



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA TNBS İLE OLUŞTURULAN
DENEYSEL KOLİT MODELİNDE SALVIA
OFFICINALIS'İN (ADAÇAYI) ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FİLİZ GÖKALP

DANIŞMAN

Doç. Dr. Turhan DOST

AYDIN-2011

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA TNBS İLE OLUŞTURULAN
DENEYSEL KOLİT MODELİNDE SALVIA
OFFICINALIS'İN (ADAÇAYI) ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. FİLİZ GÖKALP

DANIŞMAN

Doç. Dr. Turhan DOST

AYDIN-2011

Bu araştırma ADÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TPF-10004 nolu
proje olarak desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

FARMAKOLOJİ uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle eğitimimde büyük katkı ve emekleri olan, her konuda destek ve yardımlarını gördüğüm sayın hocalarım; rektörümüz Prof. Dr. Mustafa BİRİNCİOĞLU, Doç. Dr. Turhan DOST, Yrd. Doç. Dr. İbrahim TUĞRUL, Yrd. Doç. Dr. Buket DEMİRCİ ve Yrd. Doç. Dr. Ömer DEMİR' e teşekkür ederim.

Tez danışmanım Doç. Dr. Turhan DOST' a yardımlarından ve desteklerinden dolayı ayrıca teşekkür ederim.

Bu çalışmanın oluşturulması sırasında tüm aşamalarında sağladığı destek ve yardımları ile tezin tamamlanmasında büyük katkıları olan Biyokimya Anabilim Dalı' ndan sayın Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY' e çok teşekkür ederim. Ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca birlikte bilgi alışverişinde bulunduğum çok değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Hakan ÖZKAYRAN' a, Uzm. Dr. Serpil ÇEÇEN' e, Uzm. Dr. Salih COŞKUN' a ve Arş. Gör. Dr. Özlem ÖZ' e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca deney hayvanları bakıcısı Sevinç TOMBUL' a da teşekkür ederim.

Tüm tıp eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman yanımda hissettiğim biricik kardeşim Yeliz GÖKALP' e ve değerli aileme sevgi ve saygılarımı sunar, sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Filiz GÖKALP

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO DİZİNİ	V
ŞEKİL DİZİNİ	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
RESİMLER DİZİNİ	X
1- GİRİŞ ve AMAÇ	1
2- GENEL BİLGİLER	2
2.1. İnflamatuar Barsak Hastalıkları	2
2.1.1. Ülseratif Kolit	7
2.1.2. Crohn Hastalığı	10
2.2.TEDAVİ	12
2.2.1. Aminosalisilatlar	13
2.2.2. Kortikosteroidler	13
2.2.3. İmmunsupresifler	14
2.2.4. Antibiyotikler	14
2.2.5. Yeni Tedaviler	14
2.2.6. Cerrahi Tedavi	15
2.3. Trinitrobenzen Sulfonik Asit Kolit Modeli	15
2.4. Serbest Oksijen Radikalleri	15
2.4.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)	16
2.4.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	16
2.4.3. Hidroksil Radikali ($OH^\cdot$)	17

2.4.4. Singlet Oksijen (O_2)	17
2.4.5. NO (Nitrik Oksit)	17
2.5. Vücutun Antioksidan Savunma Mekanizmaları	18
2.5.1. Süperoksit Dismutaz	18
2.5.2. Glutasyon	19
2.5.3. Glutasyon Peroksidaz	19
2.5.4. Glutasyon Redüktaz	19
2.5.5. Katalaz	19
2.6. Salvia Officinalis (Adaçayı)	20
3- GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Deney Hayvanları	23
3.2. Kolit Oluşturma	23
3.3. Gruplar	23
3.4. Kullanılan Kimyasallar	23
3.5. Biyokimyasal İşlemler	28
3.5.1. Doku örneklerinin Hazırlanması	28
3.5.2. Katalaz Ölçüm Yöntemi	28
3.5.3. MDA Ölçüm Yöntemi	28
3.5.4. GSH-Px Ölçüm Yöntemi	29
3.5.5. GR Ölçüm Yöntemi	29
3.5.6. Cu,Zn SOD Ölçüm Yöntemi	29
3.5.7. NO (nitrit+nitrat) Ölçüm Yöntemi	30
3.5.8. MPO ölçümü	30
3.6. İstatistiksel Analiz	30
3.7. Kullanılan Malzemeler ve Aletler	31
4- BULGULAR	32

4.1. Makroskopik Bulgular	32
4.2. Biyokimyasal Bulgular	34
4.2.1. <i>Katalaz (CAT)</i>	36
4.2.2. <i>Myeloperoksidaz (MPO)</i>	37
4.2.3. <i>Malonil Dialdehit (MDA)</i>	38
4.2.4. <i>Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)</i>	39
4.2.5. <i>Nitrik oksid (NO)</i>	40
4.2.6. <i>Süperoksit Dismutaz (SOD)</i>	41
4.2.7. <i>Glutasyon Redüktaz (GR)</i>	42
5- TARTIŞMA	43
6- SONUÇ VE ÖNERİLER	50
7- ÖZET	51
8- SUMMARY	53
9- KISITLILIKLAR	55
10- KAYNAKLAR	56

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo I: Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı arasındaki farklar	6
Tablo II: Ülseratif Kolit Tutulumuna Göre Montreal Klasifikasyonu	8
Tablo III: Ülseratif Kolit Ciddiyetine Göre Montreal Klasifikasyonu	8
Tablo IV: Harvey-Bradshaw indeksi	11
Tablo V: Kolon mukozasının makroskopik skorelama kriterleri	25
Tablo VI: Salvia officinalisin kimyasal bileşimi	26
Tablo VII :Salvia officinalisin LD 50 dozları	26
Tablo VIII: Grupların üçüncü gününe ait doku enzim düzeyleri	34
Tablo IX: Grupların yedinci gününe ait doku enzim düzeyleri	35

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1:İBH etiyojijisinde genetik, çevresel ve konakçı immün cevap faktörleri	4
Şekil 2: Salvia cinsinin içerdğii aktif bileşiklerin kimyasal yapısı (Monoterpenler)	22
Şekil 3: Üçüncü günde makroskopik skorlamanın ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arasında karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	32
Şekil 4: Yedinci günde makroskopik skorlamanın ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arasında karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	33
Şekil 5: Üçüncü ve yedinci.günlerde doku katalaz (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	36
Şekil 6: Üçüncü ve yedinci günlerde doku MPO (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	37
Şekil 7: Üçüncü ve yedinci günlerde doku MDA (micromol/g yaş doku) düzeylerinin ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	38
Şekil 8: Üçüncü ve yedinci günlerde doku GSH-Px (mU/g yaş doku) düzeylerinin ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	39
Şekil 9: Üçüncü ve yedinci günlerde doku NO (mikromol/g yaş doku) düzeylerinin ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	40
Şekil 10: Üçüncü ve yedinci günlerde doku SOD (ng/g yaş doku) düzeylerinin ortalama ± standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi	41

Şekil 11: Üçüncü ve yedinci günlerde doku GR (mU/g yaş doku) düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALP	: Alkalen fosfataz
ASCA	: Antisaccharomyces cerevisae antikoru
5-ASA	: 5- Amino salisilik asit
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
CAT	: Katalaz
CAPE	: Kafeik asit fenetil ester
CH	: Crohn Hastalığı
CMV	: Sitomegalovirüs
CRP	: C- Reaktif Protein
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
ESR	: Eritrosit sedimentasyon hızı
FAD	: Flavin adenin dinükleotid
G-CSF	: Granülosit koloni stimülan faktör
GGT	: Gama glutamil transferaz
GİS	: Gastrointestinal Sistem
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
Hb	: Hemoglobin
HETAB	: Heksadesiltrimetilamonyum bromid
HLA	: Human lökosit antijen
IL	: İnterlökin
ICAM-1	: İntrasellüler adezyon molekülü -1
İBH	: İnflamatuvar Barsak Hastalıkları
İK	: İndetermine Kolit
İR	: İskemi Reperfüzyon
MDA	: Malonil Dialdehid
MPO	: Myeloperoksidaz
NAC	: N-asetil sistein
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen

NO	: Nitrik Oksid
O⁻₂	: Süperoksit radikali
OH⁻	: Hidroksil radikali
PMNL	: Polimorfo nükleer lökosit
ROM	: Reaktif oksijen metabolitleri
RNA	: Ribonükleik asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
SO	: Salvia officinalis
TMB	: Tetrametil benzidin
TNBS	: Trinitrobenzen sülfonik asit
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör –alfa
ÜK	: Ülseratif Kolit

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 1: Adaçayı (<i>Salvia officinalis</i>)’in görünümü	21
Resim 2: <i>Salvia officinalis</i> (Adaçayı) sıvı extresinin gavaj yoluyla sıçanlara verilmesi işlemi	27
Resim 3: İntrakardiyak kan alma işlemi	27

1-GİRİŞ VE AMAÇ

İdiyopatik inflamatuvar barsak hastalıkları (İBH), ince ve kalın barsağın çeşitli bölge ve katmanlarını tutabilen, kronik inflamasyonla seyreden ancak etyopatogenezi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış bir hastalık grubudur. Klasik olarak Ülseratif kolit (ÜK), Crohn hastalığı (CH) ve her ikisinin arasında yer alan İndetermine Kolit (İK), İBH ortak başlığı altında yer almaktadır. Bu gruptaki hastalıkların başlıca ortak özellikleri; genetik yatkınlık, alevlenme-remisyon dönemleri ile tanımlanan klinik seyir, barsak dışı belirtiler ve uzun süreli hastalıkta görülen kanser riskidir (1).

Kolit üzerine yapılan çok sayıdaki araştırma sonucunda etkinliği gösterilen tedavi yöntemlerine rağmen halen başarılı şekilde tedavi mümkün olamamaktadır. Hastalığın başlama, ilerleme ve kronikleşme aşamalarının açıklanması için yapılan çalışmaların çoğunluğu B ve T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller, sitokinler ve inflamasyon mediyatörleri üzerine yoğunlaşmıştır. Son yıllarda ise reaktif oksijen metabolitlerinin (ROM) inflamasyon üzerindeki etkisi ile ilgili giderek artan sayıda yayın bulunmaktadır. Aynı zamanda, kolon da dahil olmak üzere, gastrointestinal sistemin bu metabolitleri oluşturduğu gösterilmiştir (2). İBH hastalarında artmış proinflamatuvar sitokin (TNF-alfa, IL-1, vb.) düzeyleri tespit edilmiştir (3, 4).

Kolit; kolon mukozasını tutan, barsak fonksiyonlarında değişiklik ve intestinal inflamasyon semptomları oluşturan inflamatuvar bir süreçtir. Klinik olarak semptomlar olan kanlı diare, abdominal ağrı, ateş, kilo kaybı inflamasyonun ağırlığına göre ortaya çıkar. Hastanın yaşam kalitesini etkileyen kolitin tedavisinde yeni yöntemler geliştirilmektedir (5).

Diyetle antioksidan bileşiklerin alımı ve biyolojik antioksidan mekanizmaları iyileştiren bazı bileşikler, oksidatif strese karşı bozukluklar ve karsinojenik olayların tedavisinde yardımcı olabilir. Naturel bitki ürünleri bu amaçla çok uzun yıllardan beri ampirik olarak kullanılmaktadır. Günümüzde bu ürünlerin reklam yoluyla tanıtımları son derece artmış olup internet ve televizyon yoluyla daha kolay ulaşılabilir hale gelmişlerdir (6). İnsanoğlu varolduğundan bu yana bitkileri değişik amaçlar için kullanagelmıştır. Bitkiler gıda, yakacak, liflerinden giyecek, baharat, bitkisel boya, peyzaj mimarlığı, parfümeri kozmetik ve daha birçok kullanımının yanında tıbbi bitki olarak tedavide de kullanılmaktadır (7). *Salvia officinalis*, Akdeniz ülkelerinde yetişen ve geniş bir kullanım alanı olan aromatik

ve tıbbi bir bitkidir. *Salvia officinalis*in antiinflamatuvar, hipoglisemik, antimutajenik aktiviteler gösteren birçok farklı tipi vardır (6).

Bu çalışmada, sıçanlarda trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS)'ye bağlı deneysel kolit modelinde adaçayının (*Salvia officinalis*) antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin mevcut olup olmadığı araştırılacaktır. Olumlu bir etki saptandığı takdirde inflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine katkıda bulunulacaktır.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları

ÜK ve CH'nı içeren inflamatuvar barsak hastalıkları, gastrointestinal kanalın kronik inflamatuvar hastalıklarıdır. Bunlar klinik, endoskopik ve histolojik özelliklerinin birleşimi ile teşhis edilirler, ancak hiçbir tek bulgu, bir veya diğer hastalık için kesin tanısal değildir. Üstelik, bazı hastalar iki hastalık arasına düşen klinik bir tabloya sahiptir ve bunların tanımlanmamış kolit olduğu söylenir (8). Mikroskopik kolit (lenfositik kolit ve kollajenöz kolit), tam sınıflandırılamayan kolit, bakteriyel ve parazitik infeksiyonlar, iskemik barsak hastalıkları ve radyasyon koliti de İBH olarak değerlendirilmektedir (9).

Hipokrat'ın yazılarından öğrendiğimize göre eskiden beri bilinen kronik İBH günümüzde de insanlar için sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Ayrıca uzun yıllar infeksiyon hastalıkları ile İBH arasındaki farklılık tam olarak açıklanamamıştır. İ.Ö 400'lü yıllarda Hipokrat anal fistülü tanımlamış, M.S 607-690'da Paul isimli bir hekim diyareyi durduran afyonun, bağırsak ülseri ve dizanteri tedavisinde de kullanılabileceğini göstermiştir (10). Wilks ve Moxon 1875'te ülseratif koliti tanımlamışlardır. Granülomatöz inflamatuvar barsak hastalığı ayrı bir antite olarak 1932'de Crohn ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Bu bildiride terminal ileumda sınırlı hastalığı bulunan 14 hasta sunulmuştur. 1960'da Lockhard-Mummery ve Morson granülomatöz koliti ülseratif kolitten tamamıyla ayırmış, her birinin ayırıcı tanısı için gerekli kriterleri ortaya koymuşlardır (11).

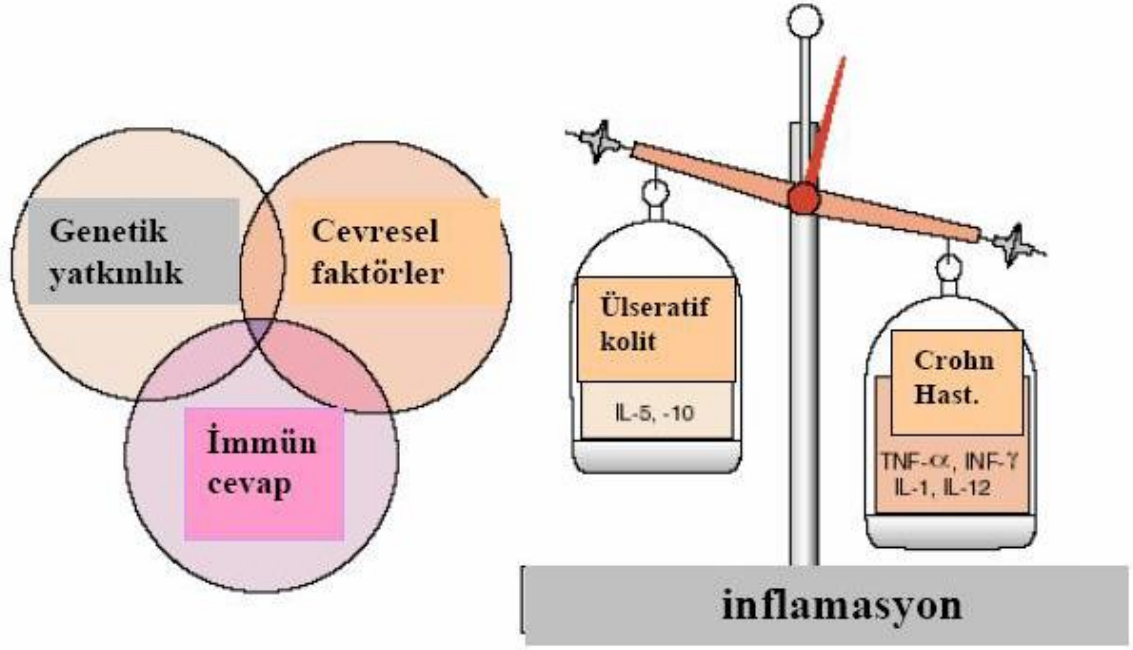
İBH'nda tedavi, etiyoloji tam belli olmaması nedeniyle semptomatiktir. Medikal tedavide 5-aminosalisilat türevleri, immünosüpresif ajanlar ve kortikosteroidler kullanılmaktadır (12).

İBH'nin patogeneğinde en az anlaşılan çevresel faktörlerin rolüdür. Bu rolün önemi geçen 50 yıl içinde az gelişmiş ülkelerde ilerleyen endüstrileşme ile hastalığın artması ve gelişmiş dünyada CH'nin sıklığındaki göze çarpan artışla desteklenmiştir. Gelişmiş hijyen, steril ve nonfermante gıdaların tüketimi, aşılama ve intestinal patojenlere ilk maruz kalma yaşını içeren değişen çevresel elemanlar mukozal immün sistemin, barsak mikroflorasının veya her ikisinin gelişmesini etkileyebilir (13).

İBH'nin coğrafi dağılımı ve seyri değişkendir. Hastalığın nispeten seyrek görülmesi ve klinik tablonun bazı olgularda diğer inflamatuvar olmayan hastalıklardan kolay ayırt edilemeyecek kadar hafif olabilmesi, tanıda gecikmeye yol açmaktadır. Diğer taraftan hastalığın kesin tanısının radyoloji, kolonoskopi ve histopatoloji ile konması, bu tetkiklerin birinci basamak tanı merkezlerinde bulunmayıp özellikle gelişmiş hastanelerde bulunması, infeksiyöz kolitlerin bu hastalıklarla karışabilmesi ve CH/ÜK ayırımının kolay yapılamaması epidemiyolojik çalışmalarda karşılaşılan güçlüklerdir (14).

Bazı genler de genetik yatkınlığın saklandığı ve çevresel faktörlerin bunları modüle ettiği ileri sürülmektedir. HLA DR-2, DR-B1-0103, DR-12 bu gruplardan sayılabilir. ÜK'li hastalarda HLA DR-B1*1502 aleli ile pozitif bir ilişki, DR B1*13 aleli ile negatif bir ilişki saptanmıştır (15). İnsidans monozigot ikizlerde artmıştır. Hastalığa yatkınlığı belirleyen ve hastalık spesifitesini etkileyen genler, hastalığın yaygınlığı ve şiddeti ile medikal tedaviye cevabı gibi klinik fenotipi belirleyen genlerden farklı görünmektedir (16).

Neden olan uyarıcı ne olursa olsun sonuç olarak inflamatuvar yanıt tetiklenmektedir (Şekil 1'e bakınız.). Bunun sonucunda da makrofajlardan salınan sitokinler, özellikle TNF- α (Tümör nekrozis faktör- alfa) ve IL-2 (İnterlökin-2), T hücrelerini sitotoksik hale getirmekte, proliferasyonlarını uyarmaktadır. Bu yanıt özellikle yardımcı T ve B hücrelerini stimüle ederek hem özgül olmayan sitotoksik etkiyi hem de özgül antikor yapımını arttırarak, antikora bağımlı sitotoksikiteyi körüklemektedir. Sonuçta, lenfositlere ek olarak diğer lökositlerin de katılımıyla aradidonik asit metabolizmasındaki ürünler ve serbest oksijen radikalleri nedeni ile doku yıkımı oluşur (17).



Şekil 1: İBH etiolojisinde genetik, çevresel ve konakçı immün cevap faktörleri (18)

En son araştırmalara dayalı olarak kurulan hipotez ise, immün mediatörlerdeki düzensizlik veya bariyer fonksiyonlarında bozukluk gibi nedenlerle sürekli inflamatuvar bakteri ürünleri ile karşı karşıya kalan ve tolerans kaybına uğrayan immün sistemin artık normal baskılamasını yapamayıp, vücudun kendi normal florasına karşı anormal immün cevap geliştirmesi olarak belirtilmektedir. Dolayısıyla çevresel tetikleyici etmenler bakteriyel ve viral organizmalara ve son yüzyılda gıda üretimi ve tüketiminde meydana gelen belirgin değişimler sonucu kolon mikroflorasındaki olası değişikliklere odaklanmakta ve hangi bakteriyel türlerin gastrointestinal kolonizasyon yapacağı konusunda genetik faktörler önem kazanmaktadır (19).

