

Ratlarda Trinitrobenzensülfonik Asit ile Oluşturulan Deneysel Kolitte Kısa Zincirli Yağ Asitlerinin Epitel Onarımına Etkisi

Müjdat Kara¹ , H. Ahmet Tezel

¹Acıbadem Altunizade Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Edirne, Türkiye

Müjdat Kara, Dr. Öğr. Üyesi
H. Ahmet Tezel, Prof. Dr.

İletişim:

Dr. Öğr. Üyesi Müjdat Kara
Acıbadem Altunizade Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Tel: +90 532 362 61 17
E-Posta: drmujdat@hotmail.com

Gönderilme Tarihi : 08 Mayıs 2019
Revizyon Tarihi : 21 Temmuz 2019
Kabul Tarihi : 24 Temmuz 2019

ÖZET

Amaç: Bu araştırmanın amacı, trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) ile deneysel kolit oluşturulan ratları kullanarak kısa zincirli yağ asitlerinin ülseratif kolit tedavisindeki yerini tartışmaktır.

Yöntem: Bu çalışmada, deneysel araştırma yöntemi kullanılmıştır. Ortalama ağırlıkları 150±30 gr. arasında değişen 30 dişi Wistar cinsi rat çalışma grubunu oluşturmuştur. Ratlar randomize olarak 10'ar adetlik üç gruba ayrılmıştır. Gruplar, iki grup deney, bir grup kontrol grubu olmak üzere yine randomize olarak atanmıştır. Birinci deney grubuna 3. günden itibaren günde iki kez intrakolonik olarak KZYA, ikinci deney grubuna ilk günden itibaren günde iki kez KZYA olarak uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise 3. günden itibaren günde iki kez serum fizyolojik uygulanmıştır. 6. günde çalışma sonlandırılarak ratlar dekapite edilmiştir. Kolon mukozasının makroskopik ve mikroskopik değerlendirilmesiyle MPO aktivitesi değerlendirilmiştir.

Bulgular: 1.-2., 2.-3., 1.-3. grupların kolon makroskopileri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$; $p<0,01$; $p<0,01$). 1.-2. grupların kolon MPO'ları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0,139$). 1.-3. ve 2.-3. grupların kolon MPO'ları istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılaşmaktadır ($p<0,05$; $p<0,01$).

Tartışma: Araştırma sonuçlarına göre, 2. gruptaki kolon makroskopik skorlaması ve MPO aktiviteleri, 1. ve 3. gruplara nazaran istatistiksel olarak anlamlı derecede başarılıdır. Bu bulgu, KZYA'nin ÜK tedavisinde alternatif bir seçenek olabileceği sonucunu doğurmaktadır.

Anahtar sözcükler: Kısa zincirli yağ asitleri, ülseratif kolit, trinitrobenzensülfonik asit

THE EFFECT OF SHORT-CHAIN FATTY ACIDS ON EPITHELIAL REPAIR IN EXPERIMENTAL COLITIS CREATED WITH TRINITROBENZENESULFONIC ACID IN RATS

ABSTRACT

Objectives: The purpose of this study is to discuss short-chain fatty acids' (SCFA) role in ulcerative colitis (UC) treatment by using rats which have experimental colitis created with trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS).

Method: In this study, the experimental research method was adopted. The study group consisted of 30 female Wistar rats which have 150±30 gr. average weights, Rats were randomly divided into 3 groups with 10 rats in each group. The groups were randomly assigned as two experimental groups and one control group. The first experimental group was administered SCFA intracolonicly 2 times a day from the 3rd day, and the second experimental group was administered SCFA 2 times a day from the first day. The control group was given saline 2 times a day from the 3rd day. On day 6, the rats were decapitated. MPO activity evaluation and macroscopic and microscopic evaluation of the colon mucosa was done.

Results: There was a statistically significant difference between the colon macroscopy results of the groups 1-2, 2-3, 1-3 ($p<0,05$, $p<0,01$; $p<0,01$). There was not a statistically significant difference between the colon MPOs of Group 1 and 2 ($p=0,139$). Groups 1-3 and 2-3 colon MPOs differed from each other significantly ($p<0,05$; $p<0,01$).

Discussion: According to the results of this study, colon macroscopic results and MPO activities in Group 2 were significantly successful compared to the first and third groups. This finding suggests that SCFA may be an alternative option in the treatment of UC.

Keywords: Short-chain fatty acids, ulcerative colitis, trinitrobenzenesulfonic acid

Ülseratif kolit (ÜK), kronik inflamatuvar bir kolon hastalığıdır ve patogenezi halen tam olarak anlaşılmış değildir. Kolon mukozası, luminal içerik ve epitel, kolonun fiziksel bariyeri görevini görür. Enzimatik sindirim ve mekanik hasarlanmalar ile kaybolan mukus, taze olarak epitel hücreleri tarafından sekrete edilerek denge sağlar. Intestinal mukozanın temel mukusu MUC2'dir (1,2). Yüzeysel mukus (mukus jeli); esas temel protein olan mukus glikoproteini ile buna bağlı oligosakkaritlerden oluşur. Bu mukozal tabakadaki kalınlık ve bütünlük mukozal korumadaki esas rolü oynar, mukus jelin şekil ve akışkanlığı glikozilasyona bağlıdır. Fekal bakterilerin ürettiği enzimler mukus protein ve ilgili karbohidratları sindirebilirler (3).

