

Deneyisel trinitrobenzensülfonik asit (TNB) kolitinde balık yağından zengin diyetin lökotrien düzeylerine etkisi

Effect of fish-oil enriched diet on leukotriene level in experimental trinitrobenzen sulfonic acid (TNB) colitis in rats

Dr. Hakan YÜCEYAR¹, Dr. Ömer ÖZÜTEMİZ¹, Dr. Afife HÜSEYİNOV², Dr. Murat ALKANAT³, Dr. Serhat BOR¹, Dr. Işıl ÇOKER⁴, Dr. Yücel BATUR¹.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji (1), Çocuk Hastalıkları (2) ve Patoloji Ana Bilim Dalı (3), SSK Tepecik Hastanesi Biyokimya Bölümü (4), İzmir

ÖZET: İltihabi barsak hastalıklarının (İBH) etyopatogenezindeki belirsizlik ve nükslerin önlenmesindeki yetersizlik günümüzde de sürmektedir. Bu çalışmada balık yağından (BY) zengin bir diyet ile beslenen sıçanlarda oluşturulan trinitrobenzensülfonik asit (TNB) kolitinde BY'nin koruyucu rolü araştırılmıştır. Rastgele 2 gruba ayrılan erkek sıçanlar 6 hafta boyunca standart yem ile (grup-1) veya yemlerine %8 oranında BY eklenerek (grup-2) beslenmişlerdir. Bu süre sonunda iki gruba da 30 mg TNB, 0,25 ml %30 luk etanol içinde erimiş sıvı halde rektal yoldan verilmiştir. İki hafta boyunca benzer şekilde beslenen sıçanlar kurban edilerek distal 10 cm lik kolon segmenti çıkarılarak histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca doku örneklerinden myeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesi, lökotrien B₄ (LTB₄) ve LTC₄ düzeyleri radyoimmünassay ile (RIA) tayin edilmiştir. Grup-1 de MPO aktivitesi $30,41 \pm 1,94$ (Ügr/yaş ağırlık) iken grup-2 de $2,43 \pm 0,47$ bulunmuştur. LTB₄ ise grup-1 de $372,1 \pm 65,24$ pg / mg doku proteini bulunurken grup-2 de $34,5 \pm 8,16$ saptanmıştır. LTC₄ ise grup 1'de $450,0 \pm 56,45$, grup-2'de $64,0 \pm 10,46$ 'dır. Histopatolojik skor grup-1 de $2,125 \pm 0,35$ değerinde iken grup-2 de $1,555 \pm 0,29$ 'e geriledi. Bu bulgulara göre BY, MPO aktivitesini grup-1'e göre anlamlı şekilde azaltmaktadır ($p=0,0108$). LTB₄ ile LTC₄ düzeyleri BY grubunda anlamlı şekilde düşüktür (sırasıyla $p=0,0034$, $p=0,0024$). Sonuç olarak BY'dan zengin diyetle beslenen sıçanlarda TNB ile geliştirilen kolon hasarı azalmaktadır.

Anahtar Kelimeler: **Balık yağı, LTB₄, LTC₄, TNB koliti**

İNFLAMATUVAR barsak hastalığının (İBH) etyopatogenezi konusundaki belirsizlik ve nükslerin önlenmesindeki yetersizlik günümüzde de ha-

SUMMARY: The etiology of inflammatory bowel disease (IBD) is still unknown and the treatment of recurrences of IBD is also inadequate. In this study, we investigated the protective role of a fish oil (FO) - enriched diet in a rat model of TNB colitis. 20 male Wistar- Albino rats were randomized into 2 groups ($n=10$). All of them were fed for 6 weeks with a standard diet (group-1) and standard diet plus FO (%8) (group-2). At the end of this period, TNB (30 mg in 0,25 ml of %30 ethanol) were intrarectally administered. After two weeks, the rats were sacrificed and the distal colon was removed. The Specimens were histopathologically evaluated. The MPO enzyme activities were measured and leukotriene B₄ (LTB₄) and LTC₄ levels were determined by radioimmunoassay. MPO activities, LTB₄ and LTC₄ levels were (respectively) $30,41 \pm 1,94$ Ug/wet weight, $372,1 \pm 65,24$ pg / mg tissue protein, $450,0 \pm 56,45$ pg/mg tissue protein. These levels were reduced in group-2 (respectively) $2,43 \pm 0,47$ Ug/wet weight, $34,5 \pm 8,16$ and $64,0 \pm 10,46$ pg / mg tissue protein. There were significant differences in MPO activities, LTB₄ and LTC₄ levels and histopathological scores between the two groups (respectively $p=0,0108$, $p=0,0034$, $p=0,0024$, $p=0,002$). In conclusion, FO-enriched diet could reduce the colon damage in TNB colitis in rats

Key Words: **Fish oil, LTB₄, LTC₄, TNB colitis**

len sürmektedir. Son yıllarda hücre membran fosfolipidlerinin fosfolipazlar ile etkileşmesi sonrası araşidonik asit üzerinden oluşan prostaglandinler (PG), lökotrienler (LT) ile diğer membran mediatörleri olan platelet aktive edici faktör (PAF) gibi inflamasyon mediyatörlerinin İBH'nın etyopatogenezindeki rolleri özellikle önem kazanmıştır (1-3). Hayvan modelleri üzerine yapılan çalışmalarda akut kolonik inflamasyon sırasında PGE₂, tromboksan A₂, LTB₄ ve daha az oranda da

LTC'ün artmış olduğu gösterilmiştir (4,5). Araşidonik asidin sikloksijenaz metaboliti olan PG'ler kolon mukozası için koruyucu iken lipoksijenaz metaboliti LT'lerin kolon hasarı oluşturdıkları genel olarak kabuül edilmektedir (6). Omega -3 yağ asitlerinden zengin olduğu bilinen balık yağı (BY) membran fosfolipidlerin yapısına girerek araşidonik asit yerine fosfolipazlar için substrat rolü oynamakta ve fosfolipazlar ile etkileşen bu yağ asitlerinden lipoksijenaz ve siklooksijenaz enzimlerinin aracılığı ile daha düşük biyolojik aktiviteye sahip PG ve LT'lerin türeyerek inflamasyonu azalttığı öne sürülmektedir (7-9).

Çalışmamızda sıçanlarda geliştirilen trinitrobenzensülfonik asite (TNB) bağlı kolit modelinde, BY'dan zengin diyet ile beslenen sıçanlarda kolon hasarının ciddiyetinin değerlendirilmesi yanında dokudaki LTB4 ve LTC4 gibi inflamasyon mediatörlerinin düzeylerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma BY'nın TNB koliti modelinde kolon hasarını azaltıcı etkisinin olup olmadığının gösterilmesi ve bu etkinin süre ve lokal olarak kullanıma bağlı olup olmadığının belirlenmesi amacı ile hazırlanan bir seri çalışmanın ilk basamağı olarak planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hayvanlar: Çalışmada 20 erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi'nden temin edilmiştir. İki yüz g. ağırlığındaki Wistar-Albino cinsi sıçanlar rastgele 10'ar hayvanlık iki gruba ayrılarak deney sonuna kadar iki ayrı kafeste tutulmuşlardır. Sıçanların hepsinin günlük temizlikleri yapılmış ve gaitalarını yememeleri için kafes altına ağ şeklinde delikli tel sistemi yerleştirilmiştir. Yemler günlük ve taze olarak hazırlanmıştır.

Grup-1: Altı hafta süre ile standart yem ile beslenen sıçanlarda daha önce literatürde açıklandığı şekilde TNB koliti geliştirilmiştir (10). Buna göre her sıçan için 30 mg 0,25 ml %30 luk etanol içinde eritilmiş sıvı halde bulunan TNB (Sigma, La Verpillere, Fransa) rektal yoldan yumuşak bir lastik sonda ile anüsten 6 cm ileriye kadar sokularak verilmiştir. Ardından 1 ml hava enjekte edilmiştir. TNB'nin dışarı taşmamasına dikkat edilmiş ve sıçanlar 30 saniye boyunca kuyruklarından yakalanarak baş aşağı tutulmuşlardır. Daha sonra hayvanlar önceki beslenme biçimlerine aynı şekilde 2 hafta süre ile devam edilmiştir. Bu süre sonunda hayvanlar aşırı doz eter ile öldürüldükten sonra karınları pubisten göbek hizasına

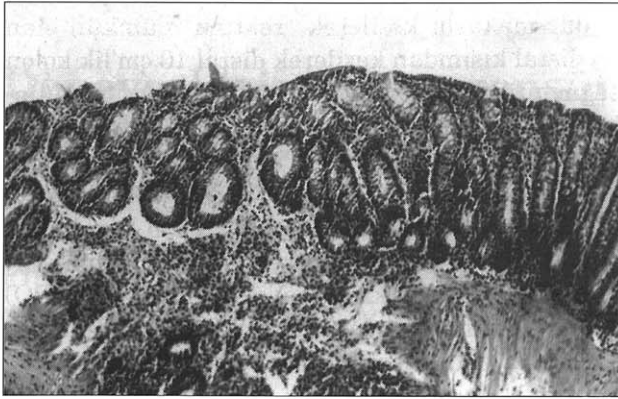
kadar makasla kesilerek rektum mümkün olan en distal kısımdan kesilerek distal 10 cm'lik kolon segmenti çıkarılmıştır. Çıkarılma sırasında mümkün olduğu kadar kolon içindeki feçes el ile sıvazlanarak temizlenmiş ve serum fizyolojik içinde yıkanmıştır. Anuse yakın olan 3 cm' lik kısım patolojik değerlendirme için ıslak bir sargı bezi ile döşenmiş petri kutusuna numaralanarak alınmıştır. Sonraki 3 cm lik kısım myeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesi tayini için, son 3 cm lik kısım ise LT değerlendirmesi için boş tüplere yerleştirilmiştir. MPO aktivitesi için ayrılan parça hemen çalışılmıştır, diğer materyal ise -70°C'da derin dondurucuda saklanmıştır.

Grup-2: Altı hafta boyunca standart yemlerine %8 oranında eklenen BY (ACO Omega 3, Finlandiya) ile beslenen bu hayvanlara daha sonra grup-1'deki gibi TNB ile kolit oluşturulmuştur. İki hafta daha aynı tarzda beslendikten sonra birinci gruptaki gibi sakrifiye edilerek aynı şekilde incelenmişlerdir.

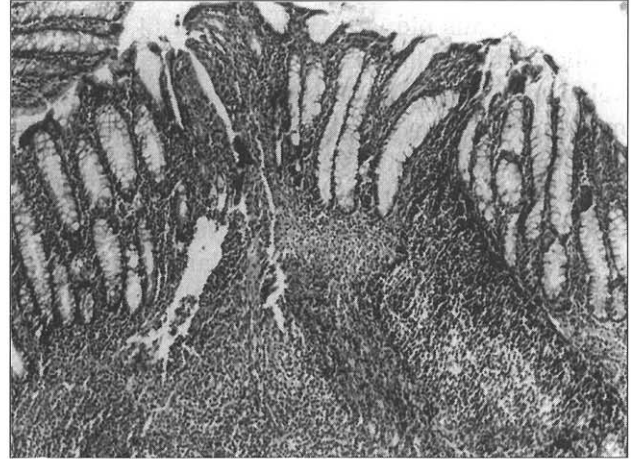
Kolon inflamasyonunun ve hasarının değerlendirilmesi: Patolojik değerlendirme aynı patalog tarafından, gönderilen kolon örneklerinin hangi gruba ait olduğundan haberi olmaksızın yapılmıştır. Makroskopik değerlendirmede tablo-1'deki skorum sistemi göz önüne alınmıştır (10).

Histopatolojik değerlendirmede rutin hematoksilen eozin boyaması ile mukozal hücre infiltrasyonuna dikkat edilerek makroskopik değerlendirme ile birlikte skorum 1 dan 5. dereceye kadar yapılmıştır.

MPO enzim aktivitesinin ölçülmesi: Dokuda MPO tayini Krawisz ve arkadaşlarının (10) tarif ettikleri yöntemle göre yapılmıştır. 200-400 mg'lık yaş doku örneği 1 ml HTAB (hexadecyltrimethylamonyumbromid) tamponu içinde politron homojenizatör (B. Braun Melsungen) kullanılarak 30 sn buz içinde homojenize edilmiştir. Homojenizatör 2 defa 1 ml lik HTAB tamponu ile yıkanarak homojenat bir test tüpünde toplanmıştır. Daha sonra 10 sn süpersonik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra 3 defa dondurulup çözülür ve 40.000 gravitede 15 dakika soğukta (+4°C) santrifüj edildikten sonra süpernatanttan çalışma yapılmıştır. Bunun için 0.1 ml süpernat 2.9 ml reaksiyon karışımı ile karıştırılır ve 430 nm' de, 3 dakika süreyle absorbansın değişimi ölçülmüştür. 1 ünite MPO, 25°C'da 1 dakikada harcanan 1 mol H₂O₂ olarak verilmiştir. Çözeltiler: Reaksiyon karışımı= 50 mM fosfat tamponu pH 6; 0,167 mg/ml



Resim 1A. Zenginleştirilmiş balık yağlı yem ile beslenen sıçanlarda normal kolon mukozasının görünümü: Mukozal bütünlük korunmuş olarak izlenmektedir. Yangı hücreleri infiltrasyonu görülmemektedir. (HEX100)



Resim 1B. Zenginleştirilmiş balık yağlı yem ile beslenen sıçanlarda TNB uygulaması sonrası gelişen yaygın ülser ve submukozal yoğun yangısal hücre cevabı izlenmektedir. (HEX100)

O- dianisidine hidroklorid; %0,0005 H₂O₂ (taze hazırlanır). HTAB= %0.5 HTAB, 50 mM pH:6 fosfat tamponu ile hazırlanır.

Dokuda LT düzeyinin ölçülmesi: Dokudan LT ekstraksiyonu için 1 g ağırlığındaki kolon segmenti 2 ml soğuk PBS (phosphate buffer saline) tamponu içerisinde +4°C'da 24.500 devir / dak ultrasonik homogenizatörde homogenize edilmiştir. Alınan homojenizat üzerine 1cc propanol 2 eklenmiştir. Karışımın pH'sı 5 Mol'lük formik asit ile 3, 4'e ayarlanmıştır. LTB₄ ve LTC₄, bu karışımdan eter ile ayrılmıştır. Ayrılan eter fazı vaccum speed evaporatörde nitrojen altında kurutulmuştur. Kuru örnekten LT pürifikasyonu ve separasyonu HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Ayrışım ultraspher OPC C18 (250 X 4,6 mm İD) analitik kolonlarında asetonitril: metanol : deionize su: asetik asit (pH'sı 5,1) gradientinde, 280 nm UV dalga boyunda 1 ml / dak akım hızında gerçekleştirilmiştir. LT'ler retansiyon zamanına uygun dedektörden toplanarak kurutulmuşlardır. Kuru örnekten LTB₄'ün miktar tayini spesifik RIA (Amersham Life-Science Biyotakt Assay System , England) yardımı ile yapılmıştır. Sonuçlar pikogr (pg) / mg doku protein olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel Değerlendirme: Sonuçlar ortalama $\pm$ SEM şeklinde sunulmuştur. Veriler EÜ. Bilgi İşlem Merkezi' nde Man-Whitney testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

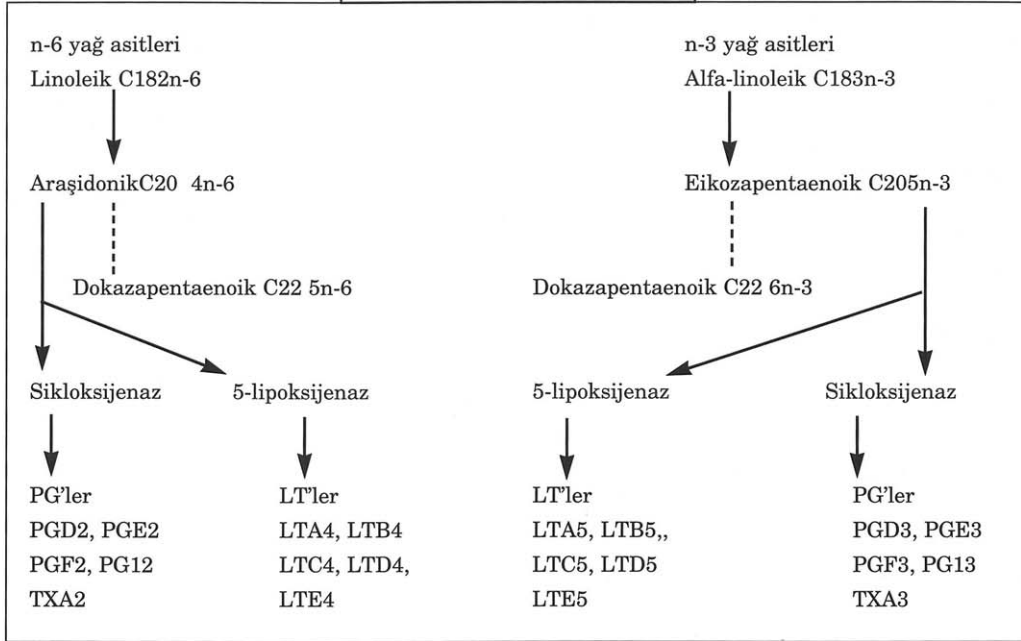
Grup-1 ve 2'deki hayvanlarda rektal yoldan uygulanan TNB ile çeşitli dercelerde kolit oluşturulmuştur. Beslenme süresi içinde her iki grup ara-

sında istatistiksel olarak anlamlı ağırlık artışı saptanamamıştır. Resim 1A'da normal bir sıçanın kolon mukozası izlenirken Resim 1B'de TNB ile geliştirilen kolitte kolon mukozasında ülser ve submukozal yangısal granülomatöz doku gösterilmiştir. Her iki gruptaki sıçanların, LTB₄ ve MPO enzim aktivitesi sonuçları ile patolojik skorlarına göre değerlendirmelerinin sonuçları tablo-2' de gösterilmiştir. MPO değerleri grup-1'de $30,41 \pm 1,94$ Ü gr / yaş ağırlık iken, grup- de $2,43 \pm 0,47$ Ü gr / yaş ağırlığa düşmüştür. BY, MPO aktivitesini anlamlı şekilde azaltmıştır ($p=0,0108$). LTB₄ ve LTC₄ düzeyleri grup-1'de sırasıyla $372,1 \pm 65,24$ pg / mg doku proteini ile $450,0 \pm 56,45$ pg / mg doku proteini gibi yüksek değerlerde saptanmış iken bu değerler grup-2'de (sırasıyla) $34,5 \pm 8,16$ ve $64,0 \pm 10,46$ pg / mg doku proteini düzeylerine inmiştir. Bu iki grubun istatistiksel karşılaştırılmasında BY ile beslenen sıçanlarda LTB₄ ve LTC₄ düzeyleri anlamlı derecede düşük saptanmıştır (sırasıyla $p= 0,0034$ ve $p= 0,0024$). Histopatolojik skor ise grup-1'de $2,125 \pm 0,35$ iken grup-2' de $1,555 \pm 0,29$ bulunmuştur ($p< 0,002$).

Tablo 1. Kolon yaralanma skalası

Skor	Gros morfoloji
0	Hasar yok
1	Lokale hiperemi var ülser yok
2	Önemli inflamasyon olmaksızın lineer ülser
3	Bir tarafta inflamasyon ile birlikte lineer ülser
4	İki veya daha fazla tarafta ülser ve/veya inflamasyon
5	Bir tarafta belirgin inflamasyon ve/veya 1 cm'den uzun ülserasyon

POLİANSATÜRE YAĞ ASİTLERİ



Şekil 2. Esansiyel yağ asitlerinden olan linoleik asidin metabolize olması ile araşidonik asid üzerinden 2 serisi PG'ler ile 4 serisi LT'lerin oluşumu yanısıra diğer bir esansiyel yağ asidi olan alfa-linoleik asidden EPA ve DHA oluşumu sonrası araşidonik asit ile kompetitisyona girerek inflamasyonda daha az etkili olan 5 serisi LT'lerin oluşumunun şematik olarak gösterilmesi.

TARTIŞMA

İBH' nin etyopatogenezini açıklamak ve kullanılan ilaçlar ile diyetetik önlemlerin araştırılabilmesi için çeşitli deneysel kolit modelleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında insandaki hastalığa en çok benzeyen deneysel model olduğunu ileri süren çok sayıdaki çalışma (2, 7, 10) doğrultusunda çalışmamızda TNB ile geliştirilen kronik granülo-matöz kolit modeli seçilmiştir. TNB ile oluşturulan deneysel granülo-matöz kolit modelinde, TNB 'nin bir haptten rolü oynayarak kolit oluşturduğu gösterilmiştir (10). Etanol ise bir bariyer kırıcı olarak TNB'nin kolon mukozasına girişini kolaylaştırır, ardından inflamasyon ve mukozal ülserasyonların ortaya çıkmasına sebep olur. TNB ile oluşturulan kolit modelinde polimorf nüveli löko-

sitlerin (PNL) kolon epiteline infiltrasyonu ile duvar kalınlaşması karakteristik özelliiktir. Çalışmamızda kolon mukozasında inflamasyonun belirlenmesinde histopatolojik değerlendirme yanında MPO enzim aktivitesinin yükselmesi esas alınmıştır (10). Bilindiği gibi MPO enzimi esas olarak PNL' llerde çok miktarda bulunmakta ve kolon dokusundaki enzim aktivitesi, dokunun PNL' ler ile infiltrasyonunun derecesi ile çok yakından ilişkili bulunmaktadır (11). TNB ile oluşan mukoza hasarı ve dokuya lökosit infiltrasyonu ile bu hücrelerin degranülasyonu sonucunda lizozomlarda bulunan MPO'nun ortaya çıkmasında hücre membranından gelişen mediatörlerinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Günümüzde, inflamasyon lipid mediatörleri ara-

Tablo 2. Grupların LTB4, LTC4 ve MPO değerleri ile patolojik skorlarının ortalama $\pm$ SEM değerlerinin dağılımı

Grup	MPO Ügr/yaş ağırlık	LTB4 pg/mg doku proteini	LTC4 pg/mg doku proteini	Patolojik Skor
Grup 1	30,41 $\pm$ 1,94 (A1)	372,1 $\pm$ 65,24 (B1)	450,0 $\pm$ 56,45 (C1)	2,125 $\pm$ 0,35 (D1)
Grup 2	2,43 $\pm$ 0,47 (A2)	34,5 $\pm$ 8,16 (B2)	64,0 $\pm$ 10,46 (C2)	1,555 $\pm$ 0,29 (D2)

A1-A2; p= 0,0006 anlamlı farklılık.

B1-B2 ; p= 0,0034 anlamlı farklılık.

C1-C2 ; p= 0,0024 anlamlı farklılık.

D1-D2 ; p= 0,002 anlamlı farklılık.

sında bahsedilen araşidonik asit lipoksijenaz ürünleri olan LT'ler ile diğer bir membran mediatörü olan PAF'ın üzerinde önemle durulmaktadır. Bu mediatörlerin

İBH'nın etiopatogenezindeki rollerinin değerlendirilmesi konusunda çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. LTB4'ün PNL'ler için en kuvvetli kemotaktik ajan olduğu, bu hücrelerin degranülasyonu yolu ile lizozomal enzimlerin salınımına ve ayrıca süperoksid iyonu oluşumuna yol açıcı etkiye sahip olduğu bilinmektedir (1). LTC4, ve LTD4 ise esas olarak vasküler permeabiliteyi arttırıcı ajanlar olarak bilinmektedir (9). Özellikle LTC4 güçlü bir vazokonstriktör olup düz kaslarda kontraksiyona yol açmaktadır. Bu etkileri sayesinde LTC4'ün lokal olarak inflamasyon bölgesinde mikropfüzyon değişiklikleri yaptığı, lokal doku iskemisi oluşturduğu ve bölgeye periferik lökositlerin göç etmesini ve permeabilite artışı ile lökositlerin dokuya infiltrate olmasını sağladığı düşünülmektedir. Tüm bu etkiler TNB kolitinde inflamasyonun zincirleme gitmesini kolaylaştırmaktadır. Güçlü otokoid maddeler olan LT'ler kolon duvarına infiltrate olan PNL'lerin degranülasyonu ile MPO'nun salınımına ve kendi kendilerinin düzeylerinin artmasına sebep olurlar. LTB4, LTC4'ün sentezini kolaylaştırırken, bunun tersi de söz konusu olup böylece bir kısır döngü oluşabilir. LTB4 ve LTC4, aralarında nötrofil, eozinofil, makrofaj ve monositlerin bulunduğu pek çok hücre tarafından inflamatuvar bir stimulusa yanıt olarak oluşturulurlar. TNB ile oluşturulan deneysel granümatöz kolit modelinde, kolon mukozasında doku LTB4 ve LTC4 düzeylerinin belirgin şekilde artmış olduğu ve kolon mukoza inflamasyonundaki dokudaki yoğun PNL infiltrasyonundan LTB4'ün artmış düzeylerinin sorumlu olduğu gösterilmiştir (10).

İnsan çalışmalarında ise, ince ve kalın barsak mukozasında araşidonik asitten sikloksijenaz ve 5-lipoksijenaz derivelerinin sentez olduğu gösterilmiştir (2). Hem aktif ülseratif kolit hem de Crohn hastalıklı olgularda bu iki yolun da önemli derecede aktive olduğu belirlenmiştir. Bu hastalarda patolojik kolon mukozası LTB4 düzeylerinde önemli derecede artışlar olduğu saptanmıştır. Çalışmalar sonucu LT'lerin barsak mukozasında inflamatuvar hücre infiltrasyonunda önemli mediatörler olduğu düşüncesi ileri sürülmüştür. Çalışmamızın sonuçları bu bilgiler ışığında değerlendirildiğinde, sıçanlardaki kolit gelişiminin doku LTB4 ve LTC4 değerlerinin yüksekliği ile birlikte olduğu anlaşılmaktadır. Standart yem ile

beslenen grup-1'deki sıçanlarda TNB ile belirgin kolit oluşturulduğu histopatolojik değerlendirmenin yanısıra MPO enzim aktivitesi ve LT düzeylerindeki artış ile anlaşılmaktadır. BY grubunda ise 6 haftalık beslenme sonrasında bu değerlerin tümünde anlamlı düşüşler gözlenerek kolon hasarının azalmış olduğu saptanmıştır. LTB4 (ortalama) düzeyinde 372,1'den 34,5'a düşüş (%90,73 oranında baskılanma), LTC4'te ise 450'den 64'e gerileme (% 85,63 oranında baskılanma) saptanmıştır.

Esansiyel yağ asidi olan linoleik asit mısır yağı ve ayçiçeği yağı gibi tohumdan elde edilen yağların esas yağ asidi olarak bilinir. Linoleik asit desatüre olması ve zincir elongasyonu sonrasında 20 karbonlu poliansatüre yağ asidi olan araşidonik asidi oluşturur (şekil-2). Araşidonik asit, sikloksijenaz enzimi ile sentez edilen 2-serili prostaglandinler ile 5-lipoksijenaz etkisi ile sentez edilen 4-serili lökotrienleri içeren eikozanoidlerin prekürsörü olarak tanınır (12-14). Esansiyel yağ asitlerinin diğer bir sınıfı ise α -linoleik asittir. İnsanda α -linoleik asit çok yavaş olarak desatüre ve zincir elongasyonu ile eikozapentaenoik aside (EPA) ve dokazohexaenoik aside (DHA) dönüşür (şekil-1). EPA ve DHA'nın insan organizması için esas diyet kaynağı Omega -3 yağ asitlerinden zengin olan balık yağı (BY) ve çeşitli kabuklu deniz ürünlerinin yağlarıdır (9,12). BY'nın EPA ve DHA'nın etkisi ile araşidonik asidin linoleik asitten oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (9). EPA ve DHA membran fosfolipidlerinin yapısına girerek plazma araşidonik asit düzeyini azaltır (15), araşidonik asit ile kompetitisyona girerek 4 serisi LT'ler yerine 5-serisi LT'lerin sentezlenmesine sebep olur ki bu ürünler biyolojik olarak daha az aktiftirler (9,12). Bu mekanizmanın BY'nın anti-inflamatuvar etkisinin esasını oluşturduğu belirtilmektedir (12). Çalışmamızda 6 haftalık BY'dan zengin diyet kullanımının EPA'nın kolon mukoza yapısına girmesi yönünden yeterli bir süre olduğu literatür bilgilerine dayanılarak söylenebilir (16). Altı hafta kullanılan BY patolojik olarak inflamasyon skorunu düşürmüş ve inflamatuvar mediatörlerin oluşumunu inhibe etmiştir.

Çalışmamızda kullanılan BY %24 EPA ve DHA, %54 monoansatüre ve %19 satüre yağ asitleri içerirken, standart yem olarak kullanılan TARIŞ'ın ürettiği sıçan yeminin %40 satüre, %40 monoansatüre ve %15 n-6 (linoleik asit) poliansatüre yağ asitleri içerdiği bilinmekteydi. Daha önce yapmış olduğumuz bir çalışmada sıçanlarda geliştirilen asetik aside bağlı deneysel kolit modelinde BY'nın

koruyucu etkisini araştırmış ve bu modelde 6 hafta süre ile BY'dan zengin diet ile beslenmenin, benzer şekilde mısır yağından zengin beslenmeye göre etkili olduğunu göstermiştik (17). Teknik olanaksızlıklar nedeni ile sıçanların kan yağ asitleri düzeylerine belirli aralıklar ile bakılarak beslenme durumları hakkında doğru bir değerlendirme yapılamamıştır. Daha önceki çalışma bilgilerimiz ve bu olanaksızlıklar nedeni ile grup-1'e ilaveten mısır yağı gibi başkaca bir yağdan zengin diyet ile

beslenen hayvan grupları eklenmemiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, sıçanlarda geliştirilen TNB kolitinde, kolon dokusunda inflamasyon mediatörlerinden olan LTB4 ve LTC4 düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir. BY 'dan zengin diyetle beslenme, histopatolojik hasarı hafifletmek yanında LT doku düzeylerini de azaltmakta ve bu kolit modelinde koruyucu bir rol oynamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Franklin H. Epstein Leukotrienes and other products of the 5- lipoxygenase pathway . N Engl J Med 1990; 323: 645-655.
2. Peskar B M. Eicosanoids in inflammatory bowel disease and their pharmacological modulation. Inflammatory Bowel Disease Falk Symposium-60- Progress In Basic Research and Clinical Implications .Ed: Goebell H., Malchow H., Ewe K., Koelbel CH, Kluwe Academic Publishers, United Kingdom,1991, 169-178.
3. Higgs GA, Moncada S, Vane JR. Eicosanoids in inflammation. Am Clin Res 1984 ; 16:287-299.
4. Sharon P, Stenson WF. Metabolism of arachidonic acid in acetic acid colitis in rats: similarity of human inflammatory bowel disease. Gastroenterology 1985;88: 55-63.
5. Zisper RD, Nast CC, Lee M, et al. In vivo production of leukotriene B4 and leukotriene C4 in rabbit colitis. Relationship to inflammation.. Gastroenterology 1987; 92:33-39.
6. Launtsen K, Laursen LS, Bukhave K, Rsak - Madsen J. In vivo effects of orally administered prednisolone on prostaglandin and leukotriene production in ulcerative colitis. Gut 1987; 28: 1085-1089.
7. Croft KD, Belin L.J, Loece FM, Vandongen R. Effects of diet enriched eicosapentaenoic or docosahexaenoic acid or prostanoic acid metabolism in the rat. Lipids 1987; 22:647-650
8. Donowitz M. Arachidonic acid metabolism and their role in inflammatory bowel disease :An update requiring addition of a pathway. Gastroenterology 1985; 88:580-587.
9. Garg M L, Thomson AB, Cladinin T. Fish oil-enriched diet is mucosal protective against acetic acid-induced colitis in rats. Can J Physiol Pharmacol 1991; 69: 480-487
10. Morris GP, Back PL, Hepridge PH, Depewe W. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. Gastroenterology 1989; 96: 795-803.
11. Krawisz JE, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Gastroenterology 1984; 87: 1344-1350.
12. Mc Call TB,O' Leary D, Bloomfield J and Morain C A. Therapeutic potential of fish oil in the treatment of ulcerative colitis. Aliment Pharmacol Ther 1989; 3:415-24.
13. Sharon P, Stenson WF. Enhanced synthesis of leukotriene B4 by colonic mucosal in inflammatory bowel disease. Gastroenterology1984; 86:453-60.
14. Wallace JL,Macnaughton Morris GP and Beck PL. Inhibition of leukotriene synthesis markedly accelerates healing in a rat model of inflammatory bowel disease . Gastroenterology 1989; 96:29-36.
15. Tinoco J. Dietary requirements and function of alpha-linoleic acid in animals. Prog Lipid Res 1982;21:1-45.
16. Vilaseca J, Salas A, Rodriguez R, Martinez M. Dietary fish-oil reduces progression of chronic inflammatory lesions in a rat model of granulomatous colitis. Gut 1990; 31: 539-544.
17. Özütemiz Ö, Aydın A, Akarca U ve arkadaşları. Balık yağından zengin diyetin sıçanlarda geliştirilen asetik aside bağlı deneysel kolitte koruyucu etkisi. Kolon Rektum Hastalıkları Dergisi 1994; 4 :163-167.