



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**DENEYSEL RAT KOLİT MODELİNİN KOLON DOKU
HİSTOPATOLOJİSİ VE OKSİDATİF DEĞİŞİKLİKLERİ İLE
FEKAL MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI: ALFA LİPOİK ASİTİN TERAPÖTİK DEĞERİ**

İREM TANER

BESİN ANALİZLERİ VE BESLENME BİLİM DALI

EKİM 2024



**DENEYSEL RAT KOLİT MODELİNİN KOLON DOKU
HİSTOPATOLOJİSİ VE OKSİDATİF DEĞİŞİKLİKLERİ İLE FEKAL
MİKROBİYOTA ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI: ALFA
LİPOİK ASİTİN TERAPÖTİK DEĞERİ**

İrem TANER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BESİN ANALİZLERİ VE BESLENME BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EKİM 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İrem TANER
04/10/2024

DENEYSEL RAT KOLİT MODELİNİN KOLON DOKU HİSTOPATOLOJİSİ VE
OKSİDATİF DEĞİŞİKLİKLERİ İLE FEKAL MİKROBİYOTA ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI: ALFA LİPOİK ASİTİN TERAPÖTİK DEĞERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

İrem TANER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ekim 2024

ÖZET

Ülseratif kolit, gastrointestinal sistemin kronik bir inflamasyondur. İnflamasyon ve doku hasarını iyileştirmek amacıyla yapılan tedavilerin yanı sıra bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizliğin giderilmesi önemlidir. Bu tez konusunda, rat ülseratif kolit modelinde alfa lipoik asitin tek başına veya mesalamin kombinasyonu ile antioksidan, anti-inflamatuvar, propitoz ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmamızda, ratlar kontrol, kolit, mesalamin, alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarına ayrıldı. Kontrol grubuna kolit modeli uygulanmadı. Diğer gruplarda, kolit asetik asitin intrarektal uygulanmasıyla indüklendi. Hastalık aktivite indeksinin en yüksek kolit grubunda, tedavi grupları arasında ise en düşük mesalamin+alfa lipoik asit grubunda olduğu saptandı. Kolit, mesalamin ve alfa lipoik asit gruplarındaki makroskobik skorun kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış gösterdiği belirlendi. OSI değeri en yüksek kolit grubunda belirlenirken, kontrol, alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarına göre yüksek seviyede olması anlamlı bulundu. Nitrotozin seviyesi en yüksek kolit grubunda belirlenirken, kontrol, mesalamin, alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarına göre yüksek seviyede olması anlamlı bulundu. NLRP3 inflamazomu ve GSDMD düzeyi kolit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdi. GSDMD protein düzeyi, mesalamin+alfa lipoik asit grubunda kolit grubuna göre anlamlı olarak azaldı. Kolit grubunda histopatolojik skorun arttığı; sıkı bağlantı proteinlerinin ise azaldığı, alfa lipoik asit uygulamasının bu parametreler üzerinde iyileştirici etkilerinin anlamlı olduğu görüldü. Kolitin bağırsak disbiyozisine neden olduğu, alfa lipoik asitin mikrobiyota düzenlenmesine katkıda bulunduğu belirlendi. Sonuçlarımız, alfa lipoik asitin kolite bağlı kolon dokusunda artan inflamasyon, oksidasyon ve inflamazom parametreleri ile birlikte mikroskobik skora; azalan sıkı bağlantı proteinlerine; bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyozise karşı olumlu etkileri olduğunu göstermektedir.

Bilim Kodu : 1064.1
Anahtar Kelimeler : Alfa lipoik asit, kolit, mikrobiyota, oksidasyon, rat.
Sayfa Adedi : 153
Danışman : Prof. Dr. Mürşide Ayşe DEMİREL

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF THE EXPERIMENTAL RAT COLITIS
MODEL ON COLON TISSUE HISTOPATHOLOGY AND OXIDATIVE CHANGES
AND THE FECAL MICROBIOTA: THE THERAPEUTIC VALUE OF ALPHA LIPOIC
ACID

(M. Sc. Thesis)

İrem TANER

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

October 2024

ABSTRACT

Ulcerative colitis is a chronic inflammation of the gastrointestinal system. In addition to treatments aimed at healing inflammation and tissue damage, addressing the imbalance in the intestinal microbiota is crucial. The aim of the thesis is to investigate the effects of alpha-lipoic acid, either alone or in combination with mesalamine, on antioxidant activity, anti-inflammatory responses, proptosis, and gut microbiota in a rat model of ulcerative colitis. In our study, rats were divided into control, colitis, mesalamine, alpha-lipoic acid, and mesalamine+alpha-lipoic acid groups. The control group did not undergo colitis induction, while colitis was induced in other groups by intrarectal administration of acetic acid. The disease activity index was the highest in the colitis group and the lowest in the mesalamine+alpha-lipoic acid group among the treatment groups. Macroscopic scores in the colitis, mesalamine, and alpha-lipoic acid groups were significantly elevated compared to the control group. The OSI was the highest in the colitis group, with significantly elevated levels compared to the control, alpha-lipoic acid, and mesalamine+alpha-lipoic acid groups. The nitrotyrosine level was also highest in the colitis group, and significantly elevated compared to the control, mesalamine, alpha-lipoic acid, and mesalamine+alpha-lipoic acid groups. NLRP3 inflammasome and GSDMD levels showed significant increases in the colitis group compared to the control group, while GSDMD protein levels were significantly reduced in the mesalamine+alpha-lipoic acid group compared to the colitis group. Histopathological scoring in the colitis group increased, while tight junction proteins decreased; alpha-lipoic acid administration significantly ameliorated these parameters. It was determined that colitis caused intestinal dysbiosis and that alpha-lipoic acid contributed to the regulation of microbiota. Our results indicate that alpha-lipoic acid has beneficial effects on increased inflammation, oxidative stress, inflammasome parameters, and microscopic scores, as well as on the reduction of tight junction proteins and dysbiosis of the intestinal microbiota associated with colitis.

Science Code : 1064.1

Key Words : Alpha lipoic acid, colitis, microbiota, oxidation, rat.

Page Number : 153

Supervisor : Prof. Dr. Murside Ayse DEMIREL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarına, A Grubu Acil Ar-Ge Proje Destek Programı (2023-A4-01/31742) ile finansal destek sağlayan Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı'na (TÜSEB) teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması süresince, yardım ve deneyimlerinden yararlandığım bilgi, destek, anlayış, tecrübe ve katkılarıyla her zaman yanımda olan, insanlığını örnek aldığım yüksek lisans tez danışmanım Sayın Prof.Dr. Mürşide Ayşe DEMİREL'e, minnetle sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimime katkıları ve tez çalışmalarım boyunca gösterdikleri destek ve imkânları için Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Buket ER DEMİRHAN ve Öğretim Üyesi Doç. Dr. Burak DEMİRHAN'a teşekkürlerimi sunarım. Histopatoloji ve immunohistokimyasal çalışmalardaki destekleri için İzmir Bakırçay Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Saadet Özen DİZAKAR AKARCA'ya; Western Blot analizlerinin yapılmasında tezime destek veren Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nur Banu BAL'a ve mikrobiyota analizlerinin değerlendirmesinde deneyimlerinden yararlandığım Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Veysel BAY'a teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Hayvan deneyi çalışmalarında, hayvanların bakımını yapan ve güler yüzünü esirgemeyen Hacer ŞİRİN'e yardımları için teşekkür ederim. Tez çalışmalarına yardımcı olan Gülbeyaz ÖZKAN ve Derya DEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreç boyunca maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim, beni her koşulda cesaretlendiren annem Raziye ÇEVİK ve babam Selim ÇEVİK'e, kız kardeşlerim Uzm. Dr. Hilal ÇEVİK ve Dr. Elif SEYMOUR'a teşekkürü bir borç bilirim. Bana her zaman güç veren sevgili kızım Melis Mila TANER'e teşekkür ederim. Beni her zaman motive edip en zor anlarımda yanılarımda hissettiren sevgili Neriman YAŞAR ve Hüseyin YAŞAR'a teşekkürü borç bilirim. Hayat tecrübelerinden faydalandığım ve bilgisine güvendiğim sevgili eşim merhum Prof. Dr. Mustafa Ender TANER'e de sevgiyle ve özlemle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Ülseratif Kolit.....	5
2.1.1. Epidemiyoloji.....	5
2.1.2. Etiyoloji.....	6
2.1.3. Patogenez	7
2.1.4. Klinik ve laboratuvar bulgular	20
2.1.5. Tedavi yöntemleri	22
2.1.6. Destek tedaviler.....	25
2.2. Alfa Lipoik Asit	32
2.2.1. Alfa lipoik asitin tarihçesi	33
2.2.2. Alfa lipoik asitin kimyasal yapısı ve formları.....	33
2.2.3. Alfa lipoik asit sentezi ve emilimi	35
2.2.4. Alfa lipoik asit kaynakları.....	36
2.2.5. Alfa lipoik asitin biyolojik işlevleri	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41

	Sayfa
3.1. Gereç	41
3.1.1. Kullanılan kimyasallar ve antikorlar	41
3.1.2. Cihazlar	42
3.2. Yöntem	43
3.2.1. <i>in vivo</i> çalışmalar	43
3.2.2. Biyokimyasal parametreler	46
3.2.3. Western blot incelemeleri	48
3.2.4. Histopatolojik ve immunohistokimyasal çalışmalar	49
3.2.5. Fekal mikrobiyotanın yeni nesil sekanslama (YNS) yöntemi ve metagenomik yaklaşım ile belirlenmesi	52
3.2.6. İstatistiksel analiz	54
4. BULGULAR	55
4.1. Ratların Beden Ağırlıkları, Yem ve Su Tüketimleri	55
4.2. Hastalık Aktivite İndeksi	58
4.3. Kolonun Makroskopik Skor Bulguları	59
4.4. Kolon Dokusu Biyokimya Bulguları	61
4.4.1. TAS, TOS ve OSI düzeyleri	61
4.4.2. Nitrotirozin düzeyi	63
4.4.3. Kolon dokusunda NLRP3 ve GSDMD protein ekspresyonları	64
4.4.4. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analiz bulguları	66
4.4.5. Bağırsak mikrobiyota bulguları	73
5. TARTIŞMA	91
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	113
KAYNAKLAR	115
EKLER	149
EK-1. Etik Kurul Onay Belgesi	150

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ	152
----------------	-----

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Ülseratif kolitin klinik bulgulara göre sınıflandırılması	21
Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve primer antikorlar.....	41
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	42
Çizelge 3.3. Kolit hastalık aktivite indeksinin skorlanması.....	46
Çizelge 3.4. Kolonun Makroskopik Değerlendirilmesi	46
Çizelge 3.5. Mikroskopik Skolama	50
Çizelge 4.1. Ratların deney öncesi ve sonrası beden ağırlıkları	55

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Kolon epitelinin inflamasyonla birlikte değişimi	10
Şekil 2.2. Normal ve kolitli bağırsak epiteli görüntüsü	20
Şekil 2.3. Alfa lipoik asitin formları ve birbirine dönüşümleri.....	34
Şekil 2.4. Alfa lipoik asit/DHLA'nin antioksidan etki şeması	38
Şekil 4.1. Ratların deneyin 1. ve 14. günlerindeki beden ağırlıkları.	56
Şekil 4.2. Ratların deneyin başlangıç ve sonundaki ağırlık değişim farkları.....	57
Şekil 4.3. Ratların deney süresince tükettikleri yem miktarları.....	58
Şekil 4.4. Ratların deney süresince tükettikleri su miktarları.	58
Şekil 4.5. Gruplara göre hastalık aktivite indeksi.	59
Şekil 4.6. Gruplara göre kolon dokusunun makroskopik görünümü ve skoru.	60
Şekil 4.7. Deney protokolü sonrası elde edilen kolon dokularında TAS (a) ve TOS (b) seviyeleri.	62
Şekil 4.8. Deney protokolü sonrası elde edilen kolon dokularında OSI değerleri.....	63
Şekil 4.9. Deney sonrası ratların kolon dokularında nitrotirozin (3-NT) seviyesi.....	64
Şekil 4.10. Ratların kolon doku örneklerinde NLRP3 protein düzeyi ve temsili bant görüntüsü.	65
Şekil 4.11. Ratların kolon doku örneklerinde GSDMD protein düzeyi ve temsili bant görüntüsü.	66
Şekil 4.12. Alfa çeşitlilik indeksinin a) <i>Chao1</i> , b) <i>Shannon</i> ve c) <i>Simpson</i> 'a göre sınıflandırılması	76
Şekil 4.13. Beta çeşitlilik analizi.....	77
Şekil 4.14. Beta çeşitlilik analizinin Pcoa weighted (a) ve Pcoa unweighted (b) dağılımı.	78
Şekil 4.15. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin sınıf taksonomisine göre göreceli bolluğu.	79
Şekil 4.16. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin aile taksonomisine göre göreceli bolluğu.	80

Şekil	Sayfa
Şekil 4.17. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin genus (cins) taksonomisine göre göreceli bolluğu.	81
Şekil 4.18. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin takım taksonomisine göre göreceli bolluğu.	82
Şekil 4.19. Tüm gruplarda en yaygın on bakteri phylum (şube) göreceli bolluğu..	83
Şekil 4.20. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin (<i>species</i>) göreceli bolluğu.	84
Şekil 4.21. ALA ve kolit grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor.	85
Şekil 4.22. Kolit ve mesalamin+alfa lipoik asit grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor.	86
Şekil 4.23. ALA ve kontrol grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor.	87
Şekil 4.24. Kolit ve kontrol grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor.	88
Şekil 4.25. Mesalamin+alfa lipoik asit ve kontrol grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor.	89

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Asetik asit solüsyonunun intrarektal uygulanması	44
Resim 3.2. Gavaj yoluyla oral yoldan test materyallerinin verilmesi.....	45
Resim 3.3. Steril şartlar altında feçes örneğinin toplanması.....	53
Resim 4.1. Kolit grubunda kolonun perforasyonu (a) ve mesalamin grubunda kolonun adezyonu (b)	61
Resim 4.2. Deney gruplarına ait Hematoksilen-Eosin ile boyanmış kolon kesitlerine ait görüntüler.	68
Resim 4.3. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait <i>Masson' un</i> üçlü boyama protokolü ile boyanmış kolon kesitleri	69
Resim 4.4. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait <i>Alcian Blue</i> ile boyanmış kolon kesitlerine ait görüntüler	70
Resim 4.5. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait <i>Zonulin-1</i> immunohistokimyasal analizine ait görüntüler	71
Resim 4.6. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait <i>Okludin</i> immunohistokimyasal analizine ait görüntüler	72
Resim 4.7. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait <i>Klaudin-1</i> immunohistokimyasal analizine ait görüntüler	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
α	Alfa
AU	Arbitrary Unit
B	Beta
rpm	Dakikadaki devir sayısı/revolutions per minute
dl	Desilitre
ϵ	Epsilon
γ	Gama
g	Gram
κ	Kappa
kcal	Kilokalori
mg	Miligram
ml	Mililitre
μ g	Mikrogram
mm	Milimetre
ng/ml	Nanogram/Mililitre
mmol/L	Milimol/ Litre
V/V	Hacimce yüzde
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
%	Yüzde

Kısaltmalar	Açıklamalar
α -LA	Alfa lipoik asit
3-NT	3-Nitro-L-tirozin
5-ASA	5- Amino salisilik asit
ABD	Amerika Birleşik Devletleri

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ABTS	2,2'-azino-bis 3- etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit
ANOVA	Analysis of Variance
ASC	Apoptoz ilişkili benek benzeri protein
ATG16L1	Otofaji ilişkili 16-benzeri-1
ATP	Adenozin nükleotid fosfat
BSA	Sığır Serum albümini (Bovine Serum Albumini)
Caco-2	İnsan kolorektal karsinoma hücreleri
CAT	Katalaz
CDC2-kinaz	Siklin bağımlı 2- kinaz
CMV	Sitomegalovirus
COX	Siklooksijenaz
CRP	C-Reaktif Protein
DAB	Diamino benzedin
DHLA	Dihidrolipoik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSS	Dekstran Sülfat Sodyum
ECCO	European Crohn's and Colitis Organisation
ECH	Epiklorohidrin
ECL	Enhanced Chemiluminescence
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
GR	Glutasyon redüktaz
GSDMD	Gasdermin D
GPx	Glutasyon peroksidaz
H2O2	Hidrojen peroksit
HIV	İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü
HO-1	Hem oksijenaz-1
HOCl	Hipokloröz asit
HPV	Human Papilloma Virus
HRP	Horseradish peroksidaz
HSV	Herpes Simplex Virus
JAK2	Janus kinaz-2

Kısaltmalar**Açıklamalar**

Keap1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein-1
KZYA	Kısa zincirli yağ asitleri
LA	Lipoik asit
Lefse	Linear discriminant analysis effect size
LDA	Linear Discriminant Analysis
Ig	İmmunoglobulin
IKK2	IκB kinaz-2
IL-1β	İnterlökin 1 beta
IL-2	İnterlökin 2
IL-6	İnterlökin 6
IFN-γ	İnterferon-gama
i.p	İntraperitoneal
iNOS	Nitrit Oksit Sentazın İndüklenebilir Formu
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinazlar
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NaNO2	Sodyum Nitrit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NCM460	İnsan Kolon Epitel Hücreleri
NDF	Nötral Deterjan Lifi
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NLRP3	Nod-like receptor pyrin domain-containing 3
NO2	Nitrojen dioksit
NOD2	Nükleotid bağlanma ve oligomerizasyon domeyn-2
NP-40	Nonil fenol-40
Nrf-2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili Faktör 2
O2-	Singlet oksijen
O2•	Süperoksit anyon radikali
OH	Hidroksil/ Hidroksit
ONOO-	Peroksinitrit
OSI	Oksidatif Stres İndeksi

Kısaltmalar**Açıklamalar**

PCA	Temel bileşen analizi
PEM	Protein enerji malnutrisyonu
PMSF	Phenylmethanesulfonyl Fluoride
PVDF	Polivinilidin diflorür
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
rRNA	Ribozomal ribonükleik asit
SDS-PAGE	Sodyum dodesil sülfat–poliakrilamid jel elektroforezi
SEM	Standart hata (Standart Error of Mean)
SOD	Superoksit dismutaz
STAT3	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3
TAS	Total Antioksidan Status
TBST	0,5 M NaCl, 20 mM Tris pH:7,4, %0,05 h/h Tween-20
Th	Yardımcı T hücreleri
TMB	(3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidine
TNBS	2,4,6- trinitrobenzenosulfonik asit
TNF-α	Tümör nekrozis alfa
TOS	Total Oksidan Status
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UCG-005	<i>Ruminococcaceae UCG-005</i>
VZV	<i>Varisella zoster</i> virüs
YNS	Yeni nesil sekanslama

1. GİRİŞ

Ülseratif kolit, kolon mukozasını tutan ve tekrarlayan ataklarla seyreden inflamatuvar bir bağırsak hastalığıdır. Ülseratif kolitin insidansı dünya çapında 10/100000 olarak gösterilmiştir. Özellikle, gelişmiş ülkelerdeki kentsel yaşam tarzının hastalığın görülmesindeki artışta önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Avrupa ülkeleri en yüksek hastalık insidansına sahip olan ülkeler iken, Asya ve Afrika gibi gelişmekte olan ülkelere göre daha düşük oranda olduğu belirlenmiştir (McDowell, Farooq ve Haseeb, 2023). Ülseratif kolit, her yaş aralığında görülmekle birlikte, en sık 15-30 ve 60-80 yaş aralığındaki bireylerde dikkati çekmektedir. Bununla birlikte, kadınlarda ve erkeklerde hastalığın görülme sıklığının benzer oranlarda olduğu tespit edilmiştir (Blagov, Orekhova, Sukhorukov, Melnichenko ve Orekhov, 2023). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de ülseratif kolit insidansının arttığı bilinmektedir. Türkiye verilerine göre, hastalığın insidansı 1-4,4/100000 olarak bildirilmiştir (Ülker ve Akbulut, 2017). Hastalığın etiolojisinde, genetik, immunolojik ve çevresel faktörler rol oynamakla birlikte son yıllarda yapılan araştırmalarda, ülseratif kolitin etiyopatogenezinde bağırsak mikrobiyotasının önemli bir yeri olabileceği yönünde bilgiler de bulunmaktadır. Bu konuda az sayıda bilimsel çalışma olmasına rağmen bağırsak mikrobiyotasının total bakteri sayısında değişiklik ve bakteriyel çeşitlilikte azalma görülebildiği bildirilmiştir. Ancak bu konuda halen kesin bilgiler bulunmadığı için araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (R. Zhu ve diğerleri, 2022).

Ülseratif kolitte klinik olarak, diyare, abdominal ağrı ve kramplar, rektal kanama, kilo kaybı, dehidrasyon ve kanlı dışkılama gibi semptomlar görülmektedir. Bu hastalarda, yetersiz besin alımı ve emilimi, tedaviye yönelik gıda kısıtlamaları ve alınan besinlerin diyareye yol açması malnütrisyonu neden olmaktadır. Tedaviye yanıtın alınamadığı veya tedavi edilmekte geç kalınan olgularda bağırsak kanaması veya perforasyonu, sepsis ve kolon kanseri görülme riski de artmaktadır. Ülseratif kolitin mevcut tedavisinde kullanılan birçok ajan olmasına karşın halen istenilen yanıtlar alınamamakta ve tedaviye dirençli olgularda ciddi maddi kayıplara yol açmaktadır (Zhao, Nakatsu, Jones-Hall ve Jiang, 2022). Tedavide temel olarak, mesalamin/mesalazin yani diğer bir adıyla 5-aminosalisilik asit bazlı oral ilaçlar sıklıkla tercih edilmektedir. Hastalığın şiddetine göre ve alevlenme dönemlerinde tedaviye steroidler de eklenebilmektedir. Ayrıca, günümüzde kullanılan ilaçlara bağlı olarak deri döküntüsü,

baş ve mide ağrıları, sperm sayısında azalma, diyare, bulantı ve kansızlık gibi yan etkiler de görülebilmektedir (Zhao ve diğerleri, 2022). Ayrıca, iyileşmeye dirençli olgularda tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) inhibitörlerinin ve immünomodülatör ilaçların kullanılmasıyla hastalığın kontrol altına alınması da sağlanabilmektedir (Raine ve diğerleri, 2022). Son yıllarda, inflamatuvar bağırsak hastalığı tedavisindeki ilerlemelere rağmen anti-TNF- α tedavisine hastaların yaklaşık olarak %30' unun ilk etapta yanıt vermediği, hatta yanıt veren hastaların da her yıl %10'unun ilaca olan yanıtlarını kaybettiği belirtilmiştir. Tedavide kullanılan bu ilaçların enfeksiyöz ve neoplastik süreçleri de içeren ağır yan etkilerinin olması, etkili ve güvenli yeni ilaçların ortaya çıkarılmasının gerekli olduğunu göstermektedir (Hazel ve O'Connor, 2020).

