu. Sol kolon ve rektum çıkarıldı. Ardından servikal dislokasyon yöntemiyle ratlar sakrifiye edildi. Çıkarılan rektum ve sol kolon materyalinin içerisinden alınan gaita örneğinin kıvamına bakıldı. Çıkarılan rektum ve sol kolon +4 derece SF ile yıkandıktan sonra yarısı steril idrar kabına formaldehit solüsyon içerisinde tespit edildi. Patoloji anabilim dalına transfer

edildi. Rektumun ve sol kolonun diğ er yarı ı, eppendorf t p içerisine konulup sıvı azot solüsyonu içeren su termostatlarının içerisinde Biyokimya anabilim dalı merkez laboratuvarına ta ındı. Eppendorf t p içerisindeki materyal -80 santigrat derece dondurucuya konuldu.

Asetik asit grubunda 0. Saatte ağırlıkları tartılıp kaydedildikten sonra rektal yolla 1 cc % 4 asetik asit, supine pozisyonda 6 F poliüretan kateter yardımı ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Yaklaşık 30 saniye Trendelenburg pozisyonunda bekletildikten sonra ratlar isimlendirilmiş kafeslerine ayrı ayrı konuldu. 120. Saat sonunda ratlar tekrar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Ratlarda, 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (XYLAZIN BIO  , % 2, Bioveta PLC Ivanovice na Hane- ek Cumhuriyeti) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol  , Richter Pharma AG, Wels-Avusturya) intraperitoneal enjekte edilerek sedasyon sağlandı. Ratlardan 2 cc intrakardiyak olarak kan alındı. Daha sonra Y insizyon ile laparotomi yapıldı. Kan EDTA'lı tüplere konuldu. Sol kolon ve rektum çıkarıldı. Çıkarılan rektum ve sol kolon materyalinin içerisinden alınan gaita örneğinin kıvamına bakıldı. Çıkarılan rektum ve sol kolon +4 derece SF ile yıkandıktan sonra yarı ı steril idrar kabına formaldehit solüsyon içerisinde tespit edildi. Rektumun ve sol kolonun diğ er yarı ı, eppendorf t p içerisine konulup sıvı azot solüsyonu içeren su termostatlarının içerisinde ta ındı. Eppendorf t p içerisindeki materyal -80 santigrat derece dondurucuya konuldu.

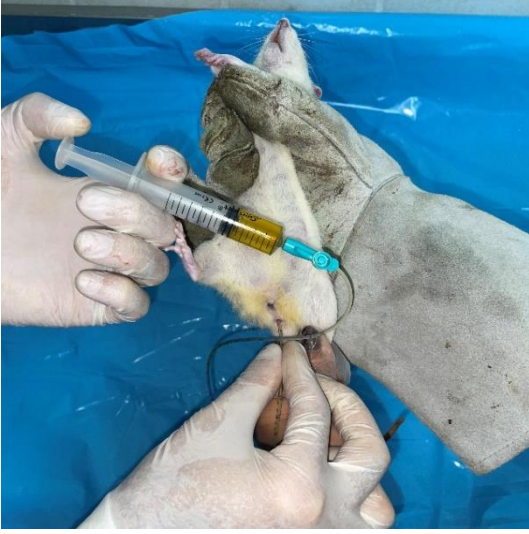
Asetik asit + Propolis grubuna 0. saatte 1 cc % 4 asetik asit, supine pozisyonda 6 french poliüretan kateter yardımı ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Yaklaşık 30 sn Trendelenburg pozisyonunda bekletildikten sonra ratlar isimlendirilmiş kafeslerine konuldular.  e me suyu ve standart pellet yem ile beslenen ratlara, 4. saatte 1 ml propolis (zeytinyağı içinde   zd r lm  ), supine pozisyonda 6 french poliüretan kateter yardımı ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Yaklaşık 30 sn Trendelenburg pozisyonunda bekletildikten sonra ratlar isimlendirilmiş kafeslerine konularak standart pellet yem ve  e me suyu ile beslenmeye devam edildi. 24, 48 ve 72. Saatte aynı yöntemle 1 ml daha propolis verildi. 120. saatte ratlar tekrar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Ratlarda, 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (XYLAZIN BIO  , % 2, Bioveta PLC Ivanovice na Hane- ek Cumhuriyeti) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol  , Richter Pharma AG, Wels-Avusturya) intraperitoneal enjekte edilerek sedasyon sağlandı. Ratlardan 2 cc intrakardiyak olarak kan alındı. Daha sonra Y insizyon ile laparotomi yapıldı. Kan EDTA'lı tüplere konuldu. Sol kolon ve rektum çıkarıldı. Çıkarılan rektum ve sol kolon materyalinin içerisinden alınan gaita örneğinin kıvamına bakıldı. Çıkarılan rektum ve sol kolon +4 derece SF ile yıkandıktan sonra yarı ı steril idrar kabına formaldehit solüsyon içerisinde tespit edildi. Rektumun ve sol kolonun diğ er yarı ı, eppendorf t p içerisine konulup sıvı azot solüsyonu

içeren su termostatlarının içerisinde taşındı. Eppendorf tüp içerisindeki materyal -80 santigrat derece dondurucuya konuldu.

Propolis grubundaki ratlar 0. saatte ağırlıkları tartılıp kafeslere konduktan sonra herhangi bir işlem yapılmadı. Standart pellet yem ve çeşme suyuyla beslendiler. 4, 24 48 ve 72. saatte 1 ml propolis (zeytinyağı içinde çözündürülmüş), supine pozisyonda 6 french poliüretan kateter yardımı ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Yaklaşık 30 sn Trendelenburg pozisyonunda bekletildikten sonra ratlar isimlendirilmiş kafeslerine konularak standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenmeye devam edildi. 120. saatte ratlar tekrar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Ratlarda, 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (XYLAZIN BIO ®, % 2, Bioveta PLC Ivanovice na Hane-Çek Cumhuriyeti) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol ®, Richter Pharma AG, Wels-Avusturya) intraperitoneal enjekte edilerek sedasyon sağlandı. Ratlardan 2 cc intrakardiyak olarak kan alındı. Daha sonra Y insizyon ile laparotomi yapıldı. Kan EDTA'lı tüplere konuldu. Sol kolon ve rektum çıkarıldı. Ardından servikal dislokasyon yöntemiyle ratlar sakrifiye edildi. Çıkarılan rektum ve sol kolon materyalinin içerisinden alınan gaita örneğinin kıvamına bakıldı. Çıkarılan rektum ve sol kolon +4 derece SF ile yıkandıktan sonra yarısı steril idrar kabına formaldehit solüsyon içerisinde tespit edildi. Patoloji anabilim dalına transfer edildi. Rektumun ve sol kolonun diğer yarısı, eppendorf tüp içerisine konulup sıvı azot solüsyonu içeren su termostatlarının içerisinde Biyokimya anabilim dalı merkez laboratuvarına taşındı. Eppendorf tüp içerisindeki materyal -80 santigrat derece dondurucuya konuldu.

Asetik asit + Zeytinyağı Grubuna 0. gün 1 cc % 4 asetik asit, supine pozisyonda 6 french poliüretan kateter yardımı ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Yaklaşık 30 sn Trendelenburg pozisyonunda bekletildikten sonra ratlar isimlendirilmiş kafeslerine konuldular. Çeşme suyu ve standart pellet yem ile beslenen ratlara, 4. saatte 1 ml sızma zeytinyağı, supine pozisyonda 6 french poliüretan kateter yardımı ile anal kanaldan 6-8 cm proksimale verildi. Yaklaşık 30 sn Trendelenburg pozisyonunda bekletildikten sonra ratlar isimlendirilmiş kafeslerine konularak standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenmeye devam edildi. 24, 48, 72. saatte tekrar aynı yöntemle 1 ml daha sızma zeytinyağı verildi. 120. saatte ratlar tekrar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Ratlarda, 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (XYLAZIN BIO ®, % 2, Bioveta PLC Ivanovice na Hane-Çek Cumhuriyeti) ve 90 mg/kg ketamin (Ketasol ®, Richter Pharma AG, Wels-Avusturya) intraperitoneal enjekte edilerek sedasyon sağlandı. Ratlardan 2 cc intrakardiyak olarak kan alındı. Daha sonra Y insizyon ile laparotomi yapıldı. Kan EDTA'lı

tüplere konuldu. Sol kolon ve rektum çıkarıldı. (Şekil 17-23) Çıkarılan rektum ve sol kolon materyalinin içerisinden alınan gaita örneğinin kıvamına bakıldı. Çıkarılan rektum ve sol kolon +4 derece SF ile yıkandıktan sonra yarısı steril idrar kabına formaldehit solüsyon içerisinde tespit edildi. Rektumun ve sol kolonun diğer yarısı, eppendorf tüp içerisine konulup sıvı azot solüsyonu içeren su termostatlarının içerisinde taşındı. Eppendorf tüp içerisindeki materyal -80 santigrat derece dondurucuya konuldu.



Şekil 17. Rektal yoldan uygulama



Şekil 18. İP Anestezi uygulanması



Şekil 19. Ameliyat pozisyonu



Şekil 20. İntrakardiyak kan alınması



Şekil 21. Laparotomi yapılması



Şekil 22. Kolon ve rektumun izolasyonu



Şekil 23. Kolon ve rektumun çıkarılması

3.2. Propolisin Hazırlanışı

Karadeniz Bölgesi'nde üretilen saf olarak temin edilip toz haline getirilmiş propolis örneğinden 10 gram alınarak 200 mililitre zeytinyağı içerisinde Krell tarafından tarif edildiği gibi çözelti hazırlandı. Cam kavanoza zeytinyağı ve toz halinde saf propolis eklendi ve sıcak su banyosunda yaklaşık 10 dakika boyunca 50 santigrat dereceden fazla olmamak üzere hafifçe ısıtılıp, sürekli karıştırılarak hazırlanan çözelti filtrelendikten sonra amber renkli cam şişelere alınarak buzdolabında +4 derecede muhafaza edildi.²⁹

Grup 3 ve grup 4'teki ratlara anestezi kullanmadan önce rektal olarak 250mg/kg/gün olacak şekilde, 4. 24. 48. ve 72. saatte propolis çözeltisi verildi.

3.3. Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Makroskopik, mikroskopik ve immünohistokimyasal inceleme Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. %10 formaldehit solüsyonunda fiks edilen kolona ait doku örnekleri makroskopik olarak değerlendirildi. (Şekil 24)

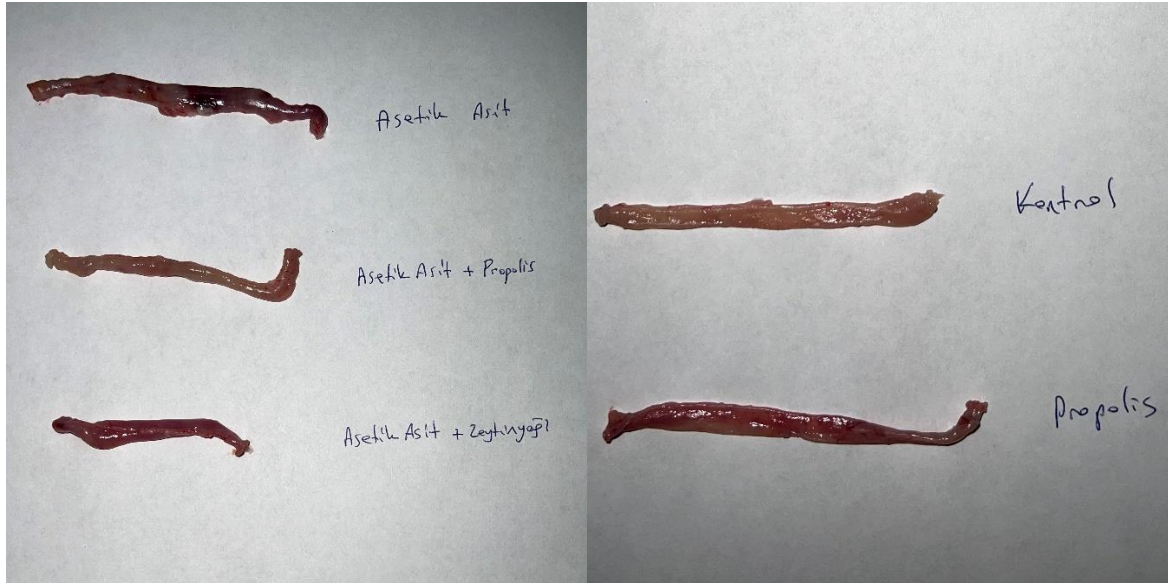
Makroskopik değerlendirme sonrasında çıkarılan kolon dokusu 0,5 cm'lik parçalara bölündü. (Şekil 25-26) Laboratuvar takiplerinden sonra parafine gömüldü ve 5 mikronluk kesitler hazırlanarak boyama cihazı (Leica ST1050, Wetzlar, Almanya) aracılığıyla Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Olympus CX41 ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

Makroskopik ve histolojik inceleme, hangi örneğin hangi gruba ait olduğunu bilmeyen uzman bir patolog tarafından yapıldı. Fotoğraflama için ise mikroskop ile uyumlu fotoğraf makinesi (ToupTek XP 1080 HD) kullanıldı.

Kolonik hasar skorlaması, Wallace ve ark.'ın fare kolonu kronik inflamasyon ve ülserasyon modeli için oluşturdukları skorlamaya göre yapıldı. (Tablo 7)

Tablo 7. Makroskopik skarlama kriterleri²²²

SKOR	KRİTER
0	Hasar yok
1	Hiperemi var, ülser yok.
2	Hiperemi ve kolon duvar kalınlaşması var, ülser yok
3	Kolon duvar kalınlaşması olmadan tek ülser var
4	İki ya da daha fazla bölgede ülserasyon ve inflamasyon alanı
5	İki ya da daha fazla majör ülserasyon ve inflamasyon alanı veya bir alanda 1 cm'den daha uzun kolon segmentini tutan ülserasyon veya inflamasyon alanı
6-10	Ülser ve inflamasyon bölgesinin 2 cm'den daha uzun kolon segmentini tutması (her 1 cm'lik hasar için skor 1 birim artmaktadır)



Şekil 24. Çıkarılan kolon örneklerinin makroskopik görünümü



Şekil 25. Dokudan kesitlerin alınması

Şekil 26. Hazırlanmış patoloji blokları

3.3.1. Mikroskopik Değerlendirme

Mikroskopik değerlendirme skoru Gaudio ve ark.'ın sıçan modelinde kolit skorlama yöntemine göre yapıldı.

