

Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Kolit Modelinde N-Asetil Sistein ve β -Glukanın Etkileri

Effects of N-Acetyl Cystein and β -Glucan in Experimental Colitis Model in Rats

Murat İSPIROĞLU¹, Bülent KANTARÇEKEN¹, Harun ÇIRALIK², Ertan BÜLBÜLOĞLU³

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

² Çukurova Bilge Lab, Seyhan, Adana, Türkiye

³ Bezm-i Alem Vakıf Gureba Hastanesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Özet

Amaç: Ülseratif kolit, kolonu diffüz tutan mukozal inflamasyonla karakterize rekürren, idiyopatik ve kronik bir hastalıktır. Kolitte, oksidan/antioksidan dengenin bozulduğu gözlenmiştir. N-asetilsistein (NAC) ve β -glukan (BG) ise antioksidan, anti-inflamatuvar özellikte olan maddeler olup kolitite yararlı etkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: 220-250 gr, 50 adet erkek Wistar Albino rat kullanıldı.

Grup I (Kontrol): Tek doz rektal saline uygulandı. Sonraki 6 gün normal oral beslendi.

Grup II (Kolit): Tek doz rektal AA uygulandı. Sonraki 6 gün normal oral beslendi.

Grup III (BG+Kolit): Tek doz oral 100mg/kg BG verildikten 1 saat sonra rektal AA uygulandı. Sonraki 6 gün oral 100/mg/kg/gün BG verildi.

Grup IV (NAC+Kolit): Tek doz oral 200mg/kg NAC verildikten 1 saat sonra rektal AA uygulandı. Sonraki 6 gün oral 200mg/kg/gün NAC verildi.

Grup V (NAC+BG+Kolit): Tek doz oral 200mg/kg NAC + 100 mg/kg BG verildi. 1 saat sonra rektal AA uygulandı. Sonraki 6 gün oral 100 mg/kg/gün BG + 200 mg/kg/gün NAC verildi.

Çalışmanın sonunda kalın barsak distal 8 cm'lik kısmı çıkarıldı. Histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için örnekler alındı.

Bulgular: Tedavi alanlar da almayanlara göre (Malondi-aldehit) MDA ve (Myeloperoksidaz) MPO düzeyleri anlamlı düşük; (Superoksit dismutaz) SOD, (Katalaz) KAT düzeyleri ise anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi. Tedavi grupları arasında, MDA ve MPO düzeylerinde anlamlı fark yoktu. Diğer antioksidan enzimler (SOD, KAT); NAC grubuyla BG grubu arasında anlamlı fark yok iken kombinasyon verilen grupta antioksidan savunma, NAC grubundan anlamlı olarak düşük gözlemlendi. Histopatolojik skor ortalamaları değerlendirildiğinde kontrol ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Sonuç: NAC ve BG'nin kolitite faydalı olduğu izlendi. NAC ve BG'nin kombine verilmesinin ek bir fayda sağlamadığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: β -glukan, N-Asetilsistein, Oksidatif stres, Deneysel kolit

Abstract

Objectives: Ulcerative colitis is an idiopathic and chronic disease characterized by diffuse mucosal inflammation. Oxidant and antioxidant balance is impaired in tissue. The aim of the present study was to evaluate effects of N-acetylcysteine (NAC) and β -glucan (BG) against colitis.

Material and Methods: 220-250 g average, 50 male Wistar-Albino rats, were used. Single dose rectal acetic acid was applied for colitis. BG 100 mg/kg/day and NAC 200mg/kg/day were given with oral probe.

Group I (Control): Single dose rectal saline+normal diet.

Group II (Colitis): Single dose rectal acetic acid+normal diet

Group III (BG+Colitis): Single dose BG 100 mg/kg (1 hour before rectal acetic acid) + Rectal acetic acid + BG 100 mg / kg / day (during next 6 days).

Group IV (NAC+Colitis): Single dose NAC 200 mg/kg (one hour before rectal acetic acid) + Rectal acetic acid + NAC 200 mg/kg/day (during next 6 days).

Group V (NAC+BG+Colitis): Single dose NAC 200 mg/kg and BG 100 mg/kg/day (one hour before rectal acetic acid) + Rectal acetic acid + NAC 200 mg/kg/day and BG 100 mg/kg/day (during next 6 days).

End of the study, distal 8 cm colon was removed. Histopathologic and biochemical assessments were carried out.

Results: MDA (Malondi-aldehit) and MPO (Myeloperoksidase) levels were significantly low, SOD (Superoksit dismutase) and CAT (Catalase) levels were significantly higher in monotherapy and combined therapy groups. MPO and MDA levels were not statistically different between treatment groups. For other anti-oxidant enzymes (SOD, CAT), there were no difference between NAC and BG group, but in combination group anti-oxidant defence was lower than NAC group. Microscopic evaluation revealed that damage score was lowest in NAC group, but no statistical significance was found between treatment groups.

Conclusion: This study suggest that NAC and/or BG treatment modalities have beneficial effect in colitis. But combined therapy compared with monotherapy did not show additional beneficial effect.

Keywords: β -glucan, N-Acetylcysteine, Oxidative stress, Experimental colitis

Yazışma Adresi: Murat İSPIROĞLU, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye
Telefon: +90 0505 346 18 32, Mail: muratispiroglu@yahoo.com

ORCID No (Sırasıyla): 0000-0002-0655-7235, 0000-0003-4214-817X, 0000-0001-5100-3277, 0000-0001-7798-5010

Geliş tarihi: 27.10.2020

Kabul tarihi: 10.11.2020

DOI: 10.17517/ksutfd.817235

GİRİŞ

Ülseratif Kolit (ÜK); kişilerde genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle, intestinal mukozada bakteriler ve diyet antijenleri ile immun sistemin uyarılması sonucu meydana gelen, remisyon ve alevlenmelerle seyreden gastrointestinal sistemin inflamatuvar hastalığıdır. Tüm dünyada insidansı, toplumlar ve coğrafik alanlar arasında çok büyük değişiklikler gösterir. ÜK insidansı 2-10/100 000, prevalansı 35-100/100 000 arasında değişir (1). Kadın ve erkek oranları yaklaşık olarak eşittir (2). Olgular sıklıkla 15-30 ve 60-80 yaşlar arasında yığılım gösterir (3).