Mukus jelinde bozulma meydana geldiği zaman epitelden ayrılır ve epitel, bakteriyel enzim, allerjen ve toksinlerin saldırısına açık hale gelir. Ülseratif kolitte sağlam kolon kısımlarında normal mukus mevcut iken, inflame mukozanın olduğu yerlerde mukus tabakasının kaybolduğu gözlenmiştir. Mukus bariyerinin olmaması, epitel ile engelsiz karşılaşılan antijenik yapıların, inflamatuvar reaksiyona katkıda bulunmasına neden olurlar (3,4).

İntestinal sistemdeki mukoza epiteli, lümeninde bulunan çok çeşitli ve farklı antijenik yapılara karşı önemli bir bariyer olarak görev yapar. Ancak proteazlar, yerleşik flora, diyetel faktörler yüzeysel epitelyal mukozada fizyolojik koşulların geçici olarak bozulmasına neden olabilir. Genellikle intestinal yüzeysel bariyerdeki bütünlük aşırı hasar olsa bile iyi gelişmiş rejeneratif kapasiteden dolayı yeniden yapılır. Epitelyal hücre göçü, epitelyal hücre proliferasyonu ve farklılaşması sayesinde yüzeysel epitelde yeniden yapılanma kusursuz yapılabilir. Bu iyileşme sürecinde, düzenleyici peptidler, ekstraselüler matriks faktörü, pıhtılaşma faktörleri, peptid olmayan diğer moleküller, fosfolipidler, adenin nükleotid, büyüme faktörleri, sitokinler ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) intestinal mukozadaki epitelyal hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve normal homeostazın korunmasında temel rolü oynarlar. Bu moleküller, trombositler, komşu stromal hücreler, inflamatuvar hücreler, hasar görmüş epitelyal veya epitelyal olmayan hücreler tarafından salgılanır (3,5–10).

Kısa zincirli yağ asitleri

Normal şartlarda hem mukozal inflamasyon hem de bariyerdeki defekt iyileştirilebilir. Ancak ÜK'li olgularda immün regülasyon bozuk olduğu için inflamasyon belirtileri kontrol altına alınamaz (11,12). Buna ek olarak, özellikle distal kolonda mukozal düzeyde enerji eksikliğinin ortaya çıkması, iyileşmenin gecikmesine yol açar (3,13).

Kolon epitelinin metabolik ihtiyaçları vasküler yoldan değil, çoğunlukla lümen içi enerji kaynakları kullanılarak, pasif ve aktif difüzyonla sağlanır (13). Kolondaki bakterilerin kompleks karbohidratları fermentasyonu sonucu oluşan butirat, propiyonat, asetattan oluşan KZYA epitelin yüksek metabolik enerji ihtiyacını karşılar. Özellikle n-Butirat kolonik epitel tarafından esas tercih edilen ana enerji kaynağıdır. Mukozal atrofiyi düzeltmek, bariyer fonksiyonlarını ve inflamasyonu onarmak için KZYA gereklidir (3,7).

Literatürdeki çalışmalar KZYA'nın karışık şekilde veya tek tedavi olarak butiratın verilmesi klinik iyileşmeye katkı sunabileceğini göstermektedir. Butirat veya kombine KZYA'nın yan etkileri henüz çok iyi bilinmese de fizyolojik tedavi yaklaşımı olarak çekici bir alternatif olabilir (10,14).

Gereç ve Yöntem

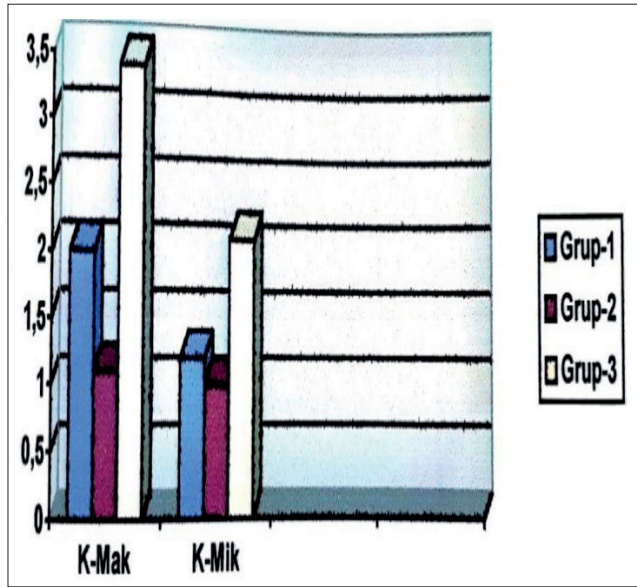
Bu araştırma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı, Biyokimya Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı'nın iş birliği ile Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda Eylül 2000 – Mayıs 2001 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Çalışma grubu, ortalama ağırlıkları 150±30 gr. arasında değişen 30 adet dişi Wistar cinsi rattan oluşmaktadır. Ratlar randomize olarak üç gruba (n=10) ayrılmıştır. Bu gruplardan biri kontrol grubuyken diğer ikisi deney grubudur. Çalışma grubunu oluşturan tüm ratlar, sıcaklığı sabit 22°C olan klimalı odalarda 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde muhafaza edilmişlerdir.