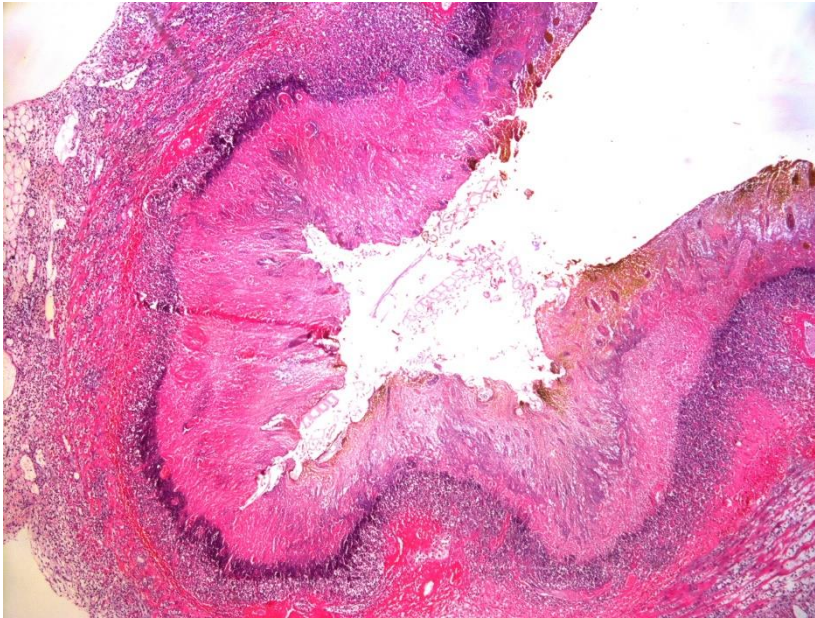
Tablo 8. Mikroskopik skorlama kriterleri²²³

KRİTER	0	1	2	3
Epitel ve Gland Hasarı	Normal	Fokal Hasar	Bölgesel Hasar	Diffüz Hasar
Glandüler Kript Dilatasyonu	Normal	Fokal Dilatasyon	Bölgesel Dilatasyon	Diffüz Dilate Kriptler
Goblet Hücre Kaybı	Normal	Kısmi kayıp	Bölgesel kayıp	Diffüz veya tamamen kayıp
İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	Yok	Subepitelyal ve lamina propria seviyesine kadar	Muskularis mukozaya uzanım	Submukoza ve muskularis propriayı etkileyen ciddi infiltrasyon
Ödem	Yok	Fokal	Bölgesel	Yaygın ve ciddi
Vasküler Konjesyon	Yok	Fokal	Bölgesel	Diffüz
Kript Apsesi	Yok	Fokal	Bölgesel	Diffüz
Atrofi	Yok	Fokal	Bölgesel	Diffüz

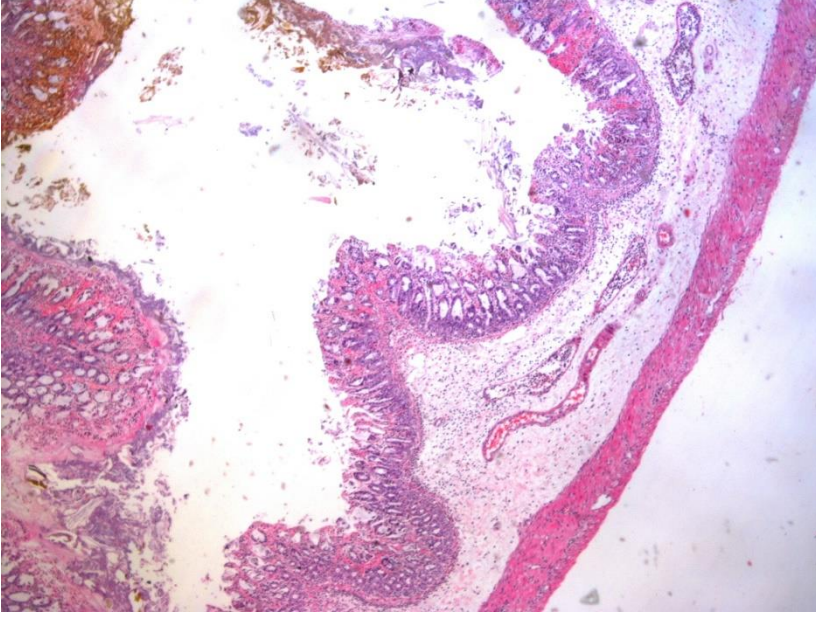
Örneklerin mikroskop görüntüsü Şekil 27-28-29-30-31’te verilmiştir.



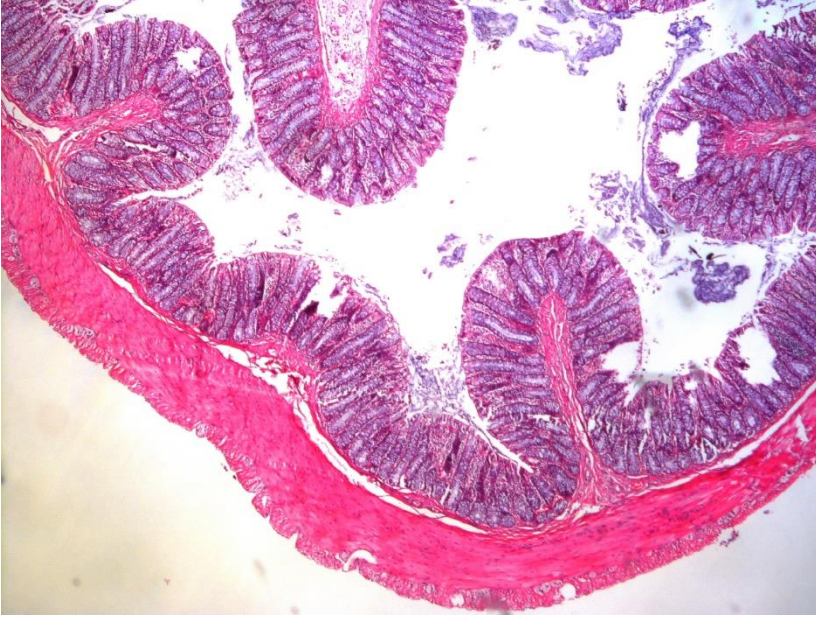
Şekil 27. Kontrol grubu mikroskop görüntüsü [Kontrol grubu rat kolon histolojik görüntüsü. Kolon mukozasında normal görünüm izlenmektedir. (40X büyütme, H&E boyama)]



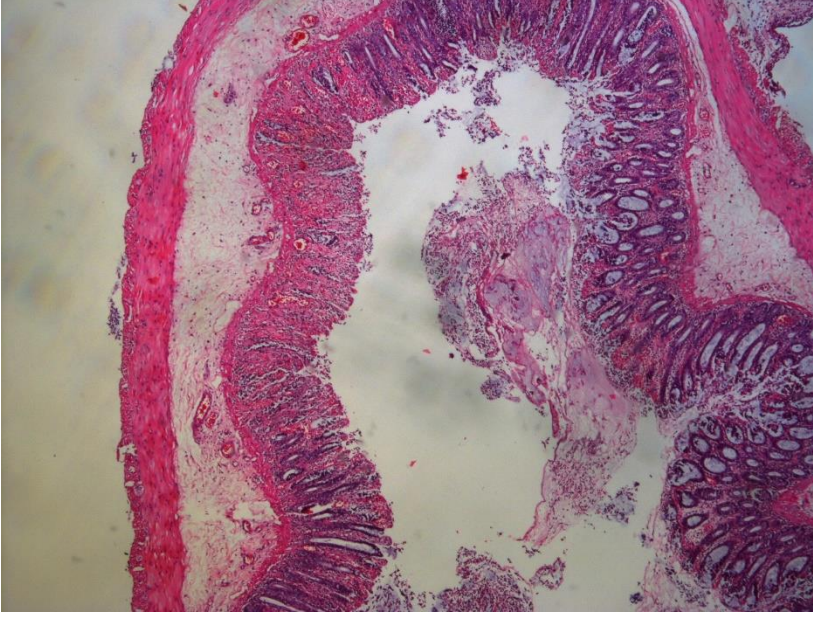
Şekil 28. Asetik asit grubu mikroskop görüntüsü [Asetik asit grubu rat kolon histolojik görüntüsü. Bağırsak dokusunda ülserasyon, epitelde nekroz, akut ve kronik inflamatuvar hücreler, submukozal ödem, damar duvarlarında fibrin depozisyonu izlenmektedir. (40X büyütme, H&E boyama)]



Şekil 29. Asetik asit+propolis grubu mikroskop görüntüsü [Mukozal hasar minimal görünümde, submukozada ödem ve inflamatuvar hücreler izlenmektedir (40X büyütme, H&E boyama)]



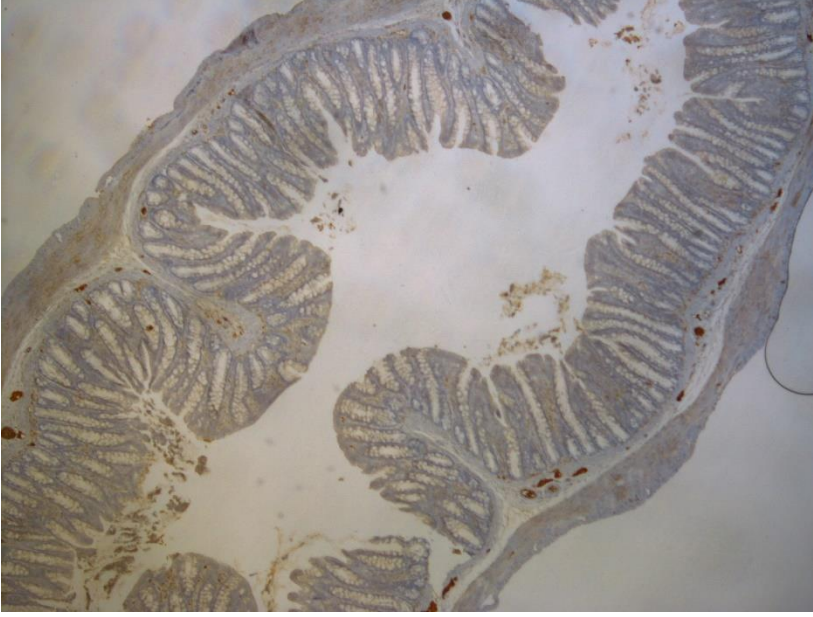
Şekil 30. Propolis grubu mikroskop görüntüsü [Propolis grubu rat kolon histolojik görüntüsü. Kolon mukozasında normal görünüm izlenmektedir. (40X büyütme, H&E boyama)]



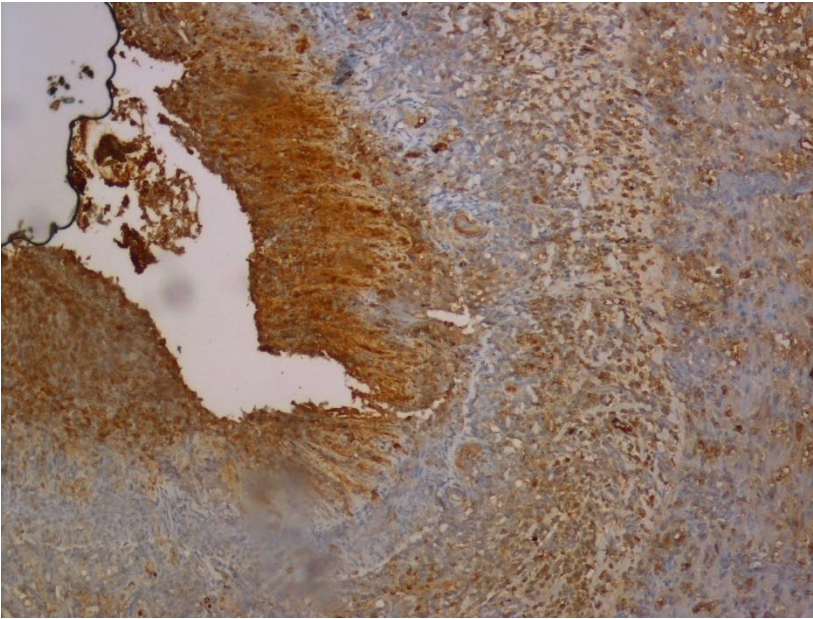
Şekil 31. Asetik asit+zeytinyağı grubu mikroskop görüntüsü [Mukozada fokal yüzeyel ülserasyon, submukozal ödem ve hafif inflamatuvar hücreler izlemektedir. (40X büyütme, H&E boyama)]

3.3.2. İmmünohistokimyasal Değerlendirme (Kaspaz-3 İncelemesi)

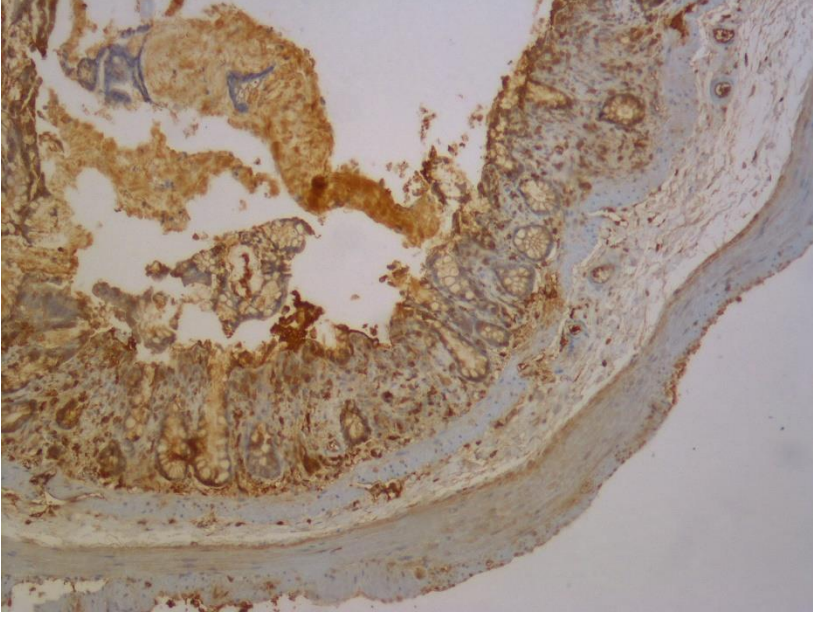
İmmünohistokimyasal değerlendirme için, doku örneklerinden 5 mikrometre kalınlığında hazırlanan kesitler, pozitif şarjlı lamlara yerleştirildi. Kesitler 60 santigrat derecelik etüvde 1 saat bekletildi. Sonrasında 15 dakika ksilol ile deparafinize edilerek hazırlanan örnekler Kaspaz 3 (Abcam marka Ab179517 kodlu) antikoru uygulandı. Örnekler, Ventana Ultraview Universal Dab Detection kit kullanılarak BenchMark XT marka immünohistokimya cihazında boyandı. Boyama işlemi sonrasında preparatlar sıvı bazlı kapama maddesi ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak doku üzerindeki apoptotik kript hücreleri dikkate alındı. Kaspaz 3 ile boyanan hücreler uzman patolog tarafından yüzdelere göre skorlandı ve bu değerler kayıt altına alındı. (Şekil 32-36)



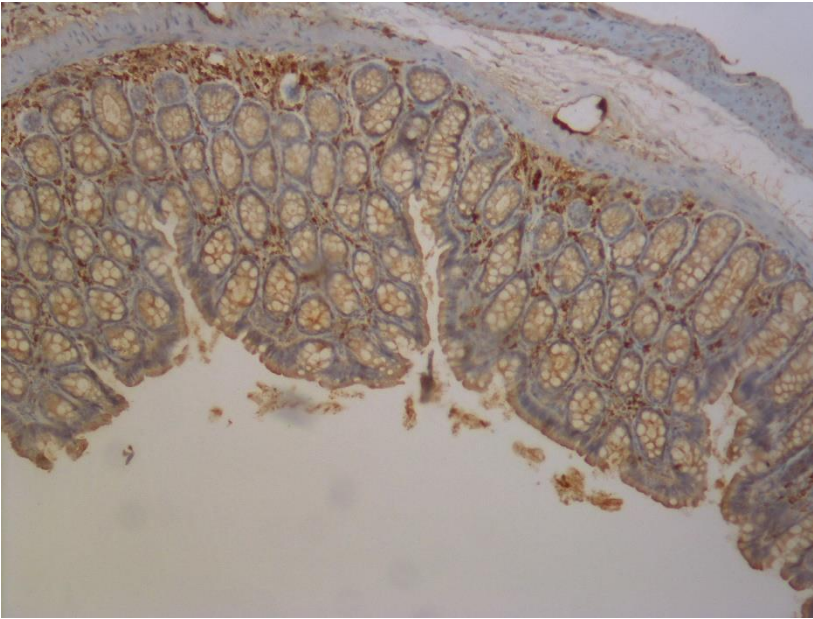
Şekil 32. Kontrol grubu Kaspaz-3 İncelemesi



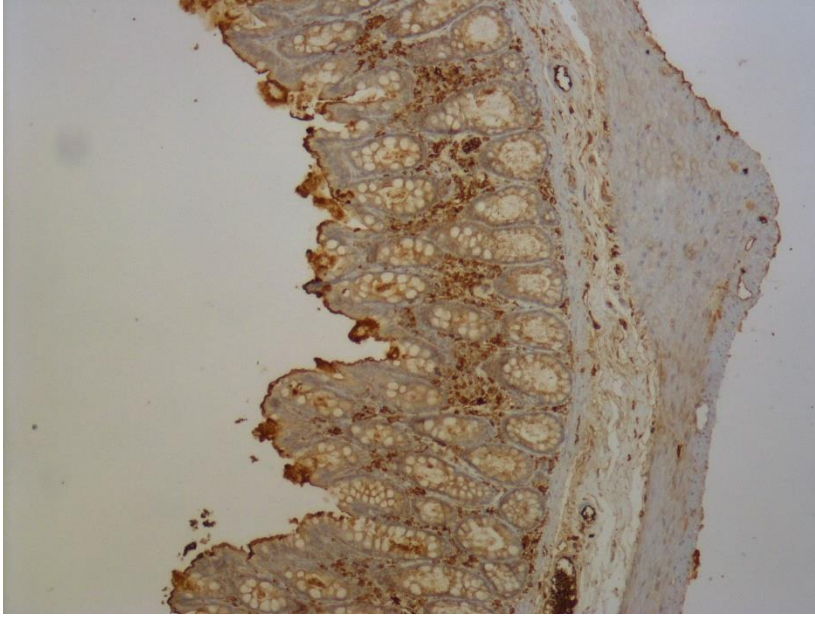
Şekil 33. Asetik asit grubu Kaspaz-3 incelemesi



Şekil 34. Asetik asit+propolis grubu Kaspaz-3 incelemesi



Şekil 35. Propolis grubu Kaspaz-3 incelemesi



Şekil 36. Asetik asit+zeytinyağı grubu Kaspaz-3 incelemesi

3.4. Gaita Kıvamı ve Skorlaması

Ratlar sakrifiye edildikten sonra gaita kıvamı Tablo 9'a göre skorlandı.

