



Mehmet GÜVENÇ^{1, a}
Tuncer KUTLU^{2, b}

¹ Hatay Mustafa Kemal
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Hatay, TÜRKİYE

² Hatay Mustafa Kemal
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı,
Hatay, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-9716-0697

^b ORCID: 0000-0002-8771-1256

Sıçanlarda Asetik Asit ile Oluşturulmuş Deneysel Ülseratif Kolitis Modelinde Zingeron'un Etkilerinin Araştırılması

Bu çalışmada asetik asit ile oluşturulmuş deneysel ülseratif kolitis modelinde zingeron'un etkileri araştırıldı.

Bu amaçla her grupta 7 sıçan olacak şekilde 4 grupta çalışma yapıldı. Gruplar; kontrol (serum fizyolojik - intrarektal), kolitis (%3 asetik asit - intrarektal), sülfasalazin (50 mg/kg) + kolitis (%3 asetik asit - intrarektal) ve zingeron (20 mg/kg) + kolitis (%3 asetik asit - intrarektal) olacak şekilde oluşturuldu.

Elde edilen verilere göre, kolitis oluşturulan grupta kontrol grubuna göre malondialdehit (MDA) seviyeleri artış göstermiş (P<0.01), redukte glutatyon (GSH) seviyeleri (P<0.05), glutatyon peroksidaz (GSH.Px) (P<0.05) ve katalaz (CAT) (P<0.001) aktiviteleri ise azalma göstermiştir. Bununla birlikte zingeron + kolitis grubunda ise kolitis grubuna göre, MDA seviyeleri azalmış (P<0.01), GSH seviyeleri (P<0.05) ve GSH.Px aktiviteleri (P<0.05) ise artış göstermiştir. Sülfasalazin ile kolitis uygulanan grupta ise sadece kolitis oluşturulan gruba göre MDA seviyeleri azalmış (P<0.01), GSH seviyeleri (P<0.05) ve GSH.Px (P<0.05) ve CAT (P<0.01) aktiviteleri ise artış göstermiştir.

Histopatolojik analizlerde kolitis oluşturulan sıçanların kolonlarında yoğun epitel ve kript kaybı ile birlikte mukozadan serozaya uzanan nekroz ve diffuz yangısal hücre infiltrasyonu görüldü. Koruyucu amaçla kolitis ile birlikte zingeron ve sülfasalazin verilen gruplarda kolitis grubuna oranla daha hafif derecede mukoza ve submukozda sınırlı nekroz ve yangısal hücre infiltrasyonu dikkat çekti. Kontrol grubu dışındaki gruplarda farklı derecelerde eozinofil lökosit infiltrasyonu (eozinofilik kolitis) gözlemlendi.

Sonuç olarak zingeron'un asetik asit ile oluşturulan deneysel ülseratif kolitis modelinde koruyucu etkilerinin olabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Asetik asit, zingeron, kolitis, eozinofilik kolitis

Investigation of the Effects of Zingeron on Acetic Acid – Induced Experimental Ulcerative Colitis Model in Rats

In this study, the effects of zingeron on acetic acid induced ulcerative colitis model were investigated.

For this purpose, 4 groups were studied with 7 rats in each group. Groups were; control (serum physiological - intrarectal), colitis (3% acetic acid - intrarectal), sulfasalazine (50 mg/kg) + colitis (3% acetic acid - intrarectal) and group-4; zingerone (20 mg/kg) + colitis (3% acetic acid - intrarectal).

According to the results, malondialdehyde (MDA) levels increased (P<0.01), but reduced glutathione (GSH) levels (P<0.05), glutathione peroxidase (GSH.Px) (P<0.05) and catalase (CAT) (P<0.05) activities decreased in colitis group compared to control group. However, MDA levels decreased (P<0.01), GSH levels (P<0.05) and GSH.Px activities (P<0.05) increased in the zingerone + colitis group when compared with colitis alone group. In sulfasalazine+colitis treated group; MDA levels were decreased (P<0.01), GSH levels (P<0.05) and GSH.Px (P<0.05) and CAT (P<0.01) activities increased when compared with colitis alone group.

Histopathological analysis showed intense epithelial and crypt loss in the colon of colitis rats with necrosis extending from mucosa to serosa and diffuse inflammatory cell infiltration. In protective groups for colitis with zingeron and sulfasalazine, necrosis and inflammatory cell infiltration were limited in the mucosa and submucosa to a lesser degree than in the colitis group. Eosinophil leukocyte infiltration (eosinophilic colitis) at different degrees were observed in all groups with the exception of control group.

As a result, it was observed that zingeron may have protective effects in acetic acid induced ulcerative colitis model.

Key Words: Acetic acid, zingerone, colitis, eosinophilic colitis

Giriş

Enflamatuar barsak hastalığı (EBD) esas olarak crohn ve ülseratif kolitis (UK) hastalıklarını içerisine alır. Gastrointestinal sistem içinde kronik veya tekrarlayan immün aktivasyon ve inflamasyon ile karakterize edilen bu hastalıkların etiolojisi tam olarak açıklanamamasına rağmen etiyojilerinde düzensiz bağışıklık yanıtları, genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir (1). Crohn hastalığından farklı olarak, UK'de görülen inflamasyon, kolon ve rektumda sınırlı olup, esas olarak bağırsak duvarının mukozal katmanını etkiler. Bozulmuş immün yanıt, mukozal bariyer fonksiyon