ÜK etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte; enfeksiyon, diyet alerjisi, bakteriyel ya da kişinin kendi antijenlerine karşı gelişen immun yanıt ve psikosomatik teori gibi pek çok hipotez etyolojide öne sürülmüştür (2). Bugün için geçerli olan görüş, zeminde yer alan inflamatuvar hücreler ve sitokinlerle oluşan inflamasyondur. Etiyolojik olarak bir takım genetik bozukluklar, enfeksiyöz ajanlar, emosyonel stres, alkol ve sigara kullanımı, oral kontraseptif alımı ve rafine yiyeceklerin tüketimi gibi çevresel bazı faktörler sorumlu tutulmaktadır (4,5).

Barsaklarda hergün birçok diyetel ve bakteriyel antijenik uyarı mevcut olmasına rağmen, buna yönelik herhangi bir immünolojik yanıt gelişmemektedir. Bu immünolojik dengeyi sağlayan iyi gelişmiş mukozal immün sistemdir. Mukozal immün sistem, mukozal bakteriler ve luminal antijenler ile etkileşerek inflamatuvar kontrolde hassas dengeyi oluşturan etkili bir kompartmandır (6). ÜK'te proinflamatuvar mediatörlerin uygunsuz artışı ya da inflamatuvar cevabın baskılanmasındaki yetersizlik luminal içeriğe karşı kontrolsüz ve abartılı immun yanıt ile sonuçlanır (7,8).

Neden olan uyarı ne olursa olsun sonuç olarak inflamatuvar yanıt tetiklenmektedir. Bunun sonucunda da makrofajlardan salınan sitokinler, özellikle TNF- α , IL-2 artışı yapmakta ve T hücrelerini sitotoksik hale getirmekte, proliferasyonlarını uyarılmaktadır. Sonuçta, lenfositlere ek olarak diğer lökositlerin de katılımıyla araşidonik asit metabolizmasındaki ürünler ve serbest oksijen radikalleri (ROM) nedeni ile doku yıkımı oluşur (9).

Serbest oksijen radikalleri [süperoksid (O⁻²), hidroksil (OH⁻) radikalleri, hidrojen peroksit (H₂O₂)] endojen olarak vücutta sentezlenen metabolik yan ürünleridir. Vücutta normal veya patolojik olarak serbest radikaller üretilir. Bu ürünler hemen sentez edildikleri yerde detoksifiye edilmezler ise zararlı etkilerini oluştururlar (10). Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi hücre içindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır (11).

ROM üretimi, birçok antioksidan sistemin koruma mekanizması ile kontrol altına alınabilmektedir. Bu sistemlerden bazılarını katalaz (KAT), süperoksid dizmutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) oluşturmaktadır. Oluşan inflamasyonla mücadelede etkili diğer bir olay da fagositoz olup özellikle bakteriyel enfeksiyonlarda önemli bir defans mekanizmasıdır. Burada myeloperoksidaz (MPO) enziminin görevi ise nötrofilin fagosite ettiği bakterileri sindirecek ürünle-

rin yapımını katalizlemektir (12). Serbest radikallerin, hücre zarlarındaki yağ asitleri ile reaksiyona girerek sonuçta zar bütünlüğünün bozulması ile sonuçlanan reaksiyon dizisine "Lipid peroksidasyonu" denir. Bu sürecin başladığını gösteren en iyi gösterge MDA'dır (13). Lipid peroksidasyonunun başlıca son ürünlerinden MDA, oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılır. MDA, lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artış gösterir.

ÜK tedavisinde; kortikosteroidler, aminosalisilatlar, immünomodülatuar ilaçlar, antibiyotikler ve eikosanoid metabolizması üzerinde etkili ilaçlar, inflamasyonun genel bulgularını baskılayan spesifik olmayan ilaçlardır. Bunun yanında çeşitli radikal tutucu ajanların (örn. SOD) ÜK ve crohn tedavisinde yeni farmakolojik ajanlar olarak kullanılmaları üzerinde araştırmalar devam etmektedir (14). Çalışmalar sonucunda, bazı deneysel antioksidan terapinin (vitamin E, selenyum, trimetazidine gibi.) ÜK modelinde yararlı sonuçları olduğu görülmüştür (15-17).

Beta-glukan (BG) ise ekmek mayasında, tahılda ve mantarlarda bulunan, hücre duvarının yapısında yer alan fiber formda bir polisakarittir (18). Doğal mayada ve mantarlarda temel olarak beta-1,3 glukan veya beta-1,6 glukan olarak bulunur. BG'nin in vivo uygulanması ile çeşitli enfeksiyonlara ve tümör gelişimine karşı konak yanıtında bir artış bildirilmiştir (19,20). Birçok çalışmada BG'nin antioksidan etkisi olduğu gösterilmiştir (21,22).

NAC, genel olarak mukolitik ve parasetamol (asetaminofen) zehirlenmesinin spesifik antidotu olup; DNA sentezi ve onarımı, protein ve prostaglandin sentezi, aminoasitlerin transportu, bağışıklık sistemi fonksiyonları, oksidatif hücre hasarının önlenmesi, toksin ve karsinogenlerin metabolizasyonu ve enzim aktivasyonunda görevli olan indirgenmiş glutatyonun (GSH) prekürsörüdür. Bu nedenle birçok çalışmada NAC'nin antioksidan özelliği gözlenmiştir (23,24).