Deneyel desen ve gruplar

Deneyel kolit oluşturmak için her bir rata intrakolonik olarak bir kez verilmek üzere 30 mg. trinitrobenzen-sülfonik asit (TNBS) ve %50'lik etanol karışımı hazırlanmıştır (15, 16). On iki saat aç bırakılan ratlara eter kabı içinde eter ile yeterli sedasyon sağlandıktan sonra 8 F katatere vazelin ile yeterli kayganlık verilerek hazırlanan TNBS solüsyonu, intrarektal olarak 8–10 cm içeriye girilerek 1 cc. (30 mg.) uygulanmıştır (Şekil 1).

Ratlara intrarektal olarak uygulanacak olan KZYA; 60 mM sodyum acetate, 30 mM sodyum propionate, 40 mM sodyum n-butyrate ve 22 mM sodyum chloride, litrede osmolaritesi 280–290 mOsm, Ph 7 olacak şekilde 1 N sodyum hidrokside ile titre edilerek hazırlanmıştır (10). Elde edilen KZYA solüsyonu, tıpkı TNBS gibi eter ile yeterli sedasyon sağlanan ratlara, vazelin ile yeterli kayganlık verildikten sonra, farklı bir katatere yaklaşık 8–10 cm. kolon içine günde iki kez, 1 cc uygulanmıştır.



Şekil 1. Eterle Sedatize Edilmiş Rata İntrakolonik TNBS Uygulanışı.

1. Deney grubu (n=10);

- Trinitrobenzensülfonik asid + %50'lik etanol karışımı ile ilk gün rektal lavman ile kolit yapıldı.
- 3. günden itibaren 6. güne kadar günde iki kez olmak üzere rektal KZYA uygulandı.

2. Deney grubu (n=10);

- Trinitrobenzensülfonik asid + %50'lik etanol karışımı ile ilk gün rektal lavman ile kolit yapıldı.
- İlk günden itibaren deney sonuna kadar altı gün günde iki kez olmak üzere rektal KZYA uygulandı.

3. Kontrol grubu (n=10);

- Trinitrobenzensülfonik asid + %50'lik etanol karışımı ile ilk gün rektal lavman ile kolit yapıldı.
- İlk günden itibaren deney sonuna kadar altı gün günde iki kez rektal lavman ile serum fizyolojik verildi.

Bulgular

Çalışma grubunda yer alan tüm ratlara deneyin son gününde (6. gün) yüksek doz eter ile dekapitasyon işlemi uygulanmıştır. Dekapitasyondan sonra kolonlar çıkarılarak önce makroskopik sonra mikroskopik değerlendirme yapılmıştır.

Makroskopik değerlendirme

Deneyde yer alan her üç grubun kolon makroskopik değerlendirmesi 0–6 arasında normal ülserasyondan ağır ülserasyona kadar sınıflandırılmıştır. Sınıflandırma ölçeği Tablo 1'de, sonuçlar Tablo 2'de yer almaktadır.

Mikroskopik değerlendirme

Mikroskopik değerlendirme için alınan kolon örnekleri %10'luk formaldehit içine konularak fikse edilmiştir. Sonrasında, preparatlardan patoloji laboratuvarında 4 mikron kalınlığında kesitler alınarak hematoxilen eozin (HE) ile boyanmıştır. Mikroskopik değerlendirmede normal mukozadan total ülserasyona kadar 1–4 arasında puanlama yapılmış, puanlama ölçeği Tablo 3'te, sonuçlar Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 1. Kolon makroskopik değerlendirme ölçeği (5)

Skor	Mukoza
0	Normal
1	Hiperemi
2	Ülserasyon yok, hiperemi ve ödem var
3	Tek ve küçük ülserasyon (<1cm)
4	İki ve daha fazla küçük ülserasyon (<1cm)
5	>1 cm ülserasyon
6	>2 cm ülserasyon

Aguilar-Nascimento, França-da-Silva, de Oliveria, & Gomes-da-Silva (1999)'dan yararlanılmıştır.