Reaktif oksijen metabolitleri (ROM), kolon epitelinin apikal kısmında bulunan koruyucu mucus tabakasını yıkarak mukozal bariyeri ortadan kaldırmakta, fagositik lökositlerin infiltrasyonuna ve bakteriyel toksinlerin lamina propriaya difüzyonuna neden olmaktadır. Lökosit infiltrasyonu ve aktivasyonu ise reaktif oksijen metabolitlerinin üretimini daha da artırarak meydana gelen hasara katkıda bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda reaktif oksijen metabolitlerinin ortadan kaldırılmaları ile deneysel kolitte doku hasarının hafifletildiği gösterilmiştir (20). Hücrelerin enerji metabolizmalarının bozulması doku hasarının oluşmasında önemli olabilir. Bu, patogeneze oksijen radikallerinin yerini ve antioksidan tedavinin de anlamlı bir yaklaşım olduğunu göstermektedir (21).

CH ve ÜK insidans ve prevalansı coğrafi lokalizasyona göre değişir; beyaz nüfus için en yüksek oranlar, insidansın her hastalık için yaklaşık 100 000 de 5 ve prevalansın yaklaşık 100 000 de 50 olduğu Kuzey Avrupa ve Güney Amerika'dadır. CH ve ÜK, Yahudilerde, Yahudi olmayanlara göre daha sık görülür. Birleşik Devletlerde siyah nüfustaki İBH insidansı, beyaz nüfusun beşte biri ile yarısı arasındadır, ancak son yıllarda bu aralık daralmıştır (8). İBH en çok 20-40 yaş arası genç erişkinlerde görülmekle birlikte, 60-80 yaş arasında hastalığın görülme sıklığı ikinci bir çıkış yapmaktadır. Çalışmaların bir kısmında İBH'nin kadınlarda erkeklere göre daha ağır bir seyir izlediği belirtilmektedir. Ülkemizde 14 merkezin katkısıyla yapılan bir epidemiyolojik araştırmada İBH insidansının Kuzey ve Batı Avrupa'dan az, Ortadoğu insidansına yakın olduğu, CH'nin Marmara Bölgesinde, ÜK'nin ise doğuda daha sık görüldüğü, CH olanların % 8.1'nde, ÜK'lerin % 4.4'ünde aile öyküsü bulunduğu bildirilmiştir (1). Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı arasındaki farklar Tablo I'de gösterilmektedir.

Diyet İBH ilişkisi hala tartışmalı bir konudur. Önceki çalışmalarda rafine şeker ve “fast food” yeme alışkanlığı ile İBH arasında ilişki kurulduysa da bu tam netlik kazanmamıştır. Özellikle yanmış yağların defalarca kullanılması bir risk faktörü olarak bilinir. Yiyeceklerdeki katkı maddeleri, boyalar, diş macunu katkıları, tatlandırıcılar CH'nin oluşumunda suçlanmışlardır. İBH özellikle şehirde yaşayan, eğitilmiş, sosyoekonomik düzeyi yüksek, ofislerde çalışan kişilerde görülmektedir (14).

Erken yaşlarda yapılan appendektomi, ÜK hastalığı olanlarda koruyucu rol oynarken CH olanlarda risk artırıcı etkiye sahiptir (22). Fizyolojik stress GİS'i ve otonom sinir sistemini önemli oranda etkilemektedir. Stres ÜK hastalığı olanlarda önemli bir faktör olup uzun süreli kronik stres durumlarında hastalığın alevlenme riski artar (23).

Mikrobiyal ajanlar İBH patogenezi ile sıkı ilişkili görünmektedir. Geçtiğimiz 40 yıl boyunca organizmalar üzerinde yoğun araştırmalar yapılmasına rağmen tek bir spesifik enfeksiyonun İBH'nin patogenezinde etkili olduğu açıkça gösterilememiştir. Son birkaç yılda Mycobacterium paratuberculosis, Measles virüs ve Listeria monocytogenes suçlanmıştır (24). Normal intestinal flora unsurlarının İBH'yi tetikleyebileceği, başlatabileceği veya katkıda bulunabileceği olasılığı üzerinde durulmuştur. Normal floranın, fizyolojik inflamasyonun, bir modülatörü gibi çalıştığı hipotezi, İBH'li hastaların otolog intestinal bakterilere maruz kaldıkları zaman mukozal mononükleer hücrelerin çoğaldığını gösteren Duchmann ve

arkadaşlarının gözlemleriyle önemli biçimde kuvvetlendirilmiştir (25). Hemen hemen tüm ÜK'li hastalarda bakteri, virüs ya da mantarlara karşı sınırlı miktarda antikorlara rastlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda İBH'nin şiddeti arttıkça mukozal bakteri konsantrasyonunun da yükseldiği bildirilmiştir (26). CH alevlenme döneminde sıklıkla *Yersinia enterocolitica* ve *Mycobacterium paratuberculosis* suşları identifiye edilebilmektedir. Benzer şekilde *Campylobacter*, *Shigella*, amip ya da Cytomegalovirüs (CMV) enfeksiyonları ÜK ile benzerlik gösterebilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda aktif İBH'li hastalarda, anaerob bakteriler ve *Lactobacillus* sayısında belirgin bir düşüş bulunmuş ve hastaların kolon epitelinde yüzeye yapışan, intraselüler bakterilerin sayısında artış olduğu gösterilmiştir (27). ÜK'li hastaların kolon mukoza hücrelerinin nükleus içi ve sitoplazmik kompartmanlarında Epstein-Barr ve Herpes virüsüne ait inklüzyon cisimcikleri % 75 oranında izole edilebilmiştir. CMV'nin (Sitomegalovirüs) neden olduğu anti CMV antikorları bu hastalarda sıklıkla yüksek bulunmuştur (28).

Tablo I: Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı arasındaki farklar (29)

	Ülseratif kolit	Crohn hastalığı
Diare	++	++
Rektal kanama	++	+
Karın ağrısı	+	++
Palpable kitle	Yok	+
Fistül	+/-	++
Striktür	+	++
Rektal tutulum	++	+
Ekstraintestinal manifestasyon	%95	%50
Toksik megakolon	+++	++
Operasyondan sonra tekrar	Yok	+
Malignite	++	+

2.1.1. Ülseratif Kolit

ÜK adından da anlaşılacağı gibi, rektum başta olmak üzere kolonun herhangi bir segmentinin veya tümünün hastalığıdır. Hastalık akut ve ağır hastalık durumları dışında yalnızca mukozaya sınırlıdır. Hastalıklı dokuların histopatolojik incelenmesinde akut ve kronik inflamatuvar hücrelerin mukozayı infiltre ettikleri, goblet hücrelerinin azaldığı ve çok sayıda kript apselerinin bulunduğu görülmektedir. Ancak ağır durumlarda ülserler transmural olabilmekte ve CH'da görülen lezyonlardan ayırt edilebilmeleri güçleşmektedir (30).

Tutulum derecesini tanımlayan birçok terim kullanılmıştır:

Ülseratif proktit; hastalığın rektuma sınırlı olduğunu belirtir.

Distal kolit veya proktosigmoidit; inflamasyonun orta sigmoid kolona kadar olduğunu ve 60 cm fleksibl sigmoidoskop ile ulaşılabilir olduğunu belirtir.

Sol taraflı ülseratif kolit; hastalığın splenik fleksuraya kadar uzandığını belirtir.

Pankolit ise; inflamatuvar sürecin splenik fleksurayı aştığı durumlar için kullanılır (31, 32).

Hastalığın şiddeti ile ilgili klinik kriterler Truelove ve Witts tarafından ortaya konulmuştur; basit, uygulaması kolay, değeri kanıtlanmış kriterlerdir.

Buna göre;

Hafif ÜK: Günde 4 kereden az kanlı veya kansız dışkılama, sistemik rahatsızlık yok, normal sedimentasyon düzeyi

Orta ÜK: Minimal sistemik rahatsızlık, günde 4 kereden fazla dışkılama

Ağır ÜK: Günde 6 kereden fazla kanlı dışkılama ateş, taşikardi, anemi, ESR (eritrosit sedimentasyon hızı) 30 mm/saat üzerinde (33)

Tablo II: Ülseratif Kolit Tutulumuna Göre Montreal Klasifikasyonu (34)

Yayılım	Tutulum Yeri	Anatomik Bölge
E1	Ülseratif proktit	Tutulum rektumda sınırlıdır. (İnflamasyon sınırı rektosigmoid bileşke)
E2	Sol Tip (Distal) Ülseratif Kolit	Tutulum sınırı splenik fleksuraya kadar
E3	Ekstensif Tip Ülseratif Kolit(Pankolit)	Tutulum sınırı splenik fleksuradan proksimalde

Tablo III: Ülseratif Kolit Ciddiyetine Göre Montreal Klasifikasyonu (34)

Şiddeti	Klinik	Tanım
S0	Klinik remisyon	Asemptomatik
S1	Hafif Ülseratif Kolit	< 4 kez/gün dışkılama (kanlı veya kansız), sistemik hastalık bulunmaması, normal ESR
S2	Orta Derecede Ülseratif Kolit	>4 kez/gün dışkılama ile birlikte minimal sistemik toksisite bulguları
S3	Ciddi Ülseratif Kolit	>6 kez/gün kanlı dışkılama, nabız >90/dk, ateş 37.7 C°, Hb < 10.5g/dl ESR >30 mm/saat

Hastalığın şiddetini değerlendirmede klinik verilerin yanı sıra kolonoskopik, histolojik kriterler ve laboratuvar verileri kullanılır.

Kolonoskopik değerlendirme:

- 0-Normal mukoza
- 1-Vasküler patern kaybı
- 2-Granüler ancak nonfajil mukoza
- 3-Fajil mukoza
- 4-Spontan kanama, ülserasyon (35)

Histolojik değerlendirme:

1-Özelliksiz inflamasyon: Lenfosit odakları ve kronik inflamasyona ait değişiklik görülebilir ancak kript abseleri, epitelyal destrüksiyon ve akut inflamasyon yoktur.

2-Orta ve hafif inflamasyon: Ödem, vaskülarite ve kronik inflamasyon hücrelerinde artış ancak sağlam epitelyum

3-Ağır inflamasyon: Akut ve kronik inflamasyon hücrelerinin yoğun infiltrasyonu. Kript abseleri, epitelyumda ülserasyon, pürülan eksüda (36)

Aktif hastalıkta serum akut faz reaktanlarında da değişimler görülür. CRP (C-reaktif protein), trombosit sayımı ve ESR artarken hemoglobin ve albümin sayısı düşer (37). Demir, B12 ve folik asit eksikliğine bağlı anemi, ağır olgularda lökositoz ve sola kayma bulunur. Ağır olgularda hipokalemi gelişir. Sklerozan kolanjit gelişmiş ise, ALP (Alkalen fosfataz), GGT (Gama glutamil transferaz) ve bilirubinlerde artış olur (38). Perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikor ÜK'de, ASCA (Antisaccharomyces cerevisiae antikoru) ise CH' li hastalarda daha yüksek oranlarda pozitif bulunmaktadır (39). Gaita mikroskopisinde bol miktarda eritrosit ve lökosit vardır. Kalsiyum malabsorbsiyonu ve D vitamini yetmezliğine bağlı hipokalsemi görülebilir. Tedavide kullanılan sülfasalazin folat emilimini engellediğinden folik asit yetmezliği oluşabilir (40).

Direk grafi hastalığın iki önemli komplikasyonu olan toksik megakolon ve perforasyon tanısında yardımcı olur. Toksik megakolonda kolon çapı 6 cm'den fazla ölçülür, ayakta çekilen grafide diyafragma altında serbest hava bulunması perforasyonu gösterir (39).

CH'na göre daha az sıklıkla olmakla birlikte, ÜK'de de anorektal komplikasyonlar olabilir. Bunlar; anal fissür, anorektal apse ve fistüllerdir. Sfinkter mekanizmasının bozulmasıyla olabilen anal inkontinans gelişebilir. Kolon perforasyonları, özellikle fulminan tipin seyri sırasında ortaya çıkar. Hastalıklı barsağın uzunluğu, atağın şiddetine göre değişmekle birlikte, % 3-5 vakada perforasyon görülebilir (40).

2.1.2.Crohn Hastalığı

CH üç major formdan biri ile ortaya çıkar (1) *İleum ve çekumda hastalık (hastaların % 40'ı)* (2) *ince barsağa lokalize hastalık (%30)* ve (3) *kolona lokalize hastalık (%25)* CH daha az sıklıkta, ağız, dil, ösefagus, mide ve duodenum gibi gastrointestinal kanalın daha proximal bölümlerini tutar (8).

CH'daki semptom ve bulguları tutulum yeri, hastalığın şiddeti, yaygınlık derecesi ve tutulan organ belirler. En sık tutulum yeri ileumdur ve tipik olarak sağ alt kadranda ağrısı, kitle ve diare ile karakterizedir. Fizik muayenede sağ alt kadranda veya suprapubik bölgede hassasiyet tespit edilir. Hastalarda barsak lümeninde daralmaya bağlı olarak ani başlayan, kolik tarzda karın ağrıları, bulantı, kusma olabilir (29). Üst GİS tutulumlu CH'de tablo çok belirgin değildir. Ösefagus tutulumunda disfaji, yanma olabilir (38). Diare, Crohn hastalarının %70-90'ında görülür. Rektum tutulumu varsa sık sık, az miktarda, tenezzümle birlikte olan kanlı mukuslu diare görülür. Buna karşın diğer formlarında steatoreli veya steatoresiz sulu diare vardır. Kanlı dışkılama ÜK'e göre daha nadirdir. Bazı hastalarda gastrokolik, ileokolik, kolokolik internal fistüller gelişebilir, bunlarda ciddi diare, ağır malabsorbsiyon tabloları vardır (29).

CH'da, inflamatuvar, stenoizan, fistülizan klinik tip ayrımı yapılır. İnflamatuvar formda ishal, karın ağrısı ve ateş ön plandaki bulgulardır. Stenoizan formda ise intestinal obstrüksiyon bulguları tabloya hakimdir ve bunlar genellikle tekrarlayıcıdır. İntestinal obstrüksiyonun sebebi inflamasyondan ileri gelen ödem ve spazm olabileceği gibi, tekrarlayan alevlenmelerle gerçek fibrozisin gelişmesine bağlı striktür de olabilir (38).

CH'nın klinik aktivitesini belirlemek için "Crohn Disease Activity Index-CDAI" ve "Harvey-Bradshaw" aktivite indeksleri oluşturulmuştur. CDAI sisteminde hastaların ishali, karın ağrısı, genel durumu, ekstra intestinal tutulumları, antidiaretik kullanımı, abdominal kitle varlığı, anemi, kilo kaybı gibi özellikleri hafiften ağıra doğru puanlanarak indeks hesaplanır. Harvey-Bradshaw aktivite indeksi daha pratiktir, CH'de klinik aktiviteyi belirlemede daha sık kullanılır (Tablo IV). Klinik aktivite kriterleri hastalığın tedavi yaklaşımının belirlenmesi ve uygulanan tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılır (29).

Tablo IV: Harvey-Bradshaw indeksi

Klinik belirti	Klinik Şiddet	Puan
Genel Durum	Çok iyi	0 puan
	Orta	1 puan
	Kötü	2 puan
	Çok Kötü	3 puan
	Ağır	4 puan
Karın Ağrısı	Yok	0 puan
	Hafif	1 puan
	Orta	2 puan
	Çok	3 puan
İshal sayısı	Her seferi	1 puan
Karında kitle	Yok	0 puan
	Şüpheli	1 puan
	Var	2 puan
	Var ve ağrılı	3 puan
Komplikasyonlar	Her biri	1 puan

Histopatolojik olarak, başlangıçta kolon mukozası hiperemiktir, küçük aftöz ülserler vardır. Mezenter lenf bezleri şiş ve hiperemiktir. Kronik ve ağır aktiviteli olgularda terminal ileum ağzında ve terminal ileumda deformasyon, daralmalar, kolonda darlıklar görülür (40).

Hafif ve orta şiddette anemi (B12, folik asit ve demir eksikliğine bağlı), abse oluştuğu zaman lökositoz ve belirgin trombositoz (1 milyon/mm³) görülebilir. Hastalığın aktif devrelerinde eritrosit sedimentasyon hızı 20 mm/saatın üzerindedir. Hipokalsemi, hiponatremi ve hipomagnezemi de görülebilir (41).

Mikroskopik olarak, intestinal mukozanın herhangi bir yerinde inflamasyon görülür. Yüzeyel inflamasyonun lenfoid dokuya yakınlığı CH için karakteristiktir ve bu kısımda aftoid ülserler de görülür. Goblet hücrelerinde müküs birikimi vardır. İnflamasyonun dağılımı multifokal olup, yoğunluğu odaktan odağa değişebilir. Lenfosit, plazma hücreleri, histiosit, polimorf nükleer lökositler ve eozinofiller tüm barsak katlarını infiltre etmişlerdir ve mezenterik lenf bezleri de tutulmuştur. Olguların % 50'sinde, sınırları belirli, kazeifikasyon

nekrozu olmayan, multinukleuslu dev hücreleri içeren granülomalar bulunur ve granülomalar hastalık için karakteristik bulgudur (40).

Radyolojik incelemeler CH'nin tanısında önemli bir yere sahiptir. İnce barsak pasaj grafisi hastalığın en çok tutulduğu yer olan terminal ileumun klasik “ip belirtisi- string sign” adı verilen daralmış durumu saptanır. Kolonun radyolojik incelemesinde, hastalığın derecesine bağlı olarak mukozada düzensizlik, ödem, aftöz ya da derin ülserlerin varlığı, kaldırım taşı görünümü, lümende daralma, striktür, dikensi çıkıntılar şeklinde fistül başlangıçları ya da fistüller görülebilir. BT (Bilgisayarlı Tomografi) ile batin içi inflamasyon, kitle, abse bulgularının ayrımını yapmak mümkündür (39).

Darlıklara bağlı obstrüksiyon % 20-30 olguda gelişir. Enteroenterik, enterovezikal, enteromezenterik, enterokütanöz, rektovajinal, perianal fistüller ve lokal abse gelişir. Kolon tutulumunda toksik megakolon gelişmesi nadirdir. Masif kanama sık görülmez. Kanser ÜK'de olduğu gibi uzun süreli hastalıkta gözlenir ve ÜK'ye yakın sıklıktadır (40).

CH'de % 25 oranında ekstra intestinal bulgular mevcuttur. Çomak parmak, oral aftlar, eritema nodozum, piyoderma gangrenozum, üveit, episklerit görülebilir. Hepatobiliyer sistemle ilgili olarak safra taşları, primer sklerozan kolanjit, perikolanjit, otoimmün hepatit, hepatosteatoz görülür (42).

2.2.TEDAVİ

İBH'nin tedavisinde amaç inflamasyonun azaltılması, semptomatik iyileşmenin, remisyonun ve devamlılığının sağlanması ve hastanın beslenme durumunun düzeltilmesidir. İBH'de tedavi planlanırken hastalığın lokalizasyonu, aktivitesi, süresi, hastanın tolerebilitesi ve daha önce uygulanan tedavilere verdiği cevap göz önünde bulundurulmalıdır (1). İnflamatuvar barsak hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçlar antiinflamatuvarlar, immunosupresifler, immunomodulatorler, antibiyotikler, nutrisyonel ve destekleyici ajanlar şeklinde gruplandırılabilir (38).

2.2.1. Aminosalisilatlar

Sülfasalazin, oral mesalamin, rektal mesalamin, olsalazin ve balsalazid gibi 5-ASA (5-aminosalisilik asit) türevleri tedavide uygulanmaktadır. Sülfasalazin bu grupta ilk geliştirilmiş ilaçtır. Olsalazin ve balsalazid prodrugdur. Olsalazin, azo bağıyla bağlı iki 5-ASA molekülü dimeridir. Olsalazin, balsalazid ve mesalamin genel olarak sülfasalazinden daha iyi tolere edilir (43).