Ratlarda deneysel sepsis modelinde, oral verilen BG ve NAC'nin antioksidan etkiyle inflamasyonda gerilemeye neden olduğu gösterilmiştir (25). Diğer bir çalışmada ise ÜK hastalarından alınan biyopsilerle yapılan bir çalışmada ise katalazın ROM'yi azalttığı görülmüştür (26). Ve diğer bir çalışmada, kolit modelinde intraperitoneal olarak verilen NAC'nin iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir (27).

Buradan yola çıkarsak NAC ve BG, deneysel kolit üzerinde çeşitli çalışmalar ile incelenmiştir, ancak her birinin ayrı ayrı ve birlikte (kombine) uygulanmasının araştırıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada da; kolit modeli üzerinde NAC ve BG'nin olası yararlı etkilerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deney Hayvanları

Çalışmamız, Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde, Kasım 2009 - Mart 2010 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışma ile ilgili olarak Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun ona-

yı alındı (06.10.2009 Tarihli Etik Kurul Oturum No: 2009/8 – Karar No:3). Çalışmada kullanılacak ratlar, Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Barınağı'ndan temin edildi. Çalışmada ağırlıkları 220-250 gram arasında değişen, 28–32 haftalık 50 adet Wistar-Albino erkek rat kullanıldı. Ratlar deneyden 1 hafta önce laboratuvar koşullarına alınarak, 210C'de barındırıldı ve standart rat yemi ile beslendi. Ratlar, çalışmadan bir gece öncesinden su serbest olmak üzere aç bırakıldı.

Gruplar ve tedavi protokolü

Gruplar randomize olarak her biri 10'ar rat'dan oluşan 5 gruba ayrıldı.

I. Grup (Kontrol): Rektal tek doz 1 cc saline uygulandı ve çalışma boyunca (6 gün) günde bir kez intragastrik 1cc saline uygulandı.

II. Grup (Kolit): Rektal tek doz 1ml %4 lük AA ile kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve sonrası 6 gün boyunca 1cc/gün intragastrik saline verildi.

III. Grup (Kolit + BG): Rektal tek doz 1ml %4 lük AA ile kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve sonrası 6 gün boyunca 100 mg/kg/gün BG intragastrik olarak verildi.

IV. Grup (Kolit + NAC): Rektal tek doz 1ml %4 lük AA ile kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve sonrası 6 gün boyunca 200 mg/kg/gün NAC intragastrik verildi.

V. Grup (Kolit + BG + NAC): Rektal tek doz 1ml %4 lük AA ile kolit oluşumu tetiklendi. Kolit tetiklenmeden 1 saat önce ve sonrası 6 gün boyunca 200mg/kg/gün NAC ve 100mg/kg/gün BG intragastrik olarak birlikte verildi.

Ratlara, kolit oluşturulmadan önce eter anestezi uygulandı. Deney süresince spontan solunuma bırakıldı. Deneysel kolit MacPherson ve Pfeiffer'in (28) tarif ettikleri şekilde oluşturuldu. Bu metoda göre 6 F pediatrik kateter rektal yoldan 6 cm içeri itildi. Bu kateterden %4 lük AA 1ml kadar verildi. AA verildikten sonra 2 ml hava kateterden kalın barsak içine verilerek AA'nın daha iyi yayılması sağlandı. Daha sonra ratlar verilen maddenin kaçmasını engellemek için trendelenburg pozisyonunda bekletildi (yaklaşık 45 saniye).

Kalın Barsak Hasarının Değerlendirilmesi

Ratlar, 7 gün sonunda genel anestezi altında servikal dekapitasyonla sakrifiye edildi. Rektum ve proksimalini içeren 8 cm lik distal kalın barsak çıkarıldı. Çıkarılan kalın barsak örnekleri 2 parçaya ayrıldı. Parçalardan biri % 10'luk formaldehit içine konularak histopatolojik tetkike gönderildi. Diğer parça ise MDA, SOD, KAT, GPx ve MPO tayini için alüminyum folyo içinde -20 0C'de derin dondurucuya konuldu. Histolojik analizler Yamamoto ve ark'nın tariflediği şekilde yapıldı. Kısaca, parafin bloklar oluşturulduktan sonra alınan kesitler hemotoksilen eozin (H&E) ile boyanıp mikroskop altında incelendi. Kalın barsak mukozasındaki mikroskopik değişiklikler 0–3 değerleri arasında derecelendirildi (29) (Tablo 1). Diğer kalın barsak doku örnekleri folyodan çıkarıldıktan sonra 0,25 M soğuk sukroz içerisinde homojenize edildi ve 14000 rpm de santrifuj yapıldı. Oluşan supernatanda ise MPO (30), MDA (31), GPx (32), KAT (33) ve SOD (34) düzeyleri çalışıldı.

Tablo 1. Kalın barsak mukozasındaki mikroskopik bulguların skorlanması (29)

SKOR	BULGU
0	Normal epitel, hücrelerde şişme yok, normal kript görünümü mevcut, düşük düzeyde monosit infiltrasyonu, ya hiç ya da çok az nötrofil infiltrasyonu.
1	Tek epitel hücre kaybını ifade eder. Epitelyumda orta derecede şişme, kriptlere tek inflamatuvar hücre infiltrasyonu, hafif monosit-nötrofil infiltrasyonu.
2	Multipl epitel hücre kaybı, epitelyal düzleşme, kriptit oluşumu ve orta düzeyde monosit-nötrofil infiltrasyonu
3	Belirgin epitelyal ülserasyon, kript abseleri ve monosit ve nötrofil düzeylerinde belirgin artış olması

İstatiksel Analiz

İstatistik değerlendirme; bilgisayar ortamında, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 25.0 version) programında yapıldı. Sonuçlarımız ortalama ± standart sapma şeklinde verildi. Grupların biyokimyasal parametreleri ve histolojik karşılaştırılması için One Way Anova ve Post-Hoc testi kullanıldı. Her iki test içinde p<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Doku MDA ve MPO Düzeyleri