Geliş Tarihi : 25.10.2019

Kabul Tarihi : 30.11.2019

Yazışma Adresi Correspondence

Mehmet GÜVENÇ
Hatay Mustafa Kemal
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Hatay – TÜRKİYE

mguvenc@mku.edu.tr

bozukluğu, mikrobiyolojik floradaki bozukluklar ve genetik duyarlılık gibi birçok faktörün, UK'nin etiyojisine katkıda bulunduğu düşünölmektedir (2). Kolonik mukozada ağır hasar ve kronik ve tekrarlayan inflamasyonun varlığı ile karakterize olan UK hastalığı karın krampları, ateş, kolay yorulma, ishal, ağrı, kusma, kilo kaybı, kanlı dışkı ve diğer bazı semptomlara neden olabilir (3, 4). Farklı çalışmalar (5, 6), bu inflamatuvar sürecin başlangıçta epitel bariyerinin lümen antijenlerine geçirgenliğinin artmasıyla tetiklendiğini ve böylece immün mukozal sistemin yanlış aktivasyonuna yol açtığını göstermiştir. Bunun sonucunda, reaktif oksijen türleri, eikosanoidler, sitokinler ve kemokinler de dahil olmak üzere birkaç proinflamatuvar aracının birlikte üretilmesiyle birlikte, nötrofillerin ve makrofajların artan infiltrasyonuna ve aktivasyonuna neden olur. EBD tedavisi tıbbi ya da cerrahi yaklaşımları içerir. Günümüzde kortikosteroidler, tiyopurinler, 5-aminosalisilatlar ve immünosupresanlar dahil EBD için kullanılan mevcut ajanlar tamamen etkili olmaktan uzak olup ayrıca uzun süreli kullanımlarda sayısız yan etki gösterir. EBD için kalıcı bir tedavi hala mümkün olmadığından, çoğu hasta hastalığı remisyonunda tutmak amacıyla sürekli ilaç sağaltımına veya operatif girişimlere ihtiyaç duyar. Bununla birlikte, bu ilaçlara cevap değişkindir ve zamanla azalabilir (7). Remisyon ve hastalıkların kontrolüne rağmen hastalık tekrar nüksedebilir ve komplikasyonlar daha da ilerleyici bir hal alabilir (8). Bu durum araştırmacıları oksidatif stres ve inflamatuvar sitokinlerin hedefte olduğu yeni tedavi seçeneklerine yönlendirmiştir. Mevcut terapötik stratejiler uzun süreli kullanım için riskli veya etkisiz olduğu için, EBD'nin önlenmesi için yeni tedaviler bu hastalığın yükünü azaltmak için bir öncelik olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, EBD'nin zayıflatıcı klinik koşullarının üstesinden gelmek için yeni tedavi yöntemlerini düşünmek zorunludur. Yeni terapötik ajanların araştırılmasında, şifalı bitkiler son birkaç yılda yoğun bir şekilde incelenmiştir ve birçok rapor, ilaç moleküllerinin büyük çoğunluğunun doğal ürünler veya bitkilerden elde edilen fitokimyasallar olduğunu göstermiştir. Ayrıca, eski zamanlardan beri, botanik ve etno-botanik araştırmalar, bitkilerin terapötik etkileri belirleyen bir veya birkaç bileşen içerdiği varsayımına dayanarak, bitkilerde tek bir aktif madde arayışına odaklanılmışlardır. Bitkisel kaynaklarla yapılan birkaç çalışmada EBD tedavisinde umut verici sonuçlar alınmıştır (9, 10).

Dünya Sağlık Örgütüne göre gelişmekte olan ölkelerde yaşayan bireylerin büyük kısmı sağlık ihtiyaçlarını geleneksel ilaçlardan karşılamaktadır. Baharatlarda bulunan çeşitli fenolik bileşiklerin birçoğu antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-karsinogenik ve anti-mutajenik aktivitelere sahiptir (11). Zencefil, dünyanın birçok yerinde besinlerin lezzetini arttırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (12). Zencefil gingerols, shogaols, paradols ve zingerone gibi aktif maddeler içerir ve bu maddeler antioksidan (13, 14), antiinflamatuvar (15), antikanser (16), antiaterosklerotik (13) ve antiangiogenik özelliklere sahiptir. Zingeron, 4-4-hidroksi-3-metoksifenil-2-butanon; kuru zencefil kökünün ana bileşenlerinden biri olup (17) zencefilin kurutulması

veya pişirilmesi durumunda form değiştirerek meydana gelir.

Bu çalışmada, zingeron'un sıçanlarda asit asetiğin intrarektal uygulanması ile indüklenen deneysel ülseratif kolitis modelindeki muhtemel koruyucu etkilerini değerlendirmek ve etkinliğini insanda kullanılan bir aminosalisilat olan sülfasalazin ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 2019/07-4 sayılı kararı ile izin alınarak yapılmıştır. Çalışmada Wistar Albino ırkı, 180-250 g ağırlığında erkek sıçanlar kullanıldı. Deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık-12 saat karanlık ve 25±1 °C) uygun olarak yürütüldü. Deneysel uygulamalar süresince sıçanlara standart ticari yem (pelet yem) ve musluk suyu ad-libitum olarak sağlandı. Çalışmada kullanılan zingeron, asetik asit ve diğer kimyasallar Sigma Aldrich'ten temin edilmiş olup, sülfasalazin için ise (Pfizer-Salazopyrin) ticari preparat kullanılmıştır.