5-ASA'nın muhtemel etki mekanizmaları arasında "natural killer" hücrelerinin, antikor sentezinin, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarının ve nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonu ile serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi yer alır. 5-ASA ağız yoluyla direkt verildiğinde, hemen hemen tamamı üst sindirim kanalından emilir ve kana geçer. İnflamatuvar barsak hastalığında 5-ASA, etkisini sindirim kanalındaki inflamasyonlu bölgeye ulaşp diffüze olarak da gösterir, yani topikal etkilidir. Sülfasalazin ağız yoluyla alındığında çekuma ulaşınca bakteriler azoredüktaz enzimi aracılığıyla sülfasalazin ve 5-ASA arasındaki azo bağına parçalar ve aktif bileşik 5-ASA açığa çıkar. Sülfapiridin hızla emilip karaciğerde metabolize edilir ve idrarla atılır. 5- ASA'nın % 25 kadarı kolondan emilir, geri kalanı dışkı ile değişmeden atılır (38). Sülfasalazindeki taşıyıcı inaktif molekül sülfapiridin, sülfasalazin kullananlarda rastlanan yan etkilerin büyük kısmından sorumludur. Sülfasalazin alanların % 25- 30'unda doza bağlı (bulantı, kusma, iştahsızlık, folat malabsorbsiyonu, baş ağrısı, saç dökülmesi) veya aşırı duyarlılığa bağlı (raş, hemolitik anemi, agranülositoz, toksik hepatit, pankreatit, fibrozan alveolit, oligo-azospermi) yan etkiler görülebilir. Hastaların % 15'inde bu yan etkiler sülfasalazinin kesilmesini gerektirecek ciddiyettedir (44).

2.2.2. Kortikosteroidler

Ülseratif Kolit'in alevlenme dönemlerinde hızlı ve efektif olarak semptomları azalttıklarından hala önem taşımaktadırlar. Orta ve ciddi şiddetteki ÜK hastalarında ve CH'de kullanılmaktadır. Etki mekanizmaları arasında araşidonik asit oluşumunun engellenmesi, lökosit fonksiyonlarının değişmesi ve proinflamatuvar sitokin üretiminin azalması sayılabilir (45).

Ciddi aktiviteli ataklarda genellikle 40-60 mg/gün prednisolon veya eşdeğeri kullanılır. Cevap alındıkça yavaş yavaş doz azaltılmalıdır. Ancak hastaların % 20-30'unda

steroidlere yanıt alınamaz. Steroidlerin bilinen yan etkilerini azaltmak için karaciğerde ilk geçiş metabolizmasına uğrayan, yeni kortikosteroidler (en yaygın kullanılanı budesonid) geliştirilmiştir (38).

2.2.3. *İmmunsupresifler*

6-merkaptopürin ve Azotiopürin steroid ihtiyacının azalması ve dirençli vakalarda hızlı remisyon sağlaması nedeniyle son yıllarda daha çok kullanılmaktadır. Akut hastalıkta 5-ASA preparatları ile aynı etkiyi gösterirler (46).

2.2.4. *Antibiyotikler*

Antibiyotiklerin, ülseratif kolitin tedavisinde bazı sepsis vakaları dışında çok az bir rolü vardır. Antibiyotikler remisyon oranını etkilemezler; üstelik antibiyotiğe bağlı psödomembranöz kolite yol açma riski göz önüne alınmalıdır. Antibiyotikler Crohn hastalığında daha büyük bir rol oynar, abseler için cerrahi drenaj primer tedavi olmasına rağmen, özellikle abse oluşumu ve perianal hastalık gibi süpüratif komplikasyonların tedavisinde kullanılırlar (8). Antibiyotiklerden metronidazol ve siprofloksasin mevcut tedaviye tek veya kombine olarak eklendiklerinde, aktif Crohn hastalığının remisyona girmesini kolaylaştırırlar (38).

2.2.5. *Yeni Tedaviler*

Son yıllarda İBH tedavisinde çok çeşitli etki mekanizmaları olan ilaçlarla çeşitli hayvan ve insan çalışmaları yapılmış, bunların bir kısmı klinik kullanıma girmiştir. İnfliximab, Nikotin ve Eritropoetin farklı etki mekanizmaları ile İBH’de klinik kullanıma girmiş ilaçlardır. Bunların yanısıra heparin, düşük molekül ağırlıklı heparinler ve talidomid halen araştırma aşamasındadır. Granülosit Koloni Stimülan Faktör (G-CSF), Rekombinant insan IL-10, Rekombinant insan IL-11, insandan elde edilmiş TNF antikor, ICAM-1 (İntrasellüler adezyon molekülü-1), antisense oligonükleotid gibi henüz klinik deneme aşamasında olan birçok ilaç mevcuttur (38).

2.2.6. Cerrahi Tedavi

Yaygın ülseratif koliti olan hastaların % 20 ile % 25'i, hastalıklarının medikal tedaviye yeterli cevap vermemelerinden dolayı nihayetinde kolektomi geçirirler. ÜK'te kolektomi küratif bir işlemdir. Acil kolektomi, toksik megakolon veya toksik megakolon olmadan ağır fulminan bir atak durumuna gerekebilir (8). CH'da da tıbbi tedavinin yetersizliği, fistül, striktür, masif kanama ve perforasyon meydana geldiğinde cerrahi tedavi düşünülür (38).

2.3. Trinitrobenzen Sulfonik Asit Kolit Modeli

Bazı maddelerle ratların kolonları hassaslaştırılarak akut ve kronik intestinal inflamasyon oluşturulabilir. Bu durum bilinmesine rağmen bunun tam mekanizması hala anlaşılamamıştır. Burada kolonik hasar, bariyer kırıcı (barrier breaker), etanol ve hapten karışımının intrarektal verilmesi ile oluşturulur (47).

Hücrel proteinlere hapten molekülünün bağlanması ile oluşan bu inflamatuvar olayın görünümü gecikmiş tipte hipersensitif immün cevaptaki görünüm gibidir. İsteğe bağlı optimize edilmiş trinitrobenzen sulfonik asit (TNBS) konsantrasyonları ile akut ve kronik formlarda kolit oluşturulabilir. Genellikle tekrarlayan uygulamalar koliti kronikleştirmektedir. Akut kolit gelişimi mukozal permeabilite, epitelyal nekroz ve kolonik myeloperoksidaz aktivitesindeki artış ile bağlantılıdır. Makrofaj ve granülosit sayılarındaki artış ile birlikte yüksek dereceli bir hasar oluşur (48).

Trinitrobenzen sulfonik asit koliti ratlarda transmural granülamatöz inflamasyon ile şiddetli diare, kilo kaybı ve barsak duvarında kalınlaşmaya neden olur. Kronik kolitte mukozal immün sistem aktivasyonu lenfosit ve özellikle de CD4+ T hücrelerinin lamina propriada birikimi ile beraberdir (48).

2.4. Serbest Oksijen Radikalleri

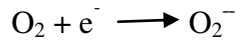
Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan elektrik yüklü veya yüksüz reaktif atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemdeki en önemli SOR oksijenden oluşan radikallerdir. Hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$), süperoksit radikali ($\text{O}_2^\cdot$), hidrojen peroksit, nitrik oksit (NO) en önemlileridir. SOR'un plazma membranları ve organelde

doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, sülfhidril içeren enzimlerin oksidasyonu, enzimlerin inaktivasyonu, polisakkarit depolimerizasyonu ve DNA sarmallarının bölünmesi gibi zararlı etkileri vardır (49). Serbest radikaller, normal metabolizma sırasında sürekli olarak üretilmekte olup, bunun sonucunda membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, membran proteinlerinde, karbonhidrat ve DNA moleküllerinde çeşitli hasarlar meydana gelmektedir. Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, İR (iskemi reperfüzyon) hasarı, dolaşımsal şok hasarında, romatoid artrit, karsinogenez, enfeksiyonlar, beyinde ve deride dejeneratif oluşumlarda ve yaşlanma ile ilgili bazı hastalıklarda oksidatif hasarla ilgili bulgular saptanmıştır (50).

Lipit peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Bu radikallerin yan ürünleri olan aldehitler ve hidrokarbon gazları, vasküler permeabilite artışı, ödem, inflamasyon, fosfolipaz aktifleşmesi, kemotaksis ve prostaglandin oluşumuna yol açarak çeşitli patolojik olaylarla sonuçlanırlar (49).

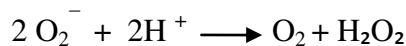
2.4.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı ayrı orbitallerde bulunduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Bu dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali, O_2^-) oluşur (51).



2.4.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki O_2^- molekülü iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluştururlar:



H₂O₂, bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü O₂⁻ ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (52).

2.4.3. Hidroksil Radikali (OH⁻)

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe⁺³ katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (53).



2.4.4. Singlet Oksijen (O₂)

Singlet oksijen, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur. Oksijenin eşleşmemiş elektronlardan birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spininin ters yönünde yer değiştirmesiyle oluşur (49). Singlet oksijen in vivo ortamda sitokrom P₄₅₀, endoperoksit sentetaz ve myelo peroksidaz reaksiyonlarıyla oluştuğu gibi iyonize radyasyonla da oluşabilir. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur (54).

2.4.5. NO (Nitrik Oksit)

NO hemostatik olaylarda ve organizmanın savunma mekanizmalarında otokrin ve parakrin etkisi olan bir araçtır. Makrofajlar, nötrofiller, hepatositler ve endotel hücreleri tarafından üretilir. En önemli fonksiyonu vücudun çeşitli dokularında interlökin-1 ve sitokinlerin etkilerine paralel bir işlev görmesidir (49). Tümör hücrelerini, parazitleri, bakteri ve mantar hücrelerini öldürmede görev alır. Ancak yüksek seviyelerde normal hücreler üzerinde toksik etkisi vardır. O₂ anyonları ile inaktifleşir ve süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile korunur.

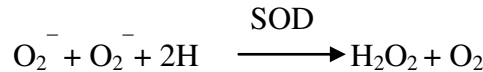
Bu bakımdan serbest radikal tutucu olarak kabul edilse de uygun ortamlarda süperoksit ile güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Düşük pH'da durağan değildir. Spontan olarak parçalanarak hidroksil radikali ve nitrojen oksit oluşur(55).

2.5. Vücudun Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (53). Etkilerini; lokal oksijen konsantrasyonunu azaltarak, hidroksil radikallerini temizleyip lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyerek, geçiş metal iyonlarını bağlayıp etkisizleştirerek, peroksitlerin alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynayarak ve zincir reaksiyonlarına neden olan tüm radikallerle reaksiyona girip zinciri kırarak gösteren antioksidanlar; intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki grupta incelenirler. En belirgin özellikleri okside olan substratlara oranla çok daha az konsantrasyonlarda bile, substratın oksidasyonunu geciktirmeleri ve inhibe etmeleridir (56).

2.5.1. Süperoksit Dismutaz

Antioksidan savunmanın ilk basamağı süperoksitin H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen süperoksit dismutaz enzimidir (57). SOD aerobik hücrelerde oksijen radikalinin zararına karşı intrasellüler savunmada büyük rol oynar. SOD'un aktivitesinde yaşlanmaya bağlı olarak bir azalma olmaktadır (58). SOD üç izoenzim halinde bulunmakta olup bir Cu^+-Zn^{2+} şekli sitozolde, bir Mn^{2+} şekli mitokondrilerde ve bir Cu^+-Zn^{2+} şekli hücre dışında bulunur. Cu^+-Zn^{2+} SOD'un aktivitesi, süperoksit üretimini arttıran koşullar (hiperbarik oksijen gibi) veya kimyasallar tarafından arttırılır (59).



2.5.2. Glutasyon

Redükte glutasyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada sentezlenebilen bir tripeptittir. Vücutta enzimatik olmayan önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (60).

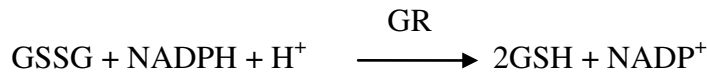
2.5.3. Glutasyon Peroksidaz

GSH-Px enzimi, dokuları H_2O_2 ve lipoperoksitlerin oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruyan başlıca enzimdir. GSH-Px enzimi, aktivitesi için koenzim olarak selenyum'a (Se) ihtiyaç duymaktadır (50).



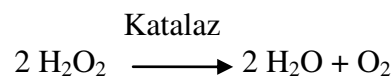
2.5.4. Glutasyon Redüktaz

Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutasyon (GSSG), GSSG-R'ın katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen) ihtiyaç vardır .(60)



2.5.5. Katalaz

Katalaz (CAT), tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (60).



2.6. *Salvia Officinalis* (Adaçayı)

Adaçayı çok eski çağlardan beri ünlü bir şifalı bitki olarak bilinmektedir. Adaçayı, ilaç bitkisi olarak kullanılan bitkilerin arasında en uzun tarihe sahip olan bitkilerden birisidir. İlk olarak Romalılar tarafından kutsal bitki anlamına gelen, “herba secra” adı verilerek hastalıkların tedavisindeki etkin özelliği vurgulanmıştır. Rönesans döneminde aromatik bitkiler, ilaç hammaddesi olarak kullanılmıştır. Farmakolojik özelliklerini aydınlatmak amacı ile adaçayından elde edilen esansiyel yağın analizi yapılmış ve salgın hastalıklara karşı koruyucu amaçlı olarak kullanılmıştır. Adaçayı bitkisinin yaklaşık olarak 900 türü vardır ve birçok adaçayı türü kozmetikte, parfümeride, ilaç endüstrisinde ve bunların yanında bitkisel çay ve yiyeceklerde kullanılmaktadır (61).

Tıbbi adaçayı, Kuzey Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişmekte olup, Almanya, İtalya, Fransa, Yugoslavya gibi birçok ülkede tıbbi amaçla tarımı yapılmaktadır. Yabani olarak Adriyatik Denizi’nde ve Dalmaçya’da kayalık güneşli ve çorak yamaçlarda bodur çalılıklar halinde yetişmektedir (62). *Salvia officinalis* ülkemizde doğal olarak bulunmamakla birlikte ekonomik önemi olan ve yetiştiriciliği konusunda çalışmalar yapılmış bir tür olup, çok az da olsa üretimine geçilmiş, özellikle süs bitkisi olarak park ve bahçelerde değerlendirilmektedir (7).

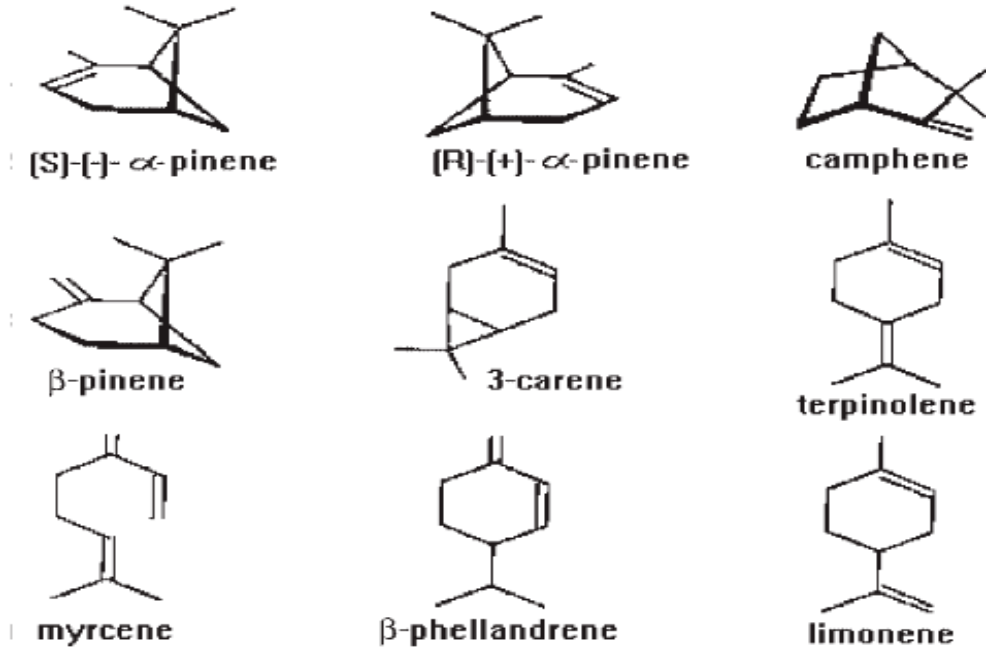
Adaçayı 30-70 cm boyundadır ve bitkinin menekşe renkli çiçekleri halka dizilişlidir. Karşılıklı olan beyaz keçeli yaprakları gümüş gibi parıltı ve acımtırak, ıtırly bir koku yayarlar (Resim 1) (61).



Resim 1:Adaçayı (*Salvia Officinalis*)’in görünümü (61)

Adaçayı uçucu yağında yüksek düzeyde bulunan kafur, sineol (ökaliptol) ve borneolün çeşitli etkilerinden dolayı tedavi amacıyla kullanıldığı belirtilmektedir (63). Nitekim kafur orta şiddetli analjezik etkiye sahip olduğundan fibrozit ve sinir ağrılarına karşı kullanılan merhemlerin bileşiminde yer alır. Solunumla alınan nazal spreylerin yapısında da bulunmaktadır. Dahili olarak alındığında gaz giderici ve orta şiddetli solunumu kolaylaştırıcı etkisi vardır. Ayrıca, idrar yolları enfeksiyonlarında, böbrek rahatsızlıklarında ve mentolle birlikte safra kesesi taşlarının dağıtılmasında kullanılır. Simen de romatizmal ağrıların giderilmesinde analjezik etkiye sahiptir, borneol asetat ise, öksürük tedavisi, solunum sistemi rahatsızlıkları ve iskelet-kas sistemi düzensizliklerinin tedavisinde kullanılır (64).

Adaçayı eterli uçucu yağlar tujon, sineol, linalol, borneol, salven, pinen ve kafur, tanenler triterpenoidler ve flavonlar, östrojen benzeri maddeler, reçineli bileşikler içermektedir (Şekil 2) (65).



Şekil 2: Salvia cinsinin içerdği aktif bileşiklerin kimyasal yapısı (Monoterpenler) (66)

3-GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ) Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 250- 300 gram arasında değişen 110 adet genç sağlıklı erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılarak, ADÜ Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, Mayıs 2010 tarihinde gerçekleştirildi. Sıçanlar, deney öncesi kafeslerde, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık sirkadiyen ritimde ve sıcaklığı 20-25 santigrat derece olacak şekilde kontrollü odada tutuldular. Sıçanlar, standart sıçan yemiyle serbest olarak beslendi ve suluktan serbestçe su içmeleri sağlandı. Tüm hayvanlar deneyden 12 saat önce aç bırakıldılar, ancak serbestçe su içmelerine izin verildi. Deney öncesi Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'na başvurularak onay alındı. Çalışmada kullanılan 110 adet sıçan randomize olarak 11 gruba ayrıldı.

3.2. Kolit Oluşturma

Sıçanların çalışma günü barsakları boşaltılarak, Ketamin (50 mg/kg) ve Ksilazin (5 mg/kg) anestezisi altında, rektumdan kolona doğru (sekiz cm girilerek) polietilen kateter yerleştirildi. Kateter aracılığı ile % 37'lik etanol içinde çözünmüş 25 mg 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asid (TNBS) (Sigma, P2297) içeren solüsyondan 0.8 ml uygulanarak kolit oluşturuldu. Kolit oluşumu sonrasında sıçanlar bir süre baş aşağı pozisyonda tutuldu.

3.3.Kullanılan Kimyasallar

Kolit oluşturmak ve sıçanları tedavi etmek için aşağıdaki kimyasal maddeler kullanılmıştır.

1.Ketamin

2.Ksilazin

3.TNBS

4.Susam yağı

5.Salvia officinalis extresi

6.Etanol

3.4. Gruplar

Deney hayvanları randomize olarak řu şekilde gruplara bölündü.

I. Grup (Kontrol grubu) (n=10): Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir işlem uygulanmadı. Sıçanlar ketamin ksilazin anestezisi altında sakrifiye edildiler ve barsak doku örnekleri alındı.

II. Grup (Kolit grubu, tedavi verilmeyen grup, üç günlük) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Kolit oluşumu sonrasında hiçbir uygulama yapılmadı. Üçüncü günün sonunda sıçanlar sakrifiye edildi ve barsak dokusu örnekleri alındı.

III. Grup (Susam yağı grubu, üç günlük) (SY-3) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşturulduktan sonra 1 mL/rat olacak şekilde susam yağı ile 24 saat aralıklarla gavaj uygulanarak tedavi edildiler. Üçüncü günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edilerek barsak dokusu örnekleri alındı.

IV. Grup (Salvia officinalis extresi 0.5 mg/kg grubu, üç günlük) (0.5 SO-3) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşumu sonrasında 0.5 mg/kg Salvia officinalis sıvı extresi+ susam yağı 1 mL/rat olacak şekilde üç gün boyunca gavaj uygulamasıyla tedavi edildiler. Üçüncü günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi, barsak dokusu örnekleri alındı.