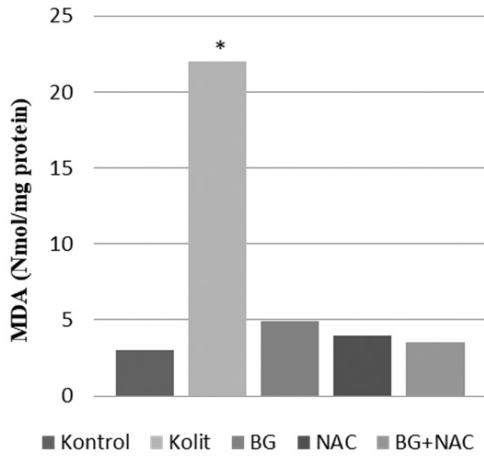
MDA; Lipid peroksidasyon göstergesi olarak MDA düzeyleri değerlendirildiğinde; kolit grubunda MDA düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğu tespit edildi (p<0.05). NAC, BG ve kombinasyon grubunda MDA düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı (P<0.05). Tedavi grupları arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı (**Şekil 1**).

MPO; Kolit grubunda MPO aktivite düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğu tespit edildi (p<0.05). NAC, BG ve kombinasyon grubunda MPO düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede düşük saptandı (p<0.05). Tedavi grupları arasında anlamlı istatistiksel fark saptanmadı (**Şekil 2**).

Doku Antioksidan Aktiviteleri

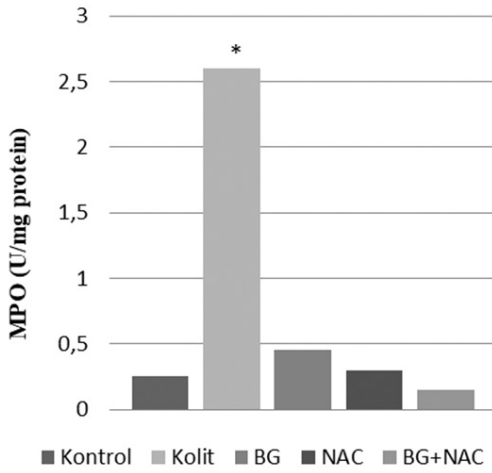
SOD Düzeyi

Tüm kolit gruplarında SOD aktivite düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşmüş olduğu tespit edil-



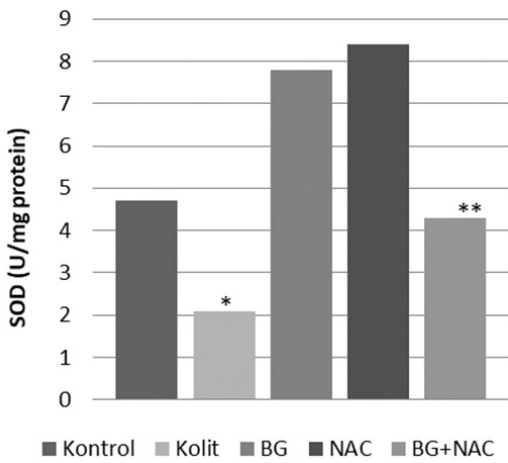
Şekil 1. NAC ve BG'nin kalın barsak MDA düzeyleri üzerine etkileri

*: $p < 0.05$ Diğer gruplardan anlamlı farklı bulunmuştur.



Şekil 2. NAC ve BG'nin kalın barsak MPO aktivite düzeyleri üzerine etkileri

*: $p < 0.05$ Diğer gruplardan anlamlı farklı bulunmuştur.



Şekil 3. NAC ve BG'nin kalın barsak SOD aktivite düzeyleri üzerine etkileri

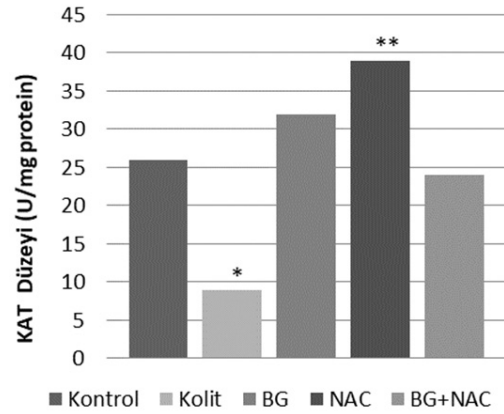
*: $p < 0.05$ Diğer gruplardan anlamlı farklı bulunmuştur.

** : $p < 0.05$ Diğer tedavi grupları ile arasında anlamlı fark var.

di ($p < 0.05$). NAC, BG ve kombinasyon grubunda SOD düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p < 0.05$). Ancak bu artış kombine grubunda daha az seviyede izlendi (**Şekil 3**).

KAT Aktivitesi

KAT aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde; kolit grubunda KAT aktivite düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). NAC, BG ve kombinasyon verilen gruplarda KAT düzeyleri kolit grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı ($p < 0.05$) (**Şekil 4**).

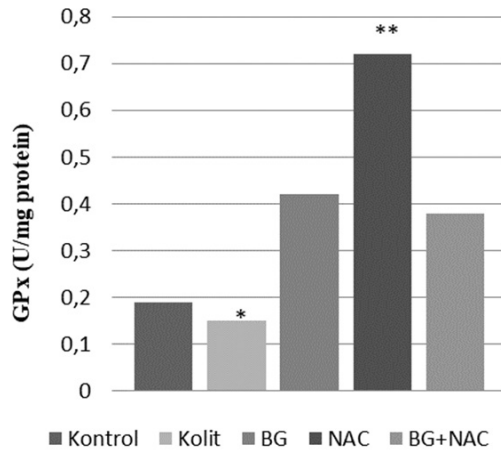


Şekil 4. NAC ve BG'nin kalın barsak KAT aktivite düzeyleri üzerine etkileri

*: $p < 0.05$ Diğer gruplar ile arasında anlamlı fark bulunmuştur.