Ülseratif kolit tedavisinde karşılaşılan bu olumsuzluklar nedeniyle, son yıllarda, tedavi etkinliğinin artırılmasına yönelik yapılan çalışmalara gösterilen ilgi hızla artmaktadır. Bu amaçla, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği olduğu bilinen ajanların ülseratif kolit üzerindeki etkinlikleri farklı yollar üzerinden araştırılmış, tedavide bu yolların düzenlenmesi hedeflenmiştir. Anti-inflamatuvar ve antioksidan ajanların tedavi edici yönlerini bildiren az sayıda bilimsel araştırma bulunmakla birlikte etkinliği üzerine daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulduğu için henüz rutin uygulamalarda kullanılabilir aşamaya ulaşamamıştır. Bu nedenle, ülseratif kolitin tedavisinde etkinliği yüksek, maliyeti düşük ve yan etki geliştirmeyen ajanların araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmakta, bu konu ile ilgili her çalışma özel öneme sahip ve diğer araştırmalara yol gösterici nitelikte olmaktadır (Zhao ve diğerleri, 2022).

Bir serbest radikal olan reaktif oksijen (ROS) ve nitrojen (RNS) türlerinin üretiminin artması ve/veya bozulmuş inaktivasyonu oksidatif strese yol açmakta, ROS ve RNS türlerinin üretimi aşırı miktarda arttığında ve antioksidan bileşiklerin sayısı düşük kaldığında, atılamayan ROS ve RNS türleri makromoleküllere zarar vererek inflamatuvar medyatörlerin aktive olmasına neden olmaktadır. Ülseratif kolit olgularında meydana gelen oksidatif stresin, kolonik mukozal tabakayı bozarak bakterilerin daha fazla yayılmasına yol açtığı ve hastalığın patogenezi olumsuz etkilediği bilinmektedir. Bununla birlikte, ülseratif kolit tedavisinde inflamasyona engel olan ilaç uygulamaları ile ortaya çıkacak veya çıkmış olan ROS ve RNS dengesizliğinin geri çevrilmesi de amaçlardan biri olmalıdır. Evrensel antioksidan olarak bilinen alfa lipoik asitin, hem redükte hem de okside formunun antioksidan etki göstermesi, diğer antioksidanları rejenere etmesi, suda ve yağda çözünabilir

olması, metallerle şelat oluşturma yeteneği, oksidatif strese bağlı hastalıkları önlemesi ve/veya ilerlemesini engellemesi ve bu bağlamda, anti-inflamatuvar etkili olması gibi özellikleri bulunmaktadır. Alfa lipoik asitin ülseratif kolit tedavisinde kullanıldığı az sayıda prelinik çalışmalara rastlansa da olası yararlı etkilerini hangi mekanizmalar üzerinden gösterdiği halen araştırılmaktadır (Laukoetteri, Nava ve Nusrat, 2008; Porter, Kalla ve Ho, 2020).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, birçok hastalığın etiyopatogenezinde bağırsak mikrobiyotasındaki disbiyozisin önemli bir etken olduğu ortaya konulmuştur. Genel olarak, disbiyozis terimi, patojenik mikroorganizma sayısındaki artış ile birlikte yararlı bakteri türleri topluluğundaki eş zamanlı azalmayı ifade etmektedir. Disbiyozis, faydalı bakterilerin eksikliği, patojenik mikroorganizmaların bolluğu ve mikrobiyal türlerdeki çeşitliliğin eksikliği olarak üç şekilde sınıflandırılmaktadır. Bu değişiklikler ayrı ayrı görülebildiği gibi bir arada da ortaya çıkabilmektedir. Antibiyotiklerin kullanılması ve/veya kötü beslenme alışkanlıkları ile akut ve kronik hastalıklar ve genetik varyasyonlar, bağırsağınbakteriyel homeostazisinibozarak disbiyozise neden olabilmektedir (Mahdavi-Roshan, Salari, Kheirkhah ve Ghorbani, 2022). Disbiyozisli bireyler hem ekzojen hem de endojen kaynaklardan gelen enfeksiyona karşı daha duyarlı hale gelebilir veya immün toleransın etkilenmesiyle otoimmünite, alerji ve/veya kronik inflamasyon gelişebilir (Gotschlich, Colbert ve Gill, 2019). Ülseratif kolit olgularında, bağırsak mikrobiyotasının total bakteri sayısında değişiklik ve bakteriyel çeşitlilikte azalma görülebilmektedir (S. Zhu ve diğerleri, 2022). Bu nedenle, son yıllarda, hastalığın tedavisinde bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesinin önemi vurgulanmıştır. Yapılan çalışmalarda da, alfa lipoik asitin mikrobiyal çeşitliliği azaltmadan bağırsak mikrobiyotasını modüle ettiği bildirilmiştir (Yadav, Dwivedi, Tripathi ve Tripathi, 2022; Tripathi ve diğerleri, 2023).

Günümüzde oldukça sık görülen ve yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen ülseratif kolitin önemli bir sağlık sorunu olması tedavisinde yeni yaklaşımların araştırılmasına yönlendirmiştir. Elde edilen bilgiler doğrultusunda, güçlü bir antioksidan özelliğe sahip alfa lipoik asitin aynı zamanda, anti-inflamatuvar ve bağırsak disbiyozis düzenleyici olması kolit tedavisinde bu yollar üzerinden potansiyel etki gösterebileceği hipotezini doğurmuştur. Bu tez çalışmasında, ratlarda asetik asit nedenli ülseratif kolit modelinde kolon mukoza hasarı, inflamasyonu, oksidasyonu ve bağırsak mikrobiyota ilişkisinin ortaya konulması ve alfa lipoik asit tedavisinin bu sistemler üzerine olan etkilerinin araştırması amaçlanmıştır.

Ülseratif kolit olgularında, alfa lipoik asitin bağırsak mikrobiyotası üzerine etkinliği ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışması, ülseratif kolitte tam olarak aydınlatılmamış patofizyolojik mekanizmaların ortaya konulmasına ve alfa lipoik asit tedavisinin potansiyel etkilerinin belirlenmesine katkı sağlamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ülseratif Kolit

Gastrointestinal sistemin kronik inflamasyonu ile karakterize edilen inflamatuvar barsak hastalığının, klinik, endoskopik ve patolojik özelliklerine göre *ülseratif kolit* ve *Crohn hastalığı* olmak üzere başlıca iki formu vardır (Peterson ve Wu, 2018: 1159-62; Démaris ve diğerleri, 2022). *Crohn hastalığı*, ağızdan anüse kadar tüm gastrointestinal sistemi etkileyebilen ve belirli dönemlerde alevlenmeleri olan kronik bir inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. Gastrointestinal sistemin *lamina propria* tabakasında kazeözsüz granülom ve çok çekirdekli dev hücrelerin görülmesi bu hastalık için karakteristiktir. *Ülseratif kolit* ise, rektumdan başlayarak proksimale doğru uzanan ve kolonla sınırlı olup kolonun tüm segmentinin mukozal ve submukozal tabakalarını tutabilen bir hastalıktır (Ng ve diğerleri, 2017). Ülseratif kolitte, ince bağırsaklarda meydana gelen tutulumlarda granülomların olmaması ile birlikte tipik bir mukozal inflamasyon tablosu dikkati çeker (Day, Leach ve Lemberg, 2017; Ng ve diğerleri 2017).

Crohn hastalığı ve ülseratif kolit birbirlerinden farklı olgular olsa da, bazı hastalarda bu hastalıkların ayırıcı tanısı yapılamamakta ve kolit olarak adlandırılmaktadır (Paredes-Mendez ve diğerleri, 2021). Hastanın yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen inflamatuvar bağırsak hastalığının etiyopatogenezi hala tam olarak ortaya konulamamış olsa da, *genetik* ve *çevresel* (sigara kullanımı, fiziksel aktivite düzeyi, beslenme alışkanlıkları, alerjenler, günlük uyku süresi, bazı ilaçların kullanımı ve psikolojik) faktörlerin, *bağırsak mikrobiyal florasının*, *bağırsak bariyer disfonksiyonunun* ve *immünolojik* (immün hücrelerin aşırı veya yetersiz aktivasyonu) bozuklukların etkisi olduğu bilinmektedir (Kucharzik ve diğerleri, 2006; Mehta ve Silver, 2013; Nagib, Tadros, ElSayed ve Khalifa, 2013; Ng ve diğerleri, 2017).

2.1.1. Epidemiyoloji

Ülseratif kolitin tüm dünyada görülme oranı, toplumlara ve coğrafik alanlara göre değişiklik göstermektedir. Dünya çapında endüstrileşmeyle birlikte hastalığın görülme sıklığında artış olduğu bildirilmiştir (Ek, D'Amato ve Halfvarson, 2014; Fumery, Dauchet, Vignal ve

Gower-Rousseau, 2014). Ülseratif kolitin yıllık insidansı 100000 kişide 9-20 kişi arasında, prevalansı ise 100.000 kişide 156 ile 291 vaka arasında değişmektedir. Ayrıca, yetişkinlerde ülseratif kolitin prevalansının *Crohn* hastalığına göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Lynch ve Hsu, 2023). 2023 yılı verilerine göre, ülseratif kolit insidansının dünya çapında giderek artış gösterdiği ve prevalansının yaklaşık 5 milyon vaka olduğu tahmin edilmektedir (Le Berre, Honap ve Peyrin-Biroulet, 2023). Kadın ve erkeklerde hastalığın insidansının benzer oranlarda olduğu bildirilmiştir. Her yaş aralığında görülebilen ülseratif kolite 15-30 ve 60-80 yaş aralığında daha sık karşılaşıldığı saptanmıştır (İspiroğlu, Kantarçeken, Çiralık ve Bülbüloğlu, 2021). Ülkemizde ülseratif kolit insidansı 2,6/100000 ve prevalansı %66,6; *Crohn* hastalığı için ise, insidans 1,4/100 ve prevalans %33,3 olarak raporlanmıştır (Yüksel, Bayram, Cindoruk ve Küçük, 2022). Ülkemizde Batı Karadeniz bölgesinde yapılan bir çalışmada, ülseratif kolitin insidansı 4,87/100000; *Crohn* hastalığı için 2,09/100000 olarak bulunmuştur (Can ve diğerleri, 2019). Çok merkezli yapılan bir çalışmada ise, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının Türkiye’de en çok erkeklerde ve 20-30 yaş aralığında görüldüğü bildirilmiştir (Akyüz ve diğerleri, 2024). Ülseratif kolitin görülme sıklığının artışıyla birlikte sağlık ve maliyete bağlı küresel yükü de giderek artmaktadır. Yalnızca Amerika Birleşik Devletleri’nde, ülseratif kolit ile ilgili doğrudan ve dolaylı maliyetlerin yıllık 8,1 milyar - 14,9 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir (Cohen ve diğerleri, 2010, Pakdin, Zarei, Bagheri- Lankarani ve Ghahramani, 2023).

Özellikle, batı diyeti ile beslenen gelişmiş toplumlarda inflamatuvar bağırsak hastalığının görülme sıklığındaki artış ve bu olgularda kolorektal kanser görülme riskinin olması hastalığın önemini bir kez daha vurgulamaktadır. Sporadik kolorektal kanser hastalarıyla karşılaştırıldığında, kolit ilişkili kolorektal kanser hastalarının daha genç yaşta olduğu ve mortalite oranının daha yüksek seyrettiği, multipl kanser özellikleri taşıdığı ve daha fazla invaziv lezyonlar görüldüğü belirlenmiştir (Zhao ve diğerleri, 2022).

2.1.2. Etiyoloji

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının spesifik nedeni bilinmemekle birlikte, ülseratif kolitte en önemli bağımsız riskin aile öyküsü olması, hastalığın birincil olarak genetik bir bileşeni olduğunu düşündürmektedir. Ülseratif kolitli bireylerin birinci derece yakınlarında, kolit görülme olasılığı diğer popülasyona göre dört kat daha fazladır. Ayrıca hastalığın görülme sıklığının Yahudi popülasyonunda, diğer etnik kökenlere göre daha fazla olduğu da

bildirilmiştir (Lynch ve Hsu, 2023). Erişkinlerde kolit; stres, sigara ve alkol tüketimi, genetik faktörler, yanlış beslenme alışkanlıkları, mikrobiyal etkenler, iskemi, ilaçlar, immün yetmezliğin sekonder bozuklukları veya radyasyon kaynaklı meydana gelebilmektedir. *Enfeksiyon kaynaklı kolit*, psödomembranöz kolitten sorumlu *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Mycobacterium tuberculosis* ve *Clostridium difficile* gibi bakteriyel ya da *Entamoeba histolytica* gibi parazitler ve sitomegalovirüs gibi virüs nedenli olabilir. *Mikroskobik kolitin*, özellikle yaşlılarda kronik diyarenin yaygın bir nedeni olduğu ve klinik olarak birbirine çok benzeyen kollajenöz ve lenfositik kolit olmak üzere iki ana alt tipi bulunduğu bildirilmiştir. Mikroskobik kolitin kesin tanısı histolojik olarak kalınlaşmış bir subepitelyal kollajen bandının varlığı (kollajenöz kolit) veya yokluğunun ortaya konulmasıyla yapılmaktadır. Çölyak hastalığı, tip 1 diyabet, tiroid fonksiyon bozukluğu ve sedef hastalığı gibi otoimmün hastalıklarda sekonder nedenli olarak da kolit görülebilmektedir. *İskemik kolitte*, kolonik mukozal inflamasyon, ülserasyon ve kanama nedeniyle dokuya kan akışının yeterli sağlanamaması (hipoperfüzyon) sonucu kolonun metabolik ihtiyaçları karşılanamamaktadır. *İlaça bağlı gelişen kolite*, nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar, proton pompası inhibitörleri, H2 reseptör antagonistleri, beta blokerler, statinler, immünsüpresif ilaçlar ve vazopresörler gibi ilaçların uzun süreli kullanımları sonucu rastlanmaktadır. *Radyasyon koliti*, jinekolojik, ürolojik ve rektal kanserler için pelvik radyoterapide ikincil olarak ortaya çıkabilmektedir (Azer ve Sun, 2022).

2.1.3. Patogenez

Ülseratif kolitte meydana gelen inflamasyonun patogenezinde, *genetik* (anormal x kromozomu ile daha sık inflamatuvar bağırsak hastalığı görülmesi), *etnik köken* (Yahudilikte katı beslenme kurallarının olması, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi), *çevresel faktörler* (sigaranın musin yapımını ve intestinal permeabilityi değiştirmesi), *immünolojik mekanizmalar* (humoral ve hücreli faktörlerin) birer etken olabilmektedir (Chen ve diğerleri, 2022).

Genetik faktörler arasında 215 gendeki mutasyonların inflamatuvar bağırsak hastalığının gelişme riskini artırdığı tespit edilmiştir. İnterlökin (IL)-23 reseptör, *Janus kinaz-2* (JAK2) veya sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3) gibi bazı lokuslar hem ülseratif kolit hem de Crohn hastalığı için ortaktır. IL-10, IL-22 veya interferon-gama (IFN-

γ) ülseratif kolite, nükleotid bağlanma ve oligomerizasyon domeyn-2 (NOD2) ve otofaji ilişkili 16-benzeri-1 (ATG16L1) ise *Crohn* hastalığına spesifiktir (Guan, 2019). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında en önemli defektlerden birisi bağırsak epitel geçirgenliğinin artmasıdır. Çevresel risk faktörleriyle ilgili olarak beslenme alışkanlıkları, tütün, alkol ve uyuşturuculara maruz kalma, antibiyotiklerin ve nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçların kullanımı ve stres, anksiyete veya depresyon gibi faktörler inflamatuvar bağırsak hastalığının seyrini olumsuz etkilemektedir (Serrano-Fernandez ve diğerleri, 2024).

İnflamatuvar yanıtta miktarı artan ve bu yanıtın devamlılığını sağlayan sitokinler, yardımcı T1 hücreleri [proinflamatuvar sitokinler; TNF- α , IL-1beta (IL-1 β), -2, -6, -8, -12, IFN- γ] tarafından, inflamasyonu azaltan sitokinler (anti-inflamatuvar sitokinler; IL-4, -10, -11, -13) ise yardımcı T2 hücreleri tarafından üretilmektedir. Proinflamatuvar sitokinler inflamasyonu alevlendirirken, anti-inflamatuvar sitokinler yangısel reaksiyonu yatıştırmaktadır. Ülseratif kolit olgularında inflamatuvar süreç, yardımcı T (Th)1 ve T2 lenfositlerinin aktivasyonundaki düzensizlik sonucu sitokin dengesizliğine bağlı olarak değişebilmektedir (İspiroğlu, Kantarçeken, Çiralık ve Bülbüloğlu, 2021). Bu faktörlerin etkisi sonucu, bağışıklık hücrelerinin fonksiyonunun artmasıyla, yoğun miktarda sitokin ve inflamatuvar medyatörün açığa çıkmasıyla bağırsak dokusunda mukozal hasar meydana gelmektedir. Normal şartlarda bu bariyeri geçemeyen antijenler ve proinflamatuvar moleküller hastalıkla birlikte bağırsak geçirgenliğinin artışıyla epiteli geçebilmektedir (Chen ve diğerleri, 2022).

Ülseratif kolitte inflamatuvar yanıtın uyarılmasıyla, bağışıklık mekanizmalarının doğal tepkileri sonucu serbest radikaller meydana gelmektedir. Ortamda yeterli düzeyde düzeyde olmayan antioksidanlar serbest radikaller üzerinde süpürücü etki gösteremez ve biriken oksidasyona bağlı olarak bağırsak dokusunda hasar meydana getirmesine neden olur. Doku hasarıyla da inflamatuvar süreçler daha da şiddetlenmektedir (İspiroğlu ve diğerleri, 2021). Ülseratif kolit hastalarında, kolon epitelinin mukoza, submukoza ve seroza tabakalarında antioksidan enzim ekspresyonlarında bir azalma olduğu belirlenmiştir (Jawhara, 2024).

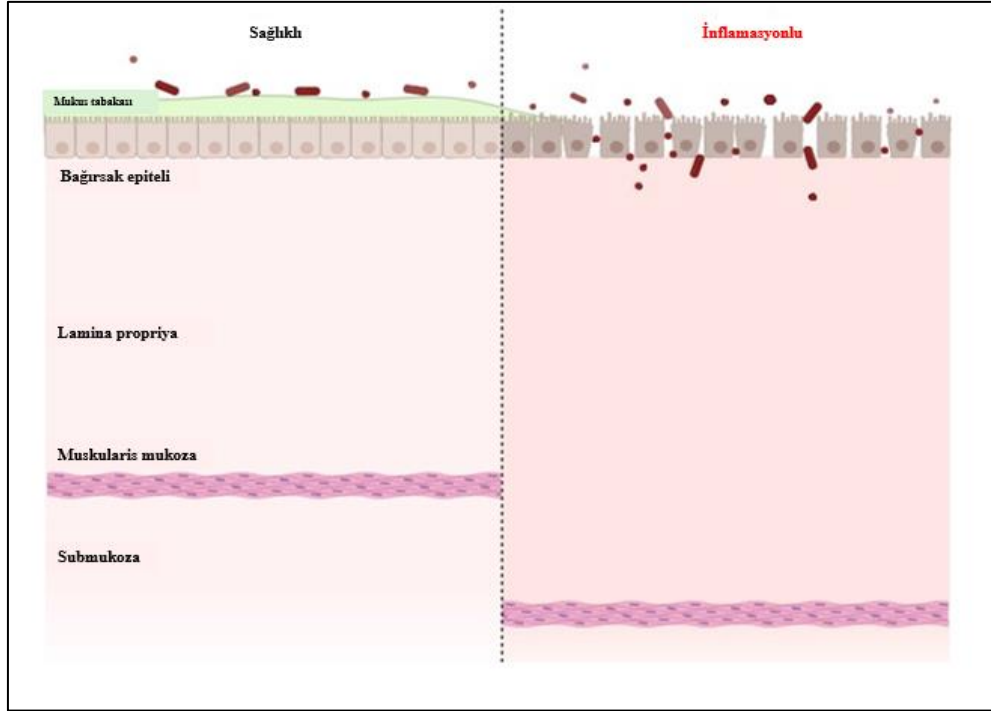
Bağışıklık sisteminin temellerinin oluşmasında büyük katkısı olan bağırsak mikrobiyotasının bileşenlerinde değişikliklerin olması bağırsakta immunolojik faktörlerin azalmasına ve ülseratif kolite yakalanma riskinin artmasına neden olmaktadır (Eminler, Toka ve Uslan, 2017). Ayrıca, genetik olarak doğal immun savunmadaki birtakım

anormalliklerin sonucunda bağırsak mikrobiyotasının değişmesine bağlı olarak da ülseratif kolite yakalanma olasılığı artmaktadır. Hastalığıdaki anormal immün yanıtın, normal olan bağırsak mikrobiyotasına mı yoksa anormal bağırsak mikrobiyotasına özgün immün bir yanıt mı geliştiği konusunda çalışmalar devam etmektedir. Bu konu, yıllardır araştırılmakta olup *in vivo* çalışmalara göre, her iki durumda da kolit gelişebileceği ya da iki durumun aynı anda birlikte görülerek, kolite neden olabileceği belirtilmektedir (Butto ve Haller, 2016).

İnflamatuvar süreçler

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında, intestinal mukozada meydana gelen inflamasyon, bakteriyel toksinler ya da tanınmayan bir antijen tarafından yapılan uyarıya yanıt olarak gelişmektedir. Ülseratif kolitte, bağırsak epitelinde meydana gelen hasarın iyileşmesi, çok faktörlü mekanizmalarla düzenlenen dinamik bir biyolojik süreçtir (Iizuka ve Konno, 2011). Bağırsak mukoza bariyerindeki hasar, geçirgenliğinin artışı, bakteriyel antijenlerin gastrointestinal lümene geçişine, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12 ve TNF- α) ve IFN- γ 'nın aşırı miktarda salınmasına neden olmaktadır (Neurath, 2014). Bu bağlamda, mukozal tabakada koruyucu bariyer faktörlerinin dengesindeki bozulma, bakteriyel proliferasyon, sitokin ve inflamatuvar medyatörlerdeki değişim (Şekil 2.1.) hastalığın patogenezi etkilemektedir (Dieleman ve diğerleri, 1994; Privitera ve diğerleri, 2021; Y. Chen ve diğerleri, 2024).

Yapılan çalışmalar, serumdaki IL-6 düzeyi ile inflamatuvar bağırsak hastalıklarının şiddeti arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu göstermektedir. IL-6 ve IL-23, Th17 hücrelerini aktive etmek için sinerjik olarak çalışmaktadır. Enterokolit ve kolit oluşturulmuş fare deneyi modellerinde, IL-23 ile aktive olan Th17 hücrelerinin önemli miktarlarda IL-17 ve IL-6 ürettiği bulunmuştur, bu da bu sitokinlerin inflamatuvar süreçte sinerjistik bir etki gösterdiğini göstermektedir. Ayrıca, IL-17 ve IL-23'ün kronik bağırsak inflamasyonu gelişimine neden olduğu vurgulanmaktadır (Repici ve diğerleri, 2024). IL-6, IL-17 ve IL-23 üretiminden sorumlu olan patojenik T hücrelerinin gelişimi ve artışında önemli bir rol oynamaktadır (Korta, Kula ve Gomułka, 2023).