Tablo 2. Deney grupları ile kontrol grubu kolon makroskopik değerlendirmesi

1. Grup	Makroskopik skor	2. Grup	Makroskopik skor	3. Grup	Makroskopik skor
Rat 1	2	Rat 1	2	Rat 1	5
Rat 2	2	Rat 2	2	Rat 2	2
Rat 3	3	Rat 3	1	Rat 3	4
Rat 4	2	Rat 4	1	Rat 4	4
Rat 5	2	Rat 5	1	Rat 5	3
Rat 6	0	Rat 6	2	Rat 6	2
Rat 7	2	Rat 7	0	Rat 7	3
Rat 8	3	Rat 8	0	Rat 8	3
Rat 9	3	Rat 9	0	Rat 9	3
Rat 10	1	Rat 10	2	Rat 10	5

Tablo 3. Kolon mikroskopik değerlendirme ölçeği (5)

Skor	Mikroskopi
1	Ülserasyon yok
2	Minimal ülserasyon (100× büyütmede, 1 mikroskopik sahada)
3	Büyük ülserasyon (100× büyütmede, 1 mikroskopik sahadan daha fazla)
4	Total ülserasyon

Aguilar-Nascimento, França-da-Silva, de Oliveria, & Gomes-da-Silva (1999)'dan yararlanılmıştır.

Tablo 4. Deney grupları ile kontrol grubu kolon mikroskopik değerlendirilmesi

1. Grup	Mikroskopik skor	2. Grup	Mikroskopik skor	3. Grup	Mikroskopik skor
Rat 1	1	Rat 1	1	Rat 1	4
Rat 2	1	Rat 2	1	Rat 2	3
Rat 3	2	Rat 3	1	Rat 3	1
Rat 4	1	Rat 4	1	Rat 4	2
Rat 5	1	Rat 5	1	Rat 5	3
Rat 6	1	Rat 6	1	Rat 6	1
Rat 7	1	Rat 7	1	Rat 7	3
Rat 8	1	Rat 8	1	Rat 8	1
Rat 9	1	Rat 9	1	Rat 9	1
Rat 10	2	Rat 10	1	Rat 10	2

MPO aktivitesinin değerlendirilmesi

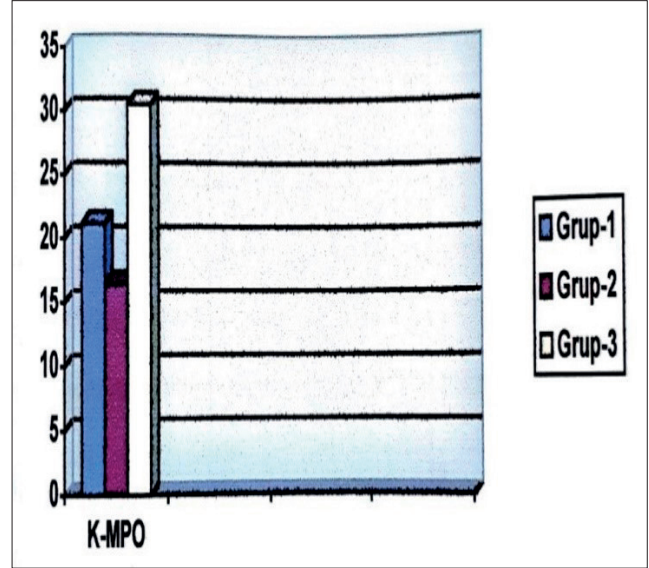
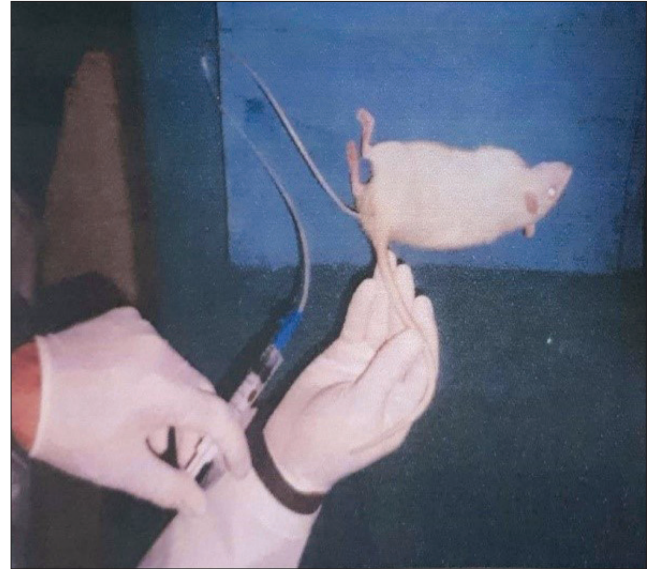
Mukozal düzeyde inflamasyon derecesinin objektif olarak MPO ölçümü ile gösterilebileceği bilinmektedir (5). Bu nedenle kolon kesitlerinde immünohistokimyasal yöntemle, kantitatif olarak Myeloperoksidaz (MPO) araştırılmıştır. MPO özellikle nötrofil olmak üzere myeloid orijinli hücrelerde bulunan bir enzimdir. Gastrointestinal sistemdeki infiltrasyonu gösteren kantitatif bir yöntemdir.