Tablo 9. Gaita kıvamı skorlaması

Skor	Gaita Kıvamı
1	Normal
2	Yumuşak kıvam
3	İshal

3.5. Ağırlık Kaybı Değerlendirilmesi

Ratların 0. ve 120. Saat sonunda ağırlıkları terazi ile tartılarak ağırlık kayıpları Tablo 10'daki değerlere göre skorlandı.

Tablo 10. Ağırlık kaybı skorlaması

Skor	Ağırlık Kaybı
0	%0
1	%1-5
2	%5-10
3	%10-20
4	>%20

3.6. Biyokimyasal İnceleme

İnceleme için alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınarak ÇÜTF Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'na ulaştırıldı. 20 dakika 3000 devirde santrifüj edildi. Üstte kalan serum kısmı eppendorf tüplere alındı ve -80 santigrat derecede saklanmak üzere dondurucuya yerleştirildi.

Ratlardan alınan kolon örnekleri ise eppendorf tüplere yerleştirildi ve sıvı azot içeren termostatlar ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Merkez Laboratuvarı'na götürülerek -80 santigrat derecede saklanmak üzere dondurucuya yerleştirildi.

Bu örneklerden TNF- α , MPO, MDA ve IL-10 çalışıldı ve konsantrasyonları incelendi.

3.6.1. Elisa Deneyleri

ELISA testleri SunRed firmasına ait enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) mikropate okuyucu ve yıkayıcı ile çalışıldı. Kitler 450 nanometre dalga boyunda okuyucuda değerlendirildi.

3.6.2. Homojenizasyon

Eppendorf tüp içerisinde -80 santigrat derecede dondurulmuş dokular homojenizasyon işleminin gerçekleştirileceği tüp içerisine alındı. Dokuların ağırlığının her gramı için 9 ml, 0.01 mol fosfat tamponu (ph:7.4) eklendi. Ultrasonik parçalama cihazı aracılığıyla buz üzerinde dokular parçalanarak homojenatlar elde edildi. Homojenatlar 10.000 RPM'de 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün üst kısmında kalan süpernatantlar ELISA testlerinde kullanıldı. Altta kalan pellet kısımları atıldı.

3.6.3. Miyeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Ölçümü

MPO ölçümü, SunRed Marka 201-11-0575 numaralı kit kullanılarak yapıldı.

5 adet tüp numaralandırılarak tüplere 120 mikrolitre standart dilüsyon eklendi. Stok standarttan 120 mikrolitre alınarak beşinci deney tüpüne eklenerek vortekslendi. Sonrasında 5. deney tüpünden 120 mikrolitre alınıp bir önceki deney tüpüne eklendi. Bu şekilde birinci deney tüpüne kadar seri dilüsyon yapıldı. Plate'in ilk kuyucuğu kör kabul edildi. Sonraki 5 kuyucuğa seyreltikten derişige doğru 50 mikrolitre standartlar eklendi. Sonraki kuyucuklara çalışmak istediğimiz 1/10 homojenize edilmiş doku örneklerinden 40'ar mikrolitre eklendi. Sadece örneklere 10 mikrolitre biotin-(MPO) antibody eklendi. Kör hariç standart ve örneklere 50 mikrolitre HRP-konjugat MPO reagent eklendi. 1 saat 37 santigrat derecede inkübasyona bırakıldı. 350 mikrolitrede 5 kez plate yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sırasıyla 50 mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B; kör, standart ve örneklere eklendi. 10 dakika 37 santigrat derecede karanlıkta inkübasyona bırakıldı ve mavi renk gözlemlendi. Sonrasında 50 mikrolitre stop çözeltisi tüm kuyucuklara eklenerek maviden sarıya renk dönüşümü görüldü. 450 nanometrede plate okuyucuda absorbans değerleri ve konsantrasyonu nanogram/mililitre biriminde belirlendi. Çıkan sonuçlar 10 ile çarpılarak değerler elde edildi.

3.6.4. Malondialdehid (MDA) Ölçümü

MDA ölçümü, SunRed Marka 201-11-0157 numaralı kit kullanılarak yapıldı.

5 adet tüp numaralandırılarak tüplere 120 mikrolitre standart dilüsyon eklendi. Stok standarttan 120 mikrolitre alınarak beşinci deney tüpüne eklenerek vortekslendi. Sonrasında 5. deney tüpünden 120 mikrolitre alınıp bir önceki deney tüpüne eklendi. Bu şekilde birinci deney tüpüne kadar seri dilüsyon yapıldı. Plate'in ilk kuyucuğu kör kabul edildi. Sonraki 5 kuyucuğa seyreltikten derişige doğru 50 mikrolitre standartlar eklendi. Sonraki kuyucuklara çalışmak istediğimiz 1/10 homojenize edilmiş doku örneklerinden 40'ar mikrolitre eklendi. Sadece örneklere 10 mikrolitre biotin-(MDA) antibody eklendi. Kör hariç standart ve örneklere 50 mikrolitre HRP-konjugat MDA reagent eklendi. 1 saat 37 santigrat derecede inkübasyona bırakıldı. 350 mikrolitrede 5 kez plate yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sırasıyla 50 mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B; kör, standart ve örneklere eklendi. 10 dakika 37

santigrat derecede karanlıkta inkübasyona bırakıldı ve mavi renk gözlemlendi. Sonrasında 50 mikrolitre stop çözeltisi tüm kuyucuklara eklenerek maviden sarıya renk dönüşümü görüldü. 450 nanometrede plate okuyucuda absorbans değerleri ve konsantrasyonu nanomol/mililitre biriminde belirlendi. Çıkan sonuçlar 10 ile çarpılarak değerler elde edildi.

3.6.5. TNF- α Düzeyi Ölçümü

TNF- α ölçümü, SunRed Marka 201-11-0765 numaralı kit kullanılarak yapıldı.

5 adet tüp numaralandırılarak tüplere 120 mikrolitre standart dilüsyon eklendi. Stok standarttan 120 mikrolitre alınarak beşinci deney tüpüne eklenerek vortekslendi. Sonrasında 5. deney tüpünden 120 mikrolitre alınıp bir önceki deney tüpüne eklendi. Bu şekilde birinci deney tüpüne kadar seri dilüsyon yapıldı. Plate'in ilk kuyucuğu kör kabul edildi. Sonraki 5 kuyucuğa seyreltikten derişige doğru 50 mikrolitre standartlar eklendi. Sonraki kuyucuklara çalışmak istediğimiz serum örneklerinden 40'ar mikrolitre eklendi. Sadece örneklerle 10 mikrolitre biotin-(TNF- α) antibody eklendi. Kör hariç standart ve örneklerle 50 mikrolitre HRP-konjugat TNF- α reagent eklendi. 1 saat 37 santigrat derecede inkübasyona bırakıldı. 350 mikrolitrede 5 kez plate yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sırasıyla 50 mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B kör, standart ve örneklerle eklendi. 10 dakika 37 santigrat derecede karanlıkta inkübasyona bırakıldı ve mavi renk gözlemlendi. Sonrasında 50 mikrolitre stop çözeltisi tüm kuyucuklara eklenerek maviden sarıya renk dönüşümü görüldü. 450 nanometrede plate okuyucuda absorbans değerleri ve konsantrasyonu nanogram/litre biriminde belirlendi.

3.6.6. IL-10 Düzeyi Ölçümü

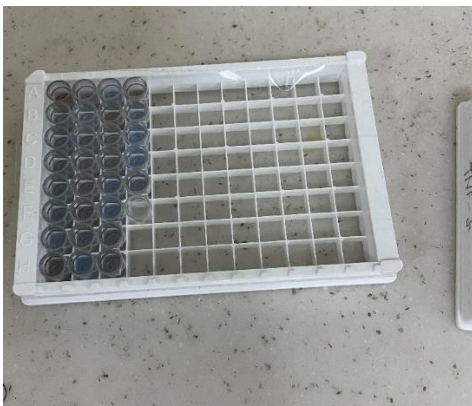
IL-10 ölçümü, SunRed Marka 201-11-0109 numaralı kit kullanılarak yapıldı.

5 adet tüp numaralandırılarak tüplere 120 mikrolitre standart dilüsyon eklendi. Stok standarttan 120 mikrolitre alınarak beşinci deney tüpüne eklenerek vortekslendi. Sonrasında 5. deney tüpünden 120 mikrolitre alınıp bir önceki deney tüpüne eklendi. Bu şekilde birinci deney tüpüne kadar seri dilüsyon yapıldı. Plate'in ilk kuyucuğu kör kabul edildi. Sonraki 5 kuyucuğa seyreltikten derişige doğru 50 mikrolitre standartlar eklendi. Sonraki kuyucuklara çalışılacak serum örneklerinden 40'ar mikrolitre eklendi. (Şekil 37) Sadece örneklerle 10 mikrolitre biotin-(IL-10) antibody eklendi. Kör hariç standart ve örneklerle 50 mikrolitre HRP-konjugat IL-10

reagent eklendi. 1 saat 37 santigrat derecede inkübasyona bırakıldı. 350 mikrolitrede 5 kez plate yıkama solüsyonu ile yıkandı. Sırasıyla 50 mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B; kör, standart ve örneklere eklendi. 10 dakika 37 santigrat derecede karanlıkta inkübasyona bırakıldı ve mavi renk gözlemlendi. Sonrasında 50 mikrolitre stop çözeltisi tüm kuyucuklara eklenerek maviden sarıya renk değişimi görüldü. (Şekil 38) 450 nanometrede plate okuyucuda absorbans değerleri ve konsantrasyonu pikogram/mililitre biriminde belirlendi.



Şekil 37. Kuyucuklara doku ve kan örneklerinin yerleştirilmesi



Şekil 38. Stop çözeltisi eklenmeden önce mavi renk gözlenmesi

3.7 İstatistiksel Analiz

Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum-maksimum) olarak özetlendi. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro Wilk testi ile test edildi. İki'den fazla grubun sayısal ölçümlerinin genel karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Tek Yönlü Varyans Analizi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Bu karşılaştırmalarda anlamlı bulunan durumlar için grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanması durumunda grup içi varyansların homojen olup olmamasına göre Bonferroni veya Games&Howell testleri kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırılmalarında varsayımların sağlanmaması durumunda ise Bonferroni düzeltmesi yapılmış Mann Whitney U testi kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmamızdaki 5 grubun tamamı 6'şar rattan oluşmaktaydı. Asetik asit+zeytinyağı grubundaki ratlardan 1 tanesi ex oldu.

Deneklerin ağırlık kaybı, gaita kıvamı, makroskopik ve mikroskopik skorlarının verileri Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Gruplara göre ağırlık Kaybı, gaita kıvamı, makroskopik ve mikroskopik skorlar					
Denekler	Gruplar	Ağırlık Kaybı Skor	Gaita Kıvamı	Makroskopik Skor	Mikroskopik Skor
1	KONTROL (K1)	0	1	0	0
2	KONTROL (K2)	0	1	0	0
3	KONTROL (K3)	1	1	0	1
4	KONTROL (K4)	0	1	0	0
5	KONTROL (K5)	0	1	0	1
6	KONTROL (K6)	0	2	0	1
7	ASETİK ASİT (AA1)	4	3	6	18
8	ASETİK ASİT (AA2)	3	3	7	17
9	ASETİK ASİT (AA3)	3	3	6	18
10	ASETİK ASİT (AA4)	2	2	7	18
11	ASETİK ASİT (AA5)	3	3	6	20
12	ASETİK ASİT (AA6)	4	3	5	17
13	ASETİK ASİT + PROPOLİS (AA+PP1)	1	1	3	12
14	ASETİK ASİT + PROPOLİS (AA+PP2)	1	2	2	8
15	ASETİK ASİT + PROPOLİS (AA+PP3)	3	1	2	12
16	ASETİK ASİT + PROPOLİS (AA+PP4)	3	1	3	12
17	ASETİK ASİT + PROPOLİS (AA+PP5)	2	1	1	8
18	ASETİK ASİT + PROPOLİS (AA+PP6)	2	2	3	10
19	PROPOLİS (PP1)	0	1	0	0
20	PROPOLİS (PP2)	0	1	0	0
21	PROPOLİS (PP3)	0	1	1	0
22	PROPOLİS (PP4)	1	1	0	2
23	PROPOLİS (PP5)	0	1	0	1
24	PROPOLİS (PP6)	1	2	0	0
25	ASETİK ASİT + ZEYTİNYAĞI (AA+ZY1)	3	2	5	14
26	ASETİK ASİT + ZEYTİNYAĞI (AA+ZY2)	2	2	4	12
27	ASETİK ASİT + ZEYTİNYAĞI (AA+ZY3)	2	1	2	8
28	ASETİK ASİT + ZEYTİNYAĞI (AA+ZY4)	3	2	4	14
29	ASETİK ASİT + ZEYTİNYAĞI (AA+ZY5)	4	3	3	13

Grupların ağırlık kaybı, gaita kıvamı, mikroskopik ve makroskopik skorları, ağırlık değişimleri ve kilo kaybı yüzdelerinin istatistiksel analizi Tablo 12’de, biyokimyasal ve immünohistokimyasal parametrelerinin istatistiksel analizi Tablo 13’te verilmiştir.

Tablo 12. Klinik parametrelerin istatistiksel analizi						
	Gruplar					p
	kontrol	asetik asit	asetik asit+propolis	propolis	asetik asit+zeytinyağı	
Ağırlık kaybı skor	0.0(0.0-1.0) ^{a,d}	3.0(2.0-4.0) ^c	2.0(1.0-3.0)	0.0(0.0-1.0) ^d	3.0(2.0-4.0)	<0.001
Gaita kıvamı skor	1.0(1.0-2.0) ^a	3.0(2.0-3.0) ^{b,c}	1.0(1.0-2.0)	1.0(1.0-2.0)	2.0(1.0-3.0)	0.001
Makroskopik skor	0.0(0.0-0.0) ^a	6.0(5.0-7.0) ^c	2.5(1.0-3.0)	0.0(0.0-1.0)	4.0(2.0-5.0)	<0.001
Mikroskopik skor	0.5(0.0-1.0) ^a	18.0(17.0-20.0) ^c	11.0(8.0-12.0)	0.0(0.0-2.0)	13.0(8.0-14.0)	<0.001
Ağırlık değişim	0.0(-6.0;0.0) ^{a,d}	-42.0(-52.0; -20.0) ^c	-17.0(-40.0;-4.0)	-1.0(-4.0;0.0)	-28.0(-42.0;-16.0)	<0.001
Kilo kaybı(%)	0.0(0.0;2.0) ^{a,d}	17.0(7.0;20.0) ^c	7.0(1.0;17.0)	0.0(0.0;1.0)	11.0(6.0;20.0)	<0.001
Veriler medyan(min;maks) olarak özetlenmiştir. ^a asetik asit ile karşılaştırıldığında p<0.05, ^b asetik asit+propolis ile karşılaştırıldığında p<0.05, ^c propolis ile karşılaştırıldığında p<0.05, ^d asetik asit+zeytinyağı ile karşılaştırıldığında p<0.05.						