Şekil 2.1. Kolon epitelinin inflamasyonla birlikte değişimi (BioRender programı kullanılarak çizilmiştir).

Ülseratif kolit de dahil olmak üzere bütün inflamatuvar bağırsak enfeksiyonlarındaki yangıya, *eikosanoidler* (prostaglandinler, lökotrienler ve tromboksanlar) olarak bilinen bir dizi bileşiğin de etken olduğu ifade edilmektedir. *Eikosanoidlerin* biyosentezinde merkezi bir ara ürün olan araşidonik asit, fosfolipaz A2'nin etkisiyle hücre zarından salınır. Fosfolipaz A2 inflamasyon sırasında daha fazla üretilerek prostaglandinler/tromboksanlar (siklooksijenaz aracılığıyla) ve lökotrienler (lipooksijenaz aracılığıyla) adı verilen bir veya daha fazla benzer bileşik grubuna dönüştürülmektedir. Prostaglandinler, gastrointestinal sistem mukozasının korunmasında hayati öneme sahiptir. Prostaglandinlerin oluşmasında temel bir enzim olan siklooksijenaz (COX)-1 ve -2, araşidonik asitin parçalanmasını sağlamaktadır. COX-1 etkisiyle oluşan prostaglandinler, damar endotel yapısını ve mide-bağırsak mukozasını korumaktadır. Ayrıca, prostaglandinler, pıhtılaşma mekanizmasını da düzenleyerek trombus oluşumunu engellemektedir. Lökotrienler, düz kasların yavaş ve uzun süreli kasılmasından ve şiddetli inflamatuvar yanıtta sorumludurlar. Ancak, çeşitli uyaranlar sonucu prostaglandin sentezinin artışı inflamasyon bulgularının ortaya çıkmasına aracılık etmektedir. İnflamasyonun ilerlemesiyle birlikte COX-2 etki göstermeye başlayarak yangı belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Crittenden ve diğerleri, 2021; Sztolsztener, Hodun ve Chabowski, 2022; Niu, Li, Yang ve Sun, 2024; Shao, N. Zhao ve Y. Chen, 2024).

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında, inflamasyonun aktivasyonuna yol açan diğer bir faktör mast hücreleridir. Mast hücreleri, heparin ve histamin açısından zengin bağışıklık sisteminde görev alan beyaz kan hücreleridir. Yüzeylerinde alerjik durumlarda sayısı artan immunoglobulin (Ig) E'ye bağlanabilen çok sayıda reseptör bulunmaktadır. IgE ile mast hücresi, alerjik antijen varlığında bir araya gelerek kompleks oluşturmaktadır. Bu kompleks, zar geçirgenliğini artırarak salgı hücrelerini, lökositleri ve trombositleri harekete geçirmesiyle inflamatuvar süreci desteklemektedir. İnflamasyonlu bağırsak mukozasında mast hücrelerinin sayısı da artmaktadır. Prostaglandin kaynaklarından biri, mast hücreleri olup diğerleri makrofajlar ve endotel hücreleridir (Y. Guo ve diğerleri, 2023).

Mast hücrelerinin sayısı dokudaki histamin seviyeleriyle güçlü bir korelasyon göstermektedir. Mast hücrelerinin degranülasyonu sırasında, histamin, prostaglandin D2, lökotrien C4, trombosit aktive edici faktör, heparin ve nötr proteazlar dahil olmak üzere çeşitli araçlar salınır. Vasküler geçirgenliği, lökosit infiltrasyonunu ve düz kas kasılmasını arttırdığı bilinen ana mast hücre aracısı olan histaminin, bağırsaklardaki inflamasyonda rolü olduğu düşünülmektedir. Mast hücreleri, proinflamatuvar sitokinleri artırırken bir yandan da doku iyileşmesini regüle etmektedirler. Yapılan çalışmalarda, indüklenen kolit modellerinde, mast hücrelerinin bağırsak inflamasyonu ve fibrozisiyle ilişkili olduğu saptanmıştır (Luchini, de Oliveira, Pellizzon, Di Stasi ve Gomes, 2009; Mischopoulou ve diğerleri, 2022). Asetik asitle indüklenen rat kolit modelinde, kolon dokularında myeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesi, mast hücresi degranülasyonu ve proinflamatuvar sitokin (IL-1 β , -4, -6, TNF- α ve IFN- γ) düzeylerinde artış gösterdiği bulunmuştur (Bitencourt ve diğerleri, 2023).

Yapılan deneysel çalışmalarda, alfa lipoik asitin inflamasyon durumlarında proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β , IL-6 ve TNF- α azalmasına, anti-inflamatuvar sitokinlerden IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 artışına katkı sağladığı belirlenmiştir (Zwierz, Chabowski ve Sztolsztener, 2023; Roy ve diğerleri, 2024; Ruchika, Bhardwaj ve Saneja, 2024). Yapılan bir çalışmada, alfa lipoik asit uygulamasının, metabolik disfonksiyon ilişkili steotatik karaciğer hastalığı modeli oluşturulmuş ratlarda, sitokinleri modüle ederek COX-1 ve COX-2 ekspresyonunu azalttığı saptanmıştır (Zwierz, Chabowski ve Sztolsztener, 2023). Yüksek yağlı diyetle beslenen ratlar üzerine yapılan bir çalışmada, alfa lipoik asit tedavisinin sol ventriküldeki *eikosanoid* ve prostaglandin sentez yollarındaki proteinlerin ekspresyonu üzerine etkisine bakılmıştır. Alfa lipoik asit ile tedavinin kardiyak nükleer faktör kappa B (NF- κ B)

ekspresyonunu inhibe ederek IL-1 β ve IL-6 düzeylerini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca, COX-2 ekspresyonunu azaltarak araşidonik asitten prostaglandin E2 oluşumunu da azalttığı gösterilmiştir (Sztolsztener, Hodun ve Chabowski, 2022).

Oksidasyon

Ülseratif kolit olgularının nedeni ne olursa olsun inflamatuvar yanıt uyarılmakta, makrofajlardan salınan sitokinler (TNF- α , IL-2 gibi) artmakta ve T hücrelerinin proliferasyonları ile birlikte sitotoksik hale gelmektedir. Bu inflamatuvar yanıt sonucu, lenfosit ve lökositlerin katkısıyla araşidonik asit metabolizmasındaki ürünler ve serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasıyla doku yıkımlanması başlamaktadır. Vücutta metabolik yan ürün olarak sentezlenen serbest oksijen radikalleri detoksifiye edilemezse zararlı etki oluşturmaya başlayarak hücre hasarına yol açmaktadır (İspiroğlu ve diğerleri, 2021). ROS birikimi dokuda lipit, protein ve nükleik asitlerde hasara neden olmaktadır. ROS süperoksit, hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri ve singlet oksijen (O₂-) dahil olmak üzere radikal olmayan reaktif bileşiklerden oluşmaktadır (Schieber ve Chandel, 2014). Oksidatif stres, fazla miktarda ROS üretimine bağlı olarak biyomoleküllerin hasar görmesine, mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna, bağışıklık hücrelerinin toplanmasına, epitel hücre hasarına, antioksidan savunma sisteminin bozulmasına ve inflamatuvar yolların aktivasyonuna yol açmaktadır. Bu faktörlerin, ülseratif kolit etiyopatogenezinde rol aldığı bilinmektedir (Muro ve diğerleri, 2024).

Serbest radikallerin, hücre zarlarındaki yağ asitleri ile reaksiyona girerek zar bütünlüğünün bozulması olayı “lipit peroksidasyonu” olarak bilinir ve bu reaksiyonun son ürünü olan “malondialdehit” (MDA) oksidatif hasarın değerlendirmesinde kullanılır. Serbest oksijen radikallerinin üretimi ve süpürülmesi süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan sistemin koruma mekanizmaları ile kontrol altına alınabilmektedir. İnflamasyona karşı mücadelede bir diğer faktör de fagositozudur. MPO enzimi, nötrofillerin fagosit ettiği bakterileri sindirecek ürünlerin yapımını katalizlemektir (İspiroğlu ve diğerleri, 2021). Bu bilgiler ışığında yapılan prelinik ve klinik çalışmalarda, oksidatif stresin ülseratif kolit patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir (Piechota-Polanczyk ve Fichna, 2014; Rana, Sharma, Prasad, Sinha ve Singh, 2014; Z. Wang, Dong, Zhang, Zhai ve Ge, 2016). Uzun süre devam eden oksidatif stresin ise, kolonik mukozal tabakayı bozarak bakterilerin daha fazla yayılmasına yol açtığı ve hastalığın patogenezine olumsuz yönde

etkilediği bilinmektedir (Tian, Wang ve Zhang, 2017). Ülseratif kolitte, ROS/RNS düzeyinin artması ve hastalığın patofizyolojisinde kritik bir öneme sahip olması nedeniyle, tedavide antioksidanların kullanılabilirliği araştırılmakta, bu ajanların oksidatif stres ve redoks modülasyonunu sağlayarak etkili olabildiği düşünülmektedir (Pravda, 2005; Rana ve diğerleri, 2014). Ayrıca, ROS/RNS, deoksiribonükleik asite (DNA) doğrudan saldırarak ülseratif kolitte oksidatif DNA hasarına neden olabilmektedir. Uzun süreli oksidatif strese maruziyet sonucu hücresel onarım sistemleri işlevlerini yerine getiremeyeceği için zaman içerisinde iyileştirilemeyen DNA hasarı meydana gelmektedir. Oksidatif DNA hasarı hücrelerin döngüsünü etkileyip mutasyonlara ve kansere yol açabileceğinden hücreler için tehlikelidir. Ülseratif kolitte, bağırsak lenfositlerinde oksidatif stresin artmasına bağlı olarak DNA hasarları oluşabildiği ve bağırsak kanseri için predispozisyon yarattığı rapor edilmiştir (Muro ve diğerleri, 2024).

Oksidatif stres ve inflamasyona karşı hücresel reaksiyonları kontrol eden iki ana transkripsiyon faktörü bulunmaktadır. Bunlar, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili Faktör 2 (Nrf-2) ve NF- κ B yolaklarıdır (Park, Cha, Lee Kim ve Choi, 2021). Kolon mukozasında oksidan/antioksidan dengesizliğinin sonucunda oksidatif stresin artmasıyla, ülseratif kolitte inflamatuvar yanıtları artıran NF- κ B yolağının aktivasyonu tetiklenmektedir. NF- κ B, belirli DNA dizilerine bağlanarak adezyon moleküllerinin ve proinflamatuvar sitokinlerin gen transkripsiyonunu uyarmaktadır. Proinflamatuvar genlerin transkripsiyonu, bağırsak mukozasındaki inflamatuvar yanıtı neden olan inflamatuvar sitokinlerin ve diğer moleküllerin üretimine yol açmaktadır. Nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık hücreleri, bu inflamatuvar sinyaller tarafından bağırsak dokusu inflamasyon alanına çekilerek kronik inflamasyon, doku hasarı ve ülserasyonla karakterize ülseratif kolite neden olabilmektedir. Nrf-2, fazla ROS üretimini inhibe ederek mukozal dengenin korunmasında önemli rol oynayan ve normal koşullar altında kendisinin inhibitör proteini *Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein-1 (Keap1)* tarafından sitoplazmada tutulan bir transkripsiyon faktörüdür. Nrf-2, antioksidan etkileri sayesinde inflamatuvar yanıtı ve mukozal hasarı azaltıcı bir etkiye sahiptir. Nrf-2, ROS seviyelerini modüle ederek redoks dengesinin ve hücresel homeostazın korunmasında hayati önem taşıyan SOD, CAT, GPx ve hem oksijenaz-1 (HO-1) çeşitli enzimatik antioksidanların ekspresyonunu kontrol etmektedir. Hücreler oksidatif strese maruz kaldığında *Keap1*'den Nrf-2 salınır ve çekirdeğine doğru yer değiştirir. Çekirdeğe girdikten sonra Nrf-2, hedef genlerin promotör bölgelerindeki antioksidan yanıt

elemanlarına bağlanarak detoksifikasyon, antioksidasyon ve anti-inflamatuvar yanıtlarda görev alan genlerin transkripsiyonuna yol açmaktadır (Muro ve diğerleri, 2024).

Rat kolit modellerinde, tek başına veya tedavilerle kombine şekilde antioksidan ajan uygulamasının proinflamatuvar sitokinlerin düzeyinde anlamlı şekilde azalmayı sağladığı belirtilmektedir (Ariturk ve diğerleri, 2024; HosseiniRavesh ve diğerleri, 2024; Liu, 2024). Kolit modeli indüklenmiş ratlarda yapılan bir çalışmada, alfa lipoik asit uygulamasının *Keap1* ve Nrf-2 sinyal yollarını modüle ederek oksidatif stresi ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (Jiang, Zhai, Zhao, Zhang ve Duan, 2024). Ülseratif kolit indüksiyonu yapılan farelerde, alfa lipoik asitin, p53/kaspaz-3 yolu ile ilişkili proteinin ekspresyon seviyelerini düzenleyerek bağırsak hücresi apoptozunu inhibe ettiği ve böylece, kolonik oksidatif stres ve ferroptoz (bilinen apoptoz ve nekrozdan farklılık gösteren, demir bağımlı lipid peroksit birikiminden kaynaklanan hücre ölüm şekli) üzerindeki önleyici etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Jiang ve diğerleri, 2024).

3- Nitrotirozin

3-Nitro-L-tirozin (3-NT), nitrojen türlerinin, protein içermeyen veya proteine bağlı tirozin kalıntıları ile reaksiyonundan oluşmaktadır. Protein nitrasyonu olarak bilinen bu durum, oksidatif stresin eşlik ettiği inflamatuvar hastalıklar, aterosklerotik lezyonlar, romatolojik, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalıkta gözlenmektedir. Tirozinin 3-NT'ye olan oksidasyonu geri dönüşümsüz olduğu için bu karakteristik özelliğinden dolayı 3-NT, hastalıkların patogenezinin tanımlanmasında ve tedavi etkinliğinin belirlenmesinde önemli rol oynayan oksidatif stres için bir biyobelirteç olarak kabul edilmektedir (Calderón-Torres, Sarabia-Curz, Ledesma-Soto, Murguía-Romero ve Terrazas, 2019; Senturk, Alver, Karkucak, Küçük ve Ahmadi Rendi, 2023; Anh, Huynh, Nguyen, Nguyen ve Doong, 2024; Zheng, ve diğerleri, 2024).

Tirozin, diğer adıyla hidroksifenilalanin, aromatik aminoasit grubundan esansiyel olmayan bir aminoasittir. Çoğu protein, doğal olarak %3 oranında tirozin kalıntıları içermektedir. Tirozin nitrojen dioksit bir hidroksil grubu taşıyan hafif hidrofilik karakterdedir. Tirozin, genellikle proteinlerin yüzeyinde bulunduğu için nitrasyona açıktır. Ortamda bulunan nitrojen dioksit (NO₂) varlığında protein-tirozin nitrasyonu ve proteinlerin translasyonu sonrası (2-Amino-3-(4-hidroksi-3-nitrofenil) propanoik asit) 3-NT meydana

gelmektedir. Protein veya tirozin kalıntılarının nitrasyonu, proteinin yapısını ve içeriğini değiştirerek fonksiyonlarını da farklılaştırabilmektedir (Bandookwala, Thakkar ve Sengupta, 2020a).

Reaktif nitrojen türlerinden peroksinitrit (ONOO-) önemli bir nitratlayıcı ajandır. Diğer RNS türlerinden NO₂, nitroz asit, nitril klorit ve inflamasyon hücrelerinden üretilen bazı peroksidazlar, tirozinin nitrasyonuna aracılık ederek 3-NT oluşumuna neden olmaktadır (Ghosh ve diğerleri, 2024; Masahiro, Suzuki, Kassai ve Konishi, 2024). Glutamin-sentaz (karaciğer hastalıkları ile ilişkili), manganez-süperoksit dismutaz (nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili), fosfatidilinositol 3-kinaz, tirozin hidroksilaz, sıgır serum albumini ve siklin bağımlı 2- kinaz (CDC2-kinaz) gibi proteinler tirozin kalıntılarıyla nitratlanmaktadır. Proteomik bir yaklaşıma göre, inflamatuvar yanıt sonucu modifiye edilen 40'tan fazla NT taşıyan protein olduğunu bildirilmiştir. ONOO- ve ilgili reaktif nitrojen türleri, proteinlerdeki triptofan ve tirozinin aromatik yan zincirlerinin nitrozatif stres adı verilen oksidasyon ve nitrasyonundan sorumludur. Oksidatif stres koşulları altında meydana gelen protein hasarı, protein yan zincirlerinin ROS veya RNS tarafından direk oksidasyonu veya lipid peroksidasyonu ve glikozidasyonu sonucu oluşan ikincil ürünlerin oluşmasıyla belirlenmektedir. Nitrotirozin tek başına muhtemelen ONOO- için bir belirteç olmamakla birlikte daha genel olarak nitrozatif stresin bir göstergesidir. Biyolojik sistemlerde protein-tirozun nitrasyonu, ONOO- oluşumunun biyobelirteci, 3-NT oluşumunun ise ONOO-varlığının biyobelirteci olduğu düşünülmekteydi. Ancak, daha sonra yapılan bazı çalışmalarda, hemoglobin ve miyoglobin gibi hemoproteinlerin sodyum nitrit/hidrojen peroksit (NaNO₂/H₂O₂) bağımlı olarak tirozinin nitratlanmasını katalize ettiği ve 3-NT'yi oluşturabildikleri gözlemlenmiştir (Ahsan, 2013; Wang ve diğerleri, 2021).

Klasik reaktif oksijen ve nitrojen türlerine ek olarak proteinlerdeki oksidatif hasar, hipokloröz asit (HOCl) gibi oksidanlar ve dolaşımda bulunan MPO gibi metallo-enzimler tarafından üretilen tirozin radikalleri gibi oksitlenmiş aminoasitler tarafından da meydana gelebilmektedir. Protein tirozin nitrasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA zinciri kırılmaları, hücre membran hasarı, fonksiyonel enzimlerin inaktivasyon, kademeli hücre ölümünün sinyal yanıtlarının aktivasyonu gibi durumlarla sonuçlanabilmektedir. Bu temel biyolojik işlevlere göre, nitrozatif stres, hücrelerde sinyal iletimi, mitokondriyal enerji metabolizması, haberci ribonükleik asit (mRNA) transkripsiyonu, post-translasyonel protein modifikasyonu

ve iyon kanal fonksiyonu gibi çeşitli mekanizmalarla hastalıkların oluşmasını etkilemektedir (Wang ve diğerleri, 2021).

İnsanlarda bir çok patolojik durumlarda, 3-NT'nin immünoreaktivitesi rapor edilmiştir. ONOO- ve çeşitli RNS türleri tarafından saldırıya uğrayan serbest/proteine bağlı tirozinin, serbest/proteine bağlı 3-NT formuna dönüşmesi hastalıkların şiddet aktivitesinin mekanizması hakkında fikir verebilmektedir. RNS, esas olarak nitrik oksit, NO₂ ve ONOO- 'dan oluşur (Di Meo, Reed, Venditti ve Victor, 2016). ONOO- çok hızlı bir şekilde proteinlerin tirozin rezidüleri ile reaksiyona girerek 3-NT bileşiğini oluşturur. Proteinlerde meydana gelen bu oksidatif hasar kolit gibi dejeneratif hastalıkların gelişimine yol açar. Daha önce farklı kolit modellerinde kolon dokusunda oksizide bileşik 3-NT düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Almási ve diğerleri, 2020; DE Angelis, Dong, Pham ve Andersen, 2021). İndüklenebilir nitrik asit sentazın ekspresyonu ve tirozin nitrasyonunun kolon kanser gelişimi ve ilerlemesini gösteren bir belirteç olabileceği de bildirilmiştir (Gochman ve diğerleri, 2012).

İnsanlarda aterosklerozis, multiple skleroz, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları ile hayvan modellerinde kistik fibrozis, astım, akciğer hastalıkları, miyokardiyal fonksiyon bozuklukları, felç, amiotrofik lateral skleroz, kronik hepatit, siroz, diyabet gibi patolojilerde 3-NT değerlerinin yükseldiği belirlenmiştir (Gurung ve Bhattacharjee, 2018; Wang ve diğerleri, 2021).

İnflamazomların rolü

İnflamazomlar birçok ekzojen ve endojen tehlikeli uyarılara karşı inflamatuvar yanıtı tetikleyen doğal bağışıklık sisteminin aracıları olarak kabul edilirler. Bilinen dört inflamazom bulunmaktadır ve Nod-benzeri reseptör proteini-3 (NLRP3) inflamazomunun en çok araştırılan inflamazom kompleksi olduğu bilinmektedir. Bu kompleks, immün sistem hücrelerine ulaşan tehlike sinyallerini tanıyan sitozolik NLRP3 proteini, kaspaz aktive edici bölge içeren apoptoz ilişkili benek benzeri protein (ASC) ve pro-kaspaz-1'den oluşmaktadır. Çeşitli endojen ve ekzojen uyarılar (reaktif oksijen türlerinin artışı, fazla ATP üretimi, endoplazmik retikulum stresi, bakteri, virüs ve çevresel irritanlar gibi) NLRP3 inflamazom kompleksinin oluşumunu tetiklemektedir. Aktive edildiğinde, NLRP3 bu üç bileşeni bir araya getirmekte ve pro-kaspaz-1 kesilerek aktif kaspaz-1 formuna dönüşmektedir. Aktif

kaspaz-1, pro-IL-1 β ve pro-IL-18'i biyolojik olarak aktif formlarına (IL-1 β ve pro-IL-18) dönüştürerek inflamatuvar yanıtı şiddetlendirmektedir (Ge, Chen, Zhao, Mu ve Zhang, 2021). Aynı zamanda, efektör protein kaspaz-1 Gasdermin-D (GSDMD)'i N terminal bölgesinden kesmektedir. GSDMD hücre membranındaki fosfolipitlere zarar vererek ve lipid zarlara polimerize olarak gözenekler oluşturmaktadır. Böylece, çok sayıda proinflamatuvar sitokinin salgılanmasına aracılık etmekte, ardından ozmotik şişme ve piroptoz (inflamasyonla tetiklenen hücre ölüm şekli) yol açmaktadır (Shi ve diğerleri, 2015). Deneysel ülseratif kolit modellerinde ve inflamatuvar barsak hastalığı olan bireylerin kolon mukozasında NLRP3 inflamazomunun aktive olduğu ve hastalığın patogenezinde rol oynayabileceği bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2017; Serrya, El-Sheakh ve Makled, 2021; Xue ve diğerleri, 2022; Dai ve diğerleri, 2023). Aşırı ROS üretimi veya antioksidan savunma sisteminin yetersiz olması oksidatif stresi tetikleyerek NLRP3 inflamazomunu aktive edebilmektedir (Zhen ve Zhang, 2019). Ayrıca, bağırsak florasındaki değişiklikler NLRP3 inflamazomunu aktive ederek bağırsakta inflamatuvar hasarı da şiddetlendirebilir. Bu bilgilerden hareketle, NLRP3 inflamazomu ve bununla ilişkili olan piroptozun ortaya konulması ülseratif kolitin tedavisinde umut verici bir hedef olarak görülmektedir (De la Fuente ve diğerleri, 2014; Seo ve diğerleri, 2015; X. Li ve diğerleri, 2022; Xue ve diğerleri, 2022).