** : $p < 0.05$ Kontrol grubu, kolit ve kombine grubu ile arasında anlamlı fark bulunmuştur.

Kalın barsak dokusu GPx aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde; kolit grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark gözlenmedi. Ancak tedavi verilen gruplarda GPx aktivite düzeyi kolit grubundan anlamlı yüksek saptandı ($p < 0.05$) (**Şekil 5**).



Şekil 4. NAC ve BG'nin kalın barsak GPx aktivite düzeyleri üzerine etkileri

*: $p < 0.05$ Tedavi gruplarından anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

** : $p < 0.05$ Diğer gruplardan anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

Histopatolojik Bulgular

Histolojik skorlama Yamamoto ve ark.'nın (29) tariflediği şekilde yapıldı (**Tablo 1**).

Kalın barsak mukozası mikroskopik değişiklikler 0–3 değerleri arasında derecelendirildi. Grupların histopatolojik analizlerinde, kontrol grubunda hiç hasar oluşmazken kolit grubu en fazla hasarın gözleendiği grup olmuştur. Tedavi verilen grupların kolit grubuyla ve kendi aralarında karşılaştırmaları yapıldığında birbiriyle aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (**Tablo 2**).

Tablo 2. Grupların Histopatolojik Skor Ortalamaları

Gruplar	Histolojik skor (Ort. ± SS)
Kontrol	0,00 ± 0,00
Kolit	1,66 ± 1,36
BG	1,40 ± 1,26
NAC	0,50 ± 1,08
BG+NAC	0,90 ± 1,19

TARTIŞMA

Uyarılmış inflamatuvar hücrelerde reaktif oksijen radikali üretiminin artışı, ÜK hastalarında kalın barsak biyopsilerinde ortaya konmuştur (35-37). ROM oluşumunun patofizyolojik önemi geniş bir hastalık yelpazesinde ve yaşlanma ile ilgili dejeneratif bozukluklarda rol oynamaktadır. Bu durumlar arasında kardiyovasküler ve inflamatuvar hastalıkları, alzheimer, parkinson gibi nörodejeneratif bozuklukları ve kanseri sayabiliriz. Ayrıca diyabete bağlı polinöropatiler, katarakt oluşumu, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi durumlarda da reaktif oksijen türevlerinin rolü bulunmaktadır. Antioksidanlar ise hücreleri oksidatif hasara karşı koruyabilmekte ve hücre düzeyde hastalığın başlamasını önlemekte ya da ilerlemesini geciktirebilmektedirler (38).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, inflamatuvar barsak hastalığı patogeneğinde reaktif oksijen ürünlerinin rol oynadığı dikkati çekmektedir ve yapılan çalışmalarda bu oksijen ürünlerinin inflame mukozada üretildiği ve patogeneğinde de rol alabileceği gösterilmiştir (26,38). İnflamasyonlu dokudaki oksijen radikallerinin kaynağını, aktive olmuş lökositlerden üretilen süperoksid radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksidin oluşturduğu gözlenmiştir (39,40). Bunun dışında MPO'nun klor iyonları varlığında, H₂O₂'yi parçalaması sonucu oluşan hipoklorik asit'in (HOCl), kolit gelişimindeki inflamatuvar reaksiyonda rolü vardır.

Kolit oluşumunda uyguladığımız AA, kalın barsaktaki enzimler tarafından H₂O₂ ve süperoksid anyonlarına metabolize olur ve oluşan metabolik ürünler kalın barsak için oldukça toksik yapıya sahiptir (41). Verilen antioksidan tedavi ile kalın barsaktaki bu oksidan denge bozukluğunun kontrol edilmesinin mümkün olduğu görülmüştür (15,17). Antioksidan yapıdaki zolimid, AEOL11201 (42), L-glutamin

(43), melatonin (44) ve askorbik asitin (45) kolit tablosundaki oksidatif durumda azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde NAC'nin antioksidan etkisi birçok çalışmada gözlenmiştir (46,47).

Deneysel kolit modelinde, AA oldukça sık kullanılan bir ajandır (48). Asetik asite bağlı kolit modelinde, kalın barsak mukozasının makrofaj ve nötrofil infiltrasyonu ve çeşitli inflamatuvar mediatörlerin artmış üretimini indüklediği ortaya konmuştur (49). Çalışmamızda, AA verilmesini takiben kalın barsak doku incelenmesinde mukozal ülserasyon, submukozal ödem, mukoza ve submukozada nötrofil infiltrasyonu gözlenmiştir. MPO, özellikle nötrofillerden salgılanan ve daha önceki çalışmalarda kalın barsaktaki inflamasyonun kantitatif belirteci olarak kullanılan bir enzimdir (39,50). Bu çalışmada da AA verilmesi ile kolit oluşturulan grupta, MPO aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olduğunu gözledik. Buna paralel olarak NAC, BG veya kombine tedavide MPO aktivitesinin kolit grubuna göre anlamlı olarak düştüğü gözleendi. MPO aktivitesindeki bu azalma NAC ve BG'nin kolit modeli üzerinde anti-inflamatuvar bir etkiye sahip olduklarının işareti olarak kabul edilebilir (51).