Tablo 13. Biyokimyasal ve immünohistokimyasal parametrelerin istatistiksel analizi						
	Grup					p
	Kontrol	Asetik asit	Asetik asit+propolis	Propolis	Asetik asit+zeytinyağı	
Kaspaz-3	7.5(5.0;20.0) ^a	45.0(40.0;60.0) ^c	20.0(10.0;30.0)	5.0(5.0;10.0) ^d	40.0(20.0;40.0)	<0.001
MPO	214.2±8.7 ^{a,b,d}	271.0±11.3 ^{b,c}	239.8±6.7 ^c	212.4±21.2 ^d	248.3±6.1	<0.001
MDA	24.9±3.1 ^{a,b,d}	43.9±2.3 ^{b,c,d}	31.4±1.9 ^c	25.3±3.2 ^d	35.0±3.0	<0.001
IL_10	229.5±14.8	198.6±73.0	197.0±46.3	189.8±26.8	183.6±35.1	0.465
TNF-α	177.1±16.3 ^{a,b,c,d}	279.4±13.3 ^{b,c,d}	233.8±13.1 ^c	207.4±5.0	237.4±19.7	<0.001
Veriler ortalama±standart sapma veya medyan(min;maks) olarak özetlenmiştir. ^a asetik asit ile karşılaştırıldığında p<0.05, ^b asetik asit+propolis ile karşılaştırıldığında p<0.05, ^c propolis ile karşılaştırıldığında p<0.05, ^d asetik asit+zeytinyağı ile karşılaştırıldığında p<0.05.						

Ratların ağırlık kaybı skorları kontrol grubu için 0.0(0.0-1.0), asetik asit grubu için 3.0(2.0-4.0), asetik asit + propolis grubu için 2.0(1.0-3.0), propolis grubu için 0.0(0.0-1.0) ve asetik asit + zeytinyağı grubu için 3.0(2.0-4.0) olarak bulundu. Bütün gruplar kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.001$) Gruplardaki ağırlık kaybı skorları ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile asetik asit grubu ve asetik asit + zeytinyağı grubu arasında anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.05$) Asetik asit grubu ile propolis grubu arasında anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.05$) Propolis grubu ile asetik asit + zeytinyağı grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirlendi.($p<0.05$)

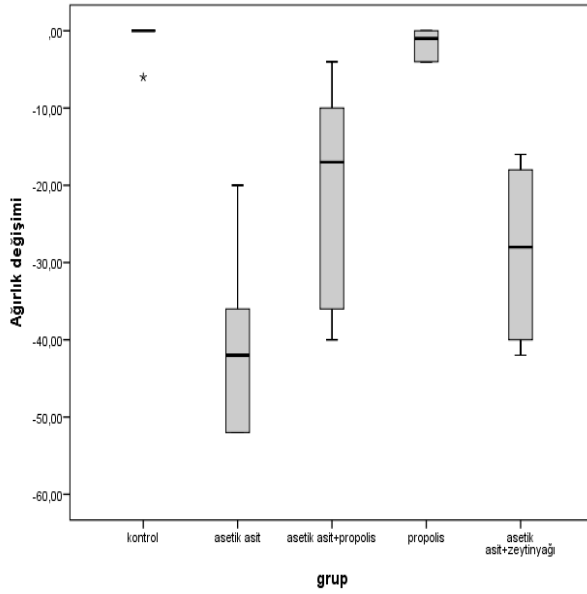
Ratların gaita kıvam skorları, kontrol grubunda 1.0(1.0-2.0), asetik asit grubunda 3.0(2.0-3.0), asetik asit + propolis grubunda 1.0(1.0-2.0), propolis grubunda 1.0(1.0-2.0), asetik asit + zeytinyağı grubunda 2.0(1.0-3.0) olarak belirlendi. Bütün gruplar kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü. ($p=0.001$) Grupların gaita kıvam skorları ikişerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubunun gaita skorlarının, asetik asit grubuna göre anlamlı olarak farklı olduğu görüldü.($p<0.05$) Asetik asit grubu ile propolis ve asetik asit + propolis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.05$)

Makroskopik skorlar kıyaslandığında kontrol grubu için 0.0(0.0-0.0), asetik asit grubu için 6.0(5.0-7.0), asetik asit + propolis grubu için 2.5(1.0-3.0), propolis grubu için 0.0(0.0-1.0), asetik asit + zeytinyağı grubu için ise 4.0(2.0-5.0) olduğu görüldü. Bütün gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. ($p<0.001$) Gruplar birbirleriyle ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile asetik asit grubu arasında anlamlı farklılık olduğu, asetik asit grubu ile de propolis grubu arasında anlamlı farklılık olduğu belirlendi.($p<0.05$)

Mikroskopik skor incelendiğinde kontrol grubunun 0.5(0.0-1.0), asetik asit grubunun 18.0(17.0-20.0), asetik asit + propolis grubunun 11.0(8.0-12.0), propolis grubunun 0.0(0.0-2.0) ve asetik asit + zeytinyağı grubunun ise 13.0(8.0-14.0) olduğu görüldü. Bütün gruplar mikroskopik skor açısından incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü. ($p<0.001$) Mikroskopik skor açısından gruplar ikişerli olarak kıyaslandığında kontrol grubu ve asetik asit grubu arasında, asetik asit ve propolis grubu arasında anlamlı farklılık olduğu belirlendi.($p<0.05$)

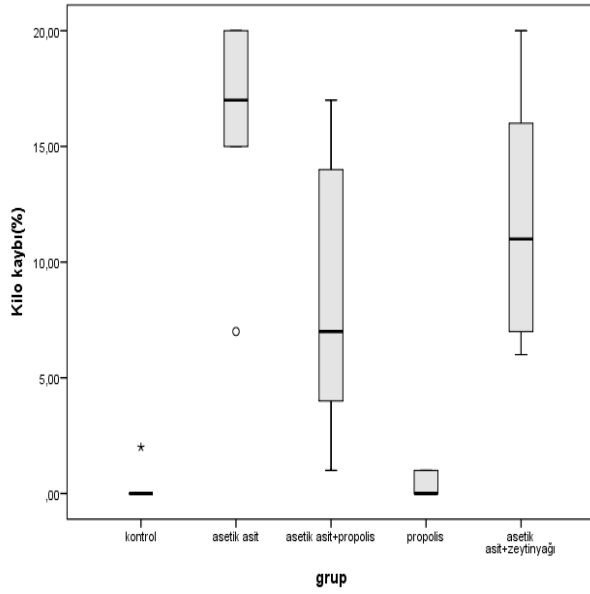
Gruplar arasındaki ağırlık değişimleri kıyaslandığında kontrol grubunun 0.0(-6.0;0.0), asetik asit grubunun -42.0(-52.0;-20.0), asetik asit + propolis grubunun -17.0(-40.0;-4.0),

propolis grubunun -1.0(-4.0;0.0), asetik asit + zeytinyağı grubunun ise -28.0(-42.0;-16.0) olduğu görüldü.(Şekil 39) Bütün gruplar kıyaslandığında ağırlık değişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.001$) Gruplar ağırlık değişimi açısından ikiyeşerli olarak karşılaştırıldığında kontrol grubunun asetik asit ve asetik asit + zeytinyağı grubu ile, asetik asit grubunun propolis grubu ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.05$)



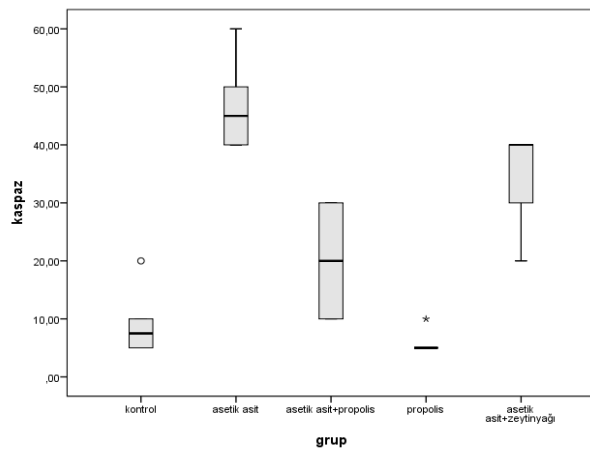
Şekil 39. Ağırlık değişimi

Grupların kilo kaybı yüzdeleri incelendiğinde kontrol grubunun 0.0(0.0;2.0), asetik asit grubunun 17.0(7.0;20.0), asetik asit + propolis grubunun 7.0(1.0;17.0), propolis grubunun 0.0(0.0;1.0), asetik asit + zeytinyağı grubunun ise 11.0(6.0;20.0) olduğu görüldü.(Şekil 40) Kilo kaybı yüzdeleri açısından tüm gruplar kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.001$) Gruplar kendi aralarında kilo kaybı yüzdeleri açısından ikiyeşerli olarak kıyaslandığında kontrol grubu ile asetik asit grubu ve kontrol grubu ile asetik asit + zeytinyağı grupları arasında anlamlı farklılık olduğu; asetik asit grubu ile propolis grubu arasında da istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu belirlendi.($p<0.05$)



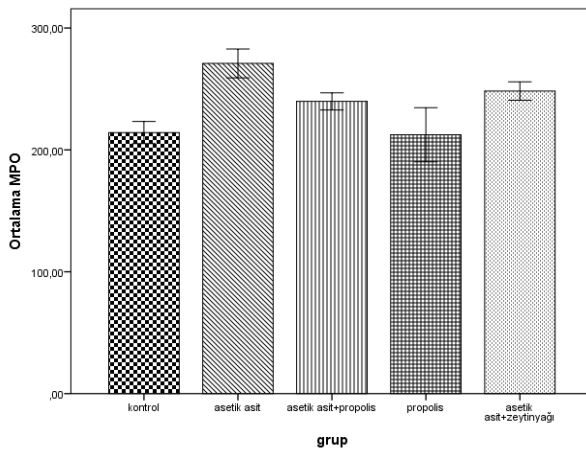
Şekil 40. Kilo kaybı yüzdesi

Deneklerin median Kaspaz-3 değerleri kontrol grubunda 7.5(5.0;20.0), asetik asit grubunda 45.0(40.0;60.0), asetik asit + propolis grubunda 20.0(10.0;30.0), propolis grubunda 5.0(5.0;10.0), asetik asit + zeytinyağı grubunda 40.0(20.0;40.0) olarak bulunmuştur.(Şekil 41) Bütün gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmüştür.($p<0.001$) Gruplar Kaspaz-3 değeri açısından ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ve asetik asit grubu arasında, asetik asit grubu ve propolis grubu arasında ve propolis grubu ile asetik asit + zeytinyağı grubu arasında anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. ($p<0.005$)



Şekil 41. Gruplara göre Kaspaz-3 değerleri

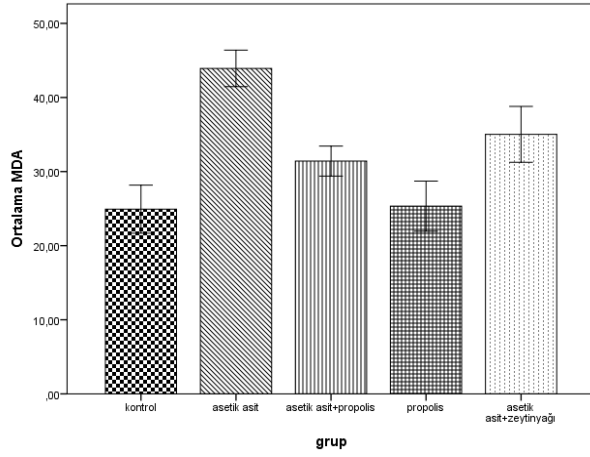
Grupların ortalama MPO değeri kontrol grubunda 214.2 ± 8.7 , asetik asit grubunda 271.0 ± 11.3 , asetik asit + propolis grubunda 239.8 ± 6.7 , propolis grubunda 212.4 ± 21.2 ve asetik asit+zeytinyağı grubunda 248.3 ± 6.1 olarak bulunmuştur. (Şekil 42) Bütün gruplar kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. ($p < 0.001$) Gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile asetik asit, kontrol grubu ile asetik asit + propolis, kontrol grubu ile asetik asit + zeytinyağı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü. ($p < 0.05$) Asetik asit grubu ile asetik asit + propolis, asetik asit grubu ile propolis grupları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirlendi. ($p < 0.05$) Asetik asit + propolis grubu ile propolis grubu arasında anlamlı farklılık olduğu belirlendi. ($p < 0.05$) Propolis grubu ile asetik asit + zeytinyağı grupları arasında anlamlı farklılık olduğu görüldü. ($p < 0.05$)



Şekil 42. Gruplara göre ortalama MPO değerleri

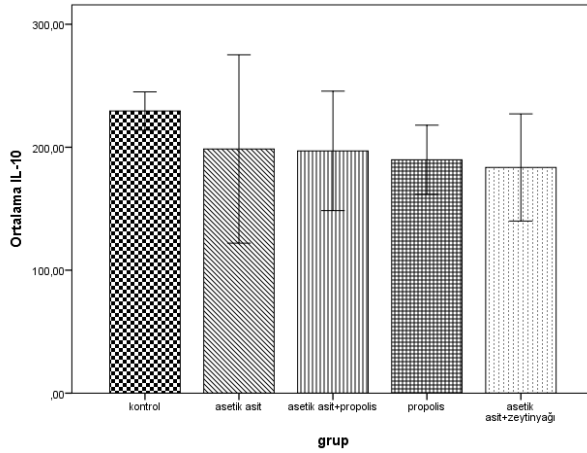
Grupların ortalama MDA değerleri kontrol grubunda 24.9 ± 3.1 , asetik asit grubunda 43.9 ± 2.3 , asetik asit+propolis grubunda 31.4 ± 1.9 , propolis grubunda 25.3 ± 3.2 ve asetik asit+zeytinyağı grubunda 35.0 ± 3.0 bulunmuştur. (Şekil 43) Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. ($p < 0.001$) Gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile asetik asit, kontrol grubu ile asetik asit+propolis, kontrol grubu ile asetik asit+zeytinyağı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü. ($p < 0.05$) Asetik asit grubu ile asetik asit+propolis, asetik asit grubu ile propolis, asetik asit grubu ile asetik asit+zeytinyağı grupları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu belirlendi. ($p < 0.05$) Asetik asit+propolis grubu ile propolis grubu arasında

anamlı farklılık olduğu belirlendi.($p<0.05$) Propolis grubu ile asetik asit+zeytinyağı grupları arasında anamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.05$)



Şekil 43. Gruplara göre ortalama MDA değerleri

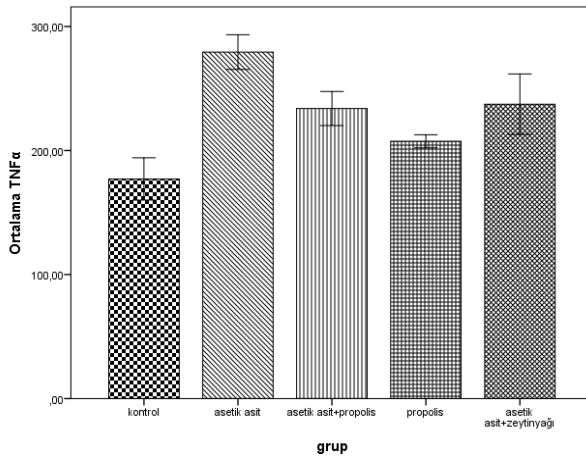
Gruplar için ortalama IL-10 değerleri kontrol grubunda 229.5 ± 14.8 , asetik asit grubunda 198.6 ± 73.0 , asetik asit+propolis grubunda 197.0 ± 46.3 , propolis grubunda 189.8 ± 26.8 ve asetik asit+zeytinyağı grubunda 183.6 ± 35.1 olarak bulunmuştur. (Şekil 44) Gruplar arasında istatistiksel olarak anamlı farklılık olmadığı görüldü. ($p=0.465$)



Şekil 44. Gruplara göre ortalama IL-10 değerleri

Grupların ortalama TNF- α değerlerinin, kontrol grubunda 177.1 ± 16.3 , asetik asit grubunda 279.4 ± 13.3 , asetik asit+propolis grubunda 233.8 ± 13.1 , propolis grubunda 207.4 ± 5.0 ve asetik asit+zeytinyağı grubunda 237.4 ± 19.7 olarak bulunmuştur. (Şekil 45) Bütün gruplar

karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.001$) Gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında kontrol grubu ile asetik asit grubu arasında, kontrol grubu ile asetik asit+propolis grubu arasında, kontrol grubu ile propolis grubu arasında ve kontrol grubu ile asetik asit+zeytinyağı grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.05$) Asetik asit grubu ile asetik asit+propolis grubu arasında, asetik asit grubu ile propolis grubu arasında ve asetik asit grubu ile asetik asit+zeytinyağı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü.($p<0.05$) Asetik asit+propolis grubu ile propolis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü. ($p<0.05$)



Şekil 45. Gruplara göre ortalama TNF- α değerleri

5. TARTIŞMA

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları remisyon ve alevlenme dönemleri ile karakterize hastalıklar olup etiyolojisi multifaktöryeldir. Bu hastalıklarda temel tedavi yaklaşımı antiinflamatuvar ajanlar ve immünsüpresanların kullanımıdır.²²⁴ Bu hastalıkların tedavi araştırmasında, deneysel kolit modelleri önemli bir yer tutmaktadır; farklı birçok deneysel kolit modelinde farklı birçok tedavi araştırılmıştır.