Asetik asit'in kullanımı ile ilgili olarak hayvanın türü, dozu ve uygulama süresine göre farklı protokoller bulunmakla birlikte bu çalışmada ülseratif kolitis modeli Soliman ve ark. (18)'nin çalışmasına uygun olarak oluşturuldu. Kolon içine serum fizyolojik ve asetik asit uygulaması yapılan gruplardaki sıçanların uygulamadan 24 saat önce yeme ulaşımları ve 2 saat önce ise suya ulaşımları engellenmiştir. Çalışma toplam 12 gün sürdürölmüş olup, sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

Kontrol: Bu gruptaki sıçanlara hafif anestezi altında (ketamin + ksilazin) bir defa olmak üzere 2 mL serum fizyolojik dış çapı 2 mm olan elastik silikon bir kateter yardımı ile anüsten 8 cm girilerek kolon içine enjekte edildi. Sıçanlar serum fizyolojinin çıkmasını önlemek için 2 dakika süre boyunca transversal olarak tutuldu. Kolon içine serum fizyolojik uygulamasından 5 gün önce ve uygulama gününden sonraki 7 gün olmak üzere toplam 12 gün boyunca günde bir defa 1 mL serum fizyolojik oral gavaj yöntemiyle uygulandı.

Kolitis: Bu gruptaki sıçanlara hafif anestezi altında (ketamin + ksilazin) bir defa olmak üzere serum fizyolojik içerisinde 2 mL %3'lük asetik asit, dış çapı 2 mm olan elastik silikon bir kateter yardımı ile anüsten 8 cm girilerek kolon içine enjekte edildi. Sıçanlar asetik asidin çıkmasını önlemek için 2 dakika süre boyunca transversal olarak tutuldu. Kolon içine AA uygulamasından 5 gün önce ve uygulama gününden sonraki 7 gün olmak üzere toplam 12 gün boyunca günde bir defa 1 mL serum fizyolojik oral gavaj yöntemiyle uygulandı. En son uygulamadan 24 saat sonra bu gruptaki sıçanlar anestezi (ketamin + ksilazin) altında sakrifiye edildi.

Zingeron + Kolitis: Bu gruptaki sıçanlara hafif anestezi altında (ketamin + ksilazin) bir defa olmak üzere serum fizyolojik içerisinde 2 mL %3'lük asetik asit,

dış çapı 2 mm olan elastik silikon bir kateter yardımı ile anüsten 8 cm girilerek kolon içine enjekte edildi. Sıçanlar asetik asidin çıkmasını önlemek için 2 dakika boyunca transversal olarak tutuldu. Kolon içine asetik asit uygulamasından 5 gün önce ve uygulama gününden sonraki 7 gün olmak üzere toplam 12 gün boyunca, günde bir defa ve 1 mL serum fizyolojik içerisinde 50 mg/Kg dozda zingeron oral gavaj yöntemiyle verildi. En son uygulamadan 24 saat sonra bu gruptaki sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi.

Sülfasalazin + Kolitis: Bu gruptaki sıçanlara hafif anestezi altında (ketamin + ksilazin) bir defa olmak üzere serum fizyolojik içerisinde 2 mL %3'lük asetik asit, dış çapı 2 mm olan elastik silikon bir kateter yardımı ile anüsten 8 cm girilerek kolon içine enjekte edildi. Sıçanlar asetik asidin çıkmasını önlemek için 2 dakika boyunca transversal olarak tutuldu. Kolon içine asetik asit uygulamasından 5 gün önce ve uygulama gününden sonraki 7 gün olmak üzere toplam 12 gün boyunca, günde bir defa ve 1 mL serum fizyolojik içerisinde 100 mg/Kg dozda Sülfasalazin oral gavaj yöntemiyle verildi. En son uygulamadan 24 saat sonra bu gruptaki sıçanlar anestezi altında sakrifiye edildi.

Son uygulamalardan 24 saat sonra sıçanlar ksilazin (10 mg/kg) – Ketamin (60 mg/kg) anestezisi altında dekapite edilerek doku örnekleri alındı. Doku olarak distal kolondan 10 cm alınacak ve fizyolojik serum ile yıkanacaktır. Doku örneklerinin yarısı %10'luk formolün içerisinde tespit edildi ve diğer yarısı ise biyokimyasal analizler için -80 °C'de saklandı. Formol içinde saklanan doku parçalarında histopatolojik analizler yapıldı. -80 °C'den çıkarılan dokularda oksidatif hasar ve antioksidan aktivite durumunu ortaya koyabilmek için spektrofotometrik olarak malondialdehit (MDA) (19) ve redukte glutatyon (GSH) (20) düzeyleri ile katalaz (CAT) (21) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (22) enzim aktiviteleri değerlendirildi. Kolon dokularından alınan örnekler 1/10 oranında %1.15'lik KCl ile homojenize edilerek, homojenatin yarısında MDA analizi yapıldı ve diğer yarısı 5000 rpm'de 1 saat (+4°C'de) santrifüj edilip süpernatantları ayrıldı ve GSH düzeyi ve GSH-Px ve CAT enzim aktivite analizleri yapıldı. Homojenatta ve süpernatantta protein analizleri Lowry ve ark. (23) yöntemiyle belirlenerek sonuçlar proteine uyarlandı.

Histopatolojik doku takibi için; her gruptaki hayvanlardan alınan kolon %10'luk tamponlu formalinde tespit edildi. Rutin yöntemlere göre dereceli alkol, ksilol serilerinden geçirildikten sonra parafine gömülerek 5 µm kalınlığında alınan kesitler ksilollerde deparafinize edildi. Bunu takiben dokular 100, 96, 80 ve 70'lik alkol serilerinden de geçirilerek hematoksilin eozin (H&E) ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskop (Olympus CX21, Japonya) altında incelenerek elde edilen sonuçların mikrofotografı (Olympus DP12, Japonya) alındı. Oluşan mikroskopik değişiklikler daha önce yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak, aşağıda belirtildiği gibi derecelendirildi (24, 25).