V. Grup (Salvia officinalis extresi 5 mg/kg grubu, üç günlük) (5 SO-3) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşumu sonrasında 5 mg/kg Salvia officinalis sıvı extresi+ susam yağı 1 mL/rat olacak şekilde üç gün boyunca gavaj uygulamasıyla tedavi edildiler. Üçüncü günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi, barsak dokusu örnekleri alındı.

VI. Grup (Salvia officinalis extresi 50 mg/kg grubu, üç günlük) (50 SO-3)(n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşumu sonrasında 50 mg/kg Salvia officinalis sıvı extresi+ susam yağı 1 mL/rat olacak şekilde üç gün boyunca gavaj uygulamasıyla tedavi edildiler. Üçüncü günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi, barsak dokusu örnekleri alındı.

VII. Grup (Kolit grubu, tedavi verilmeyen grup, yedi günlük) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Kolit oluşumu sonrasında hiçbir uygulama yapılmadı. Yedinci günün sonunda sıçanlar sakrifiye edildi ve barsak dokusu örnekleri alındı.

VIII. Grup (Susam yağı grubu, yedi günlük) (SY-7) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşumu sonrasında 1mL/rat olacak şekilde yedi gün boyunca

susam yağı ile gavaj uygulamasıyla tedavi edildiler. Yedinci günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edilerek barsak dokusu örnekleri alındı.

IX. Grup (Salvia officinalis extresi 0.5 mg/kg grubu, yedi günlük) (0.5 SO-7) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşumu sonrasında 0.5 mg/kg Salvia officinalis sıvı extresi+ susam yağı 1 mL/rat olacak şekilde yedi gün boyunca gavaj uygulamasıyla tedavi edildiler. Yedinci günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi, barsak dokusu örnekleri alındı.

X. Grup (Salvia officinalis extresi 5 mg/kg grubu, Yedi günlük) (5 SO-7)(n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşumu sonrasında 5 mg/kg Salvia officinalis sıvı extresi+ susam yağı 1 mL/rat olacak şekilde Yedi gün boyunca gavaj uygulamasıyla tedavi edildiler. Yedinci günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi, barsak dokusu örnekleri alındı.

XI. Grup (Salvia officinalis extresi 50 mg/kg grubu, yedi günlük) (50 SO-7) (n=10): Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturuldu. Sıçanlar kolit oluşumu sonrasında 50 mg/kg Salvia officinalis sıvı extresi+ susam yağı 1 mL/rat olacak şekilde yedi gün boyunca gavaj uygulamasıyla tedavi edildiler. Yedinci günün sonunda sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi, barsak dokusu örnekleri alındı.

Kolit oluşumundan sonra üçüncü ve yedinci günlerde ketamin ve ksilazin anestezisi altında intrakardiyak olarak kan alındı ve batin orta hattın açılarak kolonun son 10 cm'lik segmenti çıkarıldı. Kolon segmenti longitudinal olarak açıldı, serum fizyolojik ile yıkandı. Barsak segmenti makroskopik olarak skorlandı ve barsak dokusu enzim aktivitelerini değerlendirmek üzere -80 °C'ye kondu.

Tablo V:Kolon mukozasının makroskopik skorum kriterleri (Millar et al. 1996, (67))

Kolit Skoru	Gözle Görülen Morfoloji
0	Makroskopik değişiklik yok
1	Sadece mukozal eritem mevcut
2	Hafif mukozal ödem, yüzeysel kanama ya da küçük erozyonlar
3	Orta derecede ödem, kanayan ülserler ya da erozyonlar
4	Ciddi ülserasyon, erozyonlar, ödem ve doku nekrozu

TNBS koliti oluşturulduktan sonra üçüncü ve yedinci günlerde kolon mukozasının makroskopik skorum yapıldı.

Salvia officinalis sıvı extresinin (Flavex Naturextrakte GmbH 063.001) kimyasal analizi aşağıdaki gibidir.

Tablo VI: Salvia officinalisin kimyasal bileşimi

	Limits	Value
Esansiyel yağ	70-85	77,3 %
Alpha Pinene	2-6	4,8 %
Camphene	n.s	5,3 %
Beta Pinene	n.s	0,82 %
Myrcene	n.s	0,71 %
Limonene	1-5	1,8 %
1.8 Cineole	5-15	11,4 %
Alpha+Beta Thujone	25-33	25,5 %
Camphor	15-30	24,8 %
Beta Caryophyllene	< 8	1,2 %
Alpha Humulene	n.s	4,7 %

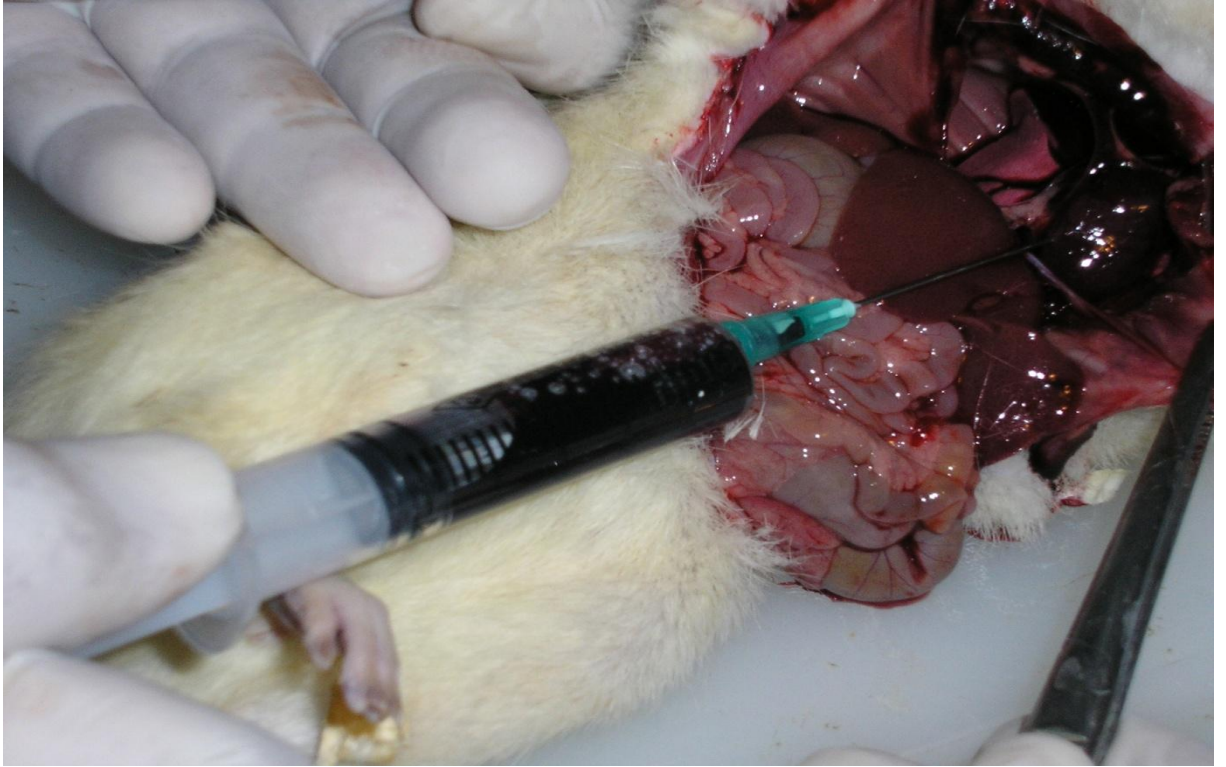
Adaçayı sıvı extresinin LD 50 dozları aşağıdaki gibidir.(Tablo VII)

Tablo VII: Salvia officinalis extresi LD 50 dozları

<u>LD50</u>	<u>Komponent</u>	<u>Tip</u>	<u>Değer</u>	<u>Tür</u>
LD50	Camphor	Oral	1310 mg/kg	Fare
LD50	Limonene	Oral	4400 mg/kg	Rat
LD50	Alpha-Thujone	Oral	500 mg/kg	Rat



Resim 2: *Salvia officinalis* (Adaçayı) sıvı extresinin gavaj yoluyla sıçanlara verilmesi işlemi



Resim 3: İntrakardiyak kan alma işlemi

3.5. Biyokimyasal İşlemler

3.5.1. Doku örneklerinin Hazırlanması

Barsak dokusu örnekleri, proteaz inhibitörü olan 0.2 µM phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF) ve 1 mM Ethylenediamin tetra acetic acid (EDTA) içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) (1/10 g/ml) olacak şekilde 4°C’ de homojenize edildi. Homojenatlar, myeloperoksidaz (MPO) için örnek ayrıldıktan sonra, 10.000 rpm 5 dakika santrifüje edildi ve üstteki supernatant eşit olarak ependorflara ayrılarak diğer parametrelerin bakılabilmesi için – 80° C’ de donduruldu.

3.5.2. Katalaz Ölçüm Yöntemi

Doku örneklerinde katalaz aktivitesi Aebi’ nin (68) yöntemine göre saptandı. Fosfat tamponu (50 mM pH:7.4) olacak şekilde, potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ve disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄.2H₂O) ile hazırlandı. H₂O₂ (30 mM) olarak hazırlandı.

Tampon ile dilüe edilmiş örneğe, H₂O₂'li tamponun eklenmesi ile başlayan absorbands değişimi, spektrofotometrede 240 nm'de izlenerek, 15 saniyedeki absorbands değişimi ölçüldü ve aşağıdaki formüle göre hesaplama yapıldı. Sonuçlar U/g yaş doku olarak verildi.

$$k = (2.3/\Delta t) \log (Abs_1/Abs_2) = 0.1175/\Delta t \text{ (sn}^{-1}\text{)}$$

3.5.3. Malonil Dialdehit (MDA) Ölçüm Yöntemi

Dokuda MDA saptanması Ohkawa’ nın (69) yöntemine göre yapıldı. % 0.67’ lik TBA (2-Thiobarbutiric acid) çözeltisi Tiyobarbitürik asid ile MDA’nın reaksiyona girmesinden sonra reaksiyon ürünü n-butanol ile ekstrakte edildi. MDA standardı olarak, malonaldehit bis-(dimetil asetal) kullanılarak, 1-40 nmol'lük standartlar hazırlandı.

Örneklerdeki absorbandslar spektrofotometrede, 540 nm'de mikropate okuyucusunda okundu ve hesaplar otomatik olarak çizilen standart eğriden hesaplandı. Sonuçlar µmol/g yaş doku olarak verildi.

3.5.4. GSH-Px Ölçüm Yöntemi

Dokuda GSH-Px aktivitesi, Kakkar ve ark.'nın (70) yöntemine göre minör modifikasyonla saptandı. GSH-Px reaksiyon karışımı; 75 mmol fosfat tamponu (pH 7.0), 60 mmol GSH, 30U/ml GR, 15 mmol Na₂EDTA içermektedir. Küvet 37 °C'ye ayarlanan spektrofotometreye kondu. Küvetin içine reaksiyon karışımı konarak gerektiği kadar, dilüe edilmiş hemolizat eklendi. Reaksiyon H₂O₂ (%30) ile başlatıldı ve NADPH'daki absorbansın azalması 340 nm'de 3 dakika izlendi. Non enzimatik reaksiyon hızı kör çalışılarak hesaplandı ve elde edilen sonuçlardan çıkartıldı. Sonuçlar mU/g yaş doku olarak verildi.

3.5.5. Glutasyon Redüktaz (GR) Ölçüm Yöntemi

Dokuda GR aktivitesi, Racker ve ark.'nın (71) yöntemine göre saptanmıştır. Reaksiyon karışımı; 50 mmol/L Tris tamponu, pH 7.6, 100 µmol/L EDTA, 4 mmol/L GSSG (oksidlenmiş glutasyon), 120 µmol/L NADPH ile hazırlandı. Reaksiyon karışımı küvetlere kondu ve uygun ortamda eritrositlerden hazırlanmış hemolizat konarak reaksiyon başlatıldı. 340 nm'de 37°C'de NADPH'ın oksidasyonunun izlenmesi yoluyla GR düzeyleri saptandı. Örnek yerine su kullanılarak, aynı şekilde kör çalışılarak elde edilen sonuç, örneklerden elde edilen sonuçtan çıkartıldı. Reaksiyon üç dakika izlendi. Sonuçlar mU/g yaş doku olarak verildi.

3.5.6. Cu,Zn SOD Ölçüm Yöntemi

Dokuda SOD ölçümü, Sun ve ark.'nın (72) yöntemine göre saptandı. Doku süpernatantı kloroform, etanol ile iyice çalkalandı ve örnekler içindeki SOD 12.000 g'de 1 saat santrifüje edildikten sonra ekstrakte edildi. SOD deney çözeltisi; 0.3 mmol/L xantine, 0.6 mmol/L EDTA, 150 µmol/L nitroblue tetrazolium (NBT), amonyum sülfat (NH₄SO₄), 20167 U/L xantine oksidaz (XOD) içermekteydi. Bu çalışma çözeltisine örnekler eklendikten sonra 25°C'de su banyosunda, XOD çözeltisi eklendi. Reaksiyon bakır klorür (Cu₂Cl₂) eklenerek durduruldu. Ayrıca kör çözeltisi hazırlandı. Deney sonunda oluşan renk 560 nm'de spektrofotometrede ölçüldü.

SOD standardı (Cu,ZnSOD porcine erythrocytes) ile, 0-270 ng/tüp ve % inhibisyon değerleri karşılıklı gelecek şekilde oluşturuldu. İnhibisyon değerleri aşağıdaki formülden hesaplandı. Her örnek için elde edilen inhibisyon değeri, grafik kullanılarak SOD değeri saptandı. SOD düzeyleri ng/g yaş doku olarak verildi.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(\text{Absorbans}_{\text{Kör}} - \text{Absorbans}_{\text{Örnek}})}{\text{Absorbans}_{\text{Kör}}}$$

3.5.7. NO (nitrit+nitrat) Ölçüm Yöntemi

Dokuda NO düzeyleri, Navarro-Gonzalves ve ark.'nın (73) yöntemine göre saptandı. Doku supernatantı önce proteinlerinden ayrıldı. Glisin-NaOH tamponu; glisin ve sodyum hidroksit kullanılarak hazırlandı. Glisin- NaOH tamponu içindeki CuSO₄ çözeltisi; glisin, NaOH ve bakır sülfat kullanılarak hazırlandı. Sülfanilamid çözeltisi; hidroklorid asid %37 ve sülfanilamid ile hazırlandı. NED çözeltisi [N-(1-Naphtyl) Ethyl-Enediamine dihydrochloride] kullanılarak hazırlandı. Standartlar, sodyum nitrit (NaNO₂) kullanılarak, 2-80 µg konsantrasyonlarda hazırlandı.

Örneklerdeki NO konsantrasyonu, Griess reaksiyonu sonucunda ölçüldü. Örnekler ve standartlar, ELISA mikropate okuyucuda 540 nm'de okutuldu. Konsantrasyon hesapları otomatik olarak cihaz tarafından hesaplanmış olup, sonuçlar µM/g yaş doku olarak verildi.

3.5.8. Myeloperoksidaz (MPO) ölçümü

Dokuda MPO aktivitesi Suzuki ve ark.'nın (74) yöntemine göre saptandı. Yöntem sentetik bir substrat olan 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine (TMB)'in MPO yoluyla yıkılımının ölçülmesine dayanmaktadır. Belli miktardaki doku homojenatı 7.000 rpm 5 dakika santrifüje edildi. Üstteki kısım atıldı ve alttaki kalan doku kısmı deterjanlı tampon ile çözüldü (160 mM potassium phosphate buffer, pH 5.4, 1% hexadecyltrimethylammonium bromide, HETAP). Reaksiyon H₂O₂'in 37 °C'de reaksiyon karışımına eklenmesi yoluyla başlatıldı. MPO'nun katalizlediği reaksiyonda TMB oksidasyona uğramakta olup, reaksiyon sırasında absorbans artışı 655 nm'de 15 saniye ölçülmekte ve 1 dakikadaki MPO aktivitesi hesaplanmaktadır. MPO aktivitesi U/g yaş doku olarak verilmektedir.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizin yapılmasında bilgisayar programı olarak SigmaStat 3.5 kullanıldı. Sayısal değişkenler 'ortalama ± standart hata' şeklinde sunuldu. Biyokimyasal bulguların istatistiksel değerlendirilmesi sırasında gruplar arasındaki anlamlı farkların belirlenmesinde One-way

ANOVA testi, iki grup arasındaki farkın belirlenmesinde ise Tukey testi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

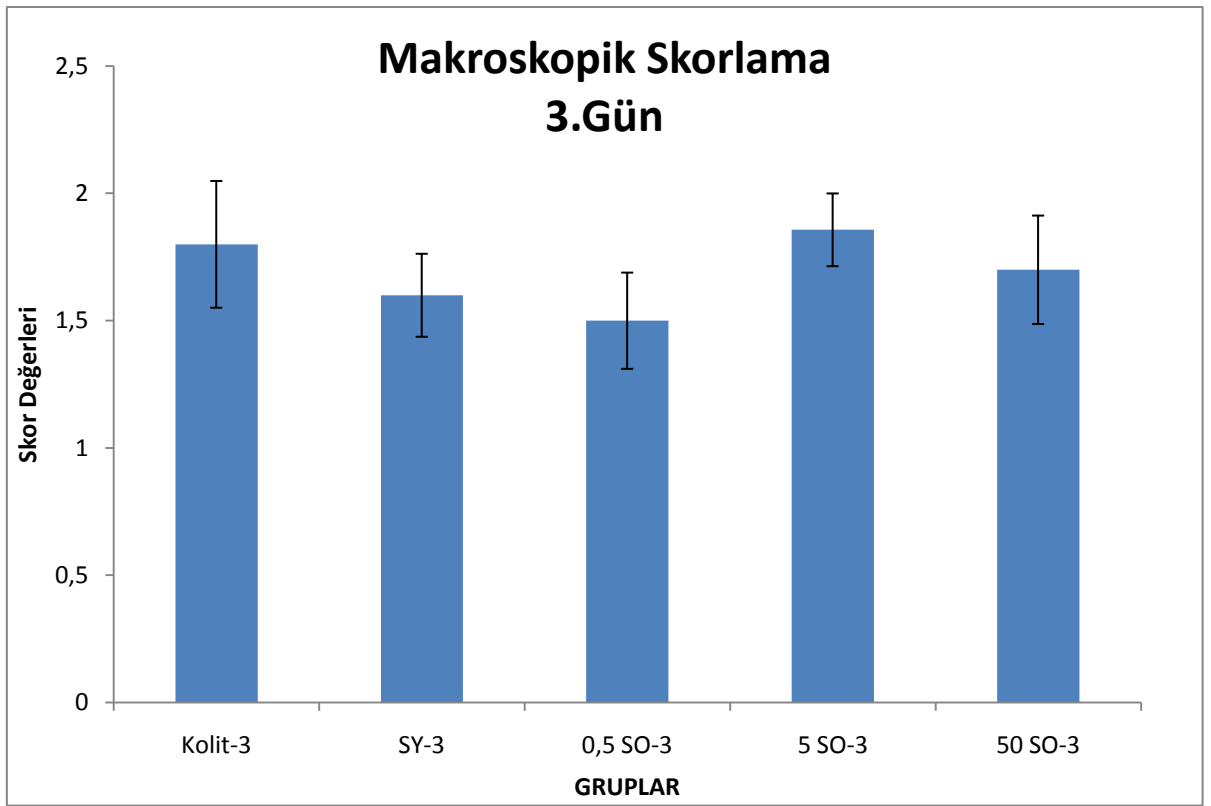
3.7.Kullanılan Malzemeler ve Aletler

- 1- Mikroplate Reader (Bio-TEK Instruments EL 800, U.S.A)
- 2- Santrifüj cihazı (Hettich, Rotina 38R, Almanya)
- 3- Vorteks (IKA® MS2 Minishaker, U.S.A)
- 4- Çalkalayıcı (Microtec, İsviçre)
- 5- Derin dondurucu (Nuaire; -85 °C Ultralow Freezer, U.S.A)
- 6- Ultra saf su cihazı (Krosclinic KRS 8000BT, Türkiye)
- 7- Hassas terazi (Mettler Toledo, AL 204, Çin)
- 8- Homojenizatör (PRO 250 Scientific Inc.,U.S.A)
- 9- Spektrofotometre (Shimatzu, Japonya)
- 10- Otomatik pipet (Eppendorf, Almanya)
- 11- Pipet uçları (mavi ve sarı renkli) : Sarf malzemesi
- 12-Eppendorf tüpleri (kapaklı): Sarf malzemesi