Bağırsak mikrobiyotası

Dışkı mikrobiyomunun karakterizasyonu, örneklerin noninvaziv olarak kolay yoldan toplanabilmesi nedeniyle birçok bağırsak hastalıkları çalışmalarının odağı olmuştur. Kolit gibi inflamatuvar barsak hastalıkları üzerine yapılan çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği ve bileşimindeki değişiklikleri ifade eden disbiyozisin hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Ahmed, Roy, Khan, Septer ve Umar, 2016; S. Zhu ve diğerleri, 2022). Ülseratif kolitli olgularda aktif ve iyileşme dönemlerinde bağırsak mikrobiyotasının nasıl değiştiği ile ilgili çok az sayıda bilimsel makaleye rastlanmış ve konu ile ilgili fikir birliğine varılmadığı görülmüştür (S. Zhu ve diğerleri, 2022). İnflamatuvar bağırsak hastalığının tam olarak nasıl geliştiği halen belirsizliğini koruyor iken, bağırsak mikrobiyotası ile mukozal bağışıklık sistemi arasındaki homeostaz dengesizliğinin hastalığa önemli bir katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Zhang , Li, Wang, Wang ve Bi, 2019; M. Li ve diğerleri, 2022).

Ülseratif kolit dahil inflamatuvar bağırsak hastalıklarında bağırsak mikrobiyotasının dengelenmesi, sitokinlerin üretimini etkileyerek, düzenleyici T hücrelerinin salınımını uyarak ve böylece, bağırsak hücrelerinin hayatta kalmasına yardımcı olarak bağırsak bariyer fonksiyonunu güçlendirebileceği yönünde bilgiler de bulunmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesiyle immünoisitler tarafından üretilen proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin de modüle edildiği görülmüştür (Zhang ve diğerleri, 2019).

Normal şartlarda bağırsak lümeninin yapısında kommensal (yararlı) bakteriler bulunmaktadır. *Bacteroidetes* sp., *Firmicutes* sp., *Proteobacteria* sp. ve *Actinobacteria* sp. gibi yaklaşık bin çeşit mikroorganizma türü bağırsakta bulunan kommensal bakterilerdir. Ayrıca protistalar, mantarlar ve virüsler de bağırsak mikrobiyotasında bulunan diğer grup mikroorganizmalardır. Bağırsak mikrobiyal bariyerinin potansiyel enfeksiyöz patojenler tarafından homeostazi bozulduğunda bağırsak disbiyozu meydana gelmektedir (Bayır ve Elgin-Cebe, 2024).

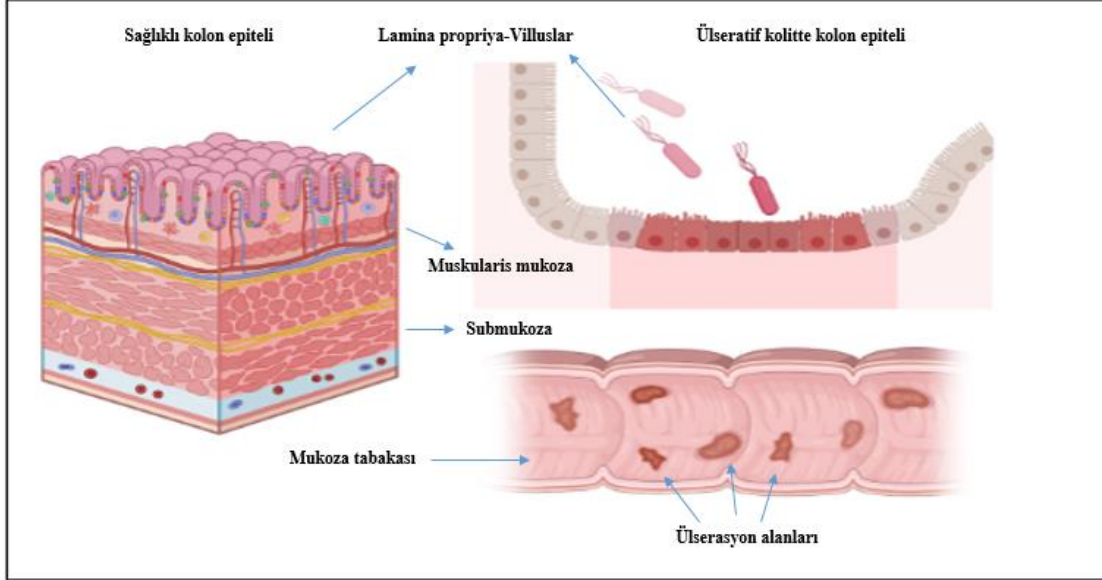
Yapılan çalışmalarda, inflamatuvar bağırsak hastalığı olgularında *Firmicutes/Proteobacteria* bakteri çeşitliliği ve bolluğunun sağlıklı kişilere göre azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, bağırsak mikrobiyotasındaki anormalliklerin inflamatuvar bağırsak hastalığına karşı genetik yatkınlığı ve inflamatuvar reaksiyonların devamlılığını sağladığı da belirlenmiştir. Bağırsağın yararlı bakterileri olarak bilinen probiyotikler üzerine yapılan çalışmalarda, farklı birçok yararlı etkileri olduğu ve inflamatuvar bağırsak hastalığında da mukozal bağışıklık sistemini uyarak potansiyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Ancak, hangi probiyotiklerin inflamatuvar bağırsak hastalığına karşı etkili olabileceği yönünde bilgiler kısıtlı kalmıştır (Zhang ve diğerleri, 2019). Son yıllarda, ülseratif kolite karşı uygulanan tedaviye dirençli olgularda fekal mikrobiyota transplantasyonu yapılarak da iyi sonuçlar alındığı belirlenmiştir (Lleal ve diğerleri, 2019; R. Zhu ve diğerleri, 2022). Diyetle alınan antioksidan özellik gösteren polifenollerin, obez farelerde azalan *Akkermansia muciniphila* (bolluğu bağırsaklarda ekstraselüler ROS azalmasıyla ilişkili) bakterisinin sayısını artırarak ve ROS'ları temizleyerek bağırsaklardaki disbiyozisi baskılayabilmektedir. Özellikle C vitamini, beta-karoten ve üzüm polifenolleri bağırsaklardaki ROS miktarını azaltarak *Akkermansia muciniphila*'nın çoğalmasını desteklemektedir (Van Buiten, Seitz, Metcalf ve Raskin, 2024). Alfa lipoik asitin mikrobiyal çeşitliliği azaltmadan bağırsak mikrobiyotasını modüle ettiği de saptanmıştır (Tripathi ve diğerleri, 2023).

Bağırsak geçirgenliği

Bağırsak mukozal bariyeri; *kimyasal*, *mekanik* ve *immün* bariyer olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (Agrawal, Allin, Petralia, Colombel ve Jess, 2022). Bağırsaktaki epitel hücrelerini kaplayan mukus tabakası ve içeriğindeki müsinler *kimyasal bariyeri* oluşturmaktadır. Bu bariyer bağırsağı dış etkenlerden korumakta ve bağırsak ortamının dengesini sağlamaya yardımcı olmaktadır (Y. Zhang ve diğerleri, 2022). *Mekanik bariyer*, epitel hücreleri arasında hücre içi sinyal yollarını ve transkripsiyonunu düzenleyerek, bariyer fonksiyonunu kontrol etmektedir. Bağırsak lümeninin yapısında normal şartlarda kommensal bakteriler olan gram-negatif bakterilerden *Bacteroidetes* vb. ve gram-pozitif bakterilerden *Firmicutes* vb., *Proteobacteria* (*Escherichia* ve *Helicobacter*) ve *Actinobacteria* ile protistalar, mantarlar ve virüsler bulunmakta ve patojenlere karşı bariyer oluşturmaktadır. Potansiyel enfeksiyöz patojenler nedeniyle homeostazı bozulan bağırsak mikrobiyal bariyeri, bağırsak disbiyozu ile açıkça ilişkilidir (Bayır ve Elgin Cebe, 2024). *İmmün bariyer* ise, bağırsak lenfoid dokusu, konjenital lenfoid hücreleri, IgA üreten B hücreleri, T hücreleri, *lamina propria*'daki yerleşik makrofajlar ile dendritik hücrelerden oluşmaktadır (Assimakopoulos, Triantos, Maroulis ve Gogos, 2018). Bu kısımlardan herhangi birinin hasar görmesi durumunda bağırsak mukozal bariyerinin fonksiyonu bozulabilmekte ve bunun sonucunda inflamatuvar bağırsak hastalıklarına neden olabilecek enterik kaynaklı enfeksiyonlar ortaya çıkabilmektedir (Agrawal ve diğerleri, 2022).

Kolonun mukozal bariyerinin korunmasında, bakteri ve toksin invazyonunun önlenmesinde sıkı bağlantı proteinlerinin (*okludin*, *zonula okludens-1* ve *klaudin-1*) önemli görevi bulunmaktadır. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında meydana gelen epitel bariyer fonksiyonu bozukluğu, bağırsak epitel bütünlüğünü koruyan sıkı bağlantı proteinleri ile ilişkili olup mukozal inflamasyonun patogenezinde oldukça önemlidir (Porter, Kalla ve Ho, 2020). *Lamina propria*'da mononükleer inflamasyon hücrelerinin artışıyla birlikte kript distorsiyonu, kript sayısının azalması ve atrofi ile yüzeyde *villiform* değişiklikler oluşmaktadır (Şekil 2.2.). Yapılan prelinik ve klinik çalışmalar, bağırsak bariyer fonksiyonunun bozulmasıyla zararlı moleküllerin kolonik mukoza altındaki *lamina propria*'ya geçişine izin verdiğini ve mukozal bağışıklık sisteminin sürekli uyarılması yoluyla bağırsak inflamasyonuna neden olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, son yıllarda mevcut tedavilerin alternatifi veya destekleyicisi olabilecek anti-inflamatuvar ve antioksidan ajanlar kullanılarak bağırsak epitel bariyer fonksiyonunun korunmasına yönelik araştırmalar

yapılmaktadır (Laukoetteri, Nava ve Nusrat, 2008; Porter ve diğerleri, 2020; H. M. Zhang ve diğerleri, 2022).



Şekil 2.2. Normal ve kolitli bağırsak epiteli görüntüsü (Biorender programıyla çizilmiştir).

2.1.4. Klinik ve laboratuvar bulgular

Ülseratif kolitli olgularda, hayat kalitesini önemli ölçüde azaltan diyare, abdominal ağrı ve kramplar, rektal kanama, kilo kaybı, dehidrasyon ve kanlı dışkılama gibi semptomlar görülmektedir (Y. Zhang ve diğerleri, 2022). Bu klinik semptomlar hastalığın süresine ve tutulum yerine göre farklılık göstermekte olup, hastalığın şiddetine göre de semptomların şiddeti değişmektedir. Klinik olarak ülseratif kolit, *hafif-orta*, *orta-ağır* ve *akut şiddetli* olmak üzere sınıflandırılmaktadır. *Hafif-orta şiddetli* ülseratif kolit, günde <4-6 dışkılamaya eşlik eden rektal kanama ile seyretmektedir. Bu olgularda, ateş ve taşikardi gibi semptomların görülmediği ve laboratuvar bulgularının değişmediği bilinmektedir. Ancak, kolonoskopik tanıda, mukozal eritem, vaskülarizasyonun azalması veya yokluğu ile .dokuda erozyonlar görülebilmektedir. *Orta-ağır şiddetli* ülseratif kolit olgularında, günde 4-6 dışkılamaya eşlik eden rektal kanama şikayetleri görülmektedir. Kolonoskopide, belirgin mukozal eritem, vaskülarizasyon yokluğu, dokunun kırılgan ve kanamaya meyilli olduğu, granülasyon ve ülserasyonlar görüldüğü dikkati çekmektedir. *Akut şiddetli* ülseratif kolit olguları ise, günde ≥ 6 kanlı dışkılama, taşikardi, ateş ve anemi tablosu ile hastaneye yatışın gerekli olduğu hayatı tehdit eden bir durum olarak tanımlanmaktadır. (Çizelge 2.1.). Uzun

sürekli devam eden şiddetli kolit hastaları, bağırsak perforasyonu, toksik megakolon veya kolektomi riski altındadır (Kayal ve Shah, 2019).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, tek bir spesifik bulguya dayanmadığı ve ayırt edici kesin tanı özellikleri bulunmadığı için hastalığın aktivitesinin, şiddetinin ve tedavi sonucunun değerlendirilmesi zor olabilmektedir. Bu nedenle, klinik öykü, fiziki ve laboratuvar muayene, fekal biyobelirteçler için serolojik testler, radyolojik görüntüleme ve biyopsi örneklerinin histolojik değerlendirmesi gibi tamamlayıcı tanı testlerinin birlikte kombine edilmesi gerekmektedir (Yüksel ve diğerleri, 2022).

Hematolojik parametreler, inflamatuvar bağırsak hastalığının klinik öyküsüyle birlikte değerlendirilerek hem hastalığın şiddetinin belirlenmesi hem de kısa sürede tedavi protokolüne başlanmasını sağlayabilmektedir. Böylece, hematolojik parametrelerin sonucuna göre ileri tanı yöntemlerine gerekliliğin olup olmadığına karar verilmektedir. C-reaktif protein (CRP), sedimantasyon hızı ve tam kan sayımı, infeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkların tanısında, hastalık şiddetinin belirlenmesinde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılan rutin laboratuvar tetkiklerinin başında gelmektedir (Yüksel ve diğerleri, 2022). Ülseratif kolitli hastaların aktif döneminde CRP ve sedimantasyon hızının remisyon dönemine göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Hemoglobin ve hematokrit değerlerinin ise, aktif dönemde anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir (Gürler ve diğerleri, 2020). Yapılan başka bir çalışmada, ülseratif kolitli olgularda hastalık aktivitesi arttıkça CRP ve sedimantasyon hızının anlamlı derece arttığı; hemoglobin ve hematokrit değerlerinin ise anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir (Yüksel ve diğerleri, 2022).

Çizelge 2.1. Ülseratif kolitin klinik bulgulara göre sınıflandırılması

Semptom	Hafif- orta	Orta-ağır	Şiddetli (Akut)
Dışkılama sayısı/gün	<4	4-6	>6
Dışkıda kan	Az	Normal	Çok
Ateş	Normal	Normal	> 37,5 °C
Taşikardi	Yok	Yok	Nabız >90/dakika
Anemi	Yok	Hafif	<10 gr/dl
Sedimantasyon	Normal	< 30 mm/saat	>30 mm/saat

Preklinik ve klinik çalışmalarda, ülseratif kolitte tek başına ya da tedaviye destek amacıyla antioksidan kullanımının klinik semptomları dolayısıyla hastalık aktivite indeksini azaltarak hastalığın iyileşmesinde olumlu etkiler gösterdiği saptanmıştır (Al-Rejaie ve diğerleri, 2013; Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022; Agista ve diğerleri, 2024; Erol-Doğan ve diğerleri, 2024; Farid, Shafique, Xu, Łopusiewicz ve Zhao, 2024; Jawhara, 2024). Kolitli farelerde yapılan bir çalışmada, alfa lipoik asitin proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimini önemli ölçüde azaltarak hastalığın semptomlarını hafiflettiği bildirilmiştir (Jiang ve diğerleri, 2024).

2.1.5. Tedavi yöntemleri

Kolit olgularında bağırsak mukozasının iyileştirilmesi tedavide öncelikli bir kriter olarak kabul edilmektedir. Ülseratif kolit dahil inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde semptomların ve mukozal inflamasyonun azaltılması amacıyla 5-aminosalisilatlar (mesalamin, mesalazin), steroidler, tiopürinler gibi pürin analogları, takrolimus, metotreksat ve uygun antibiyotik (siklosporin, metronidazole, rifaksimim gibi) ilaçlar tercih edilmektedir (Dignass ve diğerleri, 2012; Nitzan, Elias, Peretz ve Saliba, 2016; Tripathi ve Feuerstein, 2019). Tedaviye yanıtın alınamadığı olgularda kortikosteroidler de kullanılır. Steroid içerikli ilaçlar, polimorfonükleer lökositlerin migrasyonunu baskılayarak ve kapiller permeabilite artışını geri çevirerek inflamasyonu azaltmaktadır. Ancak, yan etkileri nedeniyle idamede değil akut durumlarda tercih edilirler. Kortikosteroidlere karşı da yanıt alınamadığı durumlarda 6-merkaptoprin veya azatioprin gibi immünomodülatör ilaçlar kullanılabilir. Ancak, immünomodülatör ajanların uygulandıktan 2-3 ay gibi bir zaman diliminde etkileri görülmeye başlayacağı için akut alevlenme döneminde tercih edilmeleri uygun değildir. Son yıllarda, özellikle dirençli ve şiddetli seyreden kolit vakalarında monoklonal TNF- α inhibitörleri en etkili tedavi seçeneği olarak kabul edilmiştir (Reinisch ve diğerleri, 2011). Bu amaçla kullanılan halihazırda kolitte onaylanmış ajanlar biyolojik *infliximab*, *adalimumab*, *golimumab*, *vedolizumab*, küçük moleküllü *Janus kinaz* inhibitörü olan *tofacitinib* ve *veustekinumab*'dır. Ancak, kortikosteroid tedavisi ile yaklaşık %30, anti-TNF tedaviler ile hastalarda ancak %60 mukozal iyileşme elde edilebildiği bildirilmiştir (Sandborn ve diğerleri, 2005; Rutgeers, Vermeire ve Van Assche, 2007). Bu hastaların yaklaşık %20'si anti-TNF tedaviye cevap vermemekte ve cerrahi tedaviye gereksinim göstermektedir (Peyrin-Biroulet ve diğerleri, 2011). Anti-TNF tedavisi esnasında tüberküloz human papilloma virüs (HPV), hepatit B ve C, *Varisella zoster* virüs (VZV), *Herpes simplex* virüs (HSV), sitomegalovirüs (CMV), insan bağışıklık yetmezlik

virüsü (HIV) gibi fırsatçı enfeksiyonlara karşı duyarlılık artmaktadır. Ayrıca, TNF inhibitörlerinin mikobakteri insidansını arttırdığı çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bunların yanı sıra, enjeksiyon bölgesi reaksiyonları, demiyelinizan hastalık, hepatik disfonksiyon komplikasyonu, konjestif kalp yetmezliği, lupus benzeri klinik tablo, vaskülit, üveit, otoimmün hepatit ve lenfoma gibi maligniteler de bu ilaçların diğer yan etkileri arasındadır (Özgürsoy-Uran , Başak ve Sarıtaş Yüksel, 2020; Başak, Özgürsoy-Uran ve Sarıtaş Yüksel, 2022). Mevcut tedavide kullanılan bu ilaçların ciddi yan etkilerinin olması yeni tedavi ajanları arayışını da beraberinde getirmektedir (Barber ve Gubatan, 2023). Günümüzde inflamasyon ilişkili birçok hastalık için etkin bir tedavi yöntemi bulunmadığı bilinmektedir. Bu nedenle, inflamasyon nedenli kolon hastalıklarının tedavisi için de etkili ve güvenilir ajanların geliştirilmesi önem teşkil etmektedir (Démaris ve diğerleri, 2022).

Son yıllara kadar, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisi için en önemli nokta klinik yanıt veya remisyonun sağlanmasıydı. Ancak, günümüzde kabul edilen tedavi paradigması, hedefe yönelik objektif bir son nokta karşılanana kadar tıbbi tedaviye devam etmektir. Bununla birlikte, bu tedavi protokolünün kullanılması, en azından kısa vadede test ve tedavi artışında daha fazla maliyete sebep olsa da uzun vadede klasik tedavi yöntemlerinden daha etkili olacağı düşünülmektedir (Barber ve Gubatan, 2023). Bu nedenle maliyeti düşük kolay ulaşılabilir, yan etkileri az ve kısa sürede etki gösterebilen ajanların klinikte kullanıma sunulmaları için araştırmalar devam etmektedir.

Mesalamin

Klinikte yaygın olarak kullanılan 5-aminosalisilik asit bileşikler, reaktif türlerin önemli temizleyicileri oldukları için terapötik etkilerini büyük ölçüde antioksidan mekanizmalar yoluyla göstermektedirler. 5-aminosalisilik türevlerinin, ONOO⁻ aracılığıyla meydana gelen reaktif türlerin oluşumunu inhibe ettiği bilinmektedir (Bourgonje ve diğerleri, 2020). 5-aminosalisilik asit türevi olarak bilinen mesalamin, hafif ve orta dereceli ülseratif kolit tedavisinde ilk basamak tedavi seçeneğidir. Mesalamin/mesalazin özellikle kolon mukozasında dokuya özel olarak anti-inflamatuvar etki göstermektedir. Bu etkisini, araşidonik asit metabolizmasındaki, siklooksijenaz yoluyla prostaglandin, lipooksijenaz yoluyla lökotrien biyosentezini ve MPO aktivitesini inhibe ederek, inflamatuvar yanıtın modüle olmasını sağlayarak, nötrofillerin doku hasarı yapmasına ve serbest radikal oluşumuna engel olarak göstermektedir (Iacucci, de Silva ve Gosh 2010; Nakashima, Patel

ve Preuss, 2024). Diğer potansiyel mekanizmaları ise, NF- κ B aktivitesini azaltarak ve inflamatuvar sitokinlerin üretimini, mukozal lenfositler, makrofajlar ve doğal öldürücü hücrelerin hücre fonksiyonlarını inhibe ederek etki etmesidir (Nakashima, Patel ve Preuss, 2024).

Mesalaminin, klinikte oral ve rektal yoldan uygulanabilen formları mevcuttur. Oral yolla alınan mesalaminin %20-30'u, rektal yolla alınan ise %10-35'i emilerek bağırsak mukoza duvarı ve karaciğer tarafından metabolize edilmektedir. Hafif-orta dereceli ülseratif kolit tedavisi için rektal 5-aminosalisilik asit oral 5-aminosalisilik asit ile kombinasyonu önerilmektedir. Hastalığın ilk dönemlerinde, oral ve rektal 5-aminosalisilik asit kombinasyonunun kortikosteroidlere veya immünosupresif tedaviye geçmeyi önleyerek iyileşmeyi sağlayabildiği yönünde bilgiler mevcuttur. Dört haftalık topikal 5-aminosalisilik asit tedavisinden sonra, hastalığın şiddetine göre oral 5-aminosalisilik asit, topikal veya oral glukokortikoid, budesonid çoklu matris veya bir TNF- α inhibitörü eklenerek hastalığın tedavisi desteklenebilmektedir. Topikal 5-aminosalisilik asit kullanımı relaps riskini belirgin şekilde azaltmaktadır. Ayrıca, 5-aminosalisilik asit yılda birden fazla atak veya alevlenme yaşayan ülseratif proktosigmoidit veya sigmoid kolona uzanan ülseratif kolit hastalarının idame tedavisinde de kullanılmaktadır (Nakashima, Patel ve Preuss, 2024). Yapılan bir çalışmada, oral-rektal yolla kombine olarak verilen mesalaminin, sadece oral yolla verilen mesalamine göre ülseratif kolit hastalık aktivite indeksini anlamlı olarak düşürdüğü gösterilmiştir. Mesalamin lokal olarak da iyi tolere edildiği için kombine kullanımının daha etkili olduğu düşünülmüştür (Probert, Dignass, Lindgren, Oudkerk Pool ve Marteau, 2014).