Nekroz derinliği: Yok= 0, tunika mukoza= 1, tunika mukoza ve submukoza= 2, tunika mukoza, submukoza ve muskularis= 3, tüm katmanlar= 4

Nekroz yaygınlığı: Yok= 0, küçük bir alan= 1, orta büyüklükte bir alan= 2, geniş bir alan= 3, çok geniş bir alan= 4

İnflamasyon dağılımı: Yok= 0, tunika mukoza= 1, tunika mukoza ve submukoza= 2, tunika mukoza, submukoza ve muskularis= 3, tüm katmanlar= 4

Yangısal infiltrasyon yaygınlığı: Yok= 0, hafif= 1, orta= 2, şiddetli= 3, çok şiddetli= 4.

Çalışma sonunda elde edilen verilerde gruplara ait değerlerin normal dağılım gösterip göstermediklerini belirlemek için Shapiro-Wilk normallik analizi yapıldı ve testin sonucunda tüm parametrelerdeki değerlerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi. Grup ortalamalarını karşılaştırmak amacıyla Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve gruplar arası farklılıkları belirlemek amacıyla da Tukey testi yapıldı. İstatistiksel değerlendirme IBM SPSS Statistics 23 paket programı kullanılarak yapıldı ve P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Biyokimyasal Parametreler

Çalışma sonunda oksidatif stres ve antioksidan etkinlik tayini için kullanılan parametrelere ait veriler Tablo-1'de gösterilmiştir.

Tablo-1'deki veriler incelendiği zaman; kolitis oluşturulan grupta MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdiği (P<0.01), bununla birlikte kolitis ile birlikte sülfasalazin ve zingeron uygulanan gruplarda ise MDA seviyelerinin kolitis oluşturulan gruba göre anlamlı bir azalma gösterdiği tespit edilmiştir (P<0.01). Antioksidan etkinlik için kullanılan GSH seviyesi (P<0.05) ile GSH.Px (P<0.05) ve CAT (P<0.01) aktiviteleri ise kolitis oluşturulan grupta anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Buna karşın sülfasalazin ile tedavi edilen grupta GSH (P<0.05) seviyesi, GSH.Px (P<0.05) ve CAT (P<0.01) aktiviteleri, zingeron ile tedavi edilen grupta ise GSH (P<0.05) seviyeleri ve GSH.Px (P<0.01) aktiviteleri sadece asetik asit uygulanan gruba göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir.

Histopatolojik Analizler

Makroskopik bulgular: Yapılan muayenede kolitis oluşturulan hayvanlarda anal bölgenin yumuşak sarımsı renkte dışkı ile kirlenmiş olduğu; diğer gruplarda anal bölgenin temiz olduğu gözlemlendi (Şekil 1a, 1b). Makroskopik olarak kolitis oluşturulan hayvanlarda yaygın bir şekilde mukoza bütünlüğünün bozulduğu ve nekrotik alanlar olduğu dikkat çekerken diğer üç grupta dikkate değer bir lezyona rastlanmadı (Şekil 1c, d).

Mikroskopik bulgular: Mikroskopik incelemelerde; kontrol grubunda herhangi bir lezyon gözlenmedi (Şekil 2a). Kolitis oluşturulan hayvanların kolonlarında yoğun epitel ve kript kaybı ile birlikte mukozadan serozaya uzanan nekroz ve çoğunluğu mononükleer hücrelerden oluşan yaygın yangısal hücre infiltrasyonu görüldü (Şekil 2b, 2c). Kolitis ile birlikte zingeron ve sülfasalazin uygulanan hayvanların bir kısmında mukoza ve

submukozada sınırlı nekroz ve çoğunluğu mononükleer hücrelerden -özellikle lenfositler- oluşan yangısal yangısal hücre infiltrasyonu dikkat çekti (Şekil 2e, 2f). Gruplarda gözlenen nekroz ve inflamasyona ilişkin bulguların skor grafiği Şekil 3'te verilmiştir. Ayrıca

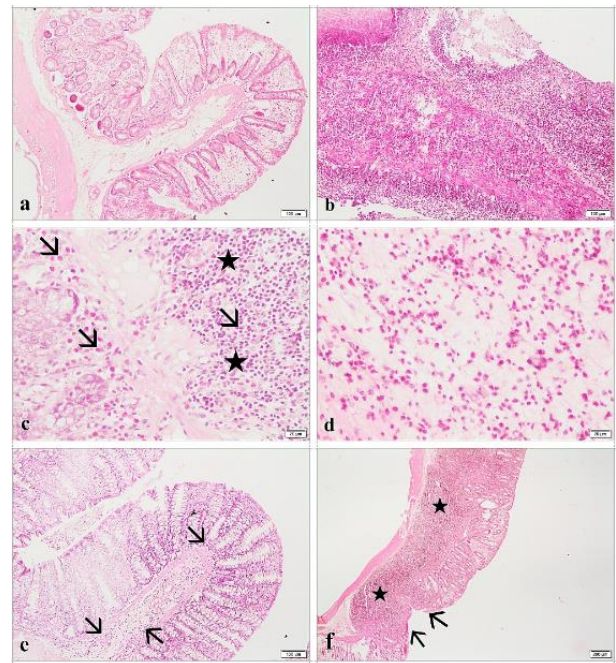
mukoza ve submukozada özellikle kolitis oluşturulan grupta çok sayıda, kolitis ile birlikte zingeron ve sülfasalazin uygulanan gruplarda ise az sayıda eozinofil lökosit infiltrasyonu (eozinofilik kolitis) ve ödem dikkat çekti (Şekil 2d).