Mukozal MPO düzeylerini saptamak için insan MPO'ya yönelik immünglobulin içeren tavşan antiserum kiti kullanılmıştır (DAKO corporation, rabbit antihuman myeloperoksidaz, N 1578). Patoloji Anabilim Dalı İmmunhistokimya Laboratuvarı'nda hazırlanan preparatlar normal ışık mikroskopunda, işaretli objektif ile 100 kere büyütülerek, kareli camda, 0,25 mm²'lik alanda incelenmiştir. En yoğun bölgede "hot spot" immün pozitif hücreler sayılmıştır. Sonuçlar Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Deney grupları ile kontrol grubu kolon MPO değerlendirilmesi

1. Grup	Kolon MPO	2. Grup	Kolon MPO	3. Grup	Kolon MPO
Rat 1	11	Rat 1	11	Rat 1	17
Rat 2	14	Rat 2	34	Rat 2	30
Rat 3	35	Rat 3	10	Rat 3	37
Rat 4	17	Rat 4	12	Rat 4	24
Rat 5	27	Rat 5	8	Rat 5	41
Rat 6	24	Rat 6	25	Rat 6	21
Rat 7	19	Rat 7	17	Rat 7	41
Rat 8	22	Rat 8	17	Rat 8	23
Rat 9	12	Rat 9	9	Rat 9	29
Rat 10	31	Rat 10	22	Rat 10	42
Ortalama	21,2	Ortalama	16,5	Ortalama	30,5

Tüm grupların kolon mukozası makroskopik ve mikroskopik değişiklikleri skor ortalamaları ile kolon mukozasındaki MPO ortalamaları Şekil 2'de ve Şekil 3'te sunulmuştur.

**Şekil 2.** Grupların kolon mukozası makroskopik ve mikroskopik değişikliklerin skor ortalamaları.**Şekil 3.** Grupların kolon mukozasındaki MPO ortalamaları.

İstatiksel değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmede varsayım testleri sonucunda verilerin normal dağılım varsayımını sağlamadığı görülmüştür. Bu nedenle parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testleri tercih edilmiştir. Kruskal-Wallis testi ile gruplar arası farklılık araştırılmış, Mann-Whitney U testiyle ise gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına bakılmıştır.

Sonuç olarak;

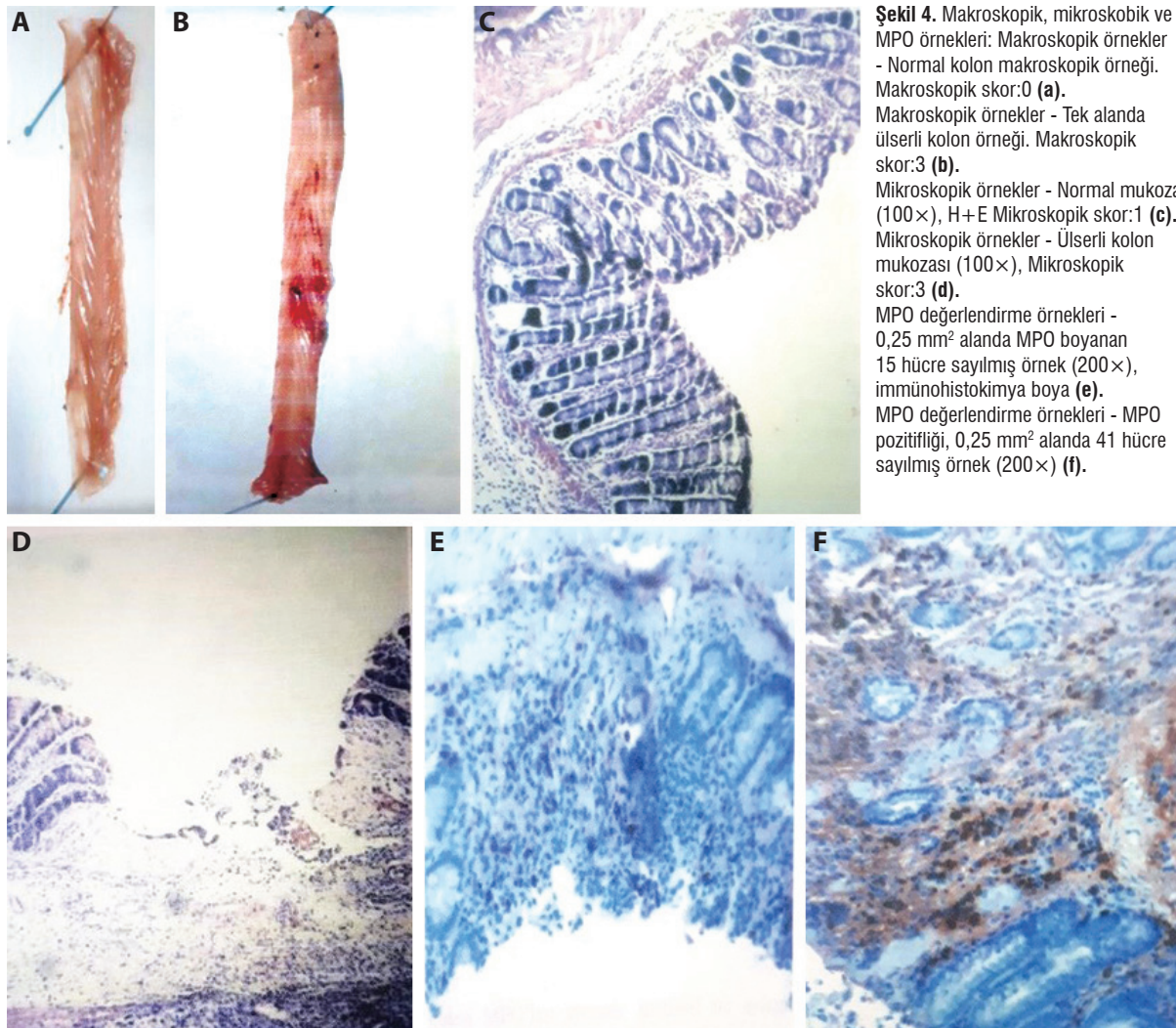
- Grup 1 ile Grup 2'nin kolon makroskopileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Grup 2, Grup 1'e göre daha iyi makroskopik değerlere sahiptir ($p<0,05$)
- Grup 1 ile Grup 3'ün kolon makroskopileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Grup 1, Grup 3'e göre daha iyi makroskopik değerlere sahiptir ($p<0,05$)
- Grup 2 ile Grup 3'ün kolon makroskopileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Grup 2, Grup 3'e göre daha iyi makroskopik değerlere sahiptir ($p<0,05$).
- Grup 1 ile Grup 2'nin kolon MPO'ları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p=0,139$). Ancak Grup 2'nin MPO ortalaması Grup 1'e göre daha iyidir.
- Grup 1 ile Grup 3'ün kolon MPO'ları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,01$). Grup 1 MPO değerleri Grup 3'e göre daha iyidir.