Deneysel kolit modellerinde tedavi modalitelerinin ortak amacı inflamasyonu azaltmak ve doku nekrozunu minimize etmektir. İnflamasyon ve doku yıkımının şiddetini göstermede birçok parametre kullanılmıştır. Bunlar makroskopik ve mikroskopik inceleme, gaita incelemesi ve daha objektif ve kantitatif değerler olan biyokimyasal ve immünohistokimyasal parametrelerdir (TNF- α , MDA, MPO, Kaspaz 3, IL-1B, IL-6, IL-10, Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Glutasyon Peroksidaz, Interferon G, NO vb.). Bizim çalışmamızda da kolit modelini oluştururken, ucuz, etkin ve uygulaması kolay olan asetik asit tercih edilmiştir. İnflamasyon şiddetini göstermek için de diğer çalışmalarda olduğu gibi TNF- α , MDA, MPO, Kaspaz 3 ve IL-10 tercih edilmiştir.

Literatürde kolitlerde oral ve rektal yoldan uygulanarak protektif etkileri araştırılmış birçok etken madde bulunmaktadır. Oral yoldan verilen maddelerin rektal yoldan verilen maddelere göre sistemik etkileri daha fazla olmakla birlikte, toksisitesinin yüksek olması kolit tedavilerinde rektal yolu daha güvenli kılmaktadır.²²⁵ Rektal uygulama ilacın toksisitesinin ve yan etkisinin daha az olması nedeni ile daha güvenlidir. Oruç ve ark. yaptıkları bir çalışmada asetik asit ile deneysel kolit oluşturdukları ratlarda leflunomidin etkinliğini araştırmıştır ve intragastrik verilen leflunomidin, MDA seviyelerini anlamlı olarak düşürerek kolit şiddetini azalttığını göstermiştir.²²⁶

Propolisin olumlu etkileri ile ilgili birçok deneysel çalışma mevcuttur. Sehn ve ark., 28 ratta propolisin cilt epitelizeasyonu üzerine etkileri ile ilgili yaptıkları çalışmada propolisin cilt iyileşmesinde etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ratların servikal bölgesinde 7mm çapında bir yara oluşturulmuş ve çalışma grubunda propolis ile tedavi edilmiştir. Propolisin keratinosit hücrelerde proliferasyonu stimüle ettiği öne sürülmüş ve kontrol grubuna göre yara

iyileşmesinin daha iyi olduğu saptanmıştır.²²⁷ Bretz ve ark., 25 ratta yaptıkları bir çalışmada propolisin dental pulpada yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermiştir.²²⁸ Kerimoğlu ve ark, deneysel osteoartrit modeli uygulanan 21 adet ratta intraartriküler propolis ekstraktının inflamasyonu baskıladığını ve deneysel osteoartrit oluşumu üzerinde yavaşlatıcı etkisi olduğunu göstermiştir.²²⁹

Propolisin gastrointestinal sistem üzerine etkileri ile ilgili yapılmış bir çalışmada da oral olarak verilen propolisin non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlarla indüklenmiş gastrik ülser etkisi ile ilgili yapılmıştır. Bu sistematik derlemede Ruiz-Hurtado ve ark. 2000-2021 yılları arasında yapılmış çalışmaları incelemiş, NSAİİ ile indüklenmiş gastrik ülserin propolis ile tedavi edilebileceğini göstermiştir. Bu etkilerin gastrik asit sekresyonu ve pro-inflamatuvar sitokin salınımını önlemesi, antioksidatif, antiinflamatuvar ve sitoprotektif etkileri aracılığı ile meydana geldiğini öne sürmüştür.²³⁰

Propolisin antineoplastik etkileri olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur. Valença ve ark. insan rektum adenokanser hücre kültüründe propolis uygulamasının hücre proliferasyonunu engelleyerek ve hücre ölümünü indükleyerek antineoplastik etki yarattığını, bunun da kanser hücrelerinin glikolitik metabolizmasının bozularak gerçekleştiğini öne sürmüştür.²³¹ Borrelli ve ark.'ın 64 rat ile yaptığı, azoksimetan kullanarak oluşturduğu deneysel bir kolon kanseri modelinde de, intraperitoneal olarak verilen CAPE (kafeik asit fenil ester) içeren propolisin tümör oluşumunu anlamlı olarak azalttığını, fakat CAPE içermeyen propolis preperatlarının tümör oluşumunu azaltmadığını göstermiştir. Bu durum propolisin antineoplastik etkisinin CAPE üzerinden olduğunu düşündürmektedir.²³²

Propolisin kolitlerde antiinflamatuvar etkinliği, bakteri florası üzerine etkisi aracılığı ile gerçekleşiyor olabilir. Krocko ve ark.'ın yaptığı bir çalışma, tavuk yemlerine propolis ve arı poleni eklenmesinin tavuk kursağında enterobakter kolonizasyonunu azalttığını göstermiş, lactobasiller üzerine ise etkisi olmamıştır.²³³ Wang ve ark ise oluşturdukları bir rat DSS kolit modelinde farklı coğrafi kökenlerden gelen propolisin oral olarak verildiğinde kolit şiddetini, kolonik apoptozisi azalttığını ve bağırsaklarda bacterioides kolonizasyonunu anlamlı ölçüde düşürdüğünü göstermiştir.²³⁴

Propolisin kolitlerde kullanımı ile ilgili çalışmalarda, genel olarak antiinflamatuvar ve sitoprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir. Khan ve ark.'ın DSS ile yapılan bir kolit modelinde

yaptığı çalışmada, propolisin aktif bileşeni olan kafeik asit fenil esterinin intraperitoneal uygulanmasının kolite karşı protektif etkisi olduğu öne sürülmüştür. Çalışmalarında 6'şar fareden oluşan üç grup kullanılmış, birinci grup kontrol grubu, ikinci grup deneysel kolit grubu, üçüncü grup ise kolit yapıp intraperitoneal CAPE verilen grup olarak belirlenmiştir. Kilo kaybı, hastalık aktivasyon indeks skoru, MPO ve TNF- α seviyelerinin çalışma grubunda kolit grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak antiinflamatuar sitokin olan IL-10 seviyesi de çalışma grubunda kolit grubuna göre daha düşük bulunmuş olup, bu durum CAPE'nin IL-10'u baskılayıcı etkisi ile açıklanmıştır.²³⁵ Bizim çalışmamızda asetik asit grubu ile kontrol grubu arasında ağırlık kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmüştür, ancak asetik asit grubu ile asetik asit+propolis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Öte yandan asetik asit grubunun MPO ve TNF- α değerleri asetik asit+propolis grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. IL-10 değerleri karşılaştırıldığında ise asetik asit grubu ile asetik asit+propolis grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. MPO ve TNF- α 'daki bu yükseklik, propolisin antiinflamatuar etkinliği olduğunu desteklemektedir.

Gonçaves ve ark., 50 rat üzerinde yaptıkları TNBS ile oluşturulmuş bir kolit modelinde rektal propolis ve mesalazin kullanmış, mikroskopik inceleme, miyeloperoksidaz aktivitesi ve histolojik çalışma ile kolit aktivitesini değerlendirilmiştir. Bu çalışmada 20 mg TNBS ile kolit oluşturulmuş, kolit oluşturulduktan 48 saat sonra 0.8 ml %8 propolis ekstraktı ya da mesalazin solüsyonu ile 5 veya 12 gün boyunca tedavi edilmiştir. Bu çalışmada tedavinin geç başlama sebebi olarak enflamasyon gelişmesine izin verilmesi gösterilmiştir. Çalışmada gaita skoru, makroskopik skor, mikroskopik skor ve MPO değerleri asetik asit+propolis grubu ile asetik asit grubu arasında anlamlı olarak farklı bulunmamıştır.²²⁴ Bizim çalışmamızda ise gaita kıvam skoru ve MPO iki grup arasında anlamlı olarak farklı bulunmuş, mikroskopik ve makroskopik skorlar arasında ise anlamlı farklılık bulunmamıştır. İki çalışmadaki bu farklılığın sebebi, diğer çalışmada geç başlangıçlı tedavi modalitesi kullanılması ile açıklanabilir.

Aslan ve ark.'ın yaptığı bir çalışmada, asetik asit ile oluşturulmuş bir distal kolit modelinde 40 fare 5'er gruba ayrılmış, birinci grup kontrol grubu, ikinci grup kolit grubu, üçüncü grup kolit + mesalamin enema grubu, dördüncü grup kolit+ intragastrik propolis grubu, beşinci grup ise kolit + mesalamin enema + intragastrik propolis grubu olarak belirlenmiştir. Ratlar kurban edildikten sonra 8 cm'lik distal kolon histopatolojik ve biyokimyasal olarak

incelenmiştir. Histolojik olarak kolit + propolis grubunda hem kolit + mesalamin grubuna hem de kolit grubuna göre daha az doku hasarı olduğu görülmüştür. Biyokimyasal analizde MDA değerleri kolit grubunda kolit + propolis grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş, MPO değerleri arasında ise anlamlı farklılık bulunmamıştır.²³⁶ Bizim çalışmamızda ise hem MDA hem de MPO değerleri asetik asit ve asetik asit + propolis grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde farklılık içermektedir. İki çalışma arasındaki bu farklılık propolis uygulama yolunun farklı olması ile ilgili olabilir.

Bezerra ve ark.'ın asetik asit ile oluşturduğu bir kolit modelinde propolis oral yoldan verilmiş, kolon örneklerinde makroskopik ve histolojik değerlendirme yapılmış, MPO ve MDA incelenmiştir. Histolojik olarak kolit+propolis grubu kolit grubuna benzer bulunmuştur, ancak kolit+propolis grubunda daha az ülserasyon olduğu görülmüştür. MPO seviyesi kolit grubunda kolit+propolis grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş, MDA seviyesi arasında ise anlamlı farklılık bulunmamıştır.²³⁷

Propolis dozu ile ilgili net bir konsensus mevcut değildir. Okamoto' nun yaptığı bir çalışmada TNBS ile yapılmış bir kolit modelinde ratlar kontrol grubu, düşük doz (6.7 mg/g diyet) propolis grubu ve yüksek doz (20 mg/g diyet) propolis grubu olmak üzere üç gruba ayrılmış, yüksek doz propolis verilen farelerde hem makroskopik olarak kolit indeksi daha düşük olarak bulunmuş, hem de splenositlerindeki Th1 popülasyonunun daha az olduğu görülmüş olup; bu durum yüksek doz propolisin anti-inflamatuvar etkisinin daha yüksek olduğunu göstermektedir.²³⁸

Kolit şiddetinin bir göstergesi de apoptotik yolların aktivasyon şiddetidir. Bu yolların aktivasyonu kaspaz-3 up regulasyonu ile gösterilmektedir.²³⁹⁻²⁴⁰ Murad ve ark.'ın TNBS ile oluşturulmuş bir kolit rat modelinde yaptığı çalışmada etken olmesartan medoxomil kullanılmış, fareler kolit aktivite skoru, MPO, TNF- α , IL-6, MDA, GSH açısından değerlendirilmiştir. Buna ek olarak immünohistokimyasal olarak kolon segmentlerinde E-kaderin, kaspaz 3 ve matrix metalloproteinaz-9 (MMP-9) incelenmiştir. Olmesartan verilen ratlarda MPO aktivitesi, TNF- α , MDA seviyeleri kolit grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.²⁴¹ Bizim çalışmamızda da MPO aktivitesi, TNF- α aktivitesi ve MDA seviyeleri asetik asit+ propolis grubunda asetik asit grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte olmesartan tedavisi kaspaz-3 seviyelerinde down-regülasyona yol açmış,

apoptotik yolağın aktivasyonunu engellemiştir. Çalışmamızda ise kaspaz-3 seviyeleri asetik asit+ propolis grubunda asetik asit grubuna göre daha düşüktür, ancak iki grup kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu durum propolisin anti-apoptotik etkisinin anti-inflamatuvar etkisine göre daha kısıtlı olduğunu gösterebilir.

Zeytinyağının kolit üzerine antiinflamatuvar etkileri ile ilgili yapılmış çalışmalar da mevcuttur.²⁴² Sanchez-Fidalgo ve ark.ın oluşturduğu farklı fare kolit modellerinde, zeytinyağının TNF- α 'yı düşürüp IL-10 seviyesini artırdığı bulunmuştur.²⁴³⁻²⁴⁵ Çalışmamızda ise asetik asit grubuna göre asetik asit + zeytinyağı grubunda MDA seviyeleri ve TNF- α seviyeleri daha düşük bulunmuş ancak MPO ve kaspaz-3 seviyeleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Asetik asit grubu ile kontrol grubu arasında ağırlık kaybı, gaita skoru, mikroskopik ve makroskopik skorlar, ağırlık değişimleri ve kilo kaybı yüzdesi açısından anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. Bu da beklenildiği üzere asetik asitin kolit yapıcı etkisi ile gelişmiştir. İmmünohistokimyasal ve biyokimyasal parametreler olan Kaspaz-3, MPO, MDA ve TNF- α seviyeleri de asetik asit grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ve bu durum asetik asit grubunda klinik, biyokimyasal ve immünohistokimyasal olarak kolit tablosunun oluştuğunu göstermektedir.

Propolis grubu ile kontrol grubu kıyaslandığında ağırlık kaybı, gaita skoru, makroskopik ve mikroskopik skorlar, ağırlık değişimi ve kilo kaybı yüzdesi benzer bulunmuştur. Yine histokimyasal ve biyokimyasal olarak Kaspaz-3, MPO, MDA ve IL-10 seviyeleri arasında da anlamlı farklılık bulunmamıştır. Öte yandan TNF- α değeri, propolis grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur, ancak klinik ve mikroskopik olarak kolit görülmemiştir. TNF- α değeri propolis grubunda tüm kolit gruplarına göre daha düşük bulunmuştur. Ayrıca propolis grubunda ağırlık değişimi kontrol grubuna benzerdir.