Tablo 1. Kolon dokusu, malondialdehit (MDA), redukte glutatyon (GSH) seviyeleri ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleri (Veriler Ort \pm SH şeklinde verilmiştir)

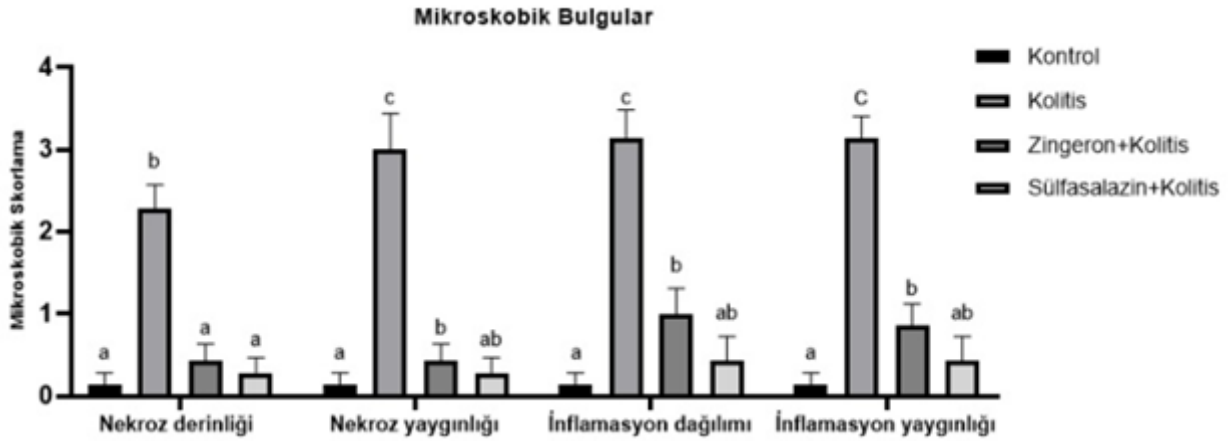
Gruplar/Parametreler	MDA (nmol/g prot)	GSH (nmol/g prot)	GSH.Px (IU/g prot)	CAT (IU/g prot)
Kontrol	4.084 \pm 0.20 ^a	7.067 \pm 0.58 ^a	185.173 \pm 3.18 ^a	49.404 \pm 3.13 ^a
Kolitis	6.058 \pm 0.20 ^c	3.862 \pm 0.39 ^b	156.792 \pm 4.30 ^c	32.418 \pm 2.37 ^b
Sülfasalazin+Kolitis	4.504 \pm 0.19 ^{ab}	5.691 \pm 0.32 ^a	180.944 \pm 3.45 ^{ab}	53.933 \pm 3.48 ^a
Zingeron+Kolitis	5.075 \pm 0.15 ^b	5.751 \pm 0.37 ^a	170.951 \pm 2.52 ^b	43.047 \pm 2.11 ^{ab}
Önemlilik	P<0.01	P<0.05	P<0.05	P<0.001



Şekil 1. Asetik asit ile oluşturulmuş deneysel ülseratif kolitis modelinde Zingeron'un anal bölge ve kolon mukozası üzerine etkileri **a:** Zingeron+Kolitis grubu nekropsisi öncesi anal bölge görünümü. **b:** Kolitis oluşturulmuş grupta nekropsisi öncesi anal bölge görünümü. **c:** Zingeron+Kolitis grubu kolon mukoza görünümü. **d:** Kolitis oluşturulmuş grupta kolon mukozasında nekrotik alanlar (Oklar)



Şekil 2. Kolonda histopatolojik değişiklikler. **a:** Kontrol grubu kolon normal histolojik görünümü, H&E. **b:** Kolitis oluşturulmuş grupta tüm katmanları etkileyen yangısal hücre infiltrasyonu ve nekroz, H&E. **c:** Kolitis oluşturulmuş grupta mukoza ve submukozada diffuz mononükleer hücre infiltrasyonu (Yıldızlar) ve eozinofil lökositler (Oklar), H&E. **d:** Kolitis oluşturulmuş grupta submukozada eozinofil lökositler ve ödem, H&E. **e:** Kolitis+Zingeron grubunda mukoza ve submukozada hafif mononükleer hücre infiltrasyonu (Oklar), H&E. **f:** Kolitis+Sülfasalazin grubunda mukoza ve submukozada mononükleer hücre infiltrasyonu (Yıldızlar) ve ülser (Oklar), H&E



Şekil 3. Tüm gruplara ait mikroskopik hasar derecesine ait grafik. Sütunlardaki farklı harflendirme (a, b, c) istatistiksel olarak anlamlı farklılık ifade etmektedir ($P < 0.01$)

Tartışma

Son yıllarda EBD tedavisinde kaydedilen gelişmelere rağmen, bağırsak hastalıklarını tedavi etmek ve yaşam kalitesini yükseltmek için yeni terapötik stratejilere hala artan bir talep vardır. Hali hazırda farmakolojik tedavi sürecinde, sülfasalazin, kortikosteroidler, azatiyoprin veya metotreksat gibi immün-baskılayıcılar ve anti-TNF tedavisi gibi biyolojikler gibi 5-aminosalisilik asit türevleri gibi ilaçların kullanımını sürdürülmektedir (27, 28). Bununla birlikte ve ne yazık ki, bu ilaçların bazıları hasta üzerinde istenen başarıya ulaşamamakta veya özellikle uzun süre kullanıldığında istenmeyen etkilere neden olabilmektedir (29). Bu nedenle araştırmacılar tarafından alternatif ilaçların veya biyoaktif gıda bileşenlerinin kullanımı da dahil olmak üzere yeni stratejilerin geliştirilmesine olan ilgi artmış olup, tekrarlayan bağırsak hastalıklarını önlediğini ve olumsuz etki risklerini azalttığı bildirilmiştir (30). Bu çalışmada, sıçanlarda asetik aside bağlı deneysel ülseratif kolitise karşı zingeron'un koruyucu etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Asetik asit ile oluşturulan kolitis modeli hızlı, tekrarlanabilir ve insan UK'sinin birçok özelliğini andıran tek tip bir yaygın kolonik inflamasyonla sonuçlanmaktadır (31). Mevcut çalışmada da sıçanlarda karakteristik bir kolitis tablosunun gelişmesi nedeniyle bu yöntemin uygunluğu doğrulanmış oldu.