- Grup 2 ile Grup 3'ün kolon MPO'ları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,01$). Grup 2'nin MPO değerleri Grup 3'e göre daha iyidir.
- Gruplar arasında kolon mikroskopileri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p=0,316$).

Tüm gruplara ait mikroskopi, makroskopi ve MPO örnekleri Şekil 4'te sunulmuştur.

Tartışma

Günümüzde deneysel kolit oluşturmak amacıyla birçok yöntem geliştirilmiş olup TNBS/Ethanol, asetik asit, peroksinitrit, mitomisin C, indometazin, dinitrobenzen bunlardan birkaçıdır (7,9). Bu çalışmada deneysel kolit oluşturmak amacıyla ÜK'e benzer histopatolojik değişiklikler yaptığı bilinen, rektal lavman şeklinde uygulanan TNBS/Ethanol karışımı kullanılmıştır (17,18).



Şekil 4. Makroskopik, mikroskobik ve MPO örnekleri: Makroskopik örnekler - Normal kolon makroskopik örneği. Makroskopik skor:0 (a). Makroskopik örnekler - Tek alanda ülserli kolon örneği. Makroskopik skor:3 (b). Mikroskopik örnekler - Normal mukozaya (100x), H+E Mikroskopik skor:1 (c). Mikroskopik örnekler - Ülserli kolon mukozası (100x), Mikroskopik skor:3 (d). MPO değerlendirme örnekleri - 0,25 mm² alanda MPO boyanan 15 hücre sayılmış örnek (200x), immünohistokimya boya (e). MPO değerlendirme örnekleri - MPO pozitifliği, 0,25 mm² alanda 41 hücre sayılmış örnek (200x) (f).

Charles, Balfour, Garry ve Robert, 1995 (19) tarafından yapılan bir çalışmada TNBS/Ethanol karışımının ratlara lavman şeklinde verilmesi ile kolit oluşturulmuş, maksimal inflamasyon düzeyi 2-3 günde oluşmuş ve yaklaşık sekiz hafta süre ile kolit devam etmiştir. Yapılan incelemelerde oluşan inflamasyonun transmural olduğu gözlenmiş ve PG- E2, LTB4, IL-1, IL-6, IL-3/GM-CSF düzeylerinde artma tespit edilmiştir. Bu da deneysel kolit ile ÜK arasındaki benzerliği gösterir (20,21).

Bu çalışmada etkisi araştırılan KZYA, intestinal lümendeki anaerob bakterilerin sindirilmemiş karbonhidratları fermente etmeleri sonucu meydana gelirler. Bu maddeler kolonik sıvı içeriğinin ve dışkıının önemli bileşenleridir (14,22,23). KZYA, özellikle distal kolonda tercih edilen bir enerji kaynağıdır (24).