Kontrol grubu ve asetik asit + propolis grubu kıyaslandığında gaita skoru, mikroskopik ve makroskopik skorlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir; ancak MPO, MDA ve TNF- α değerleri asetik asit + propolis grubunda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunan bu değerlerin asetik asit grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuş olması propolisin biyokimyasal olarak

inflamasyon şiddetini ve doku yıkımını engellediğini gösteriyor olabilir. Asetik asit+ propolis grubunda klinik parametreler (ağırlık kaybı, gaita skoru, makroskopik ve mikroskopik skorlar) kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuş olsa da anlamlı farklılık bulunmaması propolisin kolite karşı klinik olarak koruyucu etkisi olduğunu gösteriyor olabilir.

Asetik asit+ propolis grubu ile asetik asit+ zeytinyağı grubu arasında klinik, biyokimyasal ve histokimyasal parametreler açısından anlamlı farklılık bulunmamış olsa da asetik asit+ propolis grubunda kaspaz-3, MPO, MDA, TNF- α gibi pro-inflamatuvar değerlerin asetik asit+ zeytinyağı grubuna göre daha düşük bulunması dikkat çekicidir. Bu durum propolisin, zeytinyağının bilinen anti-inflamatuvar etkisini potansiyelize ettiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın odak noktasını asetik asit+ propolis grubu ile asetik asit grubu arasındaki farklılıklar oluşturmaktadır. Asetik asit grubunun gaita skoru, asetik asit+ propolis grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur, diğer klinik parametrelerimiz olan ağırlık kayıp skoru, makroskopik ve mikroskopik skor, ağırlık değişimi ve kilo kaybı yüzdesi ise her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış olsa da medyan, minimum ve maksimum değerlerin hepsi asetik asit+ propolis grubunda daha düşük bulunmuştur. Bu durum propolisin klinik olarak kolite karşı protektif etkisi olduğu tezini desteklemektedir. Biyokimyasal parametreler incelendiğinde ise, pro-inflamatuvar sitokin olan TNF- α ve doku yıkım ürünleri olan MPO ve MDA'nın asetik asit+propolis grubunda, asetik asit grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulunmuş olması, propolisin kolitte sitoprotektif etkinliğini ifade etmektedir.

Bir antiinflamatuvar sitokin olan IL-10'un asetik asit grubunda düşük, asetik asit+propolis, propolis ve asetik asit+zeytinyağı grubunda daha yüksek bulunması beklenmekte iken, asetik asit, asetik asit+propolis, propolis, asetik asit+zeytinyağı gruplarında ortalama değerleri birbirine yakın olarak bulunmuştur; ancak bu değerler gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık içermediği için antiinflamatuvar süreci değerlendirmede IL-10 yetersiz kalmıştır. Diğer antiinflamatuvar sitokinlerin de kolit modellerinde çalışılması, kolitte antiinflamatuvar süreçlerle ilgili daha fazla bilgi sahibi olmamızı sağlayacaktır.

Sonuç olarak çalışmamız, propolisin kolitlerde alternatif olarak kullanılabilecek güvenli bir ajan olabileceğini göstermiştir. Daha ayrıntılı sonuçlar için kolit hastalarında tedaviye ek olarak propolisin denendiği çalışmalar gerekmektedir.

Çalışmamızın kısıtlamaları:

Propolisin antibakteriyel etkinliğinin çalışılmamış olması,

Hayvan deneylerinin insandaki klinik senaryolarla tamamı ile örtüşmemesi,

Rektal propolisin daha önce sık çalışılmaması nedeni ile dozunun belirlenmesindeki güçlükler.

Bütçe kısıtlılığı nedeni ile;

Diğer doku hasarı belirteçlerinin (SOD,Katalaz, GPx) ,sitokinlerin (IL-6, IL-11, IL-13, IFN- γ) ve apoptozis belirteçlerinin (Bax,Bcl-2) çalışılmamış olması,

Zeytinyağının kolit etkinliğini değerlendirmek amacıyla sadece zeytinyağı verilen bir grup olmaması,

Oral propolis verilen bir grup olmaması nedeni ile oral propolis ile rektal propolisin etkinliğinin karşılaştırılamaması.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Propolis, antiinflamatuvar etkinliği iyi bilinen bir maddedir. Maliyetinin düşük olması ve kolay üretilabiliyor olması diğer ilaçlara göre ciddi bir avantaj oluşturmaktadır. Daha önce oral yoldan kolit üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilen propolisin, kolitler üzerinde rektal yoldan da kullanılabildiği bizim çalışmamızda gösterilmiştir. Kolitlerde rektal yolun tercih edilme sebebi sistemik yan etkilerin daha az olarak görülmesidir.

Çalışmamızda kolitin propolis ile hem klinik hem de biyokimyasal olarak daha hafif geçebildiği gösterilmiştir. Antiinflamatuvar etkinliği biyokimyasal olarak zeytinyağına benzese de, klinik olarak kontrol grubu ile yakınlığı, zeytinyağına göre daha üstün olduğunu göstermektedir.

Literatürde propolisin antiinflamatuvar ve antibakteriyel etkileri ile birlikte kolite karşı protektif etkisini gösteren yayınlar mevcuttur; bizim çalışmamız da literatür verisini desteklemektedir. Yine de propolisin kolite karşı etkinliğini gösteren sistemik çalışmalar ve meta-analizler bu tezin doğrulanması için gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Geboes K, Van Eyken P. Inflammatory bowel disease unclassified and indeterminate colitis: the role of the pathologist. *J Clin Pathol* **2009**; 62(3):201–5.
2. Tremaine WJ. Diagnosis and treatment of indeterminate colitis. *Gastroenterol Hepatol(N Y)* **2011**; 7(12):826–8.
3. Guindi M, Riddell RH. Indeterminate colitis. *J Clin Pathol* **2004**; 57(12):1233–44.
4. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* **2012**; 142(1):46–54.
5. Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. *Surg Clin North Am* **2019**; 99(6):1051-1062.
6. Kelsen JR, Russo P, Sullivan KE. Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. *Immunol Allergy Clin North Am* **2019**; 39(1):63-79.
7. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. **2011**; 474(7351):307-317.
8. Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **2015**; 12:205–17.
9. Burisch J, Munkholm P. The epidemiology of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* **2015**; 50(8):942–51.
10. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, et al. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* **2011**; 140(6):1785–94.
11. Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* **2009**; 361(21): 2066–78.
12. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* **2004**; 126(6):1504–17.
13. Malik T, Mannon P. Inflammatory bowel diseases: emerging therapies and promising molecular targets. *Front Biosci* **2012**; 4:1172–89.
14. Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. **2007** Jul 26; 448(7152):427-34.
15. Strober W, Fuss I, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest*. **2007**; 117:514–521.
16. Lennard-Jones JE, Shivananda S. Clinical uniformity of inflammatory bowel disease a presentation and

during the first year of disease in the north and south of Europe. EC-IBD Study Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol* **1997**; 9: 353–9.

17. Dignass A, Lindsay JO, Sturm A, Windsor A, Colombel JF, Allez M, et al. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current management. *J Crohns Colitis* **2012**; 6:991–1030.

18. Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO, Lemann M, Soderholm J, Colombel JF, et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: current management. *J Crohns Colitis* **2010**; 4:28–62.

19. Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* **2010**; 105:501–23; quiz 24.

20. Mills SC, von Roon AC, Tekkis PP, Orchard TR. Crohn's disease. *BMJ Clin Evid.* **2011**; 2011:0416.

21. Mowat C, Cole A, Windsor A, Ahmad T, Arnott I, Driscoll R, et al. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut* **2011**; 60:571–607.

22. Tilney H, Constantinides V, Heriot A, Nicolaou M, Athanasiou T, Ziprin P, et al. Comparison of laparoscopic and open ileocecal resection for Crohn's disease: a metaanalysis. *Surg Endosc Other Interv Tech.* **2006**; 20(7):1036–1044.

23. Rashidian A, Roohi P, Mehrzadi S, et al. Protective Effect of Ocimum basilicum Essential Oil Against Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *J Evid Based Complementary Altern Med.* **2016** Oct; 21(4):Np36-42.

24. Wang G, Xu B, Shi F, et al. Protective Effect of Methane-Rich Saline on Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis via Blocking the TLR4/NF- κ B/MAPK Pathway and Promoting IL-10/JAK1/STAT3-Mediated Anti-inflammatory Response. *Oxid Med Cell Longev.* **2019**; 2019:7850324.

25. Toreti VC, Sato HH, Pastore GM, Park YK. 2013. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid Based Complement Alternat Med* **2013**: 1–13

26. Bankova, Vassya & Dyulgerov, Al & Popov, S. & Marekov, N.. A GC/MS Study of the Propolis Phenolic Constituents. *Z. Naturforsch.* **1987**; 42:147-151.

27. Burdock GA.. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* **1998**; 36:347–363.

28. Boudourova-Krasteva G, Bankova V, Sforcin JM, Nikolova N, Popov S.. Phenolics from Brazilian propolis. *Z Naturforsch.* **1997**; 52c:676–679

29. Krell R. Value-Added Products from Beekeeping, *Fao Agricultural Services Bulletin.* **1996**; No. 124, Chapter 3, Pollen, <http://www.fao.org/docrep>.

30. Gray SW, Skandalakis JE. Embryology for Surgeons. *Philadelphia PA, Saunders.* **1972**, pp 129-141

31. Starck D. Embryologie, Stuttgart, Thieme, **1975**: 135-163.

32. Huisman TA, Kellenberger CJ. MR imaging characteristics of the normal fetal gastrointestinal tract and abdomen. *Eur J Radiol.* **2008 Jan**; 65(1):170-81.

33. **Lenfestey MW.** Neu J. Gastrointestinal Development: Implications for Management of Preterm and Term Infants. *Gastroenterol Clin North Am.* **2018 Dec**; 47(4):773-791.
34. **Barussaud ML, Danion J, Castagnet M, Richer JP, Faure JP.** From anatomy to laparoscopic surgery, or how to reconcile surgeons to embryology. *Surg Radiol Anat.* **2015 May**; 37(4):393-8.
35. **Christensen J.** Gross and microscopic anatomy of the large intestine. In: *The Large Intestine: Physiology, Pathophysiology, and Disease*, edited by Philips SF, Pemberton JH and Shorter RG; Raven Press, New York, **1991**, Chapter 2, pp. 13–35.
36. **Levine DS, Haggitt RC.** Normal histology of the colon. *Am J Surg Pathol.* **1989**; 13:966–984.
37. **Matteini P, Ratto F, Rossi F et al.** Photothermally-induced disordered patterns of corneal collagen revealed by SHG imaging. *Opt Express* **2009**; 17:4868–4878.
38. **Eidelman S, Lagunoff D.** The morphology of the normal human rectal biopsy. *Hum Pathol* **1972**; 3:389–401.
39. **Kunze WA, Furness JB.** The enteric nervous system and regulation of intestinal motility. *Annu Rev Physiol.* **1999**; 61:117-142.
40. **Schemann M, Neunlist M.** The human enteric nervous system. *Neurogastroenterol Motil.* **2004**;16 Suppl 1:55-59.
41. **Timmermans JP, Hens J, Adriaensen D.** Outer submucous plexus: an intrinsic nerve network involved in both secretory and motility processes in the intestine of large mammals and humans. *Anat Rec.* **2001**; 262(1):71-78.
42. **Vanner S, Macnaughton WK.** Submucosal secretomotor and vasodilator reflexes. *Neurogastroenterol Motil.* **2004**;16 Suppl 1:39-43.
43. **Rosai J.** In *Ackermans Surgical Pathology*. 8. Edition, ed: Rosai J St. Louis. Mosby Newyork, **1996**:729-799.
44. **Barbara Young et al.** *Wheater's functional histology : a text and colour atlas* (5th ed.). Churchill Livingstone/Elsevier. **2006**; pp. 263–265.
45. **Gartner and Hiatt.** *Color Atlas and Text of Histology (6th ed.)* **2014**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
46. **Bruhlin-Feichter S, Meier-Ruge W, Martucciello G, Bruder E.** Connective tissue in gut development: a key player in motility and in intestinal desmosis. *Eur J Pediatr Surg.* **2012 Dec**; 22(6):445-59ç
47. **Trelease RB.** Netter’s Surgical Anatomy Review P.R.N. Philadelphia: Elsevier, **2011**: 109-125.
48. **Standring S.** Lower Gastrointestinal Tract Surgery: Vol.1. *Laparoscopic procedures*. M Parker, W Hohenberger. Springer **2019**: 27-89.
49. **Gövsä Gökmen F.** *Sistematik Anatomi*. 1. Baskı. İzmir, İzmir Güven Kitabevi, **2008**: 493-506.
50. **Marecik S, Park J, Prasad L M.** Rectal Anatomy: Clinical Perspective. Chang G J. *Rectal Cancer Modern Approaches to Treatment*. **2018** Springer (pp. 1-23).
51. **Mahadevan V.** Anatomy of the caecum, appendix and colon. *Surgery* **2019** (Oxford). 38.

52. Deschryver–Kecskemeti, K., Eliakim, R., Green, K., and Alpers, D.H. A Novel Intracellular Pathway for Rat Intestinal Digestive Enzymes (Alkaline Phosphatase and Sucrase) via a Lamellar Particle. *Lab Invest* **1991**; 65:365–373.
53. Contanev S, Mazuruc N, Belic O. *An unusual case of colon vascularization by the inferior mesenteric artery.* J Vasc Bras. **2017 Jan.-Mar.**; 16(1):52-55.
54. Açar H İ, Kuzu A. Anatomical Planes in Rectal Cancer Surgery. *Turk J Colorectal Dis* **2019**; 29:165-170
55. Birnbaum E. **Surgical Anatomy of the Colon, Rectum, and Anus.** In: Ratto C., Parelo A., Donisi L., Litta F. (eds) Colon, Rectum and Anus: Anatomic, Physiologic and Diagnostic Bases for Disease Management. Coloproctology, vol 1. Springer, Cham. **2017**: 9-19.
56. Champagne B J, Edwards T J. (2014). *Netter's Surgical Anatomy and Approaches.* C P Delaney (Ed.). Philadelphia. by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.
57. L.J. Skandalakis and J.E. Skandalakis (eds.), *Surgical Anatomy and Technique: A pocket manual. Colon and Anorectum.* Newyork, Springer Science+Business Media. **2014**; 12:431-514.
58. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology.* Philadelphia, Pa: Saunders, **2006**.
59. Menteş B, İrkörücü O, Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D. *Kolon Fizyolojisi.* Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. İstanbul, **2004**:31-37.
60. Thomson ABR, Shaffer EA. *First Principles of Gastroenterology: The Basis of Disease and an Approach to Management Third edition.* Can J Gastroenterol Hepatol **2004**; 440-451.
61. Lindström CG, Rosengren J-E, Fork F-T. Colon of the Rat: An Anatomic, Histologic and Radiographic Investigation. *Acta Radiologica Diagnosis.* **1979**; 20(3):523-536.
62. Ghasemi-Pirbaluti M, Motaghi E, Bozorgi H. The effect of menthol on acute experimental colitis in rats. *Eur J Pharmacol.* **2017 Jun 15**; 805:101-107.
63. Wright EK, Ding NS, Niewiadomski O. Management of inflammatory bowel disease. *Med J Aust.* **2018 Sep 1**; 209(7):318-323
64. Loftus CG, Loftus EV, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Tremaine WJ, Melton LJ, Sandborn WJ. Update on the incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940-2000. *Inflamm Bowel Dis.* **2007**; 13(3):254-61.
65. Shivashankar R, Tremaine WJ, Harmsen WS, Loftus EV. Incidence and Prevalence of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in Olmsted County, Minnesota From 1970 Through 2010. *Clin Gastroenterol Hepatol.* **2017**; 15(6):857-63.
66. Sonnenberg A, McCarty DJ, Jacobsen SJ. Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. *Gastroenterology.* **1991**; 100(1):143-9.
67. Tezel A, Dokmeci G, Eskiocak M, Umit H, Soylu AR. Epidemiological features of ulcerative colitis in Trakya, Turkey. *J Int Med Res.* **2003**; 31(2):141-8.
68. Tozun N, Atug O, Imeryuz N, Hamzaoglu HO, Tiftikci A, Parlak E, et al. Members of the Turkish. Clinical

characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. *J Clin Gastroenterol.* **2009**; 43(1):51-7.