NAC, glutatyon sentezinde görevli GPx enzimi tarafından kullanılır. GPx aktivasyonu özellikle oksidatif stresin arttığı zamanlarda önemlidir. NAC, MPO aktivitesi sonucu oluşan HOCl'nin güçlü bir yakalayıcısıdır. Akut deneysel kolit modelinde de NAC'nin intraperitoneal/intrarektal olarak yararlı etkileri gösterilmiştir (25,27). Benzer şekilde, beta gluklan'nın daha önceden yapılan çalışmalarda tümör hücre çoğalmasını önleme (52,53), makrofaj aktivasyonunu artırma (54), sitokin sentezini artırma (55,56) nitrik oksit ve arşidonik asit sentezini artırma (57,58) ve antioksidan (59,60) özellikleri saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda oral yolla beta gluklan verilen durumlarda sepsis, ciltteki basınç ülseri, iske mi modelleri veya asetaminofen ve metotreksat gibi ilaçlarla gelişen oksidatif strese, koruyuculuğu gözlenmiştir (61,62). Bizim çalışmamızda ise her iki ajanı özellikle oral yolla vere rek kolit modelindeki sonuçlarını incelemeye çalıştık.

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan Malondialdehid (MDA) düzeyi, kolit modeli çalışmalarında artış gösterir (27,63). Çalışmalarda NAC veya BG uygulamalarında ise iyileştirici etki olarak MDA seviyesinde, anlamlı azalmanın olduğu görülmüştür (25, 27, 64). Benzer olarak çalışmamızda da MDA düzeyinin, NAC veya BG veya kombine verilen grupta, kolit grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözleendi. Bu azalma, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kombine verilen grupta en yüksek oranda saptandı. Neticede uygulanan tedavilerin, peroksidasyonu önleyerek kolitte yararlı olduğu saptandı.

Oksidan ve antioksidan sistem arasındaki denge ÜK'nin patogeneğinde ve doku hasarı ilerlemesinde oldukça önemlidir. Süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimler ile birlikte glutatyon gibi antioksidanlar hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Süperoksid dismutaz, oksidatif strese karşı dokunun savunmasında hayati önem

taşımaktadır. Yapılan kolit modeli çalışmalarında; Dong ve ark. kolit modelinde (65) SOD enzimi aktivasyonunun azaldığını ancak tedavi alan grupta ise SOD aktivasyonunda kolit grubuna göre artış olduğunu gözlemişlerdir. Liu ve ark.'nın (66) yaptığı diğer bir çalışmada ise trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) ve etanol ile oluşturulmuş kolit modelinde yine benzer artmış SOD aktivite düzeyi saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda da AA uygulamasıyla SOD ve KAT düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı gösterildi. Bununla birlikte SOD ve KAT düzeylerinin, NAC, BG ve NAC+BG gruplarında, tedavi almayan gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi.

GPx, H₂O₂ ve büyük moleküllü hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Glutasyon ve GPx'in gastrointestinal sistemde oksidatif strese koruyucu rolleri olduğu gösterilmiştir (67). İskemi-reperfüzyon, kimyasal ajanlar, yaşlanma ve dejeneratif hastalıklar gibi birçok toksik ve patolojik durumlarda hücrelerin oksidatif ve serbest radikal hasarına karşı en önemli savunma mekanizması olduğu saptanmıştır (68). Şenoğlu ve ark.'nın (25) sepsis modelinde yaptığı bir çalışmada, BG ve NAC'nin profilaktik olarak uygulanmasıyla, BG grubunda SOD aktivitesinin ve antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 seviyesinin, NAC grubundan anlamlı olarak yüksek olduğunu görmüşlerdir. Biz ise çalışmamızda tedavimizi hem proflaktik hem de idame uygulaması şeklinde planladık. Böylelikle etkinliğini daha iyi gözlemleyebileceğimizi düşündük. Çalışmamızda kolit grubunda, kontrol grubuna göre GPx aktivitesi düşük, tedavi verilen tüm gruplarda ise GPx aktivitesi artmış olarak izlendi. Ancak NAC verilen grupta, GPx aktivitesi en yüksek düzeyde ölçüldü. Bunun ise NAC'nin direk olarak glutasyon yapısına girerek GPx enzimi aktivasyonunda artış yapmasına bağlı olabileceği düşünüldü. Bu sonuç daha önceki çalışmalarla uyumluydu (61, 69-71). Buradan yola çıkarsak uygulanan tedavilerin aslında dokuda henüz hasar oluşmadan yani proflaktik dönemde asıl etkinliğinin olduğunu söyleyebiliriz. İyileşme sürecine olan etkilerinin daha iyi değerlendirilmesi için, idame tedavinin daha uzun süre yapıldığı çalışmaların faydalı olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak çalışmamızda elde edilen bulgularla NAC ve BG'nin AA ile oluşturulmuş kolit modelinde yararlı etkileri olduğu sonucuna varıldı. BG'nin daha çok antiinflamatuvar olarak fayda gösterdiği düşünüldüğünde, proflaktik kullanımlarda daha etkin olabileceği ve bu nedenle bu konu ile ilgili farklı doz, sürelerde ve profilaktik tedavi kolunu da içeren başka çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varıldı.

Çıkar Çatışması ve Finansman Beyanı: Bu çalışmada çıkar çatışması yoktur ve finansman desteği alınmamıştır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

1. Gilat T, Grossman A, Fireman Z, Rozen P. Inflammatory bowel disease in jews. In: McConnell R, Rozen R, Langman M, Gilat T, eds. The genetics and epidemiology of