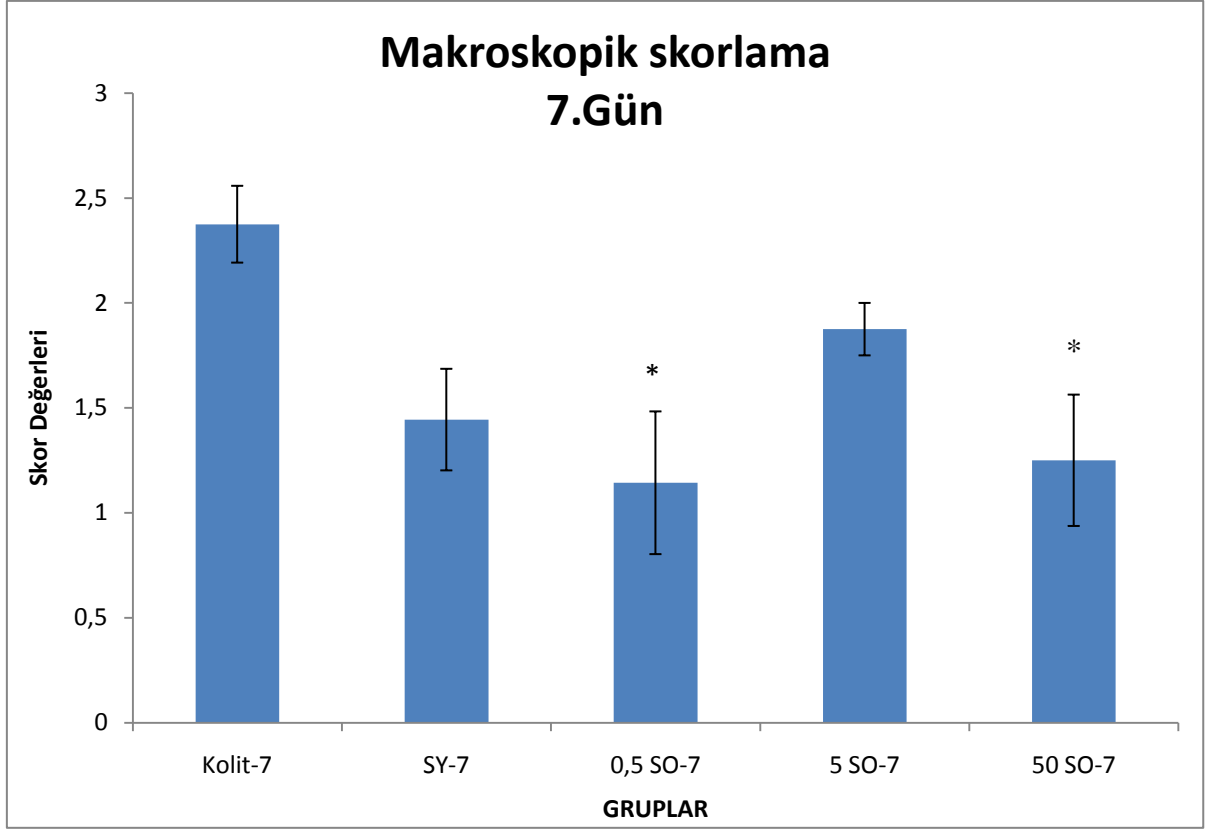
4-BULGULAR

4.1. Makroskopik Bulgular

Gruplara ait makroskopik skarlama değerleri Şekil 3 ve 4'te gösterilmektedir. Grupların     nc  gününde makroskopik skarlama bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p = 0.514$). Yedinci günde ise tedavi gruplarından 0,5 mg kg *Salvia officinalis* grubu ve 50 mg/kg *Salvia officinalis* grubunda kolit grubuna göre makroskopik iyileşme gözlendi ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.008$).



Şekil 3:     nc  günde makroskopik skarlamanın ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arasında karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi



Şekil 4: Yedinci günde makroskopik skrlamanın ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arasında karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi

*Kolit grubuna göre anlamlı azalma göstermiştir ($p<0.05$).

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz tüm gruplara ait doku enzim düzeyleri ortalama değerler $\pm$ standart hata şeklinde Tablo VIII ve IX’da verilmiştir.

Enzimler	Kontrol	Kolit-3	SY-3	0.5 SO-3	5 SO-3	50 SO-3
MPO	110.42 $\pm$ 34.98	4341.44 $\pm$ 793.91*	4217.52 $\pm$ 820.87*	2578.05 $\pm$ 514.59	3755.56 $\pm$ 828.24*	2483.62 $\pm$ 503.72
MDA	0.04 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02	0.03 $\pm$ 0.01	0.05 $\pm$ 0.01
NO	0.17 $\pm$ 0.02	0.23 $\pm$ 0.04	0.17 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.01 [^]	0.10 $\pm$ 0.01 [^]	0.13 $\pm$ 0.01
GSH-Px	147.39 $\pm$ 26.30	132.10 $\pm$ 18.37	242.50 $\pm$ 30.52 [#]	161.74 $\pm$ 29.43	189.41 $\pm$ 18.91	78.41 $\pm$ 10.60 ⁼
GR	4115.70 $\pm$ 241.39	881.23 $\pm$ 146.70	1141.30 $\pm$ 131.79 ^ø	1106.83 $\pm$ 194.30 ^ø	2155.86 $\pm$ 591.83 ^ø	1734.71 $\pm$ 592.04 ^ø
CAT	0.63 $\pm$ 0.11	0.77 $\pm$ 0.18	0.72 $\pm$ 0.17	0.37 $\pm$ 0.07	0.44 $\pm$ 0.10	0.46 $\pm$ 0.05
SOD	142.82 $\pm$ 6.86	166.99 $\pm$ 2.71	160.56 $\pm$ 2.79	162.71 $\pm$ 6.05	183.54 $\pm$ 9.50	192.15 $\pm$ 7.09 ^{&}

*: Kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.05).

#:Kolit grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.05)

=: SY-3 ve 5 SO-3 grubuna göre anlamlı azalmıştır (p<0.05).

^: Kolit grubuna göre anlamlı azalmıştır (p<0.05)

&: Kontrol, Kolit, SY-3, 0.5 SO-3 gruplarına göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.05).

ø: Kontrol grubuna göre anlamlı azalmıştır (p<0.05).

Tablo IX: Grupların yedinci gününe ait doku enzim düzeyleri

Enzimler	Kontrol	Kolit-7	SY-7	0,5 SO-7	5 SO-7	50 SO-7
MPO	110.42±34.98	3191.95±1313.20*	4548.29±753.01*	4587.23±598.85*	4704.86±682.16*	189.75±504.74 [^]
MDA	0.04±0.01	0.04±0.01	0.02±0.01	0.11±0.02 ^{&}	0.06±0.01	0.05±0.01 ^{\$}
NO	0.17±0.02	0.13±0.01	0.22±0.04 [#]	0.13±0.01	0.12±0.01 ⁼	0.15±0.09
GSH-Px	147.40±26.30	102.9±19.11	88.58±6.64	104.91±12.14	133.44±15.45	88.37±14.28
GR	4115.70±241.39	754.36±191.57 ^ø	1917.87±179.34 ^ø	2228.74±311.48 ^ø	1681.21±242.44 ^ø	1705.13±831.11 ^ø
CAT	0.63±0.11	0.09±0.33	0.43±0.08	0.54±0.20	0.32±0.12	0.32±0.07
SOD	142.82±6.86	176.17±4.83*	177.61±5.10*	166.69±3.39*	160.12±2.79 ⁼	162.57±4.32

*: Kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.05).

[^]: 5 SO-7 grubuna göre anlamlı azalmıştır (p<0.05).

&: Kontrol, SY-7, Kolit gruplarına göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.05).

\$: 0.5 SO-7 grubuna göre anlamlı azalmıştır (p<0.05).

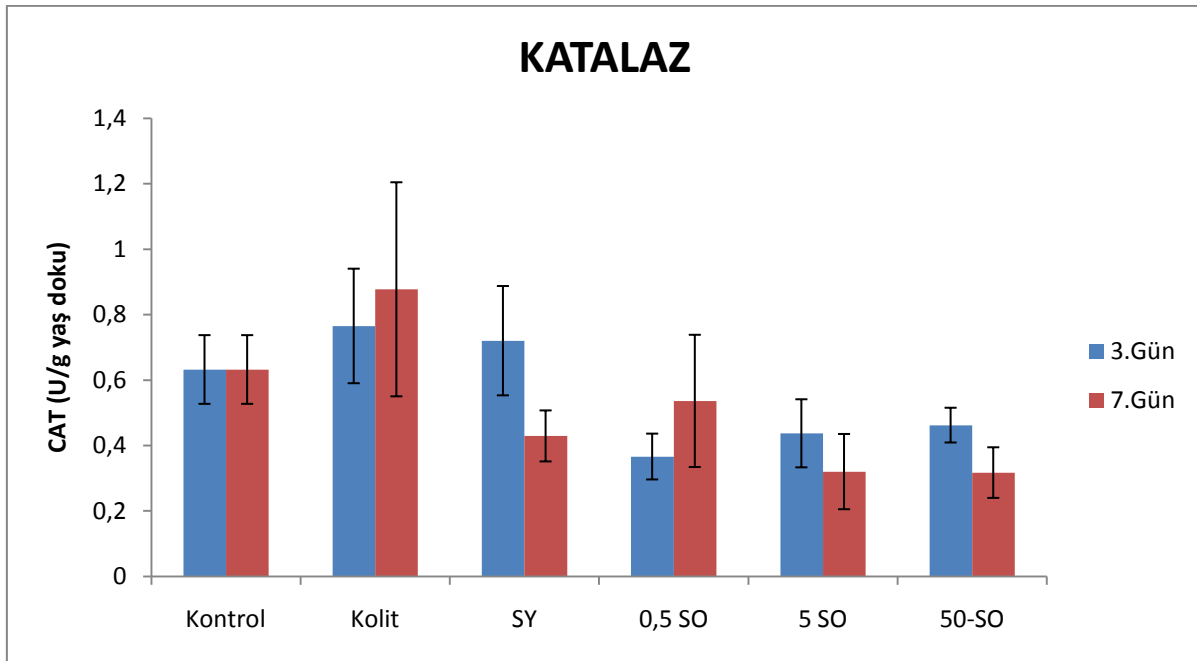
#: Kolit grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (p<0.05).

=: SY-7 grubuna göre anlamlı azalmıştır (p<0.05).

ø: Kontrol grubuna göre anlamlı azalma göstermiştir (p<0.05).

4.2.1. Katalaz (CAT)

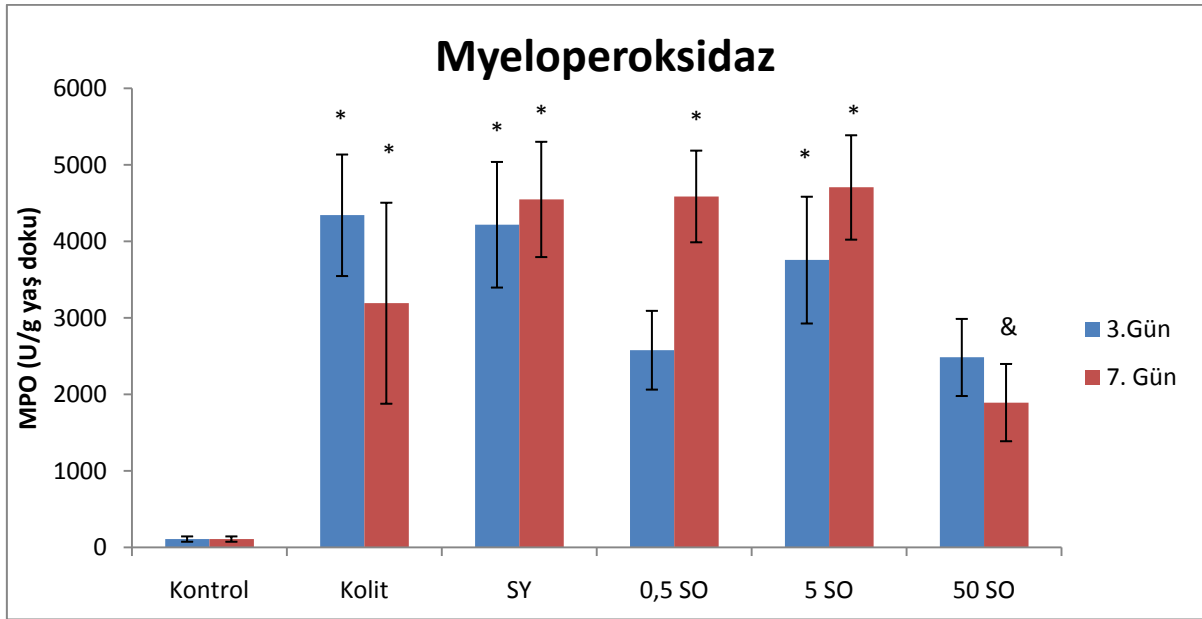
Gruplara ait katalaz aktivite düzeyleri Şekil 5'te gösterilmektedir. Kolit oluşturulan grupların üçüncü gününde katalaz aktivite değerleri bakımından istatistiksel anlamlılık saptanmadı ($p = 0.056$). İlaç tedavisi uygulanan gruplarda üçüncü günde katalaz aktivite seviyesinde kolit grubuna göre rakamsal azalma gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Kolit oluşturulan grupların yedinci gününde katalaz aktivite değerleri kolit grubuna göre düşük tespit edildi ancak istatistiksel anlamlılık bulunmadı ($p=0.268$).



Şekil 5 :Üçüncü ve yedinci günlerde doku katalaz (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi

4.2.2. Myeloperoksidaz (MPO)

Doku MPO aktivite düzeyleri Şekil 6'da gösterilmektedir. Grupların üçüncü gününde MPO aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmiştir. Kolit grubu, SY-3 grubu ve 5 mg/kg SO grubunun MPO aktivitesi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). İlaç tedavisi uygulanan tedavi gruplarının üçüncü gününde MPO düzeylerinde kolit grubuna göre rakamsal azalma gözlemlendi ancak istatistiksel anlamlılık saptanmadı. Yedinci günde grupların MPO aktiviteleri arasında istatistiksel anlamlılık saptandı. Kolit grubu, SY-7 grubu ,0,5 SO 7 ve 5 SO-7 grubunun MPO aktivite düzeyi kontrol grubuna göre artmış bulundu ($p<0.05$). 50 mg/kg Salvia officinalis grubunun MPO aktivite değeri kolit grubuna göre belirgin olarak düşük bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. 50 mg/kg Salvia officinalis grubunun MPO düzeyi 5 mg/kg Salvia officinalis grubuna göre azalmış bulundu, bu azalma istatistiksel anlamlı olarak saptandı ($p<0.05$).



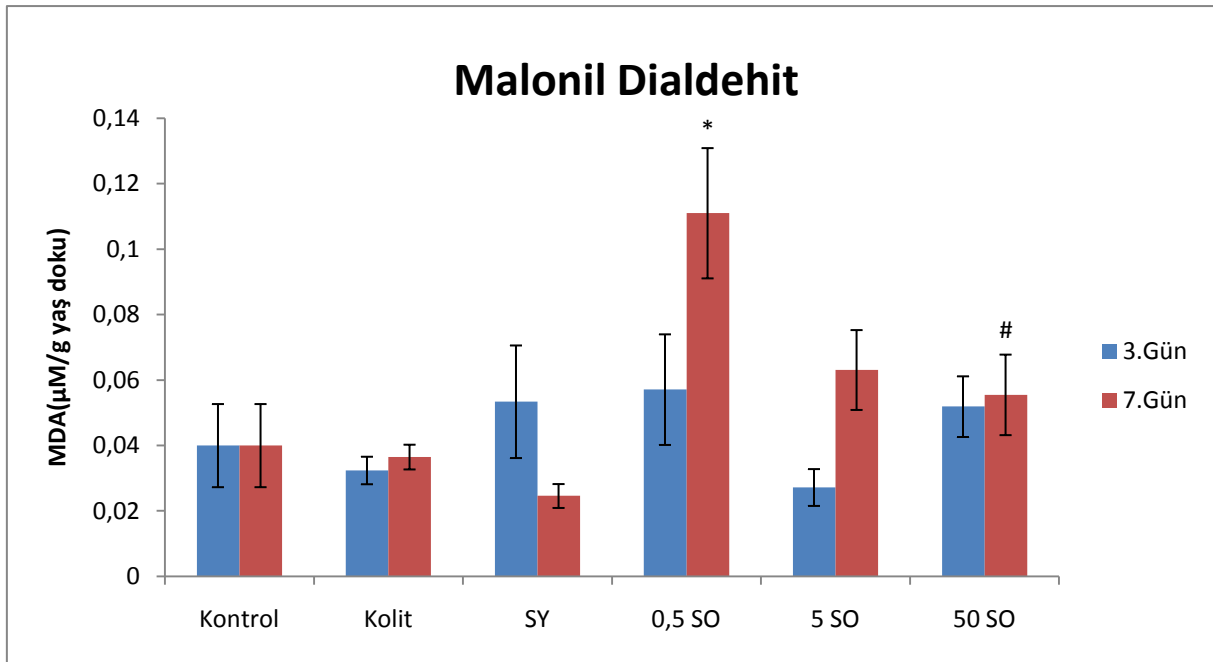
Şekil 6 : Üçüncü ve yedinci günlerde doku MPO (U/g yaş doku) aktivite düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi

* Kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0.05$).

& 5 mg/kg SO-7 grubuna göre anlamlı azalmıştır ($p<0.05$)

4.2.3. Malonil Dialdehit (MDA)

Doku MDA düzeyleri Şekil 7’de gösterilmektedir. Grupların üçüncü gününde MDA düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır ($p=0.345$). Yedinci günde grupların MDA düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır ($p<0.001$). Yedinci günde 0,5 mg/kg *Salvia officinalis* grubunda MDA düzeyi, Kontrol, Susam Yağı ve Kolit gruplarına göre anlamlı artış göstermiştir. 50 mg/kg *Salvia officinalis* extresi grubunda MDA düzeyi, 0.5 mg/kg *Salvia officinalis* extresi grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur.



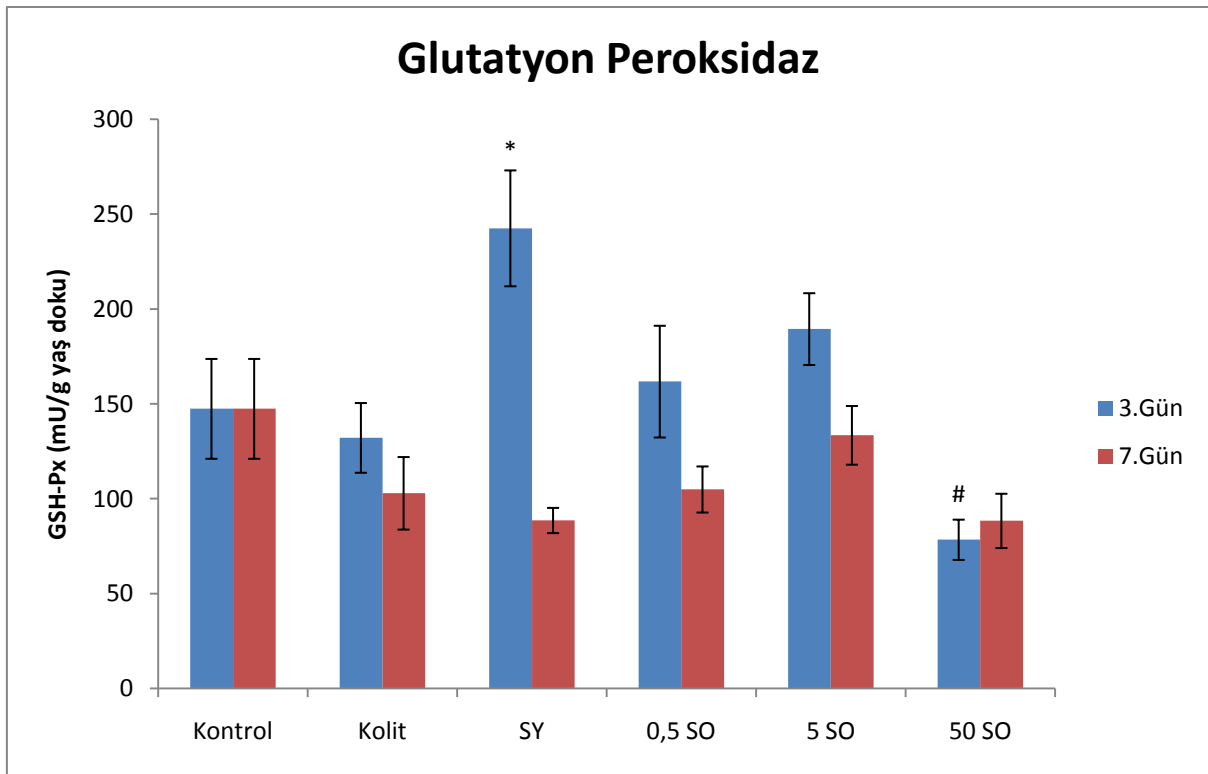
Şekil 7: Üçüncü ve yedinci günlerde doku MDA (micromol/g yaş doku) düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

*Kontrol, Susam yağı-7 ve Kolit-7 gruplarına göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0.05$).