69. Chambers TJ, Morson BC. The granuloma in Crohn's disease. *Gut.* **1979**; 20(4):269-27.

70. Goldman L. *Cecil Textbook of Medicine*, 22 ed. İstanbul, Güneş Kitabevi, **2006**:861.

71. William F. Stenson. Inflammatory Bowel Disease. In: Yamada T, editor. *Textbook of Gastroenterology* Philadelphia: Williams and Wilkins; **1999**:1699-1759.

72. Geboes K, Hertogh G. Indeterminate colitis. *Inflammatory Bowel Disease.* **2003**; 9(5):324-331.

73. Kaymakoglu S. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları. *Gastroenterohepatoloji*, Nobel Tıp Kitabevi; İstanbul, **2001**:189-211.

74. Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ. Practice Parameters Committee of American College of Gastroenterology. Management of Crohn's disease in adults. *The American journal of gastroenterology* **2009**; 104:465-483.

75. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet.* **2012 Nov 3**; 380(9853):1606-19.

76. Herrinton LJ, Liu L, Lewis JD, Griffin PM, Allison J. Incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in a Northern California managed care organization, 1996-2002. *Am J Gastroenterol* **2008**; 103:1998–2006.

77. Sood A et al. "Incidence and prevalence of ulcerative colitis in Punjab, North India." *Gut* 52.11 **2003**:1587-1590.

78. Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, et al. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol* **2007**; 5:1424–29.

79. Bernstein CN, Wajda A, Svenson LW, et al. The epidemiology of inflammatory bowel disease in Canada: a population-based study. *Am J Gastroenterol* **2006**; 101:1559–68.

80. Manninen P, Karvonen AL, Huhtala H, Rasmussen M, Collin P. The epidemiology of inflammatory bowel diseases in Finland. *Scand J Gastroenterol* **2010**; 45: 1063–67.

81. Vind I, Riis L, Jess T, et al, and the DCCD study group. Increasing incidences of inflammatory bowel disease and decreasing surgery rates in Copenhagen City and County, 2003–2005: a population-based study from the Danish Crohn colitis database. *Am J Gastroenterol* **2006**; 101:1274–82.

82. Björnsson S, Jóhannsson JH. Inflammatory bowel disease in Iceland, 1990–1994: a prospective, nationwide, epidemiological study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* **2000**; 12:31–38.

83. Stewénus J, Adnerhill I, Ekelund G, et al. Ulcerative colitis and indeterminate colitis in the city of Malmö, Sweden. A 25-year incidence study. *Scand J Gastroenterol* **1995**; 30:38–43.

84. Rubin GP, Hungin AP, Kelly PJ, Ling J. Inflammatory bowel disease: epidemiology and management in an English general practice population. *Aliment Pharmacol Ther* **2000**; 14:1553–59.

85. Loftus EV Jr, Sandborn WJ. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* **2002**; 31: 1–20.
86. Bernstein CN, Rawsthorne P, Cheang M, Blanchard JF. A population-based case control study of potential risk factors for IBD. *Am J Gastroenterol* **2006**; 101:993–1002.
87. Orholm M, Munkholm P, Langholz E, Nielsen OH, Sørensen TI, Binder V. Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* **1991**; 324:84–88.
88. Monsén U, Broström O, Nordenvall B, Sörstad J, Hellers G. Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* **1987**; 22:214–18
89. Farmer RG, Michener WM, Mortimer EA. Studies of family history among patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol* **1980**; 9:271–77.
90. Konduk B, Hülal S. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarında Tanı. *Türkiye Klinikleri Akad Gastroenterol* **2005**; 1(34):16-53.
91. Hildebrand H, Karlberg J, Kristiansson B. Longitudinal growth in children and adolescents with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **1994**; 18(2):165-173.
92. Nak SG. Ülseratif kolitin Klinik Özellikleri, Doğal Seyir ve Komplikasyonları. *Türkiye Klinikleri Gastroenterohepatoloji Özel sayısı* **2009**; 2(1):13-21.
93. Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* **2006**; 12: 4807-4812.
94. Blumberg RS, Strober W. Prospects for Research in Inflammatory Bowel Disease. *JAMA* **2001**; 285:643-647.
95. Williams J.G, Hughes LE, Hallet MB. Toxic oxygen metabolite production by circulating phagocytic cells in inflammatory bowel disease. *Gut* **1990**; 31:187-193.
96. Murch, S.H., et al., Serum concentrations of tumour necrosis factor alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut* **1991**; 32(8):913-7.
97. Roach, D.R., et al., TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol* **2002**; 168(9):4620-7
98. Neumann C, Scheffold A, Rutz S. Functions and regulation of T cell-derived interleukin-10. *Semin Immunol.* **2019 Aug**; 44:101344.
99. Peyrin-Biroulet L, et al. IL-23R, a novel susceptibility gene for inflammatory bowel disease. *Med Sci (Paris)*, **2007**; 23(3):250-2.
100. Hugot J-P, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugier L, Naom I, Dupas J-L, Van Gossum A, Groupe d'Etude Therapeutique des Affections Inflammatoires Digestives, Orholm M, Bonaiti-Pellie C, Weissenbach, J, Mathew CG, Lennard-Jones, JE, Cortot A, Colombel J-F, Thomas G. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* **1996**; 379:821–823.
101. Hampe J, Schreiber S, Shaw SH, et al. A genom wide analysis provides evidence for novel linkages in

inflammatory bowel disease in a large European cohort. *Am J Hum Genet* **1999**; 64:808-16.

102. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B. Ulcerative Colitis and Crohn's Disease in an Unselected Population of Monozygotic and Dizygotic Twins. A Study of Heritability and the Influence of Smoking. *Gut* **1988**; 29:990-996.

103. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* **2006**; 81(11):1462-71.

104. Sartor RB. Microbial factors in the pathogenesis of Crohn's disease, ulcerative colitis and experimental intestinal inflammation. In: JB Kirsner (ed), *Inflammatory bowel disease*. Williams and Wilkins, Baltimore, **1999**:153-78.

105. Wirtz S, Neurath MF. Mouse models of inflammatory bowel disease. *Ad Drug Deliv Rev* **2007**; 59:1073-83.

106. Ahola T. Preventive potential of N-acetylcysteine in oxidative stres-related complications of prematurity (Dissertation). *Helsinki: Helsinki Univ*; **2004**.

107. Çetin E, Çetin N, Küçük O. Toklularda Karayolu ile taşımanın oksidan antioksidan Sistem Üzerine Etkisi, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*. **2011**; 6, 2:103-109.

108. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *The Biochemical Journal* **1984**; 222:1-15.

109. He SH. Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease [Review]. *World J Gastroenterol* **2004**; 10(3):309-18.

110. Martins NB, Peppercorn MA. Inflammatory Bowel Disease. *Am J Manag Care* **2004**; 10:544-552.

111. Grisham MB. Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. *Lancet* **1994**; 344:859-861.

112. Hanauer SB, Baert F. Medical therapy of inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am* **1994**; 78:1413-1426.

113. Pearson DC, May GR, Fick GH, Sutherland LR. Azathioprine and mercaptopurine in Crohn's disease. A meta-analysis. *Ann Intern Med* **1995**; 123:132-142.

114. Burger D, Travis S. Conventional Medical Management of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* **2011**; 140:1827-37.

115. Kaymakoğlu S, Baran B. Crohn Hastalığında İlaç Tedavisi. Akçal T, Yamaner S, Hamzaoglu İ. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları. *Türk Kolon ve Rektum Cerrahisi Derneği* **2012**; 111-129.

116. Kwaan M R, Stewart Sr D B, Dunn K B. Colon, Rectum, and Anus. Brunicardi F C (Ed.). *Schwartz's Principles of Surgery Eleventh Edition vol. 1. McGraw-Hill Education*. **2019**; 1259-1330.

117. Ford AC, Bernstein CN, Khan KJ, et al. Efficacy of biological therapies in İnflammatory Bowel Disease: Systematic Review And Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol*. **2011**; 106(4):644-59.

118. Peppercorn MA, Goldman P. The role of intestinal bacteria in the metabolism of salicylazosulfapyridine. *J Pharmacol Exp Ther*. **1972**; 181(3):555-62.

- 119. Loftus EV Jr, Kane SV, Bjorkman D.** Systematic review: shortterm adverse effects of 5-aminosalicylic acid agents in the treatment of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* **2004** 15;19(2):179-89.
- 120. Khan KJ, Dubinsky MC, Ford AC, Ullman TA, Talley NJ, Moayyedi P.** Efficacy of immunosuppressive therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* **2011**; 106: 630-642.
- 121. Kandiel A, Fraser AG, Korelitz BI, Brensinger C, Lewis JD.** Increased risk of lymphoma among inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gut* **2005**; 54: 1121-1125
- 122. Feagan BG, Alfadhli A.** Methotrexate in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* **2004**; 33: 407-20.
- 123. Khan N, Abbas AM, Lichtenstein GR, Loftus EV, Bazzano LA.** Risk of lymphoma in patients with ulcerative colitis treated with thiopurines: a nationwide retrospective cohort study. *Gastroenterology*, **2013**; 145:1007-15.
- 124. Brynskov J, Freund L, Rasmussen SN, Lauritsen K, de Muckadell OS, Williams N, MacDonald AS, Tanton R, Molina F, Campanini MC.** A placebo-controlled, double-blind, randomized trial of cyclosporine therapy in active chronic Crohn's disease. *N Engl J Med* **1989**; 321: 845-850.
- 125. van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GN, Woody J.** Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* **1995**; 109:129-135.
- 126. Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, Panaccione R, Wolf D, Pollack P.** Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology* **2006**; 130:323-33.
- 127. Schreiber S, Lawrance IC, Thomsen OØ, Hanauer SB, Bloomfield R, Sandborn WJ.** Randomised clinical trial: certolizumab pegol for fistulas in Crohn's disease – subgroup results from a placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* **2011**; 33:185-193.
- 128. Van Assche G, Van Ranst M, Sciot R, Dubois B, Vermeire S, Noman M, Verbeeck J, Geboes K, Robberecht W, Rutgeerts P.** Progressive multifocal leukoencephalopathy after natalizumab therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* **2005**; 353:362-368.
- 129. Konduk B T, Gülşen M T.** İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında İmmünsüpresif Tedaviye Ne Zaman Başlanır ? *Güncel gastroenteroloji.* **2017**; 21(4):317-327.
- 130. Sayek İ.** *İnce Barsağın İnflamatuvar Barsak Hastalıkları:* Crohn Hastalığı, ed. Remzi F. Vol. 4. **2013**. 1307.
- 131. Arafa HM, Hemeida RA, El-Bahrawy AI, Hamada FM.** Prophylactic role of curcumin in dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis murine model. *Food Chem Toxicol* **2009**; 47:1311-7.
- 132. Salh B, Assi K, Templeman V, Parhar K, Owen D, Gomez-Munoz A, et al.** Curcumin attenuates DNB-induced murine colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **2003**; 285:235-43.
- 133. Venkataranganna MV, Rafiq M, Gopumadhavan S, Peer G, Babu UV, Mitra SK.** NCB-02 (standardized Curcumin preparation) protects dinitrochlorobenzene- induced colitis through down-regulation of NFkappa-B and

iNOS. *World J Gastroenterol* **2007**; 13:1103-7.

134. Topcu-Tarlacalisir Y, Akpolat M, Uz YH, Kizilay G, Sapmaz-Metin M, Cerkezkayabekir A, et al. Effects of curcumin on apoptosis and oxidoinflammatory regulation in a rat model of acetic acid-induced colitis: The roles of c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Med Food* **2013**; 16:296-305.

135. Ukil A, Maity S, Karmakar S, Datta N, Vedasiromoni JR, Das PK. Curcumin, the major component of food flavour turmeric, reduces mucosal injury in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Br J Pharmacol* **2003**; 139:209-18.

136. Zhang M, Deng CS, Zheng JJ, Xia J. Curcumin regulated shift from Th1 to Th2 in trinitrobenzene sulphonic acid-induced chronic colitis. *Acta Pharmacol Sin* **2006**; 27:1071-7.

137. Uno JK, Kolek OI, Hines ER, Xu H, Timmermann BN, Kiela PR, et al. The role of tumor necrosis factor alpha in down-regulation of osteoblast Pex gene expression in experimental murine colitis. *Gastroenterology* **2006**; 131:497-509.

138. Watt J, Marcus R. Ulceration of the colon in guinea-pigs fed carrageenin. *Proc. nutr. Soc* **1970**; 29.

139. Boirivant M, Fuss IJ, Chu A & Strober W. Oxazolone colitis: a murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4. *J. Exp. Med* **1998**; 188:1929–1939.

140. Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS & Strober W. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity* **2002**; 17:629–638.

141. Wallace JL, Whittle BJR and Boughton-Smith NK. Prostaglandin protection of rat colonic mucosa from damage induced by ethanol. *Dig Dis Sci* **1985**; 30:866-876.

142. Miampamba M, Chéry-Croze S, Gorry F, Berger F, Chayvialle JA. Inflammation of the colonic wall induced by formalin as a model of acute visceral pain. *Pain*. **1994 Jun**; 57(3):327-334.

143. MacPherson BR, Pfeiffer CJ. Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion* **1978**; 17:135–50.

144. Qin HY, Wu JC, Tong XD, et al. Systematic review of animal models of post-infectious/post-inflammatory irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol*, **2011**; 46(2):164-174.

145. Al-Rejaie SS, Abuhashish HM, Al-Enazi MM, et al. Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *World J Gastroenterol*, **2013**; 19(34):5633-5644.

146. Tahan G, Aytac E, Aytekin H, et al. Vitamin E has a dual effect of anti-inflammatory and antioxidant activities in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Can J Surg*, **2011**; 54(5):333-338.

147. Low D, Nguyen DD, Mizoguchi E. Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *Drug Des Devel Ther*, **2013**; 7:1341-1357.

148. Roediger WEW, Nance S. Metabolic induction of experimental ulcerative colitis by inhibition of fatty acid oxidation. *Br J Exp Pathol* **1986**; 67:773-782.

149. Goyal N, Rana A, Ahlawat A, Bijjem KR, Kumar P. Animal models of inflammatory bowel disease: a review. *Inflammopharmacology*, **2014**; 22(4):219-233.