KZYA'nın kolonik mukoza üzerinde olumsuz sonuç verdiğini bildiren bazı çalışmalar olsa da yapılan deneylerde genellikle olumlu etkileri gözlenmiştir (25-27). Etkileri kolon hücre proliferasyonunu arttırmak, mukus salınımını stimüle etmek, mukozayı bakteriyel invazyona karşı daha etkin korumak, bakteriyel translokasyonu azaltmaktır (28). Ek olarak özellikle butirat arterleri dilate edebilir, bu da intestinal mukozada kan akımında artışa neden olur ve mukozal oksijen alımını artırır. Butirat mukozadaki reepitelizasyonun hızlanmasına neden olur ve mukozal transglutaminaz düzeyini artırır (10,28).

KZYA'nın luminal miktarında eksiklik oluşması tıpkı ÜK'tekine benzer bir tablo oluşturmaktadır. Bu hasar daha sonra kolonik bakteriyel anaerobik floranın üremesine neden olarak klinik ve deneysel kolite neden olabilmektedir (5). ÜK olgularında mukozal enerji eksikliğinin yerine konması, epitel rejenerasyonu ve dolayısıyla onarımını kolaylaştırabilir. Bu düşünce ile özellikle diversiyon kolitlerinde topikal KZYA kullanımı ile ilgili olumlu sonuçlar bildirilmiştir (7,10,28). Bununla beraber nutrisyonel solusyonların deneysel kolitteki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Öncü çalışmalar kolitli ratlarda transglutaminaz ve myeloperoksidaz (MPO) ölçümü ile inflamatuvar yanıtta iyileşmeye neden olduğunu göstermiştir (5,6). Distal ÜK olan bazı hastalarda yapılan çalışmalarda topikal KZYA uygulamasının kolite ait semptom ve bulguları iyileştirdiği gözlenmiştir (5).

Bu araştırmanın sonuçları yukarıdaki bulguları destekler aadedir. TNBS/Ethanol karışımı ile oluşturulan kolitte, kolit oluşturulduktan üç gün sonra KZYA başlanan 1. grupta, serum fizyolojik verilen 3. gruba göre MPO aktivitesi istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. Deneyin ilk gününden beri intrakolonik olarak KZYA verilen 2. grupta ise MPO aktivitesi en düşük düzeyde bulunmuştur. Bu sonuç, istatistiksel olarak da anlamlıdır. Böylece, tedavi süresinin MPO aktivitesi ve dolayısı ile doku iyileşmesini etkileyen bir faktör olduğu düşünülebilir.

Kolon makroskopik değerlendirmesine göre en iyi olan grubun baştan beri KZYA uygulanan 2. grup olduğu, bunu 3. günden itibaren KZYA uygulanan 1. grubun takip ettiği ve serum fizyolojik uygulanan 3. grubun son sırada yer aldığı görülmüştür. Gruplar arasında karşılaştırma yapıldığında her üç grubun birbirinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu sonuçlar Butzner, Parmar, Bell & Dalal'ın (1996) (29) yaptıkları çalışmanın sonuçlarıyla benzerdir.

Kolon mikroskopileri gruplar arasında karşılaştırıldığında en iyi olan grubun yine kolon makroskopilerinde olduğu gibi 2. grup, ardından 1. grup ve daha sonra da 3. grup olduğu görülmüştür. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p > 0,05$). Denek sayısı artırıldığında istatistiksel değerlendirmenin daha sağlıklı yapılabileceği düşünülmektedir.

Bu araştırmanın sonucuna göre makroskopik ve MPO aktivite değerlendirmesi bağlamında deneyin ilk gününden itibaren KZYA uygulanan 2. grupta diğer gruplara göre iyileşmede anlamlı bir fark bulunmuştur. Serum fizyolojik verilen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kolonik epitel onarımının arttığı görülmüştür. KZYA hasar görmüş kolon mukozasının iyileşmesinde etkili bir ajan dır sonucuna varılabilir. Bu yönü ile KZYA, ÜK tedavisinde anti-inflamatuvar tedaviyi destekleyici ve epitel onarımını arttırıcı bir alternatif olması konusunda umut vericidir. Konuyla ilgili daha kapsamlı araştırmalar yapılması faydalı olacaktır.