- inflammatory bowel disease. New York: Karger, 1986; 11: 141.
2. Peterson WL, Graham DY. Ulcerative colitis. In: Jewell DP, Sleisenger MH. Gastrointestinal and liver disease pathophysiology, diagnosis, management. 7th ed. Saunders; 2002; 2039-2067.
3. Pietro G, Lawrance S. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. Gastroenterol. Clin. North Am. 1999; 28: 255-281.
4. Kirsner JB & Shorter RG. Recent developments in "nonspecific" inflammatory bowel disease. N. Engl. J. Med. 1982; 306: 775-785.
5. Jewell DP & Patel C. Immunology of inflammatory bowel disease. Scan. J. Gastroenterol. Suppl. 1985; 114: 119-126.
6. John R, Gareth A, Thomas B. Advanced Therapy of inflammatory Bowel Disease. Bayless TM. Hanauer S.B. Mucosal protective and repair agents in the treatment of colitis. 2.nd New York. 2000; 23: 107-110.
7. Stenson WF, Korzenik J, Yamada T, Alpers D, Kaplowitz D, Laine L. Textbook of gastroenterology. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2003; 4 ed. p:1699-1750.
8. Campieri M, Gionchetti P. Bacteria as the cause of ulcerative colitis. Gut. 2001; 48: 132-5.
9. Asik M, Bayraktar Y. İnflamatuvar barsak hastalığında patogeneze ve tedavide yenilikler. Güncel Gastroenteroloji. 1998; 2: 156-62.
10. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? J Lab. Clin. Med. 1992; 119: 598-620.
11. Garg R, Kumbkarni Y, Aljada A, Mohanty P, Ghanim H, Hamada W, et al. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leukocytes and peroxidation and improves flow mediated vasodilatation in obese subjects. Hypertension 2000; 36: 430-5.
12. Cryer B, Feldman M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am. J. Med. 1998; 104: 413-421.
13. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 1997; 6: 92-95.
14. Esterbauer H. peroxidation products: Formation, chemical properties and biological activities. In: Free radicals in liver injury. IRL Press Limited, Oxford, England 1985; p: 29-47.
15. Yoshida N, Yoshikawa T, Naito Y, Tanigawa T, Murase H, M Kondo. A novel water soluble vitamin E derivative protects against experimental colitis in rat. Antioxid. Redox. Signal. 1999; 1: 555-562.
16. Kuralay F, Yıldız C, Özütmez O, İşlekel H, Çalıskan S, Bingol B ve ark. S. Effects of trimetazidine on acetic acid-induced colitis in female swiss rats. 2003; 2: 123-125.
17. Ademoglu E, Erbil YB, Tam B, Barbaros U, İlhan E, Olgac V, ve ark. Do vitamin E and selenium have beneficial effects on trinitrobenzenesulfonic acid-induced experimental colitis. Dig. Dis. Sci. 2004; 49: 102-108.
18. Kim SY, Song HJ, Lee YY, et al. Biomedical Issues of Dietary fiber - Glucan. J Korean Med. Sci. 2006; 21: 781-789.
19. Ross GD, Vetvicka V, Yan J, et al. Therapeutic intervention with complement and beta-glucan in cancer. Immunopharmacology. 1999; 42: 61-74.
20. Tzianabos AO. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. Clin. Microbiol. Rev. 2000; 13: 523-33.

21. Gu Y, Fujimiya Y, Itokawa Y, Oshima M, Choi JS, Miura T, et al. Tumoricidal effects of beta-glucans: mechanisms include both antioxidant activity plus enhanced systemic and topical immunity. *Nutr Cancer*. 2008; 60: 685-91.
22. Babayigit H, Kucuk C, Sozuer E, Yazici C, Kose K, Akgun H. Protective effect of b glucan on lung injury after cecal ligation and puncture in rats. *Intensive Care Med*. 2005; 865-870.
23. Moldeus P, Cotgreave IA, Berggren M. Lung protection by a thiolcontaining antioxidant: N-acetylcysteine. *Respiration*.1986; 1: 31-42.
24. Sener G, Toklu H, Ercan F, et al. Protective effect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int. Immunopharmacol*. 2000; 5: 1387-1396.
25. Senoglu N, Yuzbasioglu MF, Aral M, Ezberci M, Kurutas EB, Bulbuloglu E, et al. Protective Effects of N-Acetylcysteine and -Glucan Pretreatment on Oxidative Stress in Cecal Ligation and Puncture Model of Sepsis. *Journal of Investigative Surgery*. 2008; 21: 237- 243.
26. Keshavarzian A, Seghdi A, Kanofsky J et al. Excessive production of reactive oxygen metabolites by inflamed colon: Analysis by chemiluminescence probe. *Gastroenterology* 1992; 103: 177-185.
27. 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.
28. MacPherson B, MacPherson C. Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion* 17. 1978; 135-150.
29. Yamamoto M, Yoshizaki K, Kishimoto T, and Ito H. IL-6 Is required for the development of Th1 Cell-mediated murine colitis. *J. Immunol*. 2000; 164: 48-78.
30. Worthing Enzyme Manual Worthington Biochemical Corporation Freehold, New Jersey, USA, 1972.
31. Ohkawa D: Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979; 95: 351-358.
32. Beutler E. Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. 2nd edition. New York: Grune &Stratton Co. 1975; 261-265.
33. Oberley LW, Spitz DR. Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue. *Methods Enzym measurement*. 1984; 105: 457-464.
34. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
35. Koch TR, Yuan LX, Stryker SJ, Ratliff P, Telford GL, Opara EC: Total antioxidant capacity of colon in patients with chronic ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*. 2000; 5: 1814-1819.
36. Lih-Brody L, Powell SR, CollierKP, Reddy GM, Cerchia R, Kahn E, et al. Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Dig. Dis. Sci*. 1996; 41: 2078 -2086.
37. 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.
38. Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-mediated mucosal injury. Role of reactive oxygen metabolites. *Dig. Dis. Sci*.1988; 33: 6-15.
39. Sekijuzo E, Grisham MA, Li MA, Deitch EA, Granger DN. İnflammation induced intestinal hyperemia in the rat: Role of neutrophils. *Gastroenterology*. 1988; 95.
40. Fontane JC, Ward PA. Role of oxygengenerated free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. *Am. J. Pathol*. 1982; 107.
41. Grisham MB. Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. *Lancet*, 1994; 344: 859-861.
42. Choudhary S, Keshevarzian A, Novel antioxidants zolimid and AEOL11201 ameliorate colitis in rats. *Dig. Dis. Sci*. 2001; 46.
43. Kaya E, Özgüç ES. L-Glutamin enemas attenuate mucosal injury in experimental colitis. *Dis. Colon Rectum*, 1999; 42.
44. Pentney PT, Bubenikj GA. Melatonin reduces the severity of dextran induced colitis in mice. *J.Pineal Res*. 1995; 19.
45. Simmonds NJ, Millar AD, Blake DR. Antioxidant effects of aminosalicylates and potential new drugs for IBD: Assessment in cell-free systems and inflamed human colorectal biopsies. *Aliment. Pharmacol. Therapy*. 1999; 13.
46. Ziment I. Acetylcysteine: A drug with an interesting past and a fascinating future. *Respiration*. 1986; 50: 1, 26-30.
47. Junod AF, Jornot L, Grichting G. Comparative study on the selenium and N-acetylcystein-related effects on the toxic action of hyperoxia, paraquat and enzyme reaction hypoxanthine-xanthine oxidase in cultured endothelial cells. *Agents Actions*. 1987; 22: 176-183.
48. Fedorak RN, Empey LR, MacArthur C, Jewell LD. Misoprostol provides a colonic mucosal protective effect during acetic acid induced colitis in rats. *Gastroenterology* 1990; 98: 615-625.
49. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N. Engl. J. Med*. 1991; 325: 928-937.
50. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology* 1984; 87: 1344-50.
51. Carlson M. Raab Y, Seveus L. Xu S, Hallgren R, Venge P. Human neutrophil lipocalin is a unique marker of neutrophil inflammation in ulcerative colitis and proctitis. *Gut* 2002; 50: 501-506.
52. Ross GD, Vetvicka V, Yan J, Xia Y, Vetvickova J. Therapeutic intervention with complement and b-glucan in cancer. *Immunopharmacology*. 1999; 42: 61-74.
53. Vetvicka V, Yvin JC. Effect of marine b-1,3 glucan on immune reactions. *Int. Immunopharmacol*. 2004; 4: 721-730.
54. Cleary JA, Kelly GE, Husband AJ. The effect of molecular weight and b-1,6-linkages on priming of macrophage function in mice by b-(1,3)-D-glucan. *Immun. Cell. Biol*. 1999; 77: 395-403.
55. Engstad CS, Engstad RE, Olsen JO, Osteud B. The effect of soluble b-1,3-glucan and lipopolysaccharide on cytokine production and coagulation activation in whole blood. *Int. Immunopharmacol*. 2002; 2: 1585-1597.
56. Solyths J, Quinn MT. Modulation of endotoxin and enterotoxin-induced cytokine release by in vivo treatment with b-(1,6)-branched b-(1,3)-glucan. *Infect. Immun*. 1999; 67: 244-250.
57. Hashimoto T, Ohno N, Adachi Y, Yadomae T. Enhanced production of inducible nitric oxide synthase by b-glucans in mice. *Immunol. Med. Microbiol*. 1997; 19: 145-50.
58. Ljungman AG, Leanderson P, Tagesson C. Beta-(1-3)-D-glucan stimulates nitric oxide generation and cytokine mRNA Expression in macrophages. *Environ. Toxicol*.