- 150. Fabia R, Willén R, Ar'Rajab A, Andersson R, Ahrén B, Bengmark S.** Acetic Acid-Induced Colitis in the Rat: A Reproducible Experimental Model for Acute Ulcerative Colitis. *Eur Surg Res* **1992**; 24:211-225.
- 151. Del Maestro R, Thow HH, Bjark J, Planker M, Arfors KE.** Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiol Scand* **1980**; 492:43-7.
- 152. Halliwell B, Gutteridge JMC.** *Free Radicals in Biology and Medicine 3rd ed.* New York: Oxford University Press. **1999**. 10-121.
- 153. Delibaş N. , Özcankaya R.** Serbest Radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. **2009**; 2(3).
- 154. Keusch GT.** Antioxidants in infection. *J Nutr Sci Vit* **1993**; 39:23-33.
- 155. Karabulut H, Gülay MŞ.** Serbest radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* **2016**; 4(1):50-59.
- 156. Kellogg EW, Irwin FI.** Liposome oxidation and erythrocytelysis by enzymically generated superoxide and hydrogenperoxide. *J Biological Chemistry* **1977**; 262:6121-6728.
- 157. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Prior W.** Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* **1987**; 107:526-645.
- 158. Onat T, Emerk K, Sözmen EY.** *İnsan biyokimyası II. Baskı*, Ankara: Palme Yayıncılık, **2006**.
- 159. Altınışık M.** ADÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD. *Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar*. ADÜ Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, *Aydın* **2000**.
- 160. Colleen S, Marks AD, Lieberman M.** *Marks' Temel Tıbbi Biyokimyası "Klinik Yaklaşım"*. 2. Baskı, Ankara: Güneş Tıp Yayınları, **2007**.
- 161. Akkuş İ.** *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Konya: Mimoza Yayınları, **1995**.
- 162. Betteridge DJ.** What is oxidative stress? *Metabolism* **2000**; 49(2 Suppl 1):3-8.
- 163. Halliwell B.** Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* **1987**; 1(5):358-364.
- 164. Halliwell B.** Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res.* **1999**; 31(4):261-272.
- 165. Lloyd RV, Hanna PM, Mason RP.** The origin of the hydroxyl radical oxygen in the Fenton reaction. *Free Radic Biol Med.* **1997**; 22(5):885-888.
- 166. Dawson VL,vDawson TM.** Nitric oxide actions in neurochemistry. *Neurochem Int* **1996 Aug**; 29(2):97-110.
- 167. Bianchi G, Marchesini G, Fabbri A, et al.** Lipoperoxide plasma levels in patients with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* **1997**; 44:784-788.
- 168. Barber DA, Harris SR.** Oxygen free radicals and antioxidants. *American Pharmacy* **1994**; 34 (9):26-35.
- 169. Sipe HJ, Jordan SJ, Hanna PM, et al.** The metabolism of 17 beta estradiol by lactoperoxidase: a possible source of oxidative stress in breast cancer. *Carcinogenesis* **1994**; 15 (11):2637-43.
- 170. Cheeseman KH.** Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Molecular Aspects of Medicine* **1993**; 14 (3): 191-7.

171. **Jesberger JA, Richarrdson JS.** Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Intern J Neuroscience* **1991**; 57:1-17.
172. **Babizhayev MA, Costa EB.** Lipid perokside and reactive oxygen species generating systems of the crystalline lens. *Biochimica Biphysica Acta* **1994**; 1225 (3):326-37.
173. **Bhuyan KC, Bhuyan DK, Chiu W, et al.** Deferal-Mn (III) in the therapy of diquat-induced cataract in rabbit. *Arcch Biochem Biophysics* **1991**; 288 (2):525-32.
174. **Devasagayam TPA, Boloor KK, Ramsarma T.** Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian J. Biochem. Biophys.* **2003**; 40(5):300-308.
175. **Rahman K.** Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin.Interv.Aging*, **2007**; 2(2):219-236.
176. **Droge W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* **2002**; 82(1):47-95
177. **Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF.** Quantitive assay for acute intestinal, inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology*, **1984**; 87(6):1344-1350.
178. **Segal BH, Leto TL, Gallin JI, Malech HL, Holland SM.** Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. *Medicine (Baltimore)*. **2000**; 79(3):170-200.
179. **Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM.** Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *J Leukoc Biol.* **2013**; 93(2):185-198.
180. **Nauseef, William M.** "Myeloperoxidase in human neutrophil host defence." *Cellular microbiology* **2014**; 16.8:1146-1155.
181. **Aydemir B, Karadağ Sarı E.** Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal.* **2009**; 2(2):56-60.
182. **Sen S, Chakraborty R.** The Role of Antioxidants in Human Health. *American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy.* **2011**; Chapter 1:1-37.
183. **Freeman BA, Crapo TD.** Biology of disease free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation*, **1982**; 47(5):412-25.
184. **Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B.** Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* **2010**; 3(1):91-100.
185. **Valko M, Izakovic M, Mazur M, Christopher J, Telser J.** Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol. Cell. Biochem.* **2004**; 266(1-2):37-56.
186. **Young IS, Woodside JV.** Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* **2001**; 54(3):176-186.
187. **Gao F, Kinnula VL, Myllärniemi M, Oury TD.** Extracellular Superoxide Dismutase in Pulmonary Fibrosis. *Antioxid Redox Signal.* **2008**; 10(2):343-354.
188. **Halliwell B.** Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet*, **1994**;

344:721-724.

189. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, **1984**; 105:121-126.

190. Limon-Pacheco J, Gonshebbat ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res.* **2009**; 674(1-2):137-147.

191. Cheung CCC, Zheng GJ, Li AMY, Richardson BJ, Lam PKS. Relationship Between Tissue Concentrations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Antioxidative Responses of Marine Mussels, *Perna viridis*. *Aquat Toxicol.* **2001**; 52(3-4):189-203.

192. Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*. **1988**; 27(4):969-978.

193. Garewal HS. *Antioxidants and disease prevention*. Florida: CRC Press LLC, **1997**; 3-19.

194. Özben T. *Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants, Pathological and Physiological Significance*. Nato ASI Series ed: New York Plenum Press, **1998**; 31-35.

195. Montgomery R, Conway TW, Spector AA, Chappell D. *Biochemistry A Case-oriented Approach Sixth edition*, Mosby-Year Book, Inc, **1996**.

196. Thorburn DR, Kuchel PW. Regulation of the Human Erythrocyte Hexose Monophosphate Shunt Under Conditions of the Oxidative Stress. *Eur J Biochem* **1985**; 150:371-86.

197. Dickinson DA, Forman HJ. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol* **2002**; 64:1019–1026.

198. Bast A, Haenen GRM, Doelman CJA. Oxidants and Antioxidants: State of the Art. *Am J Med* **1991**; 91:2-13.

199. Boice A, Bouchier-Hayes L. Targeting apoptotic caspases in cancer. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* **2020**; 1867:118688.

200. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international* **2019**; 43:582-92.

201. Krajewski S, Krajewska M, Ellerby LM, Welsh K, Xie Z, Deveraux QL, Salvesen GS, Bredesen DE, Rosenthal RE, Fiskum G, Reed JC. Release of caspase-9 from mitochondria during neuronal apoptosis and cerebral ischemia. *Proc Natl Acad Sci, USA.* **1999**; 96: 5752- 5757.

202. Zeiss CJ. The apoptosis-Necrosis Continuum: Insights From Genetically Altered Mice. *Veterinary Pathology* **2003**; 40:481–495.

203. Zhang A, WU Y, Lai HW, Yew T. Apoptosis - A Brief Review. *Neuroembryology* **2004**; 05:47–59.

204. Jain JK, Li A, Nucatola DL, Minoo P, Felix JC. Nonoxynol-9 Induces Apoptosis of Endometrial Explants by Both Caspase Dependent and Independent Apoptotic Pathways. *Biology of Reproduction* **2005**; 73:382–388.

205. Green DR. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors. *Cell* **2000**; 102:1–4

206. Gown A. M., & Willingham, M. C. Improved detection of apoptotic cells in archival paraffin sections: immunohistochemistry using antibodies to cleaved caspase 3. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*,

2002; 50(4):449-454.

207. Öktem S, Özhan M H, Özol D. Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi* 2001; 2 (1):91-95.

208. GHISALBERTI, E. L. Propolis: A review, *Bee World* 1979; 60:59-84.

209. KUTLUCA S, GENÇ F, KORKMAZ A. *Propolis*. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi 2006; Samsun, p. 57.

210. CRANE, E. *Bees and Beekeeping*. Science, Practice and World Resources. New York: Cornell University Pres, 1990; pp. 593.

211. SİLİCİ, S. 2003. Propolisin Bazı Antimikrobiyal ve Farmakolojik Aktiviteleri Üzerine bir Araştırma, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim dalı, Adana.

212. Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B.C., Ceyran, G. Önemli bir arı ürünü: Propolis, *Uludağ Bee Journal*, 2002; 10-24.

213. De Castro, S.L. Propolis: Biological and Pharmacological Activities. Therapeutic Uses of This Bee-Product. *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences*. 2001; 3:49-83.

214. Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids [published correction appears in *Int J Antimicrob Agents*. 2006 Feb;27(2):181]. *Int J Antimicrob Agents*. 2005; 26(5):343-356.

215. Kumazawa S, Ueda R, Hamasaka T, Fukumoto S, Fujimoto T, Nakayama T. Antioxidant prenylated flavonoids from propolis collected in Okinawa, Japan. *J Agric Food Chem*. 2007; 55(19):7722-7725.

216. Lagouri V., Prasianaki D., Krysta F. Antioxidant Properties and Phenolic Composition of Greek Propolis Extracts. *International Journal of Food Properties*. 2014; 17:511-522.

217. MORENO, M.I.N., ISLA, M.I., SAMPIETRO, A.R., VATTUONE, M.A. "Comparison of The Free Radical-Scavenging Activity of Propolis from Several Regions of Argentina" *J.Ethnopharmacol*. 2000; 71:109-114.

218. Hosnuter, M., Gurel, A., Babuccu, O., Armutcu, F., Kargi, E. and Isikdemir, A. The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns*, vol. 30, 2004; 2:121-125.

219. Yan Yanga, Xu Zhangb, Min Xua, Xin Wuc, Feipeng Zhaod, Chengzhi Zhaoe. Quercetin attenuates collagen-induced arthritis by restoration of Th17/Treg balance and activation of Heme Oxygenase 1-mediated anti-inflammatory effect. *International Immunopharmacology*. 2018; 54:153-162.

220. Araujo, M. A. R., Liberio, S. A., Guerra, R. N. M., Ribeiro, M. N. S., Nascimento, R. F. R. Mechanisms of action underlying the anti- inflammatory and immunomodulatory effects of propolis: a brief review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2021; v. 22, n. 1, p. 208-219.

221. Martos, M.V., Navajas, Y.R., Fernandez, L. J. and Alvarez, J.A.P. Functional Properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *Journal of Food Science*. 2008; Vol. 73, Nr. 9.

222. Wallace JL, MacNaughton WK, Morris GP, Beck PL. Inhibition of leukotriene synthesis markedly

accelerates healing in a rat model of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. **1989** Jan; 96(1):29-36.

223. Gaudio E, Taddei G, Vetusch A, Sferra R, Frieri G, Ricciardi G, Caprilli R. Dextran sulfate sodium (DSS) colitis in rats: clinical, structural, and ultrastructural aspects. *Dig Dis Sci*. **1999 Jul**; 44(7):1458-75.

224. Gonçalves CC, Hernandez L, Bersani-Amado CA, Franco SL, Silva JF, Natali MR. Use of propolis hydroalcoholic extract to treat colitis experimentally induced in rats by 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic Acid. *Evid Based Complement Alternat Med*. **2013**; 2013:853976.

225. Dilger K, Trenk D, Rössle M, Cap M, Zähringer A, Wacheck V, Remmler C, Cascorbi I, Kreisel W, Novacek G. A clinical trial on absorption and N-acetylation of oral and rectal mesalazine. *Eur J Clin Invest*. **2007 Jul**; 37(7):558-65.

226. Oruç N, Kutluana U, Sezak M, Yenisey Ç, Gürsel D, Aydemir Ş, Tunçyürek M, Yönetçi N, Özütemiz Ö. Asetik asitle oluşturulan deneysel kolit modelinde leflunomid'in etkinliğinin araştırılması. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, **2008**; 7(2):67-72.

227. Sehn E, Hernandez L, Franco SL, Gonçalves CC, Baesso ML. Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing. *Anal Chim Acta*. **2009**; 635(1):115-120.228.

228. Bretz WA, Chiego DJ Jr, Marcucci MC, Cunha I, Custódio A, Schneider LG. Preliminary report on the effects of propolis on wound healing in the dental pulp. *Z Naturforsch C J Biosci*. **1998**; 53(11-12):1045-1048.

229. Kerimoğlu G, Baki ME, Çakıroğlu Akbulut K. İntraartiküler propolis ekstraktının erişkin sıçanlarda deneysel osteoartrit tedavisinde etkinliği. *Dicle Tıp Dergisi* **2017**; 44(4):325-332.

230. Ruiz-Hurtado PA, Garduño-Siciliano L, Domínguez-Verano P, et al. Propolis and Its Gastroprotective Effects on NSAID-Induced Gastric Ulcer Disease: A Systematic Review. *Nutrients*. **2021**; 13(9):3169.

231. Valença I, Morais-Santos F, Miranda-Gonçalves V, Ferreira AM, Almeida-Aguiar C, Baltazar F. Portuguese propolis disturbs glycolytic metabolism of human colorectal cancer in vitro. *BMC Complement Altern Med*. **2013**; 13:184.

232. Borrelli F, Izzo AA, Di Carlo G, et al. Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon. *Fitoterapia*. **2002**; 73(Suppl 1):38-43.

233. Kročko, Miroslav, et al. Effect of nutrition with propolis and bee pollen supplements on bacteria colonization pattern in gastrointestinal tract of broiler chickens. *Animal Science and Biotechnologies*. **2012**; **45(1):63-67**.

234. Wang K, Jin X, Li Q, et al. Propolis from Different Geographic Origins Decreases Intestinal Inflammation and Bacteroides spp. Populations in a Model of DSS-Induced Colitis. *Mol Nutr Food Res*. **2018**; 62(17):e1800080.

235. Khan MN, Lane ME, McCarron PA, Tambuwala MM. Caffeic acid phenethyl ester is protective in experimental ulcerative colitis via reduction in levels of pro-inflammatory mediators and enhancement of epithelial barrier function. *Inflammopharmacology*. **2018**; 26(2):561-569.

236. Aslan A, Temiz M, Atik E, et al. Effectiveness of mesalamine and propolis in experimental colitis. *Adv Ther*. **2007**; 24(5):1085-1097.

- 237. Barbosa Bezerra G, de Menezes de Souza L, Dos Santos AS, et al.** Hydroalcoholic extract of Brazilian red propolis exerts protective effects on acetic acid-induced ulcerative colitis in a rodent model. *Biomed Pharmacother.* **2017**; 85:687-696.
- 238. Okamoto Y, Hara T, Ebato T, Fukui T, Masuzawa T.** Brazilian propolis ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice by inhibiting Th1 differentiation. *Int Immunopharmacol.* **2013**; 16(2):178-183.
- 239. Liu X, Wang JM.** Iridoid glycosides fraction of *Folium syringae* leaves modulates NF-kappaB signal pathway and intestinal epithelial cells apoptosis in experimental colitis. *PLoS One* **2011**; 6: e24740.
- 240. Crespo I, San-Miguel B, Prause C, Marroni N, Cuevas MJ, et al.** Glutamine treatment attenuates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in TNBS-induced colitis. *PLoS One* **2012**; 7: e50407.
- 241. Murad H, Ahmed O, Alqurashi T, Hussien M.** Olmesartan medoxomil self-microemulsifying drug delivery system reverses apoptosis and improves cell adhesion in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Drug Deliv.* **2022**; 29(1):2017-2028.
- 242. Vrdoljak J, Kumric M, Vilovic M, et al.** Effects of Olive Oil and Its Components on Intestinal Inflammation and Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients.* **2022**; 14(4):757.
- 243. Sánchez-Fidalgo S, Sanchez De Ibargüen L, Cárdeno A, Alarcon De La Lastra C.** Influence of extra virgin olive oil diet enriched with hydroxytyrosol in a chronic DSS colitis model. *Eur. J. Nutr.* **2011**; 51:497–506.
- 244. Sánchez-Fidalgo S, Cárdeno A, Hidalgo MS, Soto MA, de la Lastra CA.** Dietary extra virgin olive oil polyphenols supplementation modulates DSS-induced chronic colitis in mice. *J. Nutr. Biochem.* **2013**; 24:1401–1413.
- 245. Sánchez-Fidalgo S, Cárdeno A, Hidalgo MS, Soto MA, Villegas I, Rosillo MA, de la Lastra CA.** Dietary unsaponifiable fraction from extra virgin olive oil supplementation attenuates acute ulcerative colitis in mice. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2013**; 48:572–581.