Hafif-orta dereceli aktif kolitte yetişkin dozu olarak günde üç kez 800 mg olmak üzere altı hafta tedavi dozu bulunmaktadır. Ülseratif kolit remisyonunun sürdürülmesinde, ilacın günde iki veya dörde bölünerek toplamda 1,6 g olacak şekilde kullanılması önerilmektedir.

Mesalamin kullanımına bağlı olarak, bulantı, gastrointestinal rahatsızlıklar, karın ağrısı, baş ağrısı, nazofarenjit, deri döküntüsü, artralji, agranüloitoz, aplastik anemi, miyalji, kemik iliği baskılanması, oligospermi, hematüri ve kolestatik hepatit gibi yan etkiler görülebilmektedir. Ayrıca, interstisyel nefrit, nefrotik sendrom ve böbrek yetmezliği gibi böbrek bozuklukları da görülebildiği için hastalar dikkatle izlenmelidir. 5-aminosalisilik asit kullanımı sonrası, perikardit, miyokardit, hepatit, nefrit, pnömonit ve hematolojiyle ilişkili reaksiyonlara ilişkin raporlar da bildirilmiştir. Ayrıca, mesalaminin bir diğer yan etkisi de

nefroliatazisin gelişmesidir. Norepinefrinin bir metaboliti olan normetanefrinin laboratuvar testlerinde düzeylerindeki artışı nefroliatazis tanısını doğrulamaktadır. Mesalaminin böbrek ve karaciğer yetmezliği olan hastalarda, idrar yolu tıkanıklıklarında, bebeklerde ve mide veya duodenal ülseri olanlarda kullanımı kontraendikedir (Nakashima, Patel ve Preuss, 2024). Mesalaminin belirtilen yan etkilerinin olması ve ülseratif kolit tedavisinde kesin etkili olmaması nedeniyle potansiyel etkili olabilecek farklı ajanlar araştırılmaktadır.

2.1.6. Destek tedaviler

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının önlenmesinde, tedaviye yanıtın alınmasında ve nüksün önlenmesinde beslenme tedavileri, antioksidan ve prebiyotik-probiyotik kullanımının etkili olabileceği bilinmektedir (Dziąbowska-Grabias ve diğerleri, 2021; Melton, Day, Bryant ve Halmos, 2024).

Beslenme tedavisi

Tüm dünyada sanayi devrimiyle beraber işlenmiş ve rafine edilmiş gıdalar tüketime sunulmuştur. Ancak, beslenme düzenindeki bu değişimin adaptasyonu çeşitli kronik hastalıklara zemin hazırlamıştır. ABD'de yapılan bir araştırmada, 20 yaş ve üzeri yetişkinlerin yaklaşık %65'inin aşırı kilolu veya obez olduğu bildirilmiş ve yılda sadece obezite ilişkili ölümlerin sayısının 280,184 vaka olduğu saptanmıştır (Balta ve Akın, 2013; Magen-Rimon, Day ve Shaoul, 2023). Türkiye'de Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'nun 2022 verilerine göre, 15 yaş ve üstü bireylerde obezite sıklığının %20,2; kadınlarda % 23,6 iken, erkeklerde bu oranın %16,8 olduğu gösterilmiştir (TÜİK, 2023). Batı tarzı beslenme nedenli obezite, kanser vakalarının üçte birini oluşturduğu için zararlı etkilerinin göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Batı tarzı beslenme, tipik olarak enerjisi yoğun, besin değeri düşük, yüksek oranda ilave şeker, tuz ve doymuş yağ içeren işlenmiş ve rafine gıdaların (*fast food* ve alkolsüz içecekler gibi) tüketimi olarak tanımlanmaktadır. Akdeniz diyetinin aksine batı diyeti tam tahıl ürünleri, sağlıklı yağlar, kuru baklagiller ve meyve-sebze yönünden oldukça eksik kalmaktadır (Radziszewska, Smarkusz-Zarzecka, Ostrowska ve Pogodziński, 2022).

Gastrointestinal sistemin mikrobiyota çeşitliliğini beslenme başta olmak üzere birçok faktör şekillendirmektedir. Batı tarzı diyetin yanı sıra tarım zararlılarına karşı direnci ve mahsul

verimliliğini artırmada kullanılan katkı maddelerinin bağırsak mikrobiyotasını disbiyozis yönünde etkilediği bilinmektedir (Benninghoff ve diğerleri, 2020; Majumder ve Bano, 2024). Yüksek miktarda yağ ve şeker içeren beslenme rejiminin gastrointestinal sistemdeki proinflatuvar bakterilerde artış ve koruyucu bakterilerde azalma meydana getirerek mukozal dokularda disbiyozise neden olduğu belirlenmiştir (Ahadi, Rouhbakhsh Zahmatkesh, Ebrahimi ve AkbariRad, 2024). Böylece, yüksek yağlı ve şekerli bir diyet sonrası bağırsak mikrobiyotasının disbiyozise gitmesiyle de ülseratif kolit gelişme riski artmaktadır (Magen-Rimon, Day ve Shaoul, 2023). Avrupa’da yaşayan çocukların bağırsak mikrobiyotaları, farklı beslenme alışkanlıkları nedeniyle Afrika’nın kırsal bölgelerinde yaşayan çocukların mikrobiyotalarına göre daha yüksek sayıda *Firmicutes* ve *Enterobacteriaceae* ile daha düşük sayıda *Bacteroidetes* içermektedir (Majumder ve Bano, 2024). *Firmicutes*’ler, *Bacteriodes* grubuna göre, kilo artışına neden olan daha çok kalori oluşumuyla ilişkili olup obezitenin oluşmasına katkıda bulunmaktadır (Magne ve diğerleri, 2020). Yapılan çalışmalarda, *Firmicutes/Bacteriodes* oranının homeostaz ile ilişkili olduğu ve bu oranın azalmasının inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla, artmasının ise obeziteyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (Stojanov Berlec ve Štrukelj, 2020).

Beslenme alışkanlıklarındaki önemli değişikliklerin (Benninghoff ve diğerleri, 2020), özellikle de meyve ve sebze tüketiminin azaldığı, yağ oranı yüksek diyetler, kızartılmış besinler, yüksek miktarda ve rafine edilmiş karbonhidratlar ile hayvansal gıdaların tüketimi ülseratif kolit görülme riskini artırmaktadır (Balta ve Akın, 2013; Radziszewska, Smarkusz-Zarzecka, Ostrowska ve Pogodziński, 2022). Batı tarzı beslenmenin kolit etiopatogenezinde rol alması nedeniyle diyet rejiminin değiştirilmesi tedaviye katkı sağlamaktadır. Bu amaçla, çözümler ve çözünmez posa içeriği yüksek besinlerle beslenme, yeterli sebze ve meyve tüketimi kolitin görülme riskini ve ilerlemesini azaltmaktadır (Amre ve diğerleri, 2007; Benninghoff ve diğerleri, 2020). Meyve ve sebzeler, tam tahıl ürünleri, kurubaklagiller ve yağlı tohumlar diyet lifinin en zengin kaynakları olup antioksidan içerikleri de yüksektir. Bu nedenle, hem sağlığın devam ettirilmesi hem de bir çok hastalığın tedavi sürecinde içeriğinde bol lif bulunduran Akdeniz modeli beslenme rejiminin uygulanması oldukça önemlidir (Benninghoff ve diğerleri, 2020; Majumder ve Bano, 2024).

Beslenme düzeni, gastrointestinal sistemde, sadece mikrobiyal kompozisyonu değil, aynı zamanda, mikroorganizmaların metabolik fonksiyonlarını da etkilemektedir. Formik asit,

asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve valerik asit gibi kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), diyet lifleri kısmen sindirildiğinde kommensal bakteriler tarafından üretilmektedir. Bağırsaktaki KZYA'ların %95'inden fazlası dörtten az karbona sahip asetat, propiyonat ve bütirattan oluşmaktadır. Bu KZYA'lar, immünitinin modülasyonunda önemli bir rol oynamalarının yanı sıra, gastrointestinal sistemin mukozal bariyer fonksiyonunu kontrol ederek bağırsak bariyer bütünlüğünü korumaktadır. Gen ekspresyonunun değiştirilmesi, hücresel farklılaşma, apoptoz ve kemotaksis gibi çeşitli hücresel fonksiyonlar ile epitelyal ve/veya immün hücrelerin diğer fonksiyonları KZYA'lar tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Batı ülkelerinde, fazla miktarda şeker ve az miktarda lif tüketimine bağlı olarak KZYA üreten probiyotik bakterilerin sayısı azaldığı için ülseratif kolit hastalığının gelişme riski artmaktadır. Bazı ülseratif kolit hastalarında, KZYA üreten ve temel bir bakteri olan *Faecalibacterium prausnitzii*'nin seviyelerinin azaldığı ve aktivitesinin hastalığın şiddeti ile ters orantılı olduğu bulunmuştur. Bağırsak mikrobiyotası, küçük organik asitler, safra asitleri, vitaminler, kolin metabolitleri ve lipitler dahil olmak üzere, dolaşımda tespit edilebilen çeşitli metabolitler üretmektedir. Diyetteki poli- ve oligo-sakaritlerin sindirilmeyen lifleri distal bağırsağa geçerek bağırsak bakterileri için karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bağırsak mikrobiyotası, fermantatif reaksiyonlar yoluyla kompleks karbonhidratları metabolize ederek, asetat, propiyonat ve bütirat gibi KZYA'lardan ($\geq$ %95) oluşan küçük organik asitleri üretebilmektedir (Thomas ve Denu, 2021; Stein ve Riber, 2023). Farklı prelinik çalışmalar, bağırsaktaki kommensal bakterilerin, DNA metilasyonu, histonların translasyon sonrası modifikasyonu ve kodlayıcı olmayan RNA'ların düzenlenmesi üzerine etkili olan metabolitler göndererek konakçılarıyla iletişim kurduğunu bildirmiştir. Böylece, kolondaki ve vücudun diğer dokularındaki metabolizma ve immün sistemle ilgili gen ekspresyonlarının olumlu yönde etkilendiğini gösterilmiştir (Stein ve Riber, 2023).

Kolitin beslenme tedavisindeki en önemli amacı, klinik semptomlara ve hastalığın şiddetine göre beslenme rejiminin düzenlenmesi ve remisyonun sürdürülmesidir. Kolitte sıklıkla protein-enerji malnütrisyonu (PEM) görülebilmektedir. Bunun en büyük nedeni, mukozanın inflamasyonu ile başlayan, metabolik yollarda oluşan bir dizi değişim ve katabolik süreçlerin olmasıdır. PEM oluşmasıyla birlikte bağırsak mukozasının bütünlüğü bozularak bakteriyel translokasyon gelişmekte ve villuslar atrofiye olmaktadır. Bu durum, antioksidan savunma mekanizmasını bozarak lipid peroksidasyonuna olan yatkınlığı artırmakta, anormal uzun zincirli yağ asitleri ve eikosanid sentezleri oluşarak remisyonu baskılamaktadır

(Köseler, 2016). PEM'i düzeltmek amacıyla bireyin durumu ve semptomları göz önünde bulundurularak yüksek enerjili (yetişkinlerde 25-35 kcal/kg/gün), bol proteinli (enerjinin %15-20'si ve 1-1,5 gr/kg/gün), az posalı, az yağlı, vitamin ve minerallerden zengin bir beslenme rejimi düzenlenmektedir. Kolitin diyet programında, büyük öğünlerden ziyade daha iyi tolere edileceği için az ve sık beslenme önerilmektedir. Bununla birlikte, kolitli hastalarda laktoz intoleransı gelişmişse süt ve süt ürünleri diyetten çıkarılır, yerine bir fermente ürün olan yoğurt tüketimi önerilir. Böylece, bağırsak mikrobiyotasında probiyotik bakteri sayısının artırılması desteklenmektedir (Dumlu-Bilgin ve Şimşek, 2023: 37-46). Akut dönemde diyare gelişmişse, hastada sıvı ve elektrolit kayıpları yerine konulmalıdır. Özellikle, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve fosfat desteği ile çinko ve selenyum verilmesi önem arz etmektedir. Yağ malabsorbsiyonu ve steatore varsa yağda eriyen vitaminlerin takviyesi gerekebilir. Orta zincirli yağ asitlerinin diyetle eklenmesi yağların emilimini, omega 3 takviyesi ise, inflamatuvar süreçleri azaltarak kolon doku hasarının iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Kolitli hastaların yarısından fazlasında 25 (OH)-vitamin D düzeylerinin düşük olduğu bildirilmiştir. Yine, çoğunlukla steroid kullanımı, malabsorbsiyonlar, vitamin, mineral ve kan kayıpları ile inflamatuvar sitokinlerin artışı hastalarda kemik mineral yoğunluğunu azaltarak K vitaminin de eksilmesine neden olur (Ümit ve Fırat, 2012). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında besinlerin yetersiz alım ve emilimi, kanlı diyare nedenli kan kayıpları ile besin ilaç etkileşimlerine bağlı olarak meydana gelen demir, folat ve B grubu vitaminlerinin (özellikle B12 vitamini) eksikliği sıklıkla görülmektedir. Bu nedenle, beslenme tedavisinde, belirtilen vitaminlerden yüksek gıdaların tüketilmesi ve gerekirse takviye yapılması önerilmektedir. Sonuç olarak, besin çeşitliliğinin fazla olduğu Akdeniz modeli beslenme içerdiği yüksek posa, doymamış yağ asitleri, antioksidanlar ve biyoaktif bileşenleri sayesinde hastalığın önlenmesinde olduğu kadar remisyonunda da önemli katkılar sağlamaktadır (Ülker ve Akbulut, 2017; Erol Doğan, Karaca Çelik, Baş ve Alan, 2024).

Obeziteli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, alfa lipoik asit ve probiyotik kombine kullanımının, tek başlarına kullanımlarına oranla bağırsak mikrobiyotasını daha iyi düzenleyerek ve inflamasyonu azaltarak kilo verilmesine daha fazla yardımcı olduğu gösterilmiştir (Nasiri ve diğerleri, 2021). Burada alfa lipoik asitin güçlü bir antioksidan etkisiyle bağırsaklardaki inflamasyonu azalttığı düşünülmektedir. Ülseratif kolit hastalarının çoğunda obezite de görülebildiği (Kugathasan ve diğerleri, 2007; Besharat ve diğerleri, 2024), ancak, obezitenin mi inflamatuvar bağırsak hastalığına neden olduğu,

inflamatuvar bağırsak hastalığının mı obeziteye yol açtığı konusu hala tam olarak bilinmemektedir (Dryden ve Seidner, 2014: 1080-8). Bu nedenle, inflamatuvar bağırsak hastalığı insidansının obezite insidansı ile ilişkili olabileceği de düşünülmektedir (Flores, Burstein, Cipher ve Feagins, 2015). Bu bilgilerden hareketle, ülseratif kolitli olgularda alfa lipoik asit gibi antioksidanların besin takviyesi olarak kullanımına da önem verilmektedir (Yapar ve Eskiocak, 2014).

Antioksidan kullanımı

Antioksidanlar, ROS'a bağlı doku hasarını önleyen ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan maddelerdir. Organizmada endojen ve ekzojen olarak bulunan antioksidanlar, serbest radikal süpürücü olarak etki göstermektedir. Normal şartlarda canlı metabolizması homeostazda iken antioksidanlarla birlikte serbest radikaller denge halindedir. Genetik faktörler, kötü beslenme, otoimmün hastalıklar, alkol-sigara kullanımı, ultraviyole ışınları ve radyasyon gibi faktörlerin etkisiyle serbest radikaller artışa geçerek oksidatif stres kaynaklı hastalıklara sebep olabilmektedir. Serbest radikallerin artmasıyla, endojen antioksidanlar yetersiz kalabilmekte ve bu da ekzojen antioksidanların alınmasını gerektirebilmektedir (Zehiroğlu ve Oztürk Sarıkaya, 2019).

Endojen antioksidanlardan, SOD, CAT, GPx ve glutatyon redüktaz (GR) enzimsel savunmada yer alan enzimatik antioksidanlar; glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin ise nonenzimatik antioksidanlar arasındadır. Alfa tokoferol (vitamin E), β -karoten (vitamin A), askorbik asit (vitamin C) ve folik asit (vitamin B9) dışardan alınan (ekzojen) vitamin antioksidanlardan olup, ksantin oksidaz inhibitörleri, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz inhibitörleri, barbitüratlar, demir şelatörleri ve rekombinant süperoksit dismutaz ilaç olarak kullanılan bazı ekzojen antioksidanlardandır (Dziąbowska-Grabias ve diğerleri, 2021).

Fitokimyasallar ailesinin üyelerinden olan polifenollerin, bitkisel organizmalarda bulunan flavonoidler, fenolik asitler, lignanlar ve stilbenler şeklinde formları mevcuttur. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının erken evrelerinde yapılan çalışmalar, doğal polifenollerin (resveratrol, kurkumin, kersetin, kateşin, antosiyanin, silimarin) ve karotenoidlerin (beta karoten, likopen, lutein, zeaksantin) ve diğer doğal fitokimyasalların

(hesperidin, genistein, krisin vb) intestinal inflamasyonu ve oksidatif stresi azalttığını göstermektedir. Bu bağlamda, yüksek polifenol içeren maddelerin aşırı ROS üretiminin neden olduğu hastalıkların patofizyolojik koşullarını iyileştirebildiği ortaya konulmuştur (Zehiroğlu ve Oztürk Sarıkaya, 2019; Muro ve diğerleri, 2024).

Antioksidan kullanımının gastrointestinal, enfeksiyöz, kardiyometabolik, nörolojik, hastalıklar ve kanserlerin önlenmesi açısından önem arz ettiği düşünülmektedir (Ginter ve Simko, 2015; Demirel ve diğerleri, 2019). Yapılan çalışmalarda, antioksidanların ülseratif kolitin alternatif veya destekleyici tedavisinde de iyileştirici özellik gösterdiği bildirilmiştir (Al-Rejaie ve diğerleri, 2013; Aleisa ve diğerleri, 2014; Siracusa ve diğerleri, 2020). Bu konuda yapılan deneysel çalışmalarda, antioksidan etkinliği olduğu bilinen beta gluklan, koenzim Q10, proantosiyonidin, sinapik asit, kersetin ve resveratrol gibi ajanlar kullanılarak etkili sonuçlar alındığı belirlenmiştir (Tokmak, Şirinyıldız ve Ek, 2021; Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022; Kottakis ve diğerleri, 2022; Shahid ve diğerleri, 2022; J. Liu ve diğerleri, 2024; Xia ve diğerleri, 2024). Bir çalışmada, üzüm, yer fıstığı ve orman meyvelerinde doğal olarak bulunan ve fenolik bir bileşik olan resveratrol (500 mg/gün), kolitli hastalara takviye olarak verildiğinde hastalığın klinik aktivite indeks skorlarını, serum inflamasyon faktörlerini ve periferik kan mononükleer hücrelerinde NF- κ B aktivitesini azalttığı görülmüştür (Samsami-Kor, Daryani, Asl ve Hekmatdoost, 2015). Kolit modeli üzerine yapılan prelinik bir çalışmada da, 40 mg/kg/gün resveratrol uygulanan farelerde kolit semptomlarının anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır (Yu ve diğerleri, 2024). Ayrıca, doğal antioksidanlardan kersetin, melatonin ve kurkumin ile yapay antioksidanlardan N-asetilsistein ile süperoksit dismutaz takviyesinin kolitteki oksidatif stres düzeylerini azaltarak hastalığın iyileşme sürecine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (Blagov, Orekhova, Sukhorukov, Melnichenko ve Orekhov, 2023).

Ratlarda kolit modeli üzerine yapılan bir çalışmada, alfa lipoik asit uygulamasının kolon dokusu MPO ve glutatyon seviyelerini arttığı, MDA düzeyini ise anlamlı bir şekilde azalttığı belirlenmiştir (Kolgazi, Jahovic, Yüksel, Ercan ve Alican, 2007). Asetik asitle indüklenen rat kolit modeli çalışmasında, alfa lipoik asit uygulamasının, hastalık aktivite indeksini ve inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α ve IL-1 β) düzeyini anlamlı şekilde azaltarak iyileşme sürecine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca lipoik asitin oksidatif stres belirteci olan MDA düzeyini de azalttığı saptanmıştır (Ergül ve diğerleri, 2019). Alfa lipoik asitin, insan kolon epitel (NCM460) ve insan kolorektal karsinoma hücreleri (Caco-2)

üzerine etkilerinin araştırıldığı *in vitro* bir çalışmada, alfa lipoik asitin yüksek dozlarının epitel hücre göçünü sağlayarak, yara iyileşmesini desteklediği ve intestinal epitel hücre hasarını geriye çevirdiği belirlenmiştir (Yang ve diğerleri, 2022). Özellikle, yara iyileşmesiyle ilişkili, mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK), proliferasyon, diferansiyasyon, apoptoz, inflamasyon ve oksidatif stres durumlarındaki çeşitli hücresel cevaplardan sorumludurlar. ROS'lar çeşitli çevresel streslerin önemli bir belirteci olup birçok MAPK türünü aktive etmektedir. Alfa lipoik asit, ROS fazlalığını ortadan kaldırarak MAPK aktivitesi regülasyonunun sağlanması yoluyla da hücresel yenilenmeyi sağlamaktadır (Yu ve diğerleri, 2022). Bu bilgiler doğrultusunda, alfa lipoik asit uygulamasının oksidan parametrelerden MDA, NO, nitrit oksit sentazın indüklenebilir formu (iNOS) ve 3-NT seviyelerini azaltabildiği, antioksidan aktivite gösteren SOD, MPO, glutatyon ve CAT gibi enzimlerin artışı sağlayabildiği ortaya konulmuştur (Sun, Zhang, Guan, Zhou ve Sun, 2015; Moura ve diğerleri, 2016; Özbeyli ve diğerleri, 2017; X. Chen ve diğerleri, 2024; Dugbartey, Atule, Alornyo ve Adams, 2024).