Klinik ve deneysel çalışmalar, reaktif hidroksil radikallerine dönüştürülmüş süperoksitler ve aktive edilmiş lökositler tarafından üretilen peroksitler gibi birçok reaktif ürünün, iltihaplı mukozadaki reaktif oksijen türlerinin kökenleri olduğunu ve sonunda oksidatif strese yol açtığını rapor eder (32, 33). Oksidatif stres, aşırı reaktif oksijen bileşikleri (ROB) üretimi nedeniyle pro-oksidan / antioksidan sistemler arasındaki dengenin kayması; EBD patogeneğinde önemli ciddi etkileri olan oksidatif hasar tespit edilmiştir (34). Ek olarak, in vivo deneysel UK modelleri, kolon dokusundaki GSH, GSH.Px ve CAT gibi antioksidan parametrelerin azalmasının yanı sıra, hedef doku ve hücrel

proteinlerde oksidatif stres reaksiyonları ve lipid peroksidasyonu oluşumunda artış meydana geldiğini bildirmiştir. Ayrıca, deneysel UK modellerinde, kolon dokusundaki lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA seviyelerinde artışlar bildirilmiştir (35-37). Bu çalışmada da, yukarıda verilen çalışma sonuçlarına benzer şekilde kolitis oluşturulan grupta, MDA düzeyleri artmış, CAT ve GSH.Px aktiviteleri ve GSH seviyeleri azalmıştır. Oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt, EBD gelişiminde önemli rol oynadığından (38, 39), çalışmalar EBD tedavisi için son yıllarda antioksidan etkileri olan doğal ürünler üzerinde daha fazla odaklanmıştır. Bu bağlamda, bazı bitkisel bileşiklerin, EBD'nin şiddetini hafifletmek için antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler sergilediği bildirilmiştir (40, 41). Çalışmamızda da benzer şekilde zingeron ile tedavi edilmiş sıçanlarda kolitis oluşturulmuş gruba göre oksidatif hasar azalmış ve antioksidan etkinlik artış göstermiştir. Bu etkiler sülfasalazin uygulanan grup ile de benzerlik göstermektedir.

Daha önceki çalışmalarda, antioksidan ilaçlarla tedavinin (42, 43) EBD'nin asetik asit indüksiyon modelinde makroskopik ve mikroskopik hasarı azalttığı gösterilmiştir. Kolitis oluşumunun makroskopik kriterleri arasında bulunan mukozal hiperemi, ödem, inflamasyon, erozyon ve ülserasyon, hastalığın prognozu ve şiddeti hakkında bilgi vermektedir (44). Duğani ve ark. (45) yapmış olduğu çalışmada Malva parviflora ekstraktının kolon dokusu üzerine koruyucu etkilerinin bulunduğunu ve makroskopik hasarı azalttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde mentol'ün kolitis oluşturulmuş sıçanlarda makroskopik ve mikroskopik olarak koruyucu etkilerinin olduğu ve lenfosit infiltrasyonunu azalttığı bildirilmiştir (46). Çalışmada da literatüre uyumlu olarak hem zingeron hem de sülfasalazin ile tedavinin kolitis grubunda görülen kolon mukozasındaki makroskopik hasarı azalttığı tespit edilmiştir.

Ülseratif kolitis farklı yaygınlık ve şiddette mukozal yangı ve ülserlerle karakterizedir. Asetik asit ile oluşturulan kolitislerde şiddetli ülserasyon ve nekroz yangısal hücre infiltrasyonuna bağlı olarak şekillenir.

Kolonda iltihaplı ülserasyon olan olgularda, nötrofil lenfosit ve makrofajların infiltrasyonu, sitokinler gibi yangısal mediatörleri tetikler ve bunlarla bağlantılı olarak kolonik epitelyal lezyonlar ve nekroz görülür (36, 46). Kolonda şekillenen bu hasar, mukozal bariyer fonksiyonunu bozar ve EBD gelişiminde etyopatolojik faktörlerden biri olan intestinal geçirgenliği artırarak iltihabı daha da şiddetlendirir(36).

Kolonda iltihaplı ülserasyon olan olgularda, nötrofillerin ve makrofajların infiltrasyonu ile bağlantılı olarak kolonik epitelyal lezyonlar ve nekroz görülür. Kolondaki bu histolojik hasar, mukozal bariyer fonksiyonunu bozar ve EBD gelişiminde etyopatolojik faktörlerden biri olan intestinal geçirgenliği artırarak iltihabı daha da şiddetlendirir(36). Mikroskopik olarak elde ettiğimiz bulgular makroskopik bulgularımızı teyit etmiş olup daha önce yapılan çalışmalarla da uyumludur (47-49). AA kaynaklı kolitis, geniş ülserasyon ve nekroza, transmural inflamatuvar infiltrasyona neden oldu. Sülfasalazin veya zingeron ile tedavi edilmiş kolitis gruplarında nekroz ve yangısal infiltrasyon yaygınlığı ile derinliğinde kısmi bir iyileşme göstermiştir. İltihaplı mukozanın yangısal hücre infiltrasyonu, EBD'nin (50) birincil histolojik özelliklerinden biri olarak bildirilmektedir. Zingeron'un bu etkisinin, anti-inflamatuvar özellik göstermesinden kaynaklı olarak, UK semptomlarının iyileşmesine yardımcı olabilecek histopatolojik

değişikliklerin azalmasına katkıda bulunduğu düşünülmüştür.