Kaynaklar

- Selamawit T, Georgia C, Dhima, E, Houston CG, Augenlicht L, & Velcich A. MUC2 mucin deficiency alters inflammatory and metabolic pathways in the mouse intestinal mucosa. *Oncotarget* 2017;8:71456–70. [CrossRef]
- Ungaro R, Mehandru S, Allen P B, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *The Lancet* 2017;389:1756–70. [CrossRef]
- Rhodes J, Thomas G. Mucosal protective and repair agents in the treatment of colitis. In: Bayless TM, Hanauer SB, editors. *Advanced Therapy of Inflammatory Bowel Disease*. London: B.C. Decker Inc.; 2001. pp. 107–10.
- ands BE. Novel therapies for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999;28:323–51.
- Aguilar-Nascimento JE, França-da-Silva LR, de Oliveria AF, Gomes-da-Silva MH. Enhanced mucosal reepithelialization induced by short chain fatty acids in experimental colitis. *Braz J Med* 1999;32:961–6. [CrossRef]
- Andres PG, Friedman LS. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999;28:255–81. [CrossRef]
- Mi H, Liu FB, Li HW, Hou JT, Li PW. Anti-inflammatory effect of Chang-An-Shuan on TNBS-induced experimental colitis in rats. *BMC* 2017;17:315–22. [CrossRef]
- Maltz RM, Keirse J, Kim SC, Mackos AR, Gharaibeh RZ, Moore CC, Xu J, et al. Prolonged restraint stressor exposure in outbred CD-1 mice impacts microbiota, colonic inflammation, and short chain fatty acids. *PLoS One* 2018;13:e0196961. [CrossRef]
- Roediger WE, Nance S. Selective reduction of fatty acid oxidation in colonocytes correlation with ulcerative colitis. *Lipids* 1990;25:646–52. [CrossRef]
- Harig JM, Soergel KH, Komorowski RA, Wood CM. Treatment of diversion colitis with short chain fatty acid irrigation. *New Engl J Med* 1989;320:23–8. [CrossRef]
- von Herbay A, Gebbers JO, Otto HF. Immunopathology of ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology* 1990;37:99–107.
- Warren BF, Shepherd NA, Bartolo DC, Bradfield JW. Pathology of defunctioned rectum in ulcerative colitis. *Gut* 1993;34:514–6. [CrossRef]
- Gibson PR, Barkla DH. Mucosal metabolism and proliferation. In: *Inflammatory Bowel Disease UK*: Churchill Livingstone; 1997. pp.201–11.
- Polyviou T, MacDougall K, Chambers ES, Viardot A, Psichas A, Jawaid S, et al. Randomised clinical study: inulin short-chain fatty acid esters for targeted delivery of short-chain fatty acids to the human colon. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;44:662–72. [CrossRef]
- Senyelli B. İntraperitoneal mitomisin C ile geliştirilen deneysel kolitte antioksidanların etkisi (Uzmanlık tezi). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 1999.
- Papadakis KA, Targan SR. Current theories on the causes of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999;28:283–95. [CrossRef]
- Rachmilewitz D, Stampler JS, Karmeli F, Mullins ME, Singel DJ, Loscalzo J, et al. Peroxynitrite induced rat colitis, a new model of colonic inflammation. *Gastroenterology* 1993;105:1681–8. [CrossRef]
- Geraghty JM, Talbot IC. Diversion colitis histological features in the colon and rectum after defunctioning colostomy. *Gut* 1991;32:1020–3. [CrossRef]
- Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;109:1344–67. [CrossRef]
- Guimbaud R, Bertrand V, Chauvelot-Moachon L, Quartier G, Vidon N, Giroud JP, et al. Network of inflammatory cytokines and correlation with disease activity in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1998;93:2397–404. [CrossRef]
- Mayer L. Current concepts of inflammatory bowel disease etiology and pathogenesis. In: Kirsner JB, editor. *Inflammatory Bowel Disease*, 5th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co.; 2000. pp.280–96.
- Wolfgang S, German-Austrian Sca Study Group. Treatment of distal ulcerative colitis with short chain fatty acid enemas. *Dig Dis and Sci* 1996;41:2254–9. [CrossRef]
- Primec M, Mičetić-Turk D, Langerholc T. Analysis of short-chain fatty acids in human feces: A scoping review. *Anal Biochem* 2017;526:9–21. [CrossRef]
- Stumpff F. A look at the smelly side of physiology: transport of short chain fatty acids. *Pflügers Archiv - Eur J Physiol* 2018;470:571–98. [CrossRef]
- Çağlar A, Tomar O, Ekiz, T. Bütirik asit: yapısı, özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. *Kocatepe Vet J* 2017;10:213–25. [CrossRef]
- Köseler E. Ülseratif kolitte nutrisyon. *Güncel Gastroenteroloji* 2016;20:263–6. <http://guncel.tgv.org.tr/journal/67/pdf/100478.pdf>
- Corrêa-Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MA. Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin Transl Immunology* 2016;5:e73. [CrossRef]
- Miner PB. Clinical features, course, laboratory findings and complications in ulcerative colitis. In: Kirsner JB, editor. *Inflammatory Bowel Disease*, 5th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co.; 2000. pp.299–304.
- Butzner JD, Parmar R, Bell CJ, Dalal V. Butyrate enema therapy stimulates mucosal repair in experimental colitis in the rat. *Gut* 1996;38:568–73. [CrossRef]