Probiyotik ve prebiyotik kullanımı

Yararlı bakteriler olarak bilinen probiyotikler, bağırsakların mukozal bariyer fonksiyonlarını iyileştirerek, mukus üretimini artırarak, bağırsak hareketlerini düzenleyerek ve inflamasyonu azaltarak gastrointestinal sistem bozukluklarının tedavisinde etkili olabilmektedir. Ayrıca, birçok diyare türlerinin önlenmesi ve tedavisinde de etkili olduğu bilinmektedir. Bu amaçla, probiyotik bakterilerin suş tipleri ve dozları, bakterilerin antimikrobiyal ve anti-inflamatuvar etkinlikleri inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde önemlidir. Son yıllarda, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının etiyopatogenezinde mikrobiyota kompozisyonunun değişmesi nedeniyle tedavide probiyotik bakterilerin kullanılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır (Huang, Hao, Wang, Zhou ve Lin, 2023; Guo ve Lv, 2024; Sulaimany, Farahmandi ve Mafakheri, 2024). Kilitli farelerde, *Faecalibacterium prausnitzii*'den türetilen ürünlerin bağırsak bariyeri geçirgenliğini iyileştirdiği gösterilmiştir (Carlsson ve diğerleri, 2013). Hayvan modelleri üzerinde yapılan diğer çalışmalar, *Bifidobacterium infantis* ve *Bifidobacterium bifidum* probiyotik bakterilerin immunomodulator aktiviteleri yoluyla inflamasyonu ve kolitin klinik semptomlarını azaltabileceğini bildirmiştir (Kumar ve diğerleri, 2014; Durantı ve diğerleri, 2016). Ayrıca, ülseratif kolit hastaları için "Avrupa Crohn ve Kolit Organizasyonu [European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO)]" *Escherichia coli* Nissle 1917 içeren

probiyotik takviyesini önermektedir (Dignass ve diğerleri, 2012). Hastalarda remisyonun idamesi için kullanılan mesalamin preparatlarının yan etkileri görülürken, herhangi bir yan etkisi olmayan *Escherichia coli* Nissle 1917 probiyotik tedavisinin mesalamin kadar kolit olguları üzerine etkili olduğu da bildirilmiştir (Kane, Hou ve Magmanti, 2003).

Prebiyotikler, bağırsaktaki faydalı bakteriler için besleyici, sindirilmeyen karbonhidrat yapısında besin bileşikleridir. Ülseratif kolitte prebiyotik kullanımının, probiyotik etkisini arttırıcı, hastalığın semptomlarını iyileştirici ve hastaların remisyon döneminde kalmasını sağlayıcı etkilerinin olabileceği bildirilmiştir. Ancak, prebiyotiklerin kolit üzerine etkileriyle ilgili yapılan çalışmalar, probiyotiklerle ilgili yapılan çalışmalara göre daha az sayıdadır (Derikx, Dieleman ve Hoentjen, 2016). Bir çalışmada, hastalara iki hafta boyunca mesalamin ve inülin-oligofruktoz prebiyotik kombinasyonu verilmesinin, hastaların dışkılarında bağırsaklardaki inflamasyonun şiddetini gösteren *fekal kalprotektin* seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu gösterilmiştir. Ancak, çalışmanın kısa süreli olması nedeniyle hastalık aktivasyonu net olarak değerlendirilememiştir (Fujimori ve diğerleri, 2009).

Yapılan deneysel çalışmalarda, alfa lipoik asitin bağırsak mikrobiyotasını mikrobiyal çeşitliliği azaltmadan modüle ettiğini göstermektedir (Xiong ve diğerleri, 2022, Yang ve diğerleri, 2022). Ayrıca, alfa lipoik asitin *Salmonella* bakterisinin de içinde bulunan *Enterobacteriaceae* etkinliğini azalttığı, *Lactobacillaceae* türlerinin büyümesinin stimülasyonunu sağlayarak mikrobiyotayı modüle ettiği bildirilmiştir. Böylece, alfa lipoik asitin, Salmonellazis tedavisinde antibiyotiklerle birlikte kullanılabileceği gösterilmektedir (Han ve diğerleri, 2022). Broyler tavuklarda yapılan bir çalışmada da, sıcaklık stresine karşı alfa lipoik asitin çok yönlü etkisinin yanı sıra bağırsak mikrobiyotasını da düzenlediği bildirilmiştir (Wasti, Sah, Lee, Jha ve Mishra, 2021).

2.2. Alfa Lipoik Asit

Tüm ökaryotik ve prokaryotik hücrelerde bulunan alfa lipoik asit (1,2-ditiolan-3- pentanoik asit, α -LA), ökaryotik hücrelerde mitokondriyal düzeyde oktanoik asit ve sisteinden üretilen, birçok bitki ve hayvansal gıda kaynağında doğal olarak bulunan endojen bir organosülfür bileşiğidir. Alfa lipoik asit iki kükürt molekülü içeren doğal bir kısa zincirli yağ asiti olarak

da tanımlanır. Aynı zamanda, tiyoktik asit olarak da bilinen alfa lipoik asit, son otuz yıldır gıda takviyesi bileşeni olarak kullanılmaktadır (Esposito ve diğerleri, 2021; Shanida ve diğerleri, 2024).

2.2.1. Alfa lipoik asitin tarihçesi

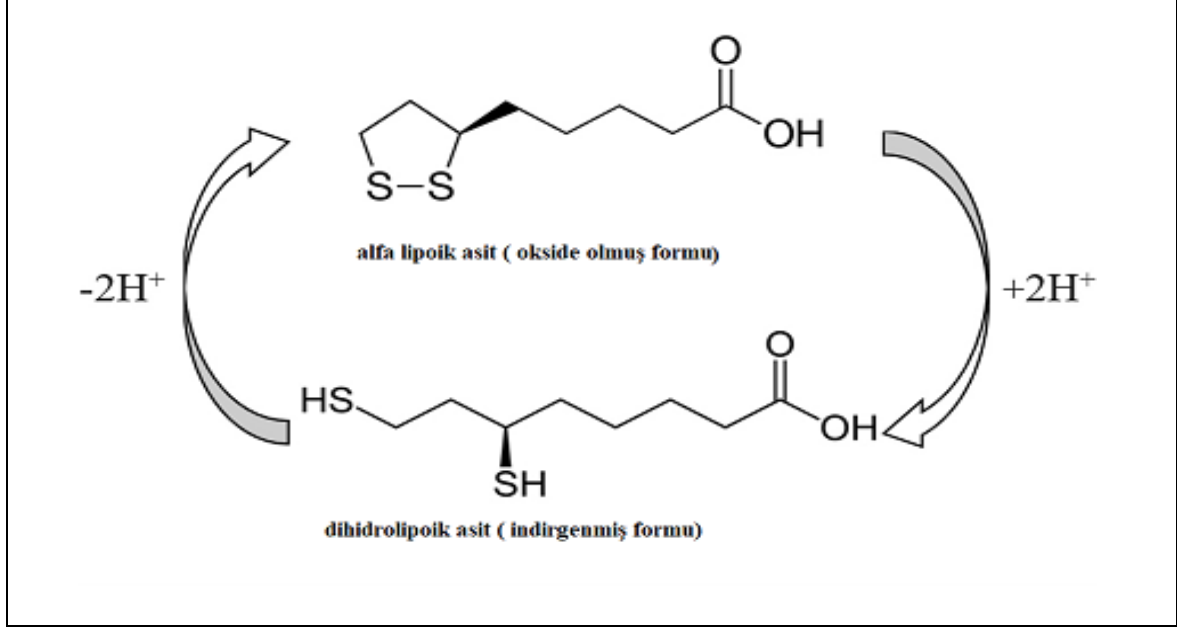
Vücutta doğal olarak üretilen alfa lipoik asit 1930 yılında tanımlanmış olup 1951 yılında Lester Reed ve meslektaşları tarafından karaciğerden saflaştırılmıştır. Alfa lipoik asitin moleküler formülü ise, 1980 yılında 1,2 ditiolan -3 pentotenik asit olarak tanımlanmıştır (Yürük ve Ayaz, 2014). Alfa lipoik asitin (1, 2-ditiolan-3 pentanoik asit; 1, 2- ditiolan-3 valerik asit; ve 6,8-tioktik asit) insanlar ve hayvanlar tarafından sentezlendiği bulunmadan önce bir vitamin olduğu düşünülmektedir (Packer, Witt ve Tritschler, 1995; Solmonson ve De Berardinis, 2018). 1960'lı yıllarda Almanya'da, karaciğer sirozu, ağır metal zehirlenmesi, mantar zehirlenmesi ve diyabetik polinöropati gibi hastalıklarda lipoik asit seviyelerinin düşük olduğu belirlenmiş ve ilk kez alfa lipoik asit bir tedavi olarak kullanılmıştır (Billgren, Cicchillo, Nesbitt ve Booker, 2010).

2.2.2. Alfa lipoik asitin kimyasal yapısı ve formları

Alfa lipoik asit kimyasal olarak 1,2-ditiolan-3-pentanoik asit ($C_8H_{14}O_2S_2$) olarak bilinen bir biyomoleküldür. Molekül ağırlığı 206.35 g/mol olup ditiolan halka yapısına sahip iki sülfür atomu ve sekiz karbon içeren bir bileşiktir (Billgren, Cicchillo, Nesbitt ve Booker, 2010; Rochette, Ghibu, Muresan ve Vergely, 2015; Ergene, 2018). Alfa lipoik asit ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit (DHHLA), beyin ve diğer dokularda tiyol grubu taşıyan biyolojik antioksidanlar olarak antioksidan savunmanın merkezinde yer alırlar. Alfa lipoik asit/DHHLA çifti “evrensel antioksidan” olarak adlandırılmıştır (Rochette ve diğerleri, 2015). Ayrıca, alfa lipoik asit ve DHHLA hem hidrofilik hem de lipofilik ortamlarda antioksidanlar olarak işlev görebilirler. Oksidatif stres koşullarında diğer antioksidanlarla sinerjistik etki gösterebilme yeteneğine sahiptir.

Alfa lipoik asit, kan beyin bariyerini kolayca geçerek lipoamid dehidrojenaz yoluyla hücreler tarafından substrat olarak kabul edilen metabolik antioksidan olarak DHHLA'ya indirgenir (Toklu ve diğerleri, 2010, Rochette ve diğerleri, 2015). (Şekil 2.3.). Alfa lipoik asit, kan-beyin bariyerini geçme potansiyeli sayesinde beyin antioksidanı ve terapötik ajan olarak

görev alabilmektedir. Alfa lipoik asit molekülü direkt olarak reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerken, indirgenmiş formu olan DHLA ise diğer endojen antioksidanlarla etkileşime girerek intrasellüler glutatyonu arttırması yoluyla etki etmektedir (Teichert ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.3. Alfa lipoik asitin formları ve birbirine dönüşümleri (Shaniada ve diğerleri, 2024)

Alfa lipoik asit, “*R-alfa lipoik asit*” ve “*S-alfa lipoik asit*” olmak üzere iki ayrı enantiyomer formda bulunur. Bu iki form, aynı sayı ve pozisyonda atomları olmasına rağmen moleküllerinde atomlarının farklı düzenleri bulunmaktadır. *R-enantiyomeri*, alfa lipoik asitin doğal formu olup farklı mitokondriyal proteinlerin lizin kalıntıların ϵ -amino gruplarına kovalent bağı ile bağlanmakta ve hücre içinde bu formda bulunmaktadır. *S-enantiyomeri* ise, alfa lipoik asitin sentetik ürünlerinde bulunmaktadır. Dışarıdan takviye olarak alınan alfa lipoik asit formu, S ve R formlarının rasemik karışımından oluşan, proteine bağlı olmayan formudur. R-enantiyomer, S-enantiyomerden biyolojik olarak daha aktiftir. (Ergene, 2018). Mitokondride, alfa lipoik asitin DHLA’ya dönüşümünden dihidrolipoil dehidrojenaz enzimi sorumludur, sonrasında sitozolde GR enzimi DHLA’nın alfa lipoik asite oksidasyonunu hızlandırmaktadır. Alfa lipoik asiti DHLA’ya indirgeyen bu enzimler, alfa lipoik asitin R-enantiyomerine bağlanan lipoamid dehidrojenaz; S-enantiyomerine bağlanan GR ve tiyoredoksin redüktazdır (Yaman, Özdemir, Şit, Özer ve Çatal, 2018).

Lipoik asit, karbonhidrat, protein ve lipit kullanarak enerji üretmek için mitokondriyal oksidatif metabolizmada rol oynayan enzim kompleksleri için gerekli bir kofaktördür. Yalnızca R formu kofaktör olarak görev yapabilmektedir. Alfa lipoik asit proteinlerle kovalent bağ oluşturarak Krebs döngüsünde hayati bir rol oynamaktadır. Lipoik asit, *de novo* olarak sentezlenir ve mitokondriyal α -keto asit dehidrojenazların (piruvat dehidrojenaz, 2-okso-glutarat dehidrojenaz, dallı zincirli keto asit dehidrojenaz ve α -ketoglutarat dehidrojenaz) oksidatif dekarboksilasyonunu ve glisinin parçalanmasını katalizlemektedir. Lipoik asit, hücre büyümesinde ve sinyalleşmesinde, mitokondriyal aktivite ve metabolizma düzenlemesinde önemli rol oynayan bu çoklu enzim komplekslerini modüle etmektedir. Aynı zamanda, serbest radikal eliminasyonu, metallerin şelatlanması, oksidan oluşumunun inhibisyonu, mitokondriyal enzim aktivitesinin uyarılması, antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının artırılması, endotel disfonksiyonunun ve egzersiz sonrası oksidatif stresin azaltılması, aterosklerotik plak oluşumunu önlenmesi, insülin duyarlılığının artırılması, oksitlenmiş proteinlerin ve antioksidanların (E ve C vitaminleri, glutatyon) yeniden yapılanması gibi bir çok yolla doğrudan veya dolaylı olarak oksidatif strese karşı etki etmektedir. Bu nedenle, alfa lipoik asit, mitokondriyi oksidatif hasarlardan koruyarak mitokondriyal fonksiyonları ve biyogenezleri iyileştirebilmektedir (Tripahti ve diğerleri, 2023; Shaniada ve diğerleri, 2024).

2.2.3. Alfa lipoik asit sentezi ve emilimi

Alfa lipoik asit, insan ve hayvanlarda kalp, böbrek ve karaciğer dokularında, bitkilerde ve bakterilerde, oktanoik (kaprilik) asit veya sisteinden sentezlenmektedir (Solmonson ve Debardinis, 2018). Düşük redoks potansiyeli ve yüksek indirgeme kapasitesi nedeniyle alfa lipoik asit reaktif oksijen türlerinin tutulmasından ve diğer oksitlenmiş formlarının indirgenmesinden sorumludur. Bu nedenle, “antioksidanların antioksidanı” olarak da adlandırılır. Mikroorganizmalardan insana kadar olan bütün canlılarda sentezlenen alfa lipoik asit güçlü bir antioksidandır. (Karaca, 2008; Tetikçok ve diğerleri, 2015).

Alfa lipoik asit, hem lipoik asit sentaz adı verilen bir enzim tarafından mitokondride *de novo* olarak üretilmekte hem de bitkisel ve hayvansal besinler aracılığıyla alınabilmektedir. Suda ve yağda çözülebilme kapasitesiyle birlikte kolayca emilme özelliği de bulunmaktadır. Yapısındaki kükürt atomunun kaynağı sisteindir ve ditiyol bileşiği özelliğini kazanmaktadır. Oktanoik (kaprilik) asit, oktanoil-transferaz enzimi ile açıl taşıyıcı proteinin tiyoesteri olarak

lipoil alan proteinin amidine, yağ asidi sentez yolundan transfer edilmektedir. Sonraki aşamada, lipoik asit sentaz tarafından yapısında bulunan 2-hidrojen S-adenozil metionin sülfür gruplarıyla değiştirilmektedir. R-Alfa lipoik asit, kofaktör olarak görev yaparken ilgili enzimin lipoil alanındaki terminal lizin kalıntısına lipoil transferaz ile kovalent olarak bağlanmaktadır (Kastaniotis ve diğerleri, 2017).

Oral yoldan alındığında, %93'den fazlası hızlı bir şekilde ince bağırsaktan emilerek, hücrelere taşındıktan sonra çeşitli sitozolik ve mitokondrial enzimler (GR ve tiyoredoksin redüktaz ve mitokondrial enzim E3) tarafından DHLA'ya indirgenmektedir. Kan-beyin bariyerini geçtikten sonra yaklaşık olarak %80'i idrarla atılır (Karaca ve Sözbilir, 2007; Yapar ve Eskiocak, 2014; Ergene, 2018).

2.2.4. Alfa lipoik asit kaynakları

Alfa lipoik asit, mitokondriyal kompleksleri yoğun olan bitki (ıspanak, brokoli, patates, yer elması, domates, bezelye, pirinç, havuç, pancar) ve hayvansal gıdalarda (kırmızı et, yumurta, kalp, böbrek, karaciğer) yoğun miktarda bulunmaktadır. Alfa lipoik asitin, ($\mu\text{g/g}$) bezelye $0,39\pm0,07$; pirinç $0,16\pm0,02$; yumurta $0,05\pm0,07$; böbrek $2,64\pm1,23$; kalp $1,51\pm0,75$; karaciğer $0,86\pm0,33$; dalak $0,36\pm0,08$; beyin $0,27\pm0,08$; pankreas $0,12\pm0,05$; akciğer $0,12\pm0,08$; ıspanak $3,15\pm1,11$; brokoli $0,94\pm0,25$; domates $0,56\pm0,23$ gibi besinlerde bulunduğu belirlenmiştir (Uygur, Şingirik ve Yücel, 2019).

2.2.5. Alfa lipoik asitin biyolojik işlevleri

Evrensel antioksidan olarak da bilinen alfa lipoik asitin hem yağda hem suda çözünbilme özelliği gösteren “tek antioksidan” olması, metallerle şelat oluşturması özelliklerine bağlı olarak oksidatif strese nedenli hastalıkların önlenmesi veya ilerlemesinin engellemesinde kullanılmaktadır (X. Guo ve diğerleri., 2023). Alfa lipoik asitin işlevleri arasında, indirgenmiş glutatyon, C ve E gibi diğer antioksidan özellik gösteren vitaminlerin rejenerasyonu, serbest radikallerin uzaklaştırılması, lipid peroksidasyonuna karşı koruma, SOD ve CAT enzimlerinin aktivitesinin artırılması, metal şelasyonu yaparak mangan, çinko, bakır, kurşun gibi ağır metallerin bu yolla eliminasyonu, immün sistem ve metabolizma ilgili gen ekspresyonu, kolin asetiltransferaz aktivasyonu ile asetilkolin (merkezi sinir sisteminde bir nörotransmitter) üretiminin arttırımı, moleküler hasar onarımı

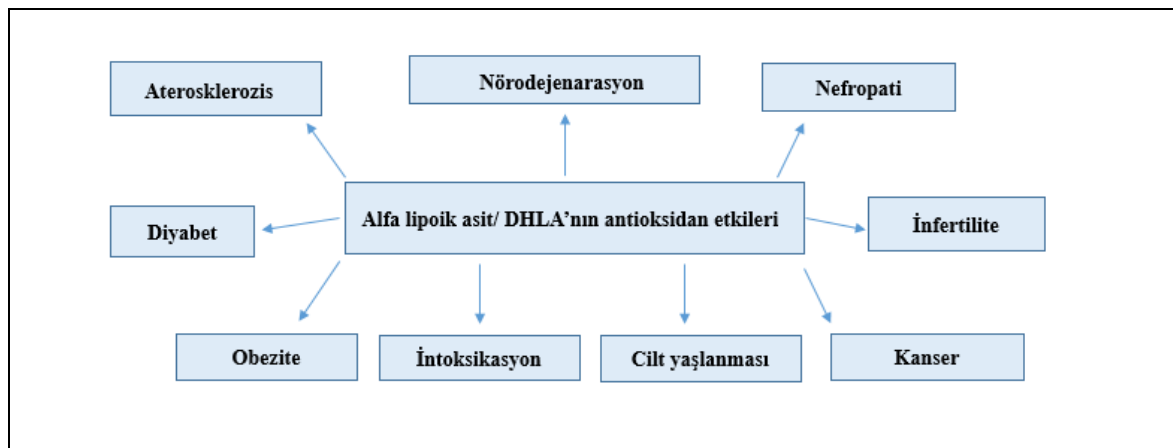
sayılabilmektedir. Ayrıca, hem metabolik süreçlerde koenzim olarak görev yapması hem de antioksidan özelliği olması nedeniyle hücre içi sinyal iletim yollarını etkileyerek anti-inflamatuvar etki gösterdiği bilinmektedir (Ergene, 2018).

Alfa lipoik asit ve onun indirgenmiş formu DHLA, hücreleri korumak için doğrudan veya dolaylı olarak ROS'ları temizleyebilmektedir. Ayrıca oksidatif stresi azaltarak ve oksidatif stresin söz konusu olduğu koşullara karşı hücre direncini artırarak hücre yaşlanmasını önlemektedir. ROS'ların detoksifikasyonunu sağlayan alfa lipoik asit homeostazın korunmasında rol oynamaktadır. Antioksidan kapasitesine bağlı olarak *in vivo* ve *in vitro* koşullarda ROS seviyelerini ve ROS bağlantılı DNA hasarını azaltmaktadır. Ayrıca, oksidatif hasarın bir biyobelirteci olan ve immün sistem hastalıklarında yükselen 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin seviyelerini düşürmektedir. Hücre içi redoks durumunun düzenlenmesi, inflamasyonun ve tümör büyümesinin engellenmesi de görevleri arasındadır. Bu nedenle, alfa lipoik asit gibi antioksidanlar potansiyel antikanser maddeler olarak düşünülmektedir. Ayrıca, alfa lipoik asit hücre içindeki glutatyon seviyelerinin geri kazanılmasına yardımcı olarak, hücrelerin serbest radikal temizleme kapasitelerinin artırılmasını sağlamaktadır. Alfa lipoik asit ve DHLA inflamatuvar aktiviteyi, proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-17 ve IL-18, IFN- γ ve bazı antioksidanların oksidasyonunu azaltarak etki göstermektedir. NF- κ B yolunun önemli bir aktivatörü olan TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler tarafından aktive edilen moleküler sinyal yollarını inhibe ederek inflamatuvar yanıtı baskılamaktadır. ROS dahil olmak üzere, çoğu hücrede çeşitli uyarılar tarafından NF- κ B aktive edilebilmektedir. Bu yolak, inflamatuvar yanıtlara aracılık ederken; diğer yandan kemokinler, sitokinler ve sitokin reseptörleri gibi inflamatuvar araçların ekspresyonunu regüle etmektedir. Bununla birlikte, NF- κ B'nin IL-1 β ve IL-6 gibi farklı inflamatuvar sitokinleri modüle ettiği de bilinmektedir (Zhang ve Frei, 2001; Goraca ve diğerleri, 2011, Shanida ve diğerleri, 2024).

Alfa lipoik asit (LA/DHLA çifti), süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), HOCl, ONOO $^-$ ve $\bullet$ NO temizleyicisidir. Yapılan *in vitro* çalışmalar, lipoik asitin bir I κ B kinaz-2 (IKK2) inhibitörü olarak görev yaptığını ve ardından NF- κ B'nin salınımını sağladığını göstermektedir. Diğer bir anti-inflamatuvar etkisi ise, Nrf-2 ve Keap 1 arasındaki bağları kırarak, bağımsız mekanizmalar yoluyla ortaya çıkan Nrf-2'nin hücre içi seviyelerini yükseltmesidir. Oksidatif stres durumunda, normalde sitozolde inaktif olarak bulunan Nrf-2 aktif hale gelerek nükleusa transloke olarak antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını artırmaktadır

(Villavicencio Tejo ve Quintanilla, 2021). Alfa lipoik asit, bu etkisiyle birçok proinflatuvar sitokinlerin ekspresyonunun azalmasına, GPx ve SOD gibi enzimatik antioksidanların ekspresyonunun artmasına yol açmaktadır (Moura ve diğerleri, 2016; Guo ve diğerleri, 2023).