- Pharmacol. 1998; 5: 273-281.
59. Babincova M, Bacova Z, Machova E, Kogan G. Antioxidant properties of carboxymethyl glucan: comparative analysis. *J. Med. Food.* 2002; 5: 79-83.
 60. Krinzkova L, Durackova Z, Sandula J, Slamenova D, Ssinkova V, Sivonova M, et al. Fungal beta-(1-3)-D-glucan derivatives exhibit high antioxidative and antimutagenic activity in vitro. *Anticancer. Res.* 2003; 23: 2751.
 61. Sugiyama A, Suzuki K, Mitra S, Arashida R, Yoshida E, Nakano R, et al. Hepatoprotective effects of paramylon, a beta (1-3) -D-glucan isolated from *Euglena gracilis*, on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in rats. *J. Vet. Med. Sci.* 2009; 71: 885-890.
 62. F Bayrak O, Turgut F, Karatas OF, Cimentepe E, Bayrak R, Catal F, et al. Oral betaglucan protects kidney against ischemia/reperfusion injury in rats. *Am. J. Nephrol.* 2008; 28: 190-196.
 63. Mahgoub AA. Evaluating the prophylactic potential of zafirlukast against the toxic effects of acetic acid on the rat colon. *Toxicol. Lett.* 2003.
 64. Kayali H, Ozdag MF, Kahraman S, Aydin A, Gonul E, Sayal A, et al. The antioxidant effect of β -Glucan on oxidative stress status in experimental spinal cord injury in rats. *Neurosurg Rev.* 2005; 28: 298-302.
 65. Dong WG, Liu SP. Ameliorative effects of sodium ferulate on experimental colitis and their mechanisms in rats. *World. J. Gastroenterol.* 2003; 9: 2533-2538.
 66. 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.
 67. Siegers CP, Riemann D, Thies E, Younes M. Glutathion and GSH-dependent enzymes in the gastrointestinal mucosa of the rat. *Cancer Lett.* 1988; 40: 71-76.
 68. Shan XQ, Aw TY, Jones DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol. Ther.* 1990; 47: 61-71.
 69. Sener G, Eksioğlu-Demiralp E, Cetiner M, Ercan F, Yegen BC. Beta-glucan ameliorates methotrexate-induced oxidative organ injury via its antioxidant and immunomodulatory effects. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 542: 170.
 70. Sener G, Sert G, Sehirli AÖ, Arbak S, Uslu B, Gedik N, et al. Pressure ulcer-induced oxidative organ injury is ameliorated by b-glucan treatment in rats. *Int. Immunopharmacol.* 2006; 6: 724-732.
 71. Sener G, Toklu H, Ercan F, Erkanli G. Protective effect of b-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int. Immunopharmacol.* 2005; 5: 1387-1389