Bunlara ek olarak kontrol grubu dışındaki sıçanlarda gözlenen eozinofilik kolitis, helmint enfeksiyonları, otoimmün hastalıklar, İnflamatuvar barsak hastalığı, ilaç reaksiyonları gibi durumlarda sekonder olarak şekillenir (51). Bu çalışmada özellikle kolitis grubunda oluşan eozinofil infiltrasyonunun İnflamatuvar barsak hastalığına bağlı olarak sekonder şekillendiği düşünülmektedir. Ancak, Uzunismail ve ark. (25), İnflamatuvar barsak hastalığında, doku hasarı ve yangıda eozinofil lökositlerin rol alabileceğini; Eozinofillerin inflamatuvar barsak hastalığının patogenezinde yer alabileceklerini bildirmişlerdir. Kolitis oluşturulan diğer iki grupta ise zingeron ve sülfasalazin ile tedavi edilen sıçanlarda, kolitise ilişkin iyileşme ile birlikte eozinofil lökosit infiltrasyonunun da oldukça azaldığı dikkat çekti.

Sonuç olarak asetik asit uygulaması sonucu ülseratif kolitis oluşumu meydana gelmiş, bu durum histopatolojik ve oksidatif stres verilerinde de teyit edilmiştir. Buna karşın zingeron ile tedavi edilen sıçanlarda ise bu etken maddenin kolitis sonucu meydana gelen hasar tablosu üzerine iyileştirici etkilerinin olduğu, bu etkilerin sülfasalazin ile benzer olduğu görülmüştür. Bununla birlikte farklı çalışmalarda, süre ve doz değişkenliği uygulanarak zingeron'un etkilerinin daha iyi anlaşılması sağlanabilir.

Kaynaklar

1. Moura FA, de Andrade KQ, Dos Santos JCF, Araújo ORP, Goulart MOF. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: does it work? *Redox biology* 2015; 6: 617-639.
2. Yadav V, Varum F, Bravo R, et al. Inflammatory bowel disease: Exploring gut pathophysiology for novel therapeutic targets. *Translational Research* 2016; 176: 38-68.
3. Nowarski R, Jackson R, Gagliani N, et al. Epithelial IL-18 equilibrium controls barrier function in colitis. *Cell* 2015; 163: 1444-1456.
4. Abraham C, Cho JH, Mechanisms of disease. *N Engl J Med* 2009; 361: 2066-2078.
5. Dedon PC, Tannenbaum SR. Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2004; 423: 12-22.
6. Hyun JG, Mayer L. Mechanisms underlying inflammatory bowel disease. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms* 2006; 3: 457-462.
7. Sales-Campos H, Basso P, Alves V, et al. Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2015; 48: 96-107.
8. McLean LP, Cross RK. Adverse events in IBD: To stop or continue immune suppressant and biologic treatment. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology* 2014; 8: 223-240.
9. Gilardi D, Fiorino G, Genua M, Allocca M, Danese S, Complementary and alternative medicine in inflammatory bowel diseases: what is the future in the field of herbal medicine? *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology* 2014; 8: 835-846.
10. Esters P, Dignass A. Complementary therapies in inflammatory bowel diseases. *Current Drug Targets* 2014; 15: 1079-1088.
11. Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food and Chemical Toxicology* 2007; 45: 683-690.
12. Mani V, Arivalagan S, Siddique AI, Namasivayam N. Antioxidant and anti-inflammatory role of zingerone in ethanol-induced hepatotoxicity. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2016; 421: 169-181.
13. Mani V, Arivalagan S, Siddique AI, Namasivayam N. Antihyperlipidemic and antiapoptotic potential of zingerone on alcohol induced hepatotoxicity in experimental rats. *Chemico-Biological Interactions* 2017; 272: 197-206.
14. Ahmad B, Rehman MU, Amin I, et al. A review on pharmacological properties of zingerone (4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone). *The Scientific World Journal* 2015; 2015.
15. Caglayan C, Kandemir FM, Yıldırım S, et al. Zingerone ameliorates cisplatin-induced ovarian and uterine toxicity via suppression of sex hormone imbalances, oxidative stress, inflammation and apoptosis in female wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2018; 102: 517-530.
16. Coppola G, Novo S. Statins and peripheral arterial disease: Effects on claudication, disease progression, and prevention of cardiovascular events. *Archives of Medical Research* 2007; 38: 479-488.
17. Taslimi P, Caglayan C, Gulcin I. The impact of some natural phenolic compounds on carbonic anhydrase,

- acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and α -glycosidase enzymes: An antidiabetic, anticholinergic, and antiepileptic study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 2017; 31: e21995.
18. Soliman N, Keshk W, Rizk F, Ibrahim M. The possible ameliorative effect of simvastatin versus sulfasalazine on acetic acid induced ulcerative colitis in adult rats. *Chemico-Biological Interactions* 2019; 298: 57-65.
 19. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry* 1966; 16: 359-364.
 20. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry* 1968; 25: 192-205.
 21. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU. (Editor). *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim / NewYork: Verlag Chemie/Academic Press Inc, 1974: 673-680.
 22. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1976; 71: 952-958.
 23. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1951; 193: 265-275.
 24. Ackerman Z, Karmeli F, Cohen P, Rachmilewitz D. Experimental colitis in rats with portal hypertension and liver disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 2003; 9: 18-24.
 25. Uzunismail H, Hatemi I, Doğusoy G, Akin O. Dense eosinophilic infiltration of the mucosa preceding ulcerative colitis and mimicking eosinophilic colitis: Report of two cases. *The Turkish Journal of Gastroenterology: The official Journal of Turkish Society of Gastroenterology* 2006; 17: 53-57.
 26. Yang M, Yao Y, Eades G, Zhang Y, Zhou Q. MiR-28 regulates Nrf2 expression through a Keap1-independent mechanism. *Breast Cancer Research and Treatment* 2011; 129: 983-991.
 27. Bernstein CN. Treatment of IBD: Where we are and where we are going. *The American Journal of Gastroenterology* 2015; 110: 114.
 28. Bressler B, Marshall JK, Bernstein CN, et al. Clinical practice guidelines for the medical management of nonhospitalized ulcerative colitis: The Toronto consensus. *Gastroenterology* 2015; 148: 1035-1058.
 29. Siegel C. explaining risks of inflammatory bowel disease therapy to patients. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2011; 33: 23-32.
 30. Hur SJ, Kang SH, Jung HS, et al. Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease. *Nutrition Research* 2012; 32: 801-816.
 31. Low D, Nguyen DD, Mizoguchi E. Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *Drug Design, Development and Therapy* 2013; 7: 1341.
 32. Loguercio C, D'Argenio G, Delle Cave M, et al. Direct evidence of oxidative damage in acute and chronic phases of experimental colitis in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 1996; 41: 1204-1211.
 33. Zhu H, Li YR. Oxidative stress and redox signaling mechanisms of inflammatory bowel disease: Updated experimental and clinical evidence. *Experimental Biology and Medicine* 2012; 237: 474-480.
 34. Sepehrimanesh M, Samimi N, Koohi-Hosseinabadi O, et al. Effects of cupressus sempervirens extract on the healing of acetic acid-induced ulcerative colitis in rat. *Journal of Coloproctology* 2018; 38: 309-313.
 35. Amirshahrokhi K, Bohlooli S, Chinifroush M. The effect of methylsulfonylmethane on the experimental colitis in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2011; 253: 197-202.
 36. Al-Rejaie SS, Abuhashish HM, Al-Enazi MM, et al. Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *World Journal of Gastroenterology: WJG* 2013; 19: 5633.
 37. Tekeli İO, Ateşşahin A, Sakin F, et al. Protective effects of conventional and colon-targeted lycopene and linalool on ulcerative colitis induced by acetic acid in rats. *Inflammopharmacology* 2019; 27: 313-322.
 38. Almeer RS, Mahmoud SM, Amin HK, Moneim AEA. Ziziphus spina-christi fruit extract suppresses oxidative stress and p38 MAPK expression in ulcerative colitis in rats via induction of Nrf2 and HO-1 expression. *Food and Chemical Toxicology* 2018; 115: 49-62.
 39. Güvenç M, Cellat M, Özkan H, et al. Protective effects of tyrosol against DSS-induced ulcerative colitis in rats. *Inflammation* 2019; 42:1680-1691.
 40. Murad HA, Abdallah HM, Ali SS. Mentha longifolia protects against acetic-acid induced colitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2016; 190: 354-361.
 41. Rezaei N, Eftekhari MH, Tanideh N, Mokhtari M, Bagheri Z. Comparison of antioxidant and anti-inflammatory effects of honey and spirulina platensis with sulfasalazine and mesalazine on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Galen Medical Journal* 2019; 8: 1095.
 42. Millar A, Rampton D, Chander C, et al. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* 1996; 39: 407-415.
 43. Choudhary S, Keshavarzian A, Yong S, et al. Novel antioxidants zolimid and AEOL11201 ameliorate colitis in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 2001; 46: 2222-2230.
 44. Somani S, Badgujar L, Sutariya B, Saraf M. Protective effect of Dillenia indica L. on acetic acid induced colitis in mice. *Indian Journal of Experimental Biology* 2014; 52: 876-881.
 45. Dugani A, Dakhil B, Treesh S. Protective effect of the methanolic extract of malva parviflora l. leaves on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Saudi journal of Gastroenterology: Official Journal of The Saudi Gastroenterology Association* 2016; 22: 226.
 46. Bastaki SM, Adeghate E, Amir N, Ojha S, Oz M. Menthol inhibits oxidative stress and inflammation in acetic acid-induced colitis in rat colonic mucosa. *American Journal of Translational Research* 2018; 10: 4210.
 47. Palla AH, Iqbal NT, Minhas K, Gilani AH. Flaxseed extract exhibits mucosal protective effect in acetic acid induced colitis in mice by modulating cytokines, antioxidant and antiinflammatory mechanisms. *International Immunopharmacology* 2016; 38: 153-166.

48. Uyar A, Emlik H, Yaman T. Effect of high carbohydrate, fat and intermittent fasting diet on experimental ulcerative colitis. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2018; 7: 7-14.
49. Baykalir BG, Aksit D, Dogru MS, et al. Lycopene ameliorates experimental colitis in rats via reducing apoptosis and oxidative stress. *Int J Vitam Nutr Res* 2016; 86: 27-35.
50. Martín AR, Villegas I, Sánchez-Hidalgo M, De La Lastra CA. The effects of resveratrol, a phytoalexin derived from red wines, on chronic inflammation induced in an experimentally induced colitis model. *British Journal of Pharmacology* 2006; 147: 873-885.
51. Alfadda AA, Storr MA, Shaffer EA. Eosinophilic colitis: Epidemiology, clinical features, and current management. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2011; 4: 301-309.