Mitokondriyal çoklu enzim komplekslerinin kofaktörü olarak görev yapan R-Alfa lipoik asit, enzimlerdeki proteinlerin lizin kalıntılarına kovalent bağlanarak prostetik grup özelliğine sahip olmaktadır. Kofaktör ve apoenzim kompleksinden oluşan bu özelliği sayesinde sıkıca birbirine bağlı yapısal stabilitesini korumaktadır. Alfa lipoik asit, açıl taşıyıcı olarak, pirüvat dehidrojenaz, dallı zincirli α -keto asit dehidrojenaz, α -keto-glutarat dehidrojenaz ve 2-oksoadipat dehidrojenaz enzim komplekslerinin temel kofaktörüdür (Packer, Witt ve Tritschler, 1995; Jin, Sato, Hachisuka ve Atomi, 2022). Çoklu enzim komplekslerinden oluşan bu aile, karbonhidrat metabolizmasında (pirüvat dehidrojenaz kompleksi), sitrik asit döngüsünde (α -ketoglutarat dehidrojenaz kompleksi) ve amino asit katabolizmasında (dallı zincirli α -keto asit dehidrojenaz kompleksi, α -ketoadipat dehidrojenaz kompleksi), glisin bölünme ve lizin, hidroksilin, triptofanın katabolik yolunda (2-oksoadipat dehidrojenaz enzim kompleksi) yer almaktadırlar. Ayrıca, enzim komplekslerinin tümü stratejik noktalarda işlev görmek ve bu metabolik yollardaki düzenlemelere katılmaktadırlar (Solomonson ve DeBerardinis, 2018; Szabo ve diğerleri, 2024).



Şekil 2.4. Alfa lipoik asit/DHLA'nın antioksidan etki şeması

Alfa lipoik asitin anti-kanser, anti-oksidatif, anti-inflatuvar ve anti-viral olmak üzere birçok farmakolojik özelliğine bağlı olarak (X. Guo ve diğerleri, 2023), AIDS, renal litiazis,

etanol intoksikasyonu, beyin iskemisi, inme, Parkinson hastalığı, kutanöz inflamasyon, gastrik ülser, diyabetik nöropati, radyasyon yaralanmaları ve katarakt gibi pek çok hastalığın klinik öncesi çalışmalarda ve klinik tedavisinde de kullanılmıştır (Biewenga, Haenen ve Bast, 1997; Bilska ve Wlodek, 2005; Karakoyun, Yuksel, Ercan, Erzik ve Yegen, 2009). (Şekil 2.4.). Ayrıca, alfa lipoik asit, bir inflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF- κ B aktivitesini de düşürdüğü için inflamatuvar bağırsak hastalıklarında inflamatuvar yanıtları/faktörleri belirgin şekilde azaltır (Moeinian ve diğerleri, 2019; P. Zhao ve diğerleri, 2024). *in vitro* Caco-2 hücre modeli kullanılarak ısıya bağlı stresle indüklenen bağırsak epitel hasarında alfa lipoik asitin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, alfa lipoik asit uygulamasının COX-2 mRNA ekspresyonunu azaltarak inflamatuvar yanıtı modüle ettiği saptanmıştır (Varasteh, Fink-Gremmels, Garssen ve Braber, 2018). Ülseratif kolit modeli oluşturulmuş farelerde, tedavide alfa lipoik asit uygulamasının NF- κ B, COX-2, IL-17 ve Nrf-2 gibi moleküler hedeflerin modülasyonunu sağlayarak, kolon dokusundaki sitotoksikite, DNA hasarı, fibrozis, oksidatif stres ve inflamasyonu azalttığı ve bu sayede hastalığın şiddetini de azalttığı gösterilmiştir (Trivedi ve Jena, 2013; P. Zhao ve diğerleri, 2024).

Dekstran sülfat sodyumla indüklenen fare kolit modelinde alfa lipoik asitin inflamasyon, oksidatif stres, DNA hasarı ve fibrozisi modüle ettiği gösterilmiştir (Trivedi ve Jena, 2013). 2,4,6- trinitrobenzenosulfonik asit (TNBS) ile indüklenen kolitli ratlarda 80 mg/kg/gün olacak şekilde bir hafta boyunca oral yoldan alfa lipoik asit verildiğinde hastalık aktivite indeksini anlamlı şekilde azalttığı gözlemlenmiştir (J. Sun ve M.J. Sun, 2016). Yapılan başka bir çalışmada, pasif sigara dumanına maruz kalan, asetik asitle indüklenen kolitli genç ratlarda alfa lipoik asitin koruyucu etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Özbeyli ve diğerleri, 2017).

Bu bilgilerden hareketle, bu tez konusunda, ratlarda asetik asitle indüklenmiş deneysel kolit modelinde meydana gelen kolon mukozası hasarı, inflamasyonu ve oksidasyonuna karşı alfa lipoik asitin tek başına veya mesalaminle olan kombine kullanımının etkinliği değerlendirildi. Bununla birlikte, kolitin neden olabileceği bağırsak mikrobiyota profili değişiklikleri ile alfa lipoik asitin düzenleyici etkileri karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Böylece, gerek kolitin etiyopatogenezi gerekse de alfa lipoik asitin etkinliğinin birçok yolak üzerinden aydınlatılması hedeflenmiş ve ileride yapılacak çalışmalara farklı bir bakış açısı kazandırılacağı düşünülmüştür.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan kimyasallar ve antikorlar

Çalışma kapsamında kullanılan kimyasallar ve primer antikorlar Çizelge 3.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve primer antikorlar

Kimyasal Madde ve Antikorlar	Marka - Katalog Numarası
Asetik asit	Tekkim, TK.010030.02501
Mesalamin	MedChem Express, HY-15027
Alfa lipoik asit	MedChem Express, HY-N0492
Formaldehit	Tekkim, TK.060161.02501
Fosfat tamponlu salin tablet	Bioshop Canada, PBS404.100
Hematoksilen	Bio-Optica, 05-06002/L
Eozin	Bio-Optica, 05-10007/L
Diaminobenzedin kiti	PatoLab, PL-060-HDX
<i>Ultravision Detection System Kit</i>	Epredia, TP-125-HL
Sitrat tamponu	PatoLab, PL-125-CTB
Hidrojen peroksit	PatoLab, PL-060-HP
Glasiyel asetik asit	Merck, M100063.2500
Ksilen	Tekkim, TK.090270.05003
Absolut Etanol (%99)	Honeywell, 64-17-5
<i>Masson's Trichrome</i> boya kiti	Bio-Optica, 04-010802
<i>Alcian Blue</i> Kiti	ScyTek, APS-1
Nitrozin	Elabscience, E-EL-0040
Total Antioksidan Status kiti	RelAssay, RL0017
Total Oksidan Status kiti	RelAssay, RL0024
Okludin primer antikor	Bioss-USA, bs-1495R-20ul
Zonula okludens-1 primer antikor	Elabscience, E-AB-52081-60ul
Klaudin-1 primer antikor	Elabscience, E-AB-30939-60ul
NLRP3 primer antikor	Elabscience, E-AB-93112-60ul
Gasdermin primer antikor	MedChem Express, HY-P81230-100ul

3.1.2. Cihazlar

Çalışma kapsamında kullanılan cihazlar Çizelge 3.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihazlar	Marka
Hassas terazi	Necklife
Santrifüj	LW Scientific Zip-IQ TT
-85°C derin dondurucu	Sanyo
-20°C derin dondurucu	Sanyo
+4°C buzdolabı	Arçelik
Mikrotom cihazı	Slee
Distile su cihazı	Nüve
Saf su cihazı	Şimşek Laborteknik
pH metre	AD1000 ph/mV&Temperature Meter
Homojenizatör	Miccra D-1
Vorteks	MS2 Minishaker IKA
Mikroplaka okuyucu	Bio-Tek EL X 800-Aotu strip washer:Bio Tek EL X 50
Kolorimetri	Mindray-BS400
Western blot jel dökme modülü	Bio-Rad
Otomatik pipet seti	Thistle Scientific
Dikey elektroforez sistemi	Bio-Rad
Western Blot Cihazı	Trans-Blot Turbo, Bio-Rad Laboratories
Kemilimunesan Görüntüleme Cihazı	ChemiDoc MP, Bio-Rad
Mikroskop	ZEISS Axiolab 5
Yeni nesil sekanslama cihazı	Miseq, Illumina

3.2. Yöntem

3.2.1. *in vivo* çalışmalar

Hayvanlar

Araştırmamızda 8-10 haftalık 200-250 g ağırlığında pubertasa ulaşmış sağlıklı 34 adet erkek Wistar Albino ırkı rat kullanıldı. Hayvanlar 12 saat gece/gündüz periyodunda, 21-24 °C ve %45-55 nem oranı olan barınma yerlerinde, standart rat yemi (%5,5 ham yağ, %23 ham protein, %3,5 ham selüloz, %8 ham kül, %11 NDF; 12,5 kJ/g) ve musluk suyuyla *ad libitum* beslendiler. Hayvanlarda yapılacak tüm işlemler ve deneklerin izlenmesi Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından izin alındıktan sonra (G.Ü.ET-23.078) Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Deney Hayvanları Bakım ve Araştırma Ünitesinde yapıldı. Üniteye kabul edilen hayvanlar, bir hafta adaptasyona maruz bırakıldı ve bu süre içerisinde özel olarak üretilmiş antiparaziter yem ile beslendi. Daha sonra kontrol grubunda 6, deney gruplarında 7 hayvan olacak şekilde aşağıda belirtildiği gibi 5 gruba ayrıldı.

Deney grupları

Grup I: *Kontrol Grubu* (n=6): İntrarektal herhangi bir uygulama yapılmayan, 14 gün boyunca oral 1 mL distile su uygulanan grup

Grup II: *Kolit Grubu* (n=7): % 4 asetik asit ile kolit oluşturulan ve 14 gün boyunca oral 1 mL distile su uygulanan grup

Grup III: *Mesalamin (Referans Madde) Grubu* (n=7): % 4 asetik asit ile kolit oluşturulan ve 14 gün boyunca 1 mL oral mesalamin 50 mg/kg/gün dozda uygulanan grup

Grup IV: *Alfa Lipoik Asit Grubu* (n=7): % 4' lük asetik asit ile kolit oluşturulan ve 14 gün boyunca 1 mL oral alfa lipoik asit 100 mg/kg/gün dozda uygulanan grup

Grup V: *Mesalamin + Alfa Lipoik Asit Grubu* (n=7): % 4' lük asetik asit ile kolit oluşturulan ve 14 gün boyunca 1 mL oral mesalamin 50 mg/kg/gün ile 1 mL oral alfa lipoik asit 100 mg/kg/gün dozda uygulanan grup

* 3R kuralı ilkesine uyarak kontrol grubu 6 hayvandan, kolit indüksiyonu yapılacak gruplar ise kayıpların olması göz önünde bulundurularak 7 hayvandan oluşacak şekilde dizayn edilmiştir.

Kolit indüksiyonu

Grup I dışındaki hayvanlarda kolit indüksiyonu amacıyla % 4 asetik asit intrarektal olarak uygulandı (Resim 3.1.). 12 saat boyunca yiyecekten yoksun bırakılan ratlara ksilazin (8 mg/kg/i.p.) ve ketamin (75 mg/kg/i.p.) anestezisi uygulandı. Ratlara rektal yoldan yerleştirilen bir sonda 6 cm ileriye ulaşacak şekilde ilerletildi. Hayvanlar bu işlem sırasında *trendelenburg* pozisyonuna getirilerek, 2 mL volümde %4 asetik asit çözeltisi yavaş şekilde intrarektal yolla verildi. Daha sonra verilen maddenin anüsten dışarıya çıkmasını önlemek amacıyla ratlar 2 dakika *trendelenburg* pozisyonunda bekletildiler (Shahid ve diğerleri, 2022).

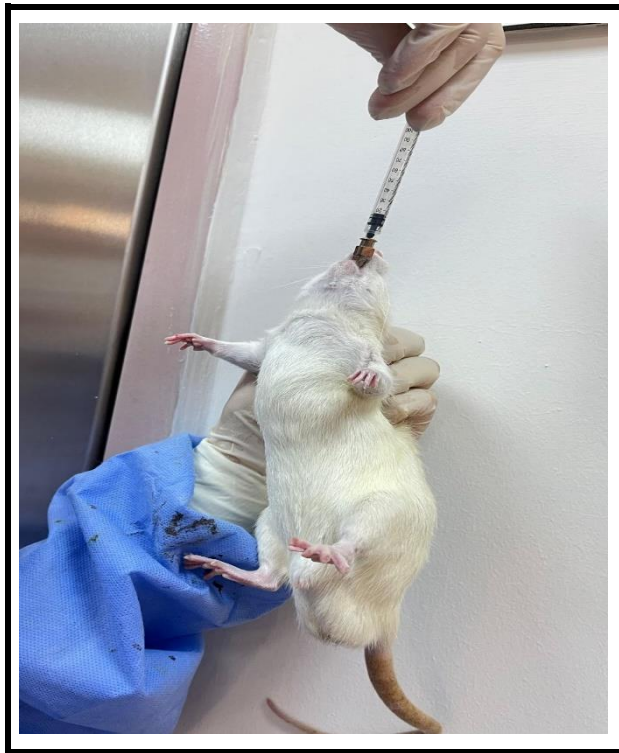


Resim 3.1. Asetik asit solüsyonunun intrarektal uygulanması

Tedavi protokolü

Asetik asit uygulamasından 24 saat sonra tedavi protokolüne başlandı ve 14 gün süreyle devam edildi. Tedavi amacıyla uygulanan tüm test materyalleri gavaj yardımıyla oral yoldan verildi (Resim 3.2.). Kolit modeli indüksiyonu yapılmayan Grup I-Kontrol Grubu

hayvanlarına herhangi bir tedavi uygulanmayıp 1 mL distile su verildi. Grup II-Kolit Grubu hayvanlarına kolit modeli sonrası 1 mL distile su uygulandı. Grup III-Referans Madde Grubu hayvanlara kolit indüksiyonu sonrası 1 mL distile su içerisinde çözödürölen 50 mg/kg/gün dozda mesalamin (Rao ve diğlerleri, 2022) uygulandı. Grup IV-Alfa Lipoik Asit Grubu hayvanlarına kolit modeli sonrası 1 mL distile su içerisinde çözödürölen alfa lipoik asit 100 mg/kg/gün (Moura ve diğlerleri, 2016) dozda verildi. Grup V-Mesalamin+Alfa Lipoik Asit Grubu hayvanlarına kolit modeli sonrası 1 mL distile su içerisinde çözödürölen 50 mg/kg/gün dozda mesalamin ile alfa lipoik asit 100 mg/kg/gün dozda uygulandı.



Resim 3.2. Gavaj yoluyla oral yoldan test materyallerinin verilmesi

Hastalık aktivite indeksi

Deney öncesi ve deneysel prosedürün sonuna kadar hayvanlar günlük olarak tartıldı ve dışkı muayenesi yapıldı. Hayvanların dışkı muayenesinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda kolit hastalık aktivite indeksi Çizelge 3.3.'de belirtildiği gibi skorlandı (Lleal ve diğlerleri, 2019).

Çizelge 3.3. Kolit hastalık aktivite indeksinin skorlanması (Lleal ve diğerleri, 2019)

Kilo Kaybı	Skor	Dışkıda kan	Skor	Dışkı yapısı	Skor
< % 1	0	Yok	0	Normal	0
% 1-5	1		1	Yumuşak Parçalı	1
% 5-10	2	Hafif Kanama	2	Dağınık Parçalı	2
% 10-15	3		3	Orta Diyare	3
> % 15	4	Büyük Kanama	4	Sulu Diyare	4

DeneySEL prosedürün sonlanması

Kolit indüksiyonu sonrası 14 günlük tedavi prosedürünü takiben tüm hayvanlar genel anestezi altında (8 mg/kg/i.p. ksilazin ve 75 mg/kg/i.p. ketamin) eksanguinasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Hayvanların sakrifikasyonundan hemen sonra anüsten 8 cm uzakta olacak şekilde distal kolon uygun diseksiyon yöntemi ile çıkarıldı ve ayrı ayrı tartılıp ağırlıkları kaydedildi. Distal kolon uzunlamasına açıldı ve Çizelge 3.4.'de belirtilen kolorimetrik değerlendirme kullanılarak üç alan (normal, orta ve şiddetli inflamasyon) kolonik hasarın ölçülmesi için fotoğraflandı (Wang ve diğerleri, 2016). Kolonun uzunlamasına kesitinin yarısı histopatolojik ve immunohistokimyasal analizler için, diğer yarısı ise biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi amacıyla kullanıldı.

Çizelge 3.4. Kolonun Makroskopik Değerlendirilmesi (Wang ve diğerleri, 2016)

Skor	Makroskopi
0	Hasar yok
1	Hiperemik, ülser yok
2	Belirgin inflamasyon göstermeyen lineer ülser
3	Bir bölgede inflamasyonlu lineer ülser
4	İki yada daha fazla yerde < 1 cm ülserasyon / inflamasyon
5	İki yada daha fazla yerde kolon boyunca geniş > 1 cm ülserasyon / inflamasyon

3.2.2. Biyokimyasal parametreler

Deney protokolü sonrası eppendorf tüplerine alınan kolon doku örnekleri analizler yapılana kadar -80°C'de saklandı. Elde edilen örnekler homojenize edildikten sonra *total oksidan*, *total antioksidan* ve *nitrotirozin* düzeyleri değerlendirildi. Spektrofotometrik ve kolorimetrik yöntemle yapılacak analizlerde homojenizasyon amacıyla; 1 g doku 9 mL çalışma solüsyonunda (50 mmol; pH:7,4 Fosfat Tamponu) homojenizatör yardımıyla

homojenize edildi. Daha sonra, elde edilen homojenat 3,000 rpm’de 4 °C’de 5 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatantları toplandı. Doku ağırlığının değişmesi durumunda çalışma solüsyonu orantılı bir şekilde değiştirildi. Süpernatantlar her bir analizde serum gibi çalışıldı.

Total oksidan status (TOS) ve total antioksidan status (TAS) düzeyinin belirlenmesi

Ülseratif kolit olgularında meydana gelen inflamasyon, oksidatif strese neden olmakta ve bu durum iyileşme sürecini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu nedenle tedavi edilen dokulardaki iyileşme oranının belirlenmesinde oksidatif stres indeksi önemli bir parametredir. Bu amaçla, doku TOS ve TAS düzeyleri ticari kitler kullanılarak (Relassay, Türkiye) firmanın talimatlarına göre kolorimetrik olarak analiz edildi. Hazırlanan homojenize kolon dokusu örneklerinde TAS düzeyi için doku antioksidanlarının ABTS (2,2’-azino-bis (3- etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikal katyonu üzerindeki süpürücü etkileri değerlendirildi (Erel, 2004). TOS düzeyi ise, numunelerde bulunan doku oksidanlarının ferroz iyon-O-dianizidin’i ferrik iyonla okside etme kapasiteleri ölçüldü. Bu parametreler kullanılarak OSI düzeyi hesaplandı (Erel, 2005).

Oksidatif Stres İndeksi: TOS düzeylerinin TAS düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilen OSI hesaplanırken, TAS düzeyinin birimindeki mmol değeri TOS değerinde olduğu gibi µmol birimine çevrildi (Erel, 2005). Sonuçlar “arbitrary unit” (AU) olarak ifade edilerek OSI değeri hesaplandı ($OSI = \frac{TOS, \mu mol H_2O_2 equiv./L}{TAS, \mu mol Trolox equiv./L} \times 10$).

Nitrotrozin düzeyinin belirlenmesi

Nitrotrozin (3-NT), oksidatif stresle ilişkili doku hasarının en önemli göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir. Kolon dokusunda 3-NT düzeyi ölçümü hazır ticari bir kit kullanılarak üretici firmanın talimatlarına uygun olarak yapıldı. Bu amaçla, 50 µl süpernatant ve 50 µl *Biotinylated Detection Antibody* antikor kaplı mikropłaka kuyucuklarına eklendikten sonra yavaşça karıştırıldı ve 37°C’de 45 dakika inkübe edildi. Daha sonra mikropłaka içindeki sıvı boşaltıldıktan sonra 3 kez yıkama solüsyonu (*wash buffer*) ile yıkandı ve 100 µl *HRP (Horseradish Peroxidase)-Streptavidin Conjugate* mikropłakaya yüklenerek 37°C’de 30 dakika inkübe edildi. Ardından mikropłaka içindeki sıvı

boşaltıldıktan sonra 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandı ve 90 µl *TMB* (3, 3', 5, 5'-*Tetramethylbenzidine*) *Substrate* mikropalakaya yüklenerek ışıktan korunacak şekilde 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Son olarak, 50 µl stop solüsyonu tüm kuyulara eklendi ve spektrofotometrik mikropalaka okuyucuda 450 nm'de absorbans değerinde okundu. Örnekteki protein konsantrasyonuna oranlanarak 3-NT düzeyi (ng/mL) hesaplandı.

3.2.3. Western blot incelemeleri

Kolon doku örneklerinde *NLRP3* ve *GSDMD* protein ekspresyonları Western blot yöntemiyle incelendi. Kolon dokusu homojenizasyon tamponu içinde (50 mM Tris, 2 mM EDTA (Etilendiamintetra asetik asit), %1 NP-40 (Nonil fenol) (v/v), 1 mM PMSF (Phenylmethanesulfonyl Fluoride), %10 süktroz ve proteaz-fosfataz inhibitör tablet/solüsyon) homojenizatör yardımıyla (Micra D-1 Homojenizatör) homojenize edildi. Doku homojenatında bulunan toplam protein miktarı Lowry ve diğerleri (1951)'nin yöntemiyle ölçüldü. Çalışmanın öncesinde, her bir antikor için optimizasyon çalışmaları yapılarak yüklenecek protein miktarı ve antikor konsantrasyonları belirlendi. Eşit miktarda protein karışımını içeren doku homojenatı %'4'lük sıkıştırıcı, %10-12'lik ayırıcı jelde yürütölüp SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat–poliakrilamid jel elektroforezi) yöntemiyle ayrıldı. Ardından sabitlenmek ve antikorlarla işaretlenmek üzere Western Blot tekniğı ile PVDF (polivinilidin diflorür) membranlara Trans-blot TurboTM (Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, ABD) cihazı kullanılarak aktarıldı (Towbin, Staehelin ve Gordon, 1979). PVDF membrana aktarıldıktan sonra membranlar TBS-T (0,5 M NaCl, 20 mM Tris pH:7,4, %0,05 h/h Tween-20) ile yıkandı. Ardından TBS-T içinde hazırlanmış %5'lik süt tozu veya sığır serum albumini (BSA) ile oda sıcaklığında bir saat bloklandı. Bloklama sonrası membranlar primer antikorlarla 4°C'de bir gece bekletildi ve membranlar TBST tamponu ile yıkandıktan sonra, *Horseradish Peroksidaz* (HRP) ile konjuge edilmiş ikincil antikorlar ile oda sıcaklığında bir saat daha muamele edildi. Ardından, Clarity™ (BioRad Laboratories) *Enhanced Chemiluminescence* (ECL) görüntölleme solüsyonu ile 3-5 dk inkübe edilerek membranların kemiluminesan görüntölteri ChemiDoc™ MP görüntölleme sistemi (Bio-Rad) ile alındı. Aynı zamanda, normalizasyon için aynı örnekler ve membranlar β -actin (internal kontrol) antikoru ile muamele edildi. *Image Lab4.1* Programı yardımı ile bant yoğunlukları ölçüldü. Protein ekspresyonları, β -actin proteini ile oranlanarak normalize edildi.