0.5mg/kg SO-7 grubuna göre anlamlı azalmıştır ($p<0.05$).

4.2.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Doku GSH-Px aktivite düzeyleri Şekil 8’de gösterilmektedir. Üçüncü günde kolit grubunun GSH-Px aktivite düzeyleri normal kontrollere göre düşük tespit edildi. Yine üçüncü günde Susam yağı grubu GSH-Px aktivite düzeyini kolit grubuna göre arttırdı, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Üçüncü günde 50 mg/kg *Salvia officinalis* extresi grubunda GSH-Px enzim aktivitesi Susam yağı ve 5 mg/kg *Salvia officinalis* grubuna göre düşük bulundu, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($p<0.05$). Yedinci günde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.179$).



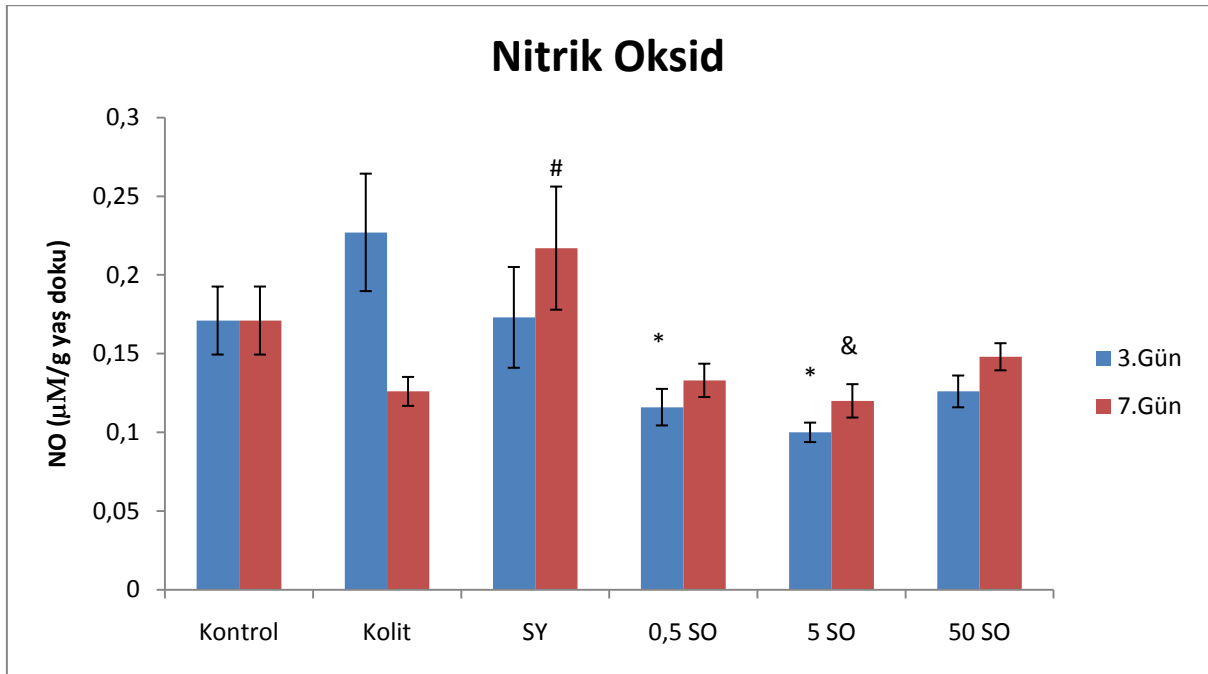
Şekil 8 :Üçüncü ve yedinci günlerde doku GSH-Px (mU/g yaş doku) düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

*Kolit-3 grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$).

#SY-3 ve 5 mg/kg SO-3 gruplarına göre anlamlı azalmıştır ($p<0.05$).

4.2.5. Nitrik oksid (NO)

Doku NO düzeyleri Şekil 9’da gösterilmektedir. Üçüncü günde grupların NO düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır ($p=0.01$). 0.5 mg/kg *Salvia officinalis* extresi grubu ve 5 mg/kg *Salvia officinalis* extresi grubunun NO düzeyleri, kolit grubuna göre düşük tespit edilmiştir, bu azalma istatistiksel anlamlı olarak saptanmıştır. Yedinci.günde grupların NO düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık tespit edilmiştir ($p=0.023$). Yedinci. günde Susam yağı grubunun NO düzeyi kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır. Yedinci günde 5 mg/kg *Salvia officinalis* extresi grubu, NO düzeylerini Susam Yağı grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azaltmıştır.



Şekil 9 : Üçüncü günde doku NO (mikromol/g yaş doku) düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

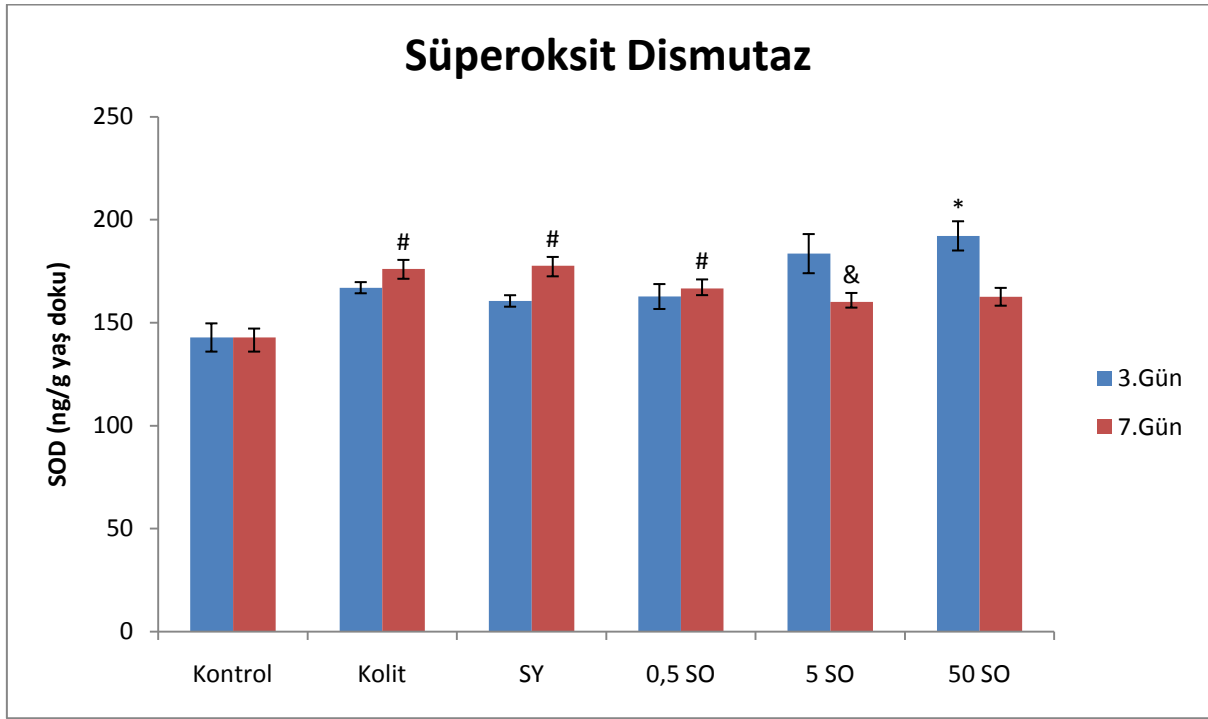
*Kolıt-3 grubuna anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$).

Kolıt-7 grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$).

& SY-7 grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$).

4.2.6. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Gruplara ait Süperoksit Dismutaz aktivite düzeyleri Şekil 10'da gösterilmektedir. Üçüncü günde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır ($p<0.001$). Üçüncü günde 50 mg/kg *Salvia officinalis* grubu süperoksit dismutaz aktivite düzeyini Kontrol grubu, Kolit grubu, Susam yağı grubu ve 0.5 mg/kg *Salvia officinalis* grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak arttırmıştır. Yedinci günde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır ($p=0.016$). Kolit, Susam yağı ve 0.5 mg/kg SO grubunun SOD düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. Yedinci günde 5 mg/kg *Salvia officinalis* grubu Susam yağı grubuna göre süperoksit dismutaz aktivite düzeyini istatistiksel anlamlı olarak düşürmüştür.



Şekil 10 : Üçüncü ve yedinci günlerde doku SOD (ng/g yaş doku) düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

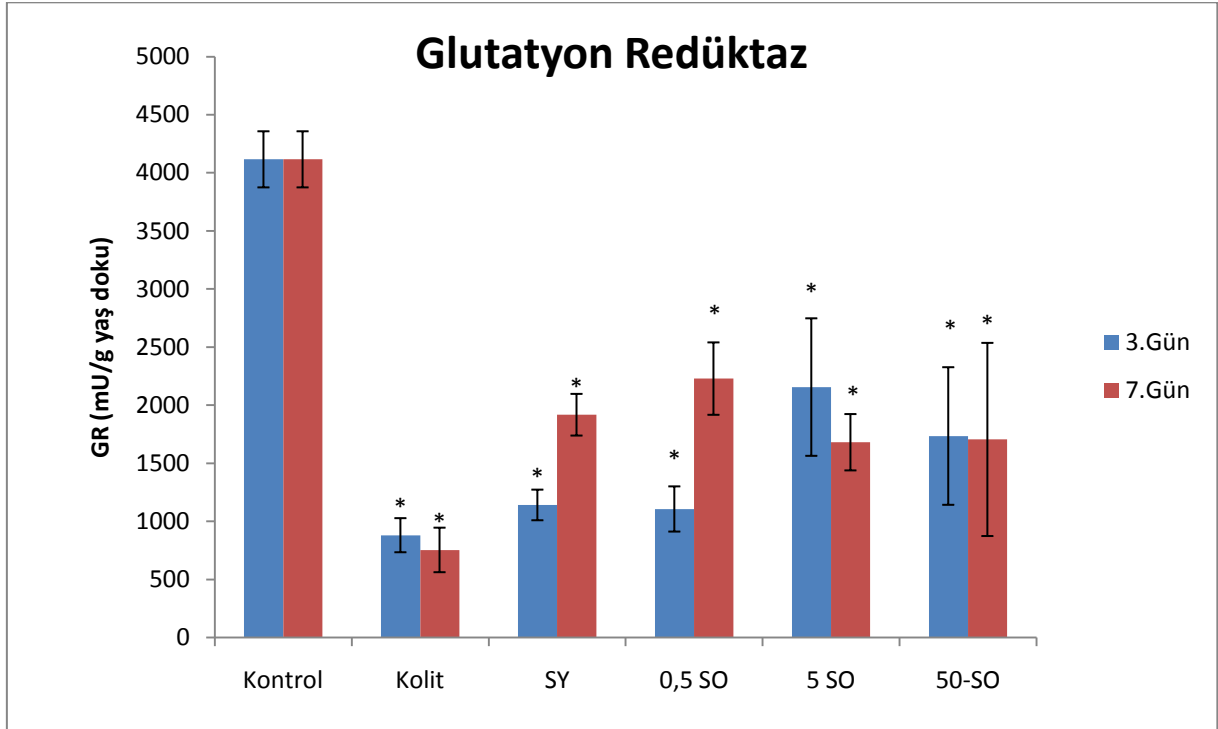
*Kontrol, Kolit-3, Susam yağı-3, 0.5 mg/kg SO-3 gruplarına göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$).

&Susam yağı-7 grubuna göre anlamlı azalmıştır ($p<0.05$).

#Kontrol grubuna göre anlamlı artmıştır ($p<0.05$).

4.2.7. Glutasyon Redüktaz (GR)

Doku glutasyon redüktaz aktivite düzeyleri Şekil 11’de gösterilmektedir. Üçüncü günde gruplar arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır ($p<0.001$). Yedinci günde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.001$). Tüm gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı azalma bulunmuştur.



Şekil 11 : Üçüncü ve yedinci günlerde doku GR (mU/g yaş doku) düzeylerinin ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gruplar arası karşılaştırmasının grafiksel olarak gösterilmesi.

*Kontrol grubuna göre anlamlı azalmıştır ($p<0.05$).

5-TARTIŞMA

Deneysel kolit modeli için kullanılan ajanlar trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), asetik asit, dekstran sülfat sodyum, iodoacetamid gibi normal mukoza üzerine çeşitli oranlarda irritatif etkileri görülen genelde asit pH'ya sahip ajanlardır (75). Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) ile oluşturulan kolit modeli haptan ile indüklenmiş gecikmiş tip hipersensitivite sonrası oluşan kronik bir inflamasyon ve ülserasyon modelidir (47). Segmental ülserasyon ve inflamasyon sıklıdır.Yapılmış bir çalışmada etanolde çözünmüş TNBS ile oluşturulmuş kolitteki mukozal lezyonlar annüler ya da longitüdüal ülserler, lenfosit infiltrasyonu, granülomlardan oluştuğundan bu modelin insandaki CH'nin makroskopik ve mikroskopik bulgularına benzer olduğu tespit edilmiştir (76). Etanol ile mukozal bariyer kırılıp TNBS ile doza bağımlı ülserasyon ve inflamasyon gelişir. Ülserasyon ve barsak duvarında kalınlaşma yaklaşık sekiz hafta devam ettiğinden bu model kronik kolit oluşması istendiğinde tercih edilmektedir. Histolojik olarak mukoza ve submukozada PMNL, makrofaj, lenfosit, bağ dokusu mast hücreleri ve fibroblastlardan oluşmuş inflamatuvar cevap mevcuttur (47). TNBS kolit modelinde mukozal ödem, kanama odakları, segmental ülserasyon ve nekrotik alanlar yaygın olarak görülmektedir (77).

Güncel çalışmalarda erdostein, sarımsak + L-arginin, N-asetil sistein, ginkgo biloba extresi, probiyotikler, melatonin, CAPE, lityum, Angelica sinensis polisakkaridi gibi birçok maddenin deneysel kolitteki hasarı azalttığı ortaya konmuştur (78-86).

Salvia, Lamiaceae ailesi içinde yer alan yaklaşık 900 türü bulunan çok önemli bir cinstir. Salvianın bazı türleri halk tıbbında yaygın bir biçimde kullanıldığı için ekilip yetiştirilmektedir. Salvia officinalis, bu cins içinde yer alan bir türdür (66). Salvia officinalisin antibakteriyel, fungistatik, virüstatik, astrenjan, öpeptik ve antihidrotik aktiviteler gibi çok geniş biyolojik aktivitelere sahip olduğu rapor edilmektedir (87). Ancak kolit üzerindeki etkisi daha önce hiç araştırılmamıştır . Bu nedenle üç farklı dozda (0.5 mg/kg, 5 mg/kg ve 50 mg/kg) Salvia officinalis extresi verilerek üç ve yedi günlük gruplarda kolitteki etkisi araştırıldı. Kontrol ile karşılaştırıldığında makroskopik olarak üçüncü günde tedavi dozlarında iyileşme saptanmadı. Ancak yedinci günde kolit gruplarında barsak mukozasında ödem, kanayan ülserler ve erozyonlar gözlenirken, 0.5 mg/kg ve 50 mg/kg SO verilen gruplarda makroskopik iyileşme gözlemlendi. SO tedavisi sonucunda ülserlerin ve erozyonların belirgin olarak düzeldiği sadece hafif mukozal eritem geliştiği görüldü. Bu iyileşme

istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu *Salvia officinalis*in, kolit patojenezinden sorumlu tutulan inflamatuvar ve oksidan sistemle ilişkili olabileceğini göstermektedir. *Salvia officinalis*in antioksidan özellikleri, yapısında bulunan fenolik bileşiklere bağlanmaktadır (6).

Katalaz , tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (59). Çeşitli çalışmalarda kolitte katalaz düzeyinin arttığı, değişmediği veya azaldığı bildirilmektedir (78, 88, 89). Harisa ve arkadaşları 2009 yılında yapmış oldukları bir çalışmada ratlarda asetik asite bağlı kolit modelinde sarımsağın antioksidan etkisini L-arginin tedavisinin arttırdığını bulmuşlardır. Ratlara dört hafta boyunca sarımsak ekstresi (0.25 g/kg) ve yine dört hafta boyunca sarımsak (0.25 g/kg) + L-arginin (625 mg/kg) uygulamışlardır. Sarımsak ve L-arginin uygulanan sıçanların kolonik dokusunda katalaz aktivitesinin azaldığını ortaya koymuşlardır (90). Çetinkaya ve arkadaşlarının 2005 yılında yapmış oldukları bir başka çalışmada ratlarda asetik asite bağlı deneysel kolit modelinde N-asetil sisteinin yararlı etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda tedavi gruplarında kolonik doku katalaz aktivitesinin azaldığı bulunmuştur (88). Bizim çalışmamızda grupların üçüncü gününde ve yedinci gününde kolonik doku katalaz aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Katalaz düzeyindeki bu azalma kolonik dokuda oksidatif stresin belirgin olarak artmadığı, buna bağlı olarak da antioksidan enzimler tarafından kompensasyona gerek kalmadığı şeklinde yorumlanabilir. Tedavi sonrasında H₂O₂ düzeyindeki azalmaya bağlı olarak katalaz aktivitesindeki azalma beklenen bir sonuçtur. Bu sonuçlar, literatürler ile uyumlu görülmektedir.

Myeloperoksidaz predominant olarak nötrofillerde bulunur ve kolon inflamasyonunun nicel indexi olarak kullanılır (78). İn vivo olarak inflame kolon dokusunda nötrofil birikiminin güvenilir bir belirleyicisidir (83). Çetinkaya ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada ratlarda asetik asite bağlı deneysel kolit modelinde oksidan/antioksidan yanıt üzerine L-carnitinin etkileri incelenmiştir. Tedavi gruplarında MPO aktivitesi kolit grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak azalmıştır (78). Şener ve arkadaşlarının 2007 yılında yapmış oldukları bir başka çalışmada ratlarda TNBS'ye bağlı deneysel kolit modelinde erdosteinin antioksidan ve radikal süpürücü etkisiyle kolonik inflamasyonu azalttığı bulunmuştur. Tedavi gruplarında kolit kontrol grubuna göre MPO

aktivitesi düşük bulunmuştur (85). Levine ve arkadaşlarının yaptığı benzer çalışmalarda da düşük moleköl ağırlıklı heparinlerin deneysel kolit modelinde makroskopik ve mikroskopik hasarı anlamlı ölçüde etkilediği ve MPO düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (91). Bizim çalışmamızda grupların üçüncü gününde tedavi gruplarında MPO aktivitesi kolit kontrol grubuna göre rakamsal olarak azalmış bulunmuştur. Yedinci günde ise 50 mg/kg *Salvia officinalis* grubunda kolit kontrol grubuna göre MPO aktivitesinin rakamsal olarak azaldığı tespit edilmiştir. Fakat üçüncü ve yedinci günlerdeki bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir. MPO' nun düşük bulunması tedavinin kolit oluşturulmuş dokuya lökosit ve mononükleer hücre göçünü engellemiş olabileceğini ve bu sayede antiinflamatuvar bir etki yapmış olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu etki ilacın, kolit hasarı sürecinde bu hücrelere bağılı oluşacak hasarın azaltılmasında da etkili olabileceği konusunda beklentileri arttırmaktadır. Enzim düzeyindeki bu azalmalar literatürle uyumlu görünmektedir.

Malonildialdehid lipid peroksit düzeylerinin ölçümünde sıklıkla kullanılır ve lipid peroksidasyonu derecesiyle iyi bir korelasyon gösterir. Oksidatif stres ve bunun neticesinde lipid peroksidasyonunun serbest radikal zincir reaksiyonlarını ağırlaştırdığı, bunun neticesinde intestinal mukoza bariyerinin bütünlüğünün bozulduğu, inflamasyon mediatörlerinin aktive olduğu ve sonuç olarak kolonik MDA düzeyinin arttığı çeşitli insan ve hayvan çalışmalarda gösterilmiştir (92, 93). Çetinel ve arkadaşları 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada sıçanlarda stresle ağırlaştırılan kolit modelinde oksitosin tedavisinin reseptör bağımlı mekanizmalarla kolite bağılı hasarı azalttığını ortaya koymuşlardır. Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturulmuş, ardından beş gün boyunca 30 dakika süreyle stres testi olarak sudan kaçınma şeklinde psikolojik test uygulanmıştır. Stresle indüklenen MDA düzeyi artışını oksitosin tedavisi geri çevirmiştir (94). Beno ve arkadaşları idiyopatik proktokoliti olan insanlar üzerinde yapmış oldukları bir başka çalışmada 5-aminosalisilik asitin antioksidan sistem üzerine etkilerini incelemişlerdir. 10 hasta 10 hafta boyunca 5-aminosalisilik asit tedavisi almıştır. Tedavi sonucunda yükselmiş olan serum MDA düzeyinin azaldığını bulmuşlardır (95). Mousavizadeh ve arkadaşları ratlarda asetik asitle oluşturdukları deneysel kolit modelinde 5-HT reseptör antagonisti tropisetronun etkisini araştırmışlardır. Tropisetron makroskopik ve mikroskopik hasarı azaltmış, ayrıca lipid peroksidasyon bulgusu olan yükselmiş malonil dialdehid düzeyini düşürmüştür (96). Rabl ve arkadaşlarının bir çalışmasında, böbrek transplantasyonu veya ekstremiteler kurtarma amacıyla revaskülarizasyon uygulanan hastaların plazma MDA düzeyleri, transplantasyon uygulanan hastalarda ortalama %107,

revaskülarizasyon uygulanan hastalarda ise ortalama %50 arttığını göstermişlerdir (97). Bizim çalışmamızda tedavinin üçüncü gününde gruplar arasında malonil dialdehid düzeyi açısından istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. Yedinci günde ise 0.5 mg /kg SO extresi alan grubun MDA düzeyi kolit kontrol grubuna göre artmış bulundu. Bu artış istatistiksel anlamlı olarak saptandı. Yedinci günde bu artış, inflamasyona bağlı olarak barsağın hasarlanmasına katkıda bulunabilen lipid mediatörlerinin aşırı üretimine bağlı olabilir. Yine yedinci günde 50 mg/kg SO extresi alan grubun MDA düzeyi 0.5 mg/kg SO ekstresi alan gruba göre azalmış bulundu. Bu azalma da istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi. Bu da *Salvia officinalis*in bu dozda ve bu kadar süre ile tedavide hidroksil radikallerini temizlemesi sonucunda lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini ve kolonik MDA düzeyini düşürdüğü şeklinde yorumlanabilir.

Süperoksit dismutaz, oksidatif stresi önlemek için yaşamsal önem taşıyan bir metaloproteindir. Süperoksit anyonunun hidrojen peroksit ve O₂'ne dönüşümünü katalize ederek primer defansta görev alır ve serbest radikallerin ileri aşamalarda üretimini önler (78). SOD üç izoenzim halinde bulunmakta olup bir Cu⁺-Zn²⁺ şekli sitozolde, bir Mn²⁺ şekli mitokondrilerde ve bir Cu⁺-Zn²⁺ şekli hücre dışında bulunur. Cu⁺-Zn²⁺ SOD'un aktivitesi, süperoksit üretimini arttıran koşullar (hiperbarik oksijen gibi) veya kimyasallar tarafından arttırılır (59). Liu ve arkadaşları 2003 yılında yapmış oldukları bir çalışmada ratlarda TNBS ile oluşturulmuş kolit modelinde *tanguticum maxim* polisakkaridinin etkisini araştırmışlardır. 200 ve 400 mg/kg dozlarda koliti iyileştirici etki ortaya çıkmış ve kolon dokusunda süperoksit dismutaz enzim düzeyi yükselmiştir (98). Zhou ve arkadaşlarının 2006 yılında yapmış oldukları bir başka çalışmada ratlarda TNBS'ye bağlı kolit modelinde inflamasyon mediyatörleri üzerine *gingko biloba* extresinin etkileri araştırılmıştır. *Gingko biloba* extresinin inflamasyon üzerine iyileştirici etkisi olduğu bulunmuş ve tedaviyle kolon dokusunda süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin arttığı görülmüştür (86). Ek ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları bir çalışmada ratlarda TNBS'ye bağlı deneysel kolit modelinde CAPE'in etkileri araştırılmıştır. Tedavi gruplarında SOD enzim aktivitesinin yüksek olduğu bulunmuştur (80). Yine Patel ve arkadaşlarının 2010 yılında yapmış oldukları bir çalışmada ratlarda TNBS'ye bağlı kolit modelinde *Ficus bengalensis* (kına kına kabuğu) etanolik extresinin etkileri değerlendirilmiştir. Sıçanlara 21 gün boyunca *Ficus bengalensis* extresi 2 mg/kg prednisolonla birlikte uygulanmıştır. Deneyin sonunda antioksidan enzimler değerlendirilmiş ve MPO, MDA, NO'nun azaldığı, SOD'un ise arttığı bulunmuştur (99).

Bizim çalışmamızda grupların üçüncü gününde tedavi gruplarından 50 mg/kg SO extresi grubunun süperoksit dismutaz enzim aktivitesi kolit kontrol grubuna göre artmış bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi. Grupların yedinci gününde ise kolit, susam yağı ve 0.5 mg/kg SO extresi gruplarının SOD düzeyi kontrol grubuna göre artmış bulundu. Bu artış istatistiksel anlamlı olarak saptandı. SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimler SOR kaynaklı hasarlanmaya karşı doğal savunma sisteminin bir parçasıdır. CH'larının inflame kolonunda ve kolitli ratların kolonik epitelinde bakır, çinko SOD konsantrasyon aktivitesi azalmıştır (100). TNBS ile oluşturulan inflamatuvar barsak hastalığında SOD verilmesinin oksidatif stresi azalttığı, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve lökosit iyileşmesini düzelttiği gösterilmiştir (101). SOD aerobik hücrelerde oksijen radikalının zararına karşı intrasellüler savunmada büyük rol oynar. Üçüncü günde 50 mg/kg SO extresi verilen grupta SOD enzim aktivitesinin artması, indirekt olarak inflamasyonun şiddetinin azalmasına işaret etmektedir. Bu da sonuç olarak antioksidan tedavinin başarılı olduğunun bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Lipofilik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO), damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla L-arjinden sentezlenir. Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, oluşmuş olan reaktif oksijen türleri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonla hidroksil radikali oluşumuna yol açmaktadır (102). Mei ve arkadaşları 2005 yılında yapmış oldukları bir çalışmada ratlarda TNBS ile oluşturulmuş kolit modelinde melatoninin NO enziminin değişimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Deneyin sonunda histolojik skor değerlendirilmiş, kolonik dokuda MDA, MPO ve NO düzeyleri ölçülmüştür. Melatoninin NO düzeylerini düşürdüğü ve tüm parametreleri iyileştirdiği ortaya konmuştur (103). Kazi ve arkadaşlarının 2008 yılında yapmış oldukları bir çalışmada crocetin NFkB downregülasyonu yoluyla farelerde TNBS'ye bağlı kolit modelinde hasarı azalttıklarını bulmuşlardır. Crocetin farelere gavaj yoluyla uygulanmıştır. Kolit indüksiyonu neticesinde TNBS grubunda NO düzeyi kontrol grubuna göre yükselmiştir. Tedavi grupları yükselmiş olan NO düzeylerini düşürmüştür (104) Bizim çalışmamızda grupların üçüncü gününde 0.5 ve 5 mg/kg SO extresi alan grupların kolonik doku NO düzeyleri kolit kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Bu azalma istatistiksel olarak anlamlıdır. Aktif ÜK ve CH'da inflame

mukozalardaki epitelyal hücrelerde indüklenebilir NO sentaz enziminin artmış aktivitesi söz konusudur. Artan NO düzeyi inflamasyonun ve dolayısıyla hastalığın şiddetini yansıtır. Doku NO düzeyindeki değişiklikler İBH'nın gidişi ve sağaltımıyla ilgili önemli ipuçları sunar (105). Çalışmamızda üçüncü günde 0.5 ve 5 mg /kg dozlarında NO düzeylerinin kolit kontrol grubuna göre düşük bulunması tedaviyle indüklenebilir NOS sentaz aktivitesinin azaldığı ve bir sonraki aşamada peroksinitrit radikalinin oluşumunun azaldığı şeklinde yorumlanabilir. Yedinci günde susam yağı grubunun NO düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Susam yağı farklı mekanizmalarla nitrik oksit sentaz enzim aktivitesini ve peroksinitrit radikali oluşumunu arttırıyor olabilir. Yedinci günde 5 mg/kg SO extresi alan grubun NO düzeyi susam yağı grubuna göre anlamlı azalmış bulundu.

Glutasyon (γ -glutamilsisteinilglisin) vücudun oksidatif harabiyete karşı kullandığı ana araçlardan bir tanesidir. Glutasyon, glutamat, sistein ve glisinden kurulu bir tripeptid olup sisteinin peptid bağı glutamatın γ -karboksil grubuna peptid bağı ile bağlanmıştır (59) Glutasyon peroksidaz enzimi, dokuları H_2O_2 ve lipoperoksitlerin oluşturduğu oksidatif hasara karşı koruyan başlıca enzimdir. GSH-Px enzimi, aktivitesi için koenzim olarak selenyum'a (Se) ihtiyaç duymaktadır (50) Okside olmuş glutasyon bir kez olduğu zaman bunun bir redoks döngüsünde glutasyon redüktaz tarafından sülfidril haline gerisin geri indirgenmesi zorunludur. Glutasyon redüktaz bir FAD içerir ve elektronların NADPH'dan GSSG'nin disülfid bağına aktarılmasını katalize eder (59) GSH-Px enzim aktivitesi de inflamasyonla ilişkili olarak artış göstermektedir ve Laurens Kruidenier ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hem inflamasyon bulunmayan barsak bölgesinde hem de inflamasyonlu barsak bölgesinde arttığı gösterilmiştir . Dost ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları bir çalışmada ratlarda TNBS'ye bağlı deneysel kolit modelinde üç ve yedi günlük gruplarda St. John's Wort'un etkileri araştırılmıştır. Tedavi sonrasında antioksidan enzimler değerlendirilmiştir. Çalışmada GSH-Px düzeylerinin kolitte anlamlı olarak arttığı HP extresi alan gruplarda ise GSH-Px düzeylerinin düştüğü ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur (106). Bizim çalışmamızda grupların üçüncü gününde susam yağı grubunun GSH-Px aktivitesi kolit grubuna göre artmış bulundu. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi. Bu grupta GSH-Px düzeyinin daha yüksek değerde olmasının nedeni H_2O_2 eliminasyonunun GSH- Px tarafından devam ettirilmesi şeklinde yorumlanabilir. Yine üçüncü günde 50 mg/kg SO extresi grubunun GSH-Px düzeyi Susam yağı ve 5 mg/kg SO extresi gruplarına göre azalmış bulundu. Bu düşme istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Tedaviyle

H₂O₂ düzeyindeki azalmaya bağlı olarak GSH-Px enzim aktivitesinin de azaldığı düşünölebilir. Yedinci günde grupların GSH-Px düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı. Gonzalez ve arkadaşlarının 2001 yılında yapmış oldukları bir çalışmada diyetdeki vitamin E desteğinin kalın barsağı intestinal inflamasyondan koruduğu bulunmuştur. Sıçanlarda TNBS ile kolit oluşturulmuş ve 300 mg/kg E vitamini destekli nonpürifiye diyetle tedavi edilmiştir. Hasar skoru azalmış ve glutatyon redüktaz düzeyleri tedaviyle korunmuştur (107). Bizim çalışmamızda üçüncü ve yedinci günlerde glutatyon redüktaz düzeyleri kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ancak kolit kontrol gruplarına göre glutatyon redüktaz düzeylerinde değişiklik olmamıştır.

6-SONUÇ VE ÖNERİLER

Deneyssel olarak TNBS ile oluşturulan kolit modelinde *Salvia officinalis*in etkileri incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar ortaya konmuştur.

1. Grupların yedinci gününde 0.5 mg/kg ve 50 mg/kg *Salvia officinalis* sıvı extresi alan tedavi gruplarında makroskopik iyileşme sağlanmıştır ($p<0.05$).
2. Grupların üçüncü gününde 0.5 ve 5 mg/kg *Salvia officinalis* sıvı extresi alan grupların NO (nitrit+nitrat) düzeyleri kolit kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$).
3. Grupların üçüncü gününde 50 mg/kg *Salvia officinalis* sıvı extresi alan grubun SOD düzeyi kolit kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).
4. Grupların üçüncü gününde 50 mg/kg *Salvia officinalis* sıvı extresi alan grubun GSH-Px düzeyi 5 mg/kg SO extresi alan gruba göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$).
5. Grupların yedinci gününde 50 mg/kg *Salvia officinalis* extresi alan grubun MPO düzeyi 5 mg/kg SO extresi alan gruba göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$).
6. Grupların yedinci gününde 50 mg/kg *Salvia officinalis* extresi alan grubun MDA düzeyi 0.5 mg/kg SO extresi grubuna göre istatistiksel anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Çalışmamızda, 50 mg/kg dozunda *Salvia officinalis* ile tedavi edilen gruplarda kolitin anlamlı bir şekilde iyileştiği görüldü. *Salvia officinalis*, Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığını içeren İBH sürecine olumlu bir etki yapmaktadır. Bu etkinin antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizmalar üzerinden olması muhtemeldir. Kolit hasarında *Salvia officinalis*in ilk defa kullanılması ve ortaya çıkan sonuçların biyokimyasal verilerle desteklenmesi nedeniyle çalışmamızın bundan sonraki araştırmalara yol göstereceği inancındayız. *Salvia officinalis*in klinikte bu endikasyonda uygulanabilirliği açısından daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunduğu da bir gerçektir.

7-ÖZET

Siçanlarda TNBS İle Oluşturulan DeneySEL Kolit Modelinde *Salvia officinalis*'in (Adaçayı) Etkileri

Amaç: Bu çalışmanın amacı, siçanlarda TNBS ile kolit oluşturulduktan sonra kolit hasarı üzerine *Salvia officinalis*'in etkilerini araştırmaktır.

Yöntem: 110 adet sağlıklı genç erkek Wistar Albino cinsi siçan randomize olarak 11 gruba ayrıldı. Kontrol grubu , Kolit grubu (Tedavi verilmeyen grup, üç günlük), Susam yağı grubu (üç günlük, SY-3), 0.5 mg/kg *Salvia officinalis* ekstresi grubu (üç günlük, 0.5 SO-3), 5 mg /kg SO ekstresi grubu (üç günlük, 5 SO-3), 50 mg/kg SO ekstresi grubu (üç günlük, 50 SO-3), Kolit grubu (Tedavi verilmeyen grup, yedi günlük), Susam yağı grubu (yedi günlük, SY-7), 0.5 mg/kg SO ekstresi grubu (yedi günlük, 0.5 SO-7), 5 mg/kg SO ekstresi grubu (yedi günlük, 5 SO-7), 50 mg/kg SO ekstresi grubu (yedi günlük, 50 SO-7). Hayvanlar kolit uygulanmasından yaklaşık 12 saat önce aç bırakıldılar. Çalışma günü barsakları boşaltılarak, Ketamin (50 mg/kg) ve Ksilazin (5 mg/kg) anestezisi altında, rektumdan kolona doğru (sekiz cm girilerek) polietilen kateter yerleştirildi. Kateter aracılığı ile % 37'lik etanol içinde çözünmüş 25 mg 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) içeren solüsyondan 0.8 ml uygulanarak kolit oluşturuldu. Kolit oluşumundan sonra siçanlar üç ve yedinci günlerde sakrifiye edilerek barsak dokusu örnekleri alındı.Kolon dokusunda malonildialdehit (MDA) düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), nitrik oksit (NO), myeloperoksidaz (MPO), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ölçüldü.

Bulgular: Grupların yedinci gününde 0.5 mg/kg ve 50 mg/kg *Salvia officinalis* sıvı ekstresi alan tedavi gruplarında makroskopik iyileşme sağlanmıştır ($p<0.05$). Üçüncü günde 0.5 ve 5 mg/kg *Salvia officinalis* sıvı ekstresi alan grupların NO düzeyleri kolit kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Üçüncü günde 50 mg/kg *Salvia officinalis* sıvı ekstresi alan grubun SOD düzeyi kolit kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) .

Sonuç: Çalışmamızda, *Salvia officinalis* ile tedavi edilen gruplarda kolitin anlamlı bir şekilde iyileştiği görüldü. *Salvia officinalis*, Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığını içeren İBH sürecine olumlu bir etki yapmaktadır. Bu etkinin antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizmalar üzerinden olması muhtemeldir. Bu nedenle *Salvia officinalis*in kolit tedavisinde tamamlayıcı bir ajan olarak kullanılması yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler: TNBS, *Salvia officinalis*, antioksidan sistem, inflamatuvar barsak hastalığı

İletişim Adresi: drfilizgokalp@yahoo.com

8-SUMMARY

The effects of *Salvia Officinalis* in TNBS-induced Experimental Colitis Model in Rats

Objectives: The present study was aimed at investigating the effects of *Salvia officinalis* on damage produced following TNBS -induced colitis in rats.

Design: 110 healthy young male albino Wistar rats were randomly divided into 11 groups: control group, colitis group (for three days), sesame oil group (for three days, SY-3), 0.5 mg/kg *Salvia officinalis* extract group (for three days, 0.5 SO-3), 5mg/kg SO extract group (for three days, 5 SO-3), 50mg/kg SO extract group (for three days, 50 SO-3), colitis group (for seven days), sesame oil group (for seven days, SY-7), 0.5 mg/kg SO extract group (for seven days, 0.5 SO-7), 5mg/kg SO extract group (for seven days, 5 SO-7), 50 mg/kg SO extract group (for seven days, 50 SO-7). The rats were starved 12 hours before the induction of colitis. polyethylene catheters were inserted through the rectum into the colon, under ketamine (50mg/kg) and Xylazine (5mg/kg) anaesthesia, with the bowel being empty. Injecting via a catheter 0.8 ml of 25 mg of TBNS solution dissolved in 37% ethanol, colitis was induced. On the third and seventh days of the induction, the rats were sacrificed and the samples of the colonic tissues were obtained. The levels of malonyl-dialdehyde (MDA), and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), nitric oxide (NO), myeloperoxidase (MPO), glutathione reductase (GR), and glutathione peroxidase (GSH-Px) were measured in colonic tissues.

Results: Macroscopic improvement occurred on the seventh day in those groups receiving liquid extract of 0.5 mg/kg and 50 mg/kg *Salvia officinalis* ($p < 0.05$). On the third day, the levels of NO were found to be significantly lower in the groups receiving liquid extract of 0.5mg/kg and 5mg/kg *Salvia officinalis* than those in the colitis control groups ($p < 0.05$). On

the third day, SOD levels were found to be significantly higher in the group receiving 50mg/kg *Salvia officinalis* liquid extract than in the colitis control group ($p<0.05$).

Conclusion: In the present study, it was observed that *Salvia officinalis*-treated groups displayed a considerable improvement in colitis. It was also seen that *Salvia officinalis* has beneficial effects on the course of inflammatory bowel disease, including ulcerative colitis and Crohn disease which are likely to operate through anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms. Therefore, *Salvia officinalis* should be considered a useful addition to the treatment of colitis.

Key words: TNBS, *Salvia officinalis*, antioxidant system, inflammatory bowel disease

e-mail: drfilizgokalp@yahoo.com

9-KISITLILIKLAR

1. Yapılan literatür taramalarına göre çalışmanın başında *Salvia officinalis* extresi dozlarının 100, 250, 500 mg/kg dozlarında verilmesinin planlanmasına rağmen yapılan pilot çalışmada sıçanlar jeneralize tonik klonik nöbet geçirerek ex olduğu için istenilen dozlarda verilememiş ve dozlar konusunda yeniden düzenleme yapılmıştır.
- 2.Kolit modeli ve anestezi nedeniyle ex olan sıçanlar gruplardaki planlanan n sayılarının azalmasına neden olmuştur.

10-KAYNAKLAR

1. Memik Faruk Klinik Gastroenteroloji. İstanbul: Motif Matbaacılık; 2004. p. 448-465
2. Fiocchi C. Immune Events Associated With Inflammatory Bowel Disease. Scand J Gastroenterol Suppl 1990;172:4-12.
3. Gornet JM, Couve S, Hassani Z, Delchier JC, Marteau P, Cosnes J, Bouhnik Y, Dupas JL, Modigliani R, Taillard F, et al. Infliximab for Refractory Ulcerative Colitis or Indeterminate Colitis: an Open-Label Multicentre Study. Aliment Pharmacol Ther 2003;18:175-181.
4. Targan SR, Hanauer SB, Van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, Rutgeerts PJ. A Short-Term Study of Chimeric Monoclonal Antibody CA2 to Tumor Necrosis Factor Alpha for Crohn's Disease. Crohn's Disease CA2 Study Group. N Engl J Med 1997;337:1029-1035.
5. Ardizzone S, Bianchi PG. Inflammatory Bowel Disease: New Insights into Pathogenesis and Treatment. J Intern Med 2002;252:475-496.
6. Lima CF, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C. Drinking of Salvia Officinalis Tea Increases CCl(4)-Induced Hepatotoxicity in Mice. Food Chem Toxicol 2007;45:456-464.
7. Ekim T Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Eğrelti Ve Tohumlu Bitkiler). Ankara: Barışcan Ofset; 2000. p. 25-33.
8. Goldman Lee Cecil Textbook of Medicine.,22 ed. İstanbul: Güneş Kitabevi; 2006. p. 861.
9. Loftus EV, Jr., Sandborn WJ. Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease. Gastroenterol Clin North Am 2002;31:1-20.
10. Satsangi J Sutherland LR İnflammatory Bowel Disease. ABD: Elsevier; 2003. p. 3-8.
11. Lockhart-Mummery HE, Morson BC. Crohn's Disease (Regional Enteritis) of the Large Intestine and Its Distinction From Ulcerative Colitis. Gut 1960;1:87-105.
12. Yigitler C, Gulec B, Aydogan H, Ozcan A, Kilinc M, Yigit T, Kozak O, Pekcan M. Effect of Mesalazine, Metronidazole and Gentamicin on Bacterial Translocation in Experimental Colitis. J Gastroenterol Hepatol 2004;19:1179-1186.

13. Shanahan F. Crohn's Disease. *Lancet* 2002;359:62-69.
14. Andres PG, Friedman LS. Epidemiology and the Natural Course of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999;28:255-81, vii.
15. Devecioğlu S Ülseratif Kolit. İstanbul; 1996. p. 1124-1133.
16. 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.
17. Asik M BY. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Patogenez Ve Tedavide Yenilikler. *Güncel Gastroenteroloji* 1998;2:156-162.
18. Baykal Y NM. İnflamatuvar Barsak Hastalığı. *Sendrom* 2005;17(4):61-84.
19. Blumberg RS, Strober W. Prospects for Research in Inflammatory Bowel Disease. *JAMA* 2001;285:643-647.
20. Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-Mediated Mucosal Injury. Role of Reactive Oxygen Metabolites. *Dig Dis Sci* 1988;33:6S-15S.
21. McKenzie SJ, Baker MS, Buffinton GD, Doe WF. Evidence of Oxidant-Induced Injury to Epithelial Cells During Inflammatory Bowel Disease. *J Clin Invest* 1996;98:136-141.
22. Loftus EV, Jr. Clinical Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease: Incidence, Prevalence, and Environmental Influences. *Gastroenterology* 2004;126:1504-1517.
23. Levenstein S, Prantera C, Varvo V, Scribano ML, Andreoli A, Luzi C, Arca M, Berto E, Milite G, Marcheggiano A. Stress and Exacerbation in Ulcerative Colitis: a Prospective Study of Patients Enrolled in Remission. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1213-1220.
24. Shanahan F. Inflammatory Bowel Disease: Immunodiagnostics, Immunotherapeutics, and Ecotherapeutics. *Gastroenterology* 2001;120:622-635.

25. Duchmann R, May E, Heike M, Knolle P, Neurath M, Meyer zum Buschenfelde KH. T Cell Specificity and Cross Reactivity Towards Enterobacteria, Bacteroides, Bifidobacterium, and Antigens From Resident Intestinal Flora in Humans. *Gut* 1999;44:812-818.
26. İşler M. İnflamatuvar Barsak Hastalığı Ve Probiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji* 2005;135.
27. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening-Baucke V, Ortner M, Weber J, Hoffmann U, Schreiber S, Dietel M, et al. Mucosal Flora in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2002;122:44-54.
28. Sartor R.B Microbial Factors in the Pathogenesis of Crohn Disease, Ulcerative Colitis and Experimental Intestinal Inflammation. In: Kirsner J.B, editor. *Inflammatory Bowel Disease* Baltimore: Williams and Wilkins; 1999. p. 153-178.
29. William F Stenson Inflammatory Bowel Disease. In: Yamada T, editor. *Textbook of Gastroenterology* Philadelphia: Williams and Wilkins; 1999. p. 1699-1759.
30. Mortensen N İnflammatory Disease of the Colon . In: Morris PJ and Malt RA, editor. *Oxford Textbook of Surgery* New York: Oxford University Press; 1994. p. 1036-1059.
31. Kirsner JB. Historical Origins of Current IBD Concepts. *World J Gastroenterol* 2001;7:175-184.
32. Xia B, Crusius J, Meuwissen S, Pe?a A. Inflammatory Bowel Disease: Definition, Epidemiology, Etiologic Aspects, and Immunogenetic Studies. *World J Gastroenterol* 1998;4:446-458.
33. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in Ulcerative Colitis; Final Report on a Therapeutic Trial. *Br Med J* 1955;2:1041-1048.
34. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal Classification of Inflammatory Bowel Disease: Controversies, Consensus, and Implications. *Gut* 2006;55:749-753.

35. Baron JH, Connell AM, Lennard-Jones JE. Variation Between Observers in Describing Mucosal Appearances in Proctocolitis. *Br Med J* 1964;1:89-92.
36. Truelove SC, Richards WC. Biopsy Studies in Ulcerative Colitis. *Br Med J* 1956;1:1315-1318.
37. Buckell NA, Lennard-Jones JE, Hernandez MA, Kohn J, Riches PG, Wadsworth J. Measurement of Serum Proteins During Attacks of Ulcerative Colitis As a Guide to Patient Management. *Gut* 1979;20:22-27.
38. Kaymakoglu S İnflamatuvar Barsak Hastalıkları. *Gastroenterohepatoloji İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2001. p. 189-211.*
39. Vasiliasukas EA, Plevy SE, Landers CJ, Binder SW, Ferguson DM, Yang H, Rotter JJ, Vidrich A, Targan SR. Perinuclear Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies in Patients With Crohn's Disease Define a Clinical Subgroup. *Gastroenterology* 1996;110:1810-1819.
40. Uzunismail H İnflamatuvar Barsak Hastalığı. In: Yazıcı H, editor. *İç Hastalıkları İstanbul: Medical Yayıncılık; 2005. p. 819-827.*
41. Hatemi Hüsrev *Gastroenteroloji. İstanbul: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi; 1996. p. 267.*
42. Haderslev KV, Tjellesen L, Sorensen HA, Staun M. Alendronate Increases Lumbar Spine Bone Mineral Density in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2000;119:639-646.
43. Stephen Hauser *Mayo Clinic Gastroenterology and Hepatology Board Review.,3.baskı ed. Kentucky: Mayo Clinic Scientific Press; 2008. p. 199.*
44. Longstreth GF, Green R. Folate Status in Patients Receiving Maintenance Doses of Sulfasalazine. *Arch Intern Med* 1983;143:902-904.
45. Zimmerman MJ, Jewell DP. Cytokines and Mechanisms of Action of Glucocorticoids and Aminosalicylates in the Treatment of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10 Suppl 2:93-98.

46. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sinnett D, Theoret Y, Seidman EG. Pharmacogenomics and Metabolite Measurement for 6-Mercaptopurine Therapy in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2000;118:705-713.
47. Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-Induced Model of Chronic Inflammation and Ulceration in the Rat Colon. *Gastroenterology* 1989;96:795-803.
48. Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Stuber E, Strober W. Antibodies to Interleukin 12 Abrogate Established Experimental Colitis in Mice. *J Exp Med* 1995;182:1281-1290.
49. Aşıcıoğlu Yasemin Tuba Sıçanlardaki Kronik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi.; 2005. p. 3.
50. Özben T Free Radicals, Oxidative Stres and Antioxidants, Pathological and Physiological Significance.,Nato ASI Series ed.: New York Plenum Press; 1998. p. 31-35.
51. Fridovich I. Superoxide Dismutases. *Annu Rev Biochem* 1975;44:147-159.
52. Erden M. Serbest Radikaller. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1992;12:201-207.
53. Akkuş İ Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri.,1.Baskı ed. Konya: Mimoza yayınları; 1995. p. 3-10.
54. Di MP, Murphy ME, Sies H. Antioxidant Defense Systems: the Role of Carotenoids, Tocopherols, and Thiols. *Am J Clin Nutr* 1991;53:194S-200S.
55. Ayvaz S N-Asetilsisteinin Intestinal Iskemi-Reperfüzyon Hasarına Etkisi . Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2005. p. 13-15.
56. Halliwell B, Gutteridge JM. The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990;280:1-8.
57. McCord JM, Fridovich I. Superoxide Dismutase. An Enzymic Function for Erythrocuprein (Hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244:6049-6055.

58. Criolo MR. Age-Related Changes Cu-ZnSOD. Se-Dependent And-Independent Glutathione Peroxidase And Catalase Activities in Specific Areas of Rat Brain. Mechanism of Ageing And Development 1991;61:287-297.
59. Aksoy Nurten, Haşimi Adnan Oksijen Toksisitesi Ve Serbest Radikal Örsentisi. In: Prof.Dr.Mine Erden, editor. Marks Temel Tıbbi Biyokimyası Klinik Yaklaşım,2.Baskı ed. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi; 2007. p. 449-450.
60. Tekkeş Yasemin Streptozotosin Ile Diabet Oluşturulmuş Farelerde Aspirin Ve E Vitaminin Dokularda Lipid Peroksidasyonu Ve Antioksidan Sisteme Etkisinin Araştırılması .; 2006. p. 22.
61. Lawless J The Illustrated Encyclopedia of Essential Oils. Great Britain; 1995. p. 21-69.
62. Karaaslan D Salvia Populasyonlarında Farklı Azot Uygulamalarında Drog Verimi Ve Kemotaksonomik Araştırmalar.; 1994. p. 9-15.
63. Şarer E. Anadolu Salvia'larının Uçucu Yağları Üzerinde Araştırmalar . Ankara Ecz Fak Mec 1983;13:146-151.
64. Sweetman CS Martindale The Extra Pharmacopoeia.,34 ed. London: Pharmaceutical Press; 2005. p. 1741.
65. Guillen MD, Cabo N. Characterization of the Essential Oils of Some Cultivated Aromatic Plants of Industrial Interest. Journal Sciences Food Agriculture 1996;70:359-363.
66. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. The Pharmacological Effects of Salvia Species on the Central Nervous System. Phytother Res 2006;20:427-437.
67. Millar AD, Rampton DS, Chander CL, Claxson AW, Blades S, Coumbe A, Panetta J, Morris CJ, Blake DR. Evaluating the Antioxidant Potential of New Treatments for Inflammatory Bowel Disease Using a Rat Model of Colitis. Gut 1996;39:407-415.
68. Aebi H. Catalase in Vitro. Methods Enzymol 1984;105:121-126.
69. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. Anal Biochem 1979;95:351-358.

70. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Increased Oxidative Stress in Rat Liver and Pancreas During Progression of Streptozotocin-Induced Diabetes. *Clin Sci (Lond)* 1998;94:623-632.
71. Racker E. Glutathione Reductase From Bakers' Yeast and Beef Liver. *J Biol Chem* 1955;217:855-865.
72. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.
73. Navarro-Gonzalvez JA, Garcia-Benayas C, Arenas J. Semiautomated Measurement of Nitrate in Biological Fluids. *Clin Chem* 1998;44:679-681.
74. Suzuki K, Ota H, Sasagawa S, Sakatani T, Fujikura T. Assay Method for Myeloperoxidase in Human Polymorphonuclear Leukocytes. *Anal Biochem* 1983;132:345-352.
75. Maity S, Ukil A, Karmakar S, Datta N, Chaudhuri T, Vedasiromoni JR, Ganguly DK, Das PK. Thearubigin, the Major Polyphenol of Black Tea, Ameliorates Mucosal Injury in Trinitrobenzene Sulfonic Acid-Induced Colitis. *Eur J Pharmacol* 2003;470:103-112.
76. Shibata Y, Taruishi M, Ashida T. Experimental Ileitis in Dogs and Colitis in Rats With Trinitrobenzene Sulfonic Acid--Colonoscopic and Histopathologic Studies. *Gastroenterol Jpn* 1993;28:518-527.
77. Zhou Q, Caudle RM, Price DD, Del Valle-Pinero AY, Verne GN. Selective Up-Regulation of NMDA-NR1 Receptor Expression in Myenteric Plexus After TNBS Induced Colitis in Rats. *Mol Pain* 2006;2:3.
78. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B, Ciralik H, Kurutas EB, Buyukbese MA, Gumusalan Y. Effects of L-Carnitine on Oxidant/Antioxidant Status in Acetic Acid-Induced Colitis. *Dig Dis Sci* 2006;51:488-494.
79. Daneshmand A, Rahimian R, Mohammadi H, Ejtemaee-Mehr S, Tavangar SM, Babaei KR, Dehpour AR. Protective Effects of Lithium on Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *Dig Dis Sci* 2009;54:1901-1907.

80. Ek RO, Serter M, Ergin K, Yildiz Y, Cecen S, Kavak T, Yenisey C. The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on TNBS-Induced Colitis in Ovariectomized Rats. *Dig Dis Sci* 2008;53:1609-1617.
81. Liu SP, Dong WG, Wu DF, Luo HS, Yu JP. Protective Effect of *Angelica Sinensis* Polysaccharide on Experimental Immunological Colon Injury in Rats. *World J Gastroenterol* 2003;9:2786-2790.
82. Necefli A, Tulumoglu B, Giris M, Barbaros U, Gunduz M, Olgac V, Guloglu R, Toker G. The Effect of Melatonin on TNBS-Induced Colitis. *Dig Dis Sci* 2006;51:1538-1545.
83. Osman N, Adawi D, Ahrne S, Jeppsson B, Molin G. Probiotics and Blueberry Attenuate the Severity of Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis. *Dig Dis Sci* 2008;53:2464-2473.
84. Prakash O, Medhi B, Saikia UN, Pandhi P. Effect of Different Doses of Thalidomide in Experimentally Induced Inflammatory Bowel Disease in Rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008;103:9-16.
85. Sener G, Aksoy H, Sehirli O, Yuksel M, Aral C, Gedik N, Cetinel S, Yegen BC. Erdosteine Prevents Colonic Inflammation Through Its Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities. *Dig Dis Sci* 2007;52:2122-2132.
86. Zhou YH, Yu JP, Liu YF, Teng XJ, Ming M, Lv P, An P, Liu SQ, Yu HG. Effects of Ginkgo Biloba Extract on Inflammatory Mediators (SOD, MDA, TNF-Alpha, NF-KappaBp65, IL-6) in TNBS-Induced Colitis in Rats. *Mediators Inflamm* 2006;2006:92642.
87. Eidi M, Eidi A, Zamanizadeh H. Effect of *Salvia Officinalis* L. Leaves on Serum Glucose and Insulin in Healthy and Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Ethnopharmacol* 2005;100:310-313.
88. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Ciralik H, Kantarceken B, Buyukbese MA. Beneficial Effects of N-Acetylcysteine on Acetic Acid-Induced Colitis in Rats. *Tohoku J Exp Med* 2005;206:131-139.

89. Kruidenier L, Kuiper I, Van DW, Mieremet-Ooms MA, van Hogezaand RA, Lamers CB, Verspaget HW. Imbalanced Secondary Mucosal Antioxidant Response in Inflammatory Bowel Disease. *J Pathol* 2003;201:17-27.
90. Harisa GE, Abo-Salem OM, El-Sayed e, Taha EI, El-Halawany N. L-Arginine Augments the Antioxidant Effect of Garlic Against Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats. *Pak J Pharm Sci* 2009;22:373-380.
91. Levine A, Kenet G, Bruck R, Avni Y, Avinoach I, Aeed H, Matas Z, David M, Yayon A. Effect of Heparin on Tissue Binding Activity of Fibroblast Growth Factor and Heparin-Binding Epidermal Growth Factor in Experimental Colitis in Rats. *Pediatr Res* 2002;51:635-640.
92. Girgin F, Karaoglu O, Erkus M, Tuzun S, Ozutemiz O, Dincer C, Batur Y, Tanyalcin T. Effects of Trimetazidine on Oxidant/Antioxidant Status in Trinitrobenzenesulfonic Acid-Induced Chronic Colitis. *J Toxicol Environ Health A* 2000;59:641-652.
93. Verspaget HW, Pena AS, Weterman IT, Lamers CB. Diminished Neutrophil Function in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis Identified by Decreased Oxidative Metabolism and Low Superoxide Dismutase Content. *Gut* 1988;29:223-228.
94. Cetinel S, Hancioglu S, Sener E, Uner C, Kilic M, Sener G, Yegen BC. Oxytocin Treatment Alleviates Stress-Aggravated Colitis by a Receptor-Dependent Mechanism. *Regul Pept* 2010;160:146-152.
95. Beno I, Staruchova M, Volkovova K, Mekinova D, Bobek P, Jurcovicova M. [Activity of the Antioxidant System in Patients With Idiopathic Proctocolitis and the Effect of 5-Aminosalicylic Acid (Salofalk)]. *Bratisl Lek Listy* 1994;95:99-102.
96. Mousavizadeh K, Rahimian R, Fakhfour G, Aslani FS, Ghafourifar P. Anti-Inflammatory Effects of 5-HT Receptor Antagonist, Tropicsetron on Experimental Colitis in Rats. *Eur J Clin Invest* 2009;39:375-383.
97. Rabl H, Khoschsorur G, Colombo T, Tatzber F, Esterbauer H. Human Plasma Lipid Peroxide Levels Show a Strong Transient Increase After Successful Revascularization Operations. *Free Radic Biol Med* 1992;13:281-288.

98. Liu L, Wang ZP, Xu CT, Pan BR, Mei QB, Long Y, Liu JY, Zhou SY. Effects of Rheum Tanguticum Polysaccharide on TNBS -Induced Colitis and CD4+T Cells in Rats. *World J Gastroenterol* 2003;9:2284-2288.
99. Patel MA, Patel PK, Patel MB. Effects of Ethanol Extract of Ficus Bengalensis (Bark) on Inflammatory Bowel Disease. *Indian J Pharmacol* 2010;42:214-218.
100. Jubeh TT, Nadler-Milbauer M, Barenholz Y, Rubinstein A. Local Treatment of Experimental Colitis in the Rat by Negatively Charged Liposomes of Catalase, TMN and SOD. *J Drug Target* 2006;14:155-163.
101. Segui J, Gironella M, Sans M, Granell S, Gil F, Gimeno M, Coronel P, Pique JM, Panes J. Superoxide Dismutase Ameliorates TNBS-Induced Colitis by Reducing Oxidative Stress, Adhesion Molecule Expression, and Leukocyte Recruitment into the Inflamed Intestine. *J Leukoc Biol* 2004;76:537-544.
102. Özkayran Hakan Sıçanlarda Deneysel Intestinal Iskemi Reperfüzyon Hasarında Dekspantenolün Etkileri.; 2009. p. 40.
103. Mei Q, Xu JM, Xiang L, Hu YM, Hu XP, Xu ZW. Change of Nitric Oxide in Experimental Colitis and Its Inhibition by Melatonin in Vivo and in Vitro. *Postgrad Med J* 2005;81:667-672.
104. Kazi HA, Qian Z. Crocetin Reduces TNBS-Induced Experimental Colitis in Mice by Downregulation of NFkB. *Saudi J Gastroenterol* 2009;15:181-187.
105. Girard P, Pansart Y, Lorette I, Gillardin JM. Dose-Response Relationship and Mechanism of Action of Saccharomyces Boulardii in Castor Oil-Induced Diarrhea in Rats. *Dig Dis Sci* 2003;48:770-774.
106. Dost T, Ozkayran H, Gokalp F, Yenisey C, Birincioglu M. The Effect of Hypericum Perforatum (St. John's Wort) on Experimental Colitis in Rat. *Dig Dis Sci* 2009;54:1214-1221.
107. Gonzalez R, Sanchez de MF, Galvez J, Rodriguez-Cabezas ME, Duarte J, Zarzuelo A. Dietary Vitamin E Supplementation Protects the Rat Large Intestine From Experimental Inflammation. *Int J Vitam Nutr Res* 2001;71:243-250.