3.2.4. Histopatolojik ve immunohistokimyasal çalışmalar

Distal kolonun ilgili bölümü %10 tamponlu formaldehit içerisinde alınarak fikzasyon işlemi gerçekleştirildi. Parafin bloklama sonrasında histopatolojik ve immunohistokimyasal analizlere başlandı.

Hematoksilen&eosin (H&E) boyama protokolü

Rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafin bloklardan elde edilen 4 µm kalınlığındaki kesitler, deparafinizasyon işleminin ardından, rehidratasyon işlemi için azalan etil alkol serilerinde (%100, %90, %80, %70 ve %50) 10'ar dakika tutuldu. Kesitler havada kurutma işlemi tamamlandıktan sonra, 10 dakika akan musluk suyu ile yıkayıp alkolden uzaklaştırıldı. Yıkama işleminin ardından 10 dakika Harris Hematoksilen boya solüsyonunda tutulan kesitler, daha sonra akan musluk suyu altında 10 dakika, glasiyel asetik asit ile alkol karışımı olan solüsyona 2-3 kez batırılıp çıkarılarak akan musluk suyu altında tekrar 10 dakika süreyle yıkandı. Bu işlemi takiben, 10 dakika Eosin boya solüsyonunda bekletilerek tekrar 10 dakika akan musluk suyu ile yıkamanın ardından dehidratasyon işlemi için sırasıyla % 50, %70, %80, %90 ve %100'lük artan etil alkol serilerinden hızlıca geçirildi. 45 dakika ksilolde bekletilip lamalar entellan ile kapatıldı. Hazırlanan kesitlerden, ZEISS Axiolab 5 (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda elde edilen görüntüler, Zen Blue 3.4 programında değerlendirilerek semikantitatif histopatolojik skorlama yapıldı (Çizelge 3.5.).

Çizelge 3.5. Mikroskopik Skorlama (Wang ve diğerleri, 2016)

Skor	Parametre
0	Normal kolon dokusu
1	Mukoza tabakasında sınırlı inflamasyon ya da fokal ülserasyon
2	Mukoza ve submukoza tabakalarında sınırlı fokal ya da yaygın ülserasyon ve inflamasyon
3	Muskularis propria ile sınırlı fokal ya da yaygın ülserasyon ve inflamasyon
4	Seroza ile sınırlı fokal ya da yaygın ülserasyon ve inflamasyon
5	Serozayı içeren yaygın ülserasyon ve transmural inflamasyon

Masson'un üçlü boyama protokolü

Deney gruplarına ait doku bloklarından alınan 4 µm kalınlığındaki kesitler deparafinizasyon işlemi için, 37 °C'lik etüvde bir gece kaldıktan sonra deparafinizasyonun devamında etüv ısısı 57 °C'ye çıkarılarak bir saat daha bekletildi. Daha sonra, kesitler, iki kez beşer dakika ksilole alınarak deparafinizasyon işlemi sonlandırıldı. İki kez üç dakika %100'lük etil alkolden geçirildikten sonra sırasıyla %90, % 80, % 70 ve % 50 azalan etil alkol serilerinden geçirildi. Kesitler, akan musluk suyunda yıkanarak boyamaya hazır hale getirildi ve *Masson Trichrome* boyama kitine maruz bırakıldı. *Weigert Iron Hematoxylin A* ve *B* solüsyonlarının karışımında yaklaşık 20 dk bekletilen kesitler distile sudan geçirildi. Pikrik asit alkolik solüsyonunda beş dk tutulduktan sonra kesitler tekrar distile su ile yıkandı. *Ponceau* asit Fuksin solüsyonu kullanılarak 15 dk boyanan kesitlerin tekrar distile su ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. *Phosphomolybdic asit* solüsyonunda yaklaşık beş dakika tutulan kesitler yıkama işlemi yapılmadan *Anilin Blue* solüsyonuna etkin bırakıldı. Kesitler distile su ile yıkama sonrasında alkol serilerinden geçirilerek kapama medyumunu entellan ile kapatıldı. *Masson's Trichrome* boya kiti kullanarak boyanan kolon kesitlerinde *Image J* programı ile *fibrotik alan yüzdesi* değerlendirildi (Alattar, Alshaman ve Al-Gayyar, 2022).

Alcian Blue boyama protokolü

Deparafinize edilen kesitler alkollerden geçirilerek akar suda yıkandı. Boyama için *Alcian Blue* Kiti (pH:2,5) kullanıldı. % 1 *Alcian Blue* solüsyonunda 30 dk boyandıktan sonra

%3'lük asetik asitte 10-20 saniye yıkandı. Akar su altında beş dakika yıkamanın ardından üç dakika *neutral red* ile zemin boyası yapıldı. Yıkama ve dehidratasyon sonrasında ksilole alınarak kapama mediumu ile kesitler kapatıldı. ZEISS Axiolab 5 (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskopunda elde edilen görüntüler, Zen Blue 3.4 programında değerlendirildi. *Alcian Blue* Boyama sonrası deney gruplarına ait kolon kesitlerinde farklı kriptlerde *Goblet hücre sayıları* değerlendirildi (Ma, Yeom ve Lim, 2020).

İmmunohistokimyasal analizler

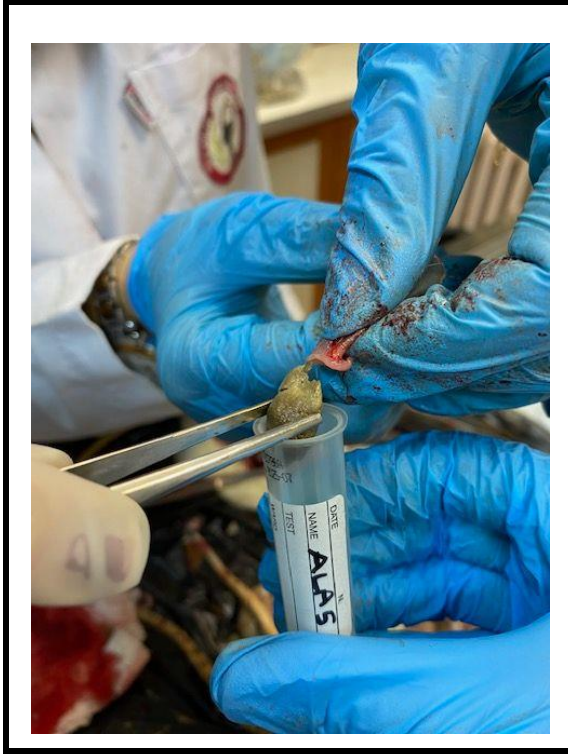
İmmunohistokimyasal yöntem, *UltraVision Detection System Large Volume Anti-Polyvalent, HRP (RTU)* ve *Ultra Vision Detection System DAB Substrat System* immunohistokimya kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. İmmünohistokimyasal boyama için parafin bloklardan polilizinli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, deparafinizasyon işleminin ardından azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %80 ve %70) geçirildi. Dehidrate edilen dokular alkolden uzaklaştırılmak için iki kez beşer dakika distile sudan geçirildi, daha sonra, dokulara sitrat tamponu (pH:6,0) ile *retrieval* işlemi uygulandı. Dokuları sitrattan arındırmak için iki kez beşer dakika distile sudan geçirildi. Dokuların çevresi PAP-pen ile çevrilerek nemli ortam olmasına dikkat edilen immünohistokimya barına dizildi. Dokular üç kez üçer dakika süreyle fosfat tampon solüsyonu (pH:7,4) ile yıkandı. Daha sonra, 15 dakika %3'lük hidrojen ile etkin bırakıldı. İşlem sonrasında, fosfat tampon solüsyonu ile lamlar yıkandı, yıkanan lamlara beş dakika *UltraV block* uygulandı, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemten sonra, dokular yıkanmadan primer antikor aşamasına geçildi. Kesitler uygun dilüsyonda *Okludin*, *Zonula Okludens-1* ve *Klaudin-1* primer antikorlarına etkin bırakılarak inkübe edildi. Primer antikordan sonra lamlar üç kez üçer dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkandı. Yıkamanın ardından lamlara 10 dakika biyotinli sekonder antikor uygulandı. Tekrar fosfat tampon solüsyonu ile yıkandıktan sonra dokular 10 dakika streptavidin peroksidazenzim kompleksine etkin bırakıldı. İşlem sonrasında dokular yine üç kez üçer dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkandı.

Diaminobenzedin içeren (DAB) substratı içeren kromojen DAB eklenerek bekletildi ve gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. Zemin boyası olarak Mayer'in hematoksilin'i kullanıldı. DAB ile boyanan lamlar azalan alkol serilerinden geçirildi. 20 dakika ksilolde bekletildikten sonra entallan ile kapatılan kesitler ZEISS Axiolab 5

(Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskopunda, Zen Blue 3.4 programı kullanılarak değerlendirildi. *Image J* programı kullanılarak her kesitte randomize seçilen dört farklı alanda primer antikora ait immunoreaktivite yoğunluğu ölçüldü (Shastri, Shinde, Sohal, Gueven ve Eri, 2020).

3.2.5. Fekal mikrobiyotanın yeni nesil sekanslama (YNS) yöntemi ve metagenomik yaklaşım ile belirlenmesi

Deney sonrasında ratlardan steril koşullar altında feçes örnekleri alındı (Resim 3.3.). Örnekler, içerisinde steril Tris-EDTA tamponu bulunan tüplere aktarıldı. Bir saat kadar soğuk ortamda hızlı bir şekilde karıştırılarak elde edilen çözelti, öncelikle ökaryotik hücrelerin uzaklaştırılması için 5,000 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, supernatant toplanarak 15 dakika 13,000 g'de santrifüj edildi. Elde edilen pellet tekrar çözündürüldükten sonra üretici firmanın talimatlarına uygun olarak DNA izolasyon kitleriyle DNA izolasyonları gerçekleştirildi. DNA konsantrasyonları *Qubit 2.0 Fluorometer* kullanılarak tespit edildi ve DNA örnekleri kullanıma kadar -20°C'de saklandı. Kütüphane oluşturulması için polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) programı ve sekanslama *İllumina*'nın talimatlarına uygun şekilde gerçekleştirildi. Tekrar PZR ürünlerinin kaliteleri *Qubit* cihazı kullanılarak kontrol edildi. PZR ürünleri serbest primerler ve primer dimerlerinden temizlendi ve DNA konsantrasyonu hesaplandıktan sonra 16S dizileri *MiSeq v3* dizileme kiti ve iç kontrol olarak %5 *PhiX* kullanılarak *MiSeq* (*Illumina*, ABD) sistemi ile 2x250 *pair-end* olarak belirlendi. *MiSeq raporter 2.4* içeren *MiSeq Kontrol Yazılımı (versiyon 2.4)* öncül analizler ve ham okumaların de-multipleksi için kullanıldı.



Resim 3.3. Steril şartlar altında feçes örneğinin toplanması

Biyoinformatik

YNS sonrası elde edilen sekanslardan belirsiz olanlar, uzunluğu 100 bp'den kısa olanlar, 8bp uzunluğundan daha uzun homopolimer içerenler elendi. Kalan sekanslardan adaptör ve primer kısımları kesildi. *FastQC* yazılımı kullanılarak kalite filtrelemesi yapıldı. Elde edilen okumalar, *MiSeq reporter* yazılımı ve açık kaynak yazılım paketi olan *QIIME*, kullanılarak *Greengenes* ve *SILVA* veri bankalarıyla eşleştirmeleri yapılarak operasyonel taksonomik birimler (*Operational Taxonomic Units, OTUs*) tespit edildi ve mikrobiyal çeşitlilik ve dağılımları belirlendi. Bu aşamada, ek olarak online olarak kullanılabilen *Seqmatch* yazılımı (http://rdp.cme.msu.edu/seqmatch/seqmatch_intro.jsp) kullanılarak elde edilen sekanslar *Ribosomal Database Project II (RDPII)* veri bankasıyla da karşılaştırıldı.

Mikrobiyota analizinin değerlendirilmesinde, bir örnekleme ilgili taksonomik birimlerin çeşitliliğini değerlendirmek için alfa çeşitlilik değerlendirmesi, *Chao1*, *Shannon* ve *Simpson* olmak üzere üç farklı indeks kullanılarak yorumlandı. Bireyler arasındaki taksonomik farklılıkları değerlendirmek için kullanılan beta çeşitlilik analizi, *Jaccard*, *Bray-Curtis*, Ağırlıklı ve Ağırlıksız *unifrac* temel alınarak hesaplandı. Gruplar arasındaki spesifik farklılıklar, diferansiyel bolluk analizi, *Deseq2 R* paketi ile ortaya konuldu. Doğrusal

diskriminant analizi Etki Büyüklüğü (*LEFSe*) analizi, istatistiksel olarak anlamlı taksonomileri göstermek için gruplar arasında yapıldı.

3.2.6. İstatistiksel analiz

Çalışma sonunda elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmanın istatistiksel analizlerinde, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve *Bonferroni post-hoc* testi kullanıldı. İstatistiksel farkın belirlenmesinde $p < 0,05$ düzeyi dikkate alındı. Verilerin analizi ve grafiklerin elde edilmesi için GraphPad Prism 8.0 Software programı kullanıldı.

4. BULGULAR

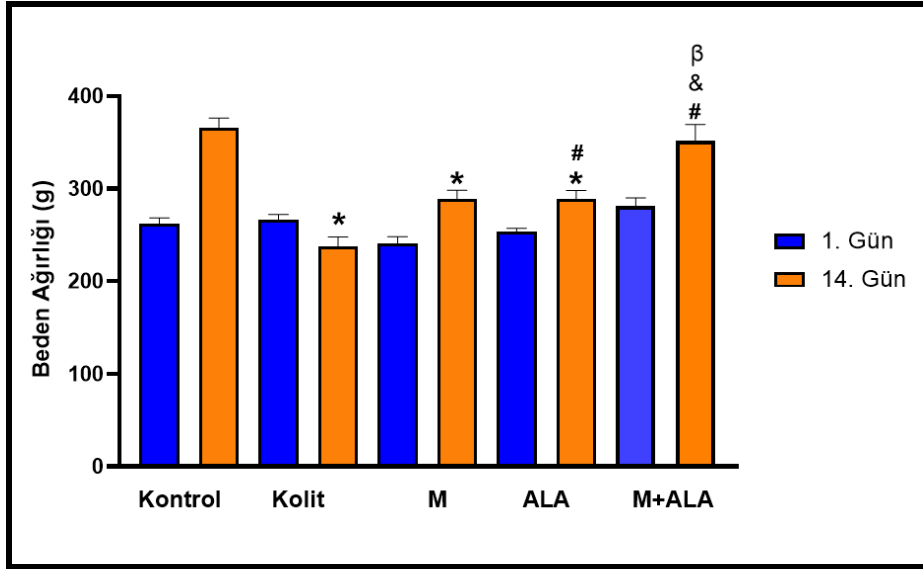
4.1. Ratların Beden Ağırlıkları, Yem ve Su Tüketimleri

Ratların deney öncesi ve sonrası beden ağırlıkları Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir. Kontrol ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarında deneyin 1. gün ve 14. gün arasındaki beden ağırlığındaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Deneyin 14. gününde kontrol grubu hayvanlarının beden ağırlığındaki artışın kolit, mesalamin ve alfa lipoik asit gruplarına göre anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,0001$). Kolit grubu hayvanlarının 14. gününde beden ağırlığının alfa lipoik asit ve mesalamin gruplarına göre anlamlı olarak azaldığı dikkati çekmiştir ($p<0,001$). Mesalamin+alfa lipoik asit grubu ratlarda ise, 14. günde beden ağırlığının mesalamin ve alfa lipoik asit gruplarına göre anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$).

Çizelge 4.1. Ratların deney öncesi ve sonrası beden ağırlıkları

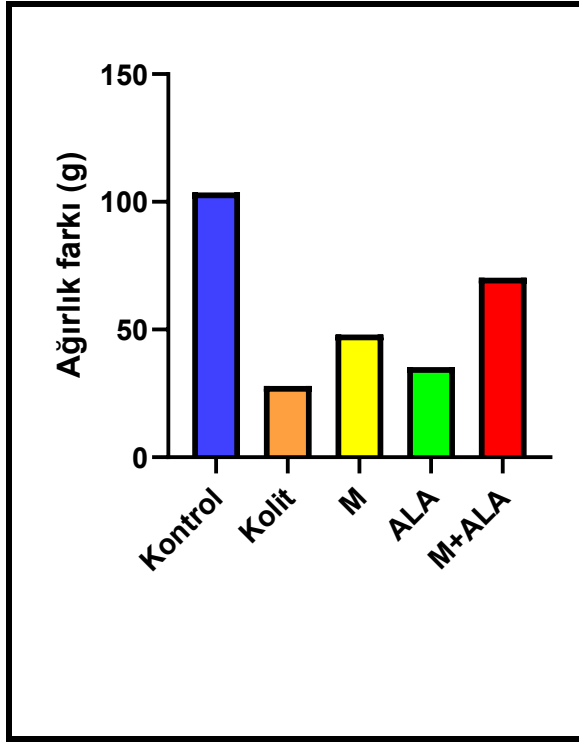
Gruplar	1. Gün (g)	14. Gün (g)
Kontrol	262,33 $\pm$ 6,10	366,01 $\pm$ 10,01 ^a
Kolit	266,00 $\pm$ 6,02	238,10 $\pm$ 9,92*
Mesalamin	240,33 $\pm$ 8,11	288,40 $\pm$ 9,91*
Alfa Lipoik Asit	253,16 $\pm$ 4,21	288,50 $\pm$ 9,50* [#]
Mesalamin+Alfa Lipoik Asit	281,50 $\pm$ 8,40	351,83 $\pm$ 18,21 ^{a#&β}

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. ^a Aynı satırda bulunan ortalamalar arası farklılık önemlidir ($p<0,05$); * $p<0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; [#] $p<0,001$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; [&] $p<0,001$, mesalamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; ^β $p<0,001$, Alfa lipoik asit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.



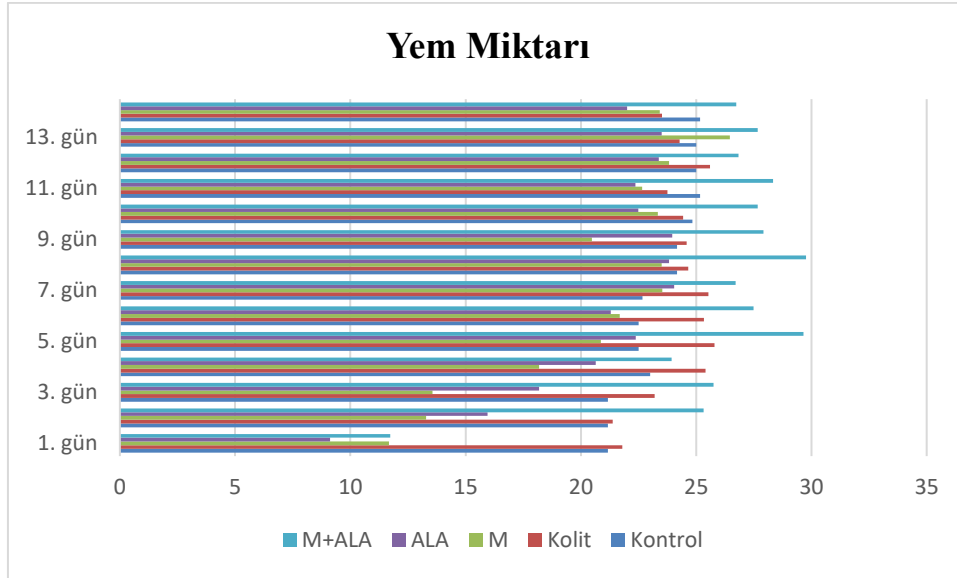
Şekil 4.1. Ratların deneyin 1. ve 14. günlerindeki beden ağırlıkları. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. Deneyin 14. günleri arası istatistiksel anlamlılıklar verilmiştir. * $p < 0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p < 0,001$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; & $p < 0,001$, mesalamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; $\beta p < 0,001$, Alfa lipoik asit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Deney prosedürü boyunca hayvanların günlük olarak ölçülen beden ağırlıkları sonucuna göre deneyin ilk ve son günleri arasındaki ağırlık farkının 14. günde kolit grubunda en düşük (27,90 g), daha sonra sırasıyla alfa lipoik asit (35,34 g) ve mesalamin (48,07 g) gruplarında olduğu belirlenmiştir. Ağırlık farkının kontrol (103,684 g) ve mesalamin+alfa lipoik asit (70,33 g) gruplarında daha fazla olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 4.2.).

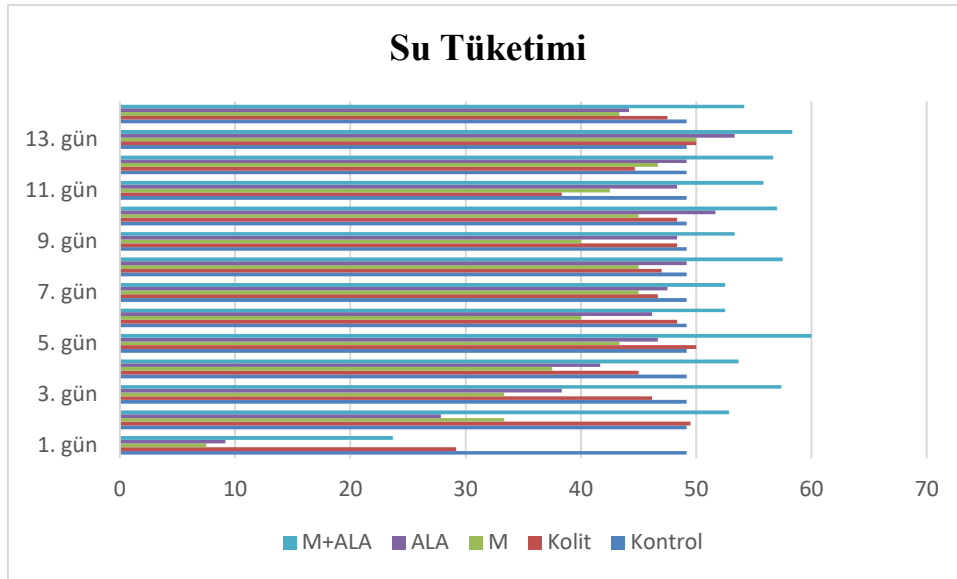


Şekil 4.2. Ratların deneyin başlangıç ve sonundaki ağırlık değişim farkları. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit.

Hayvanların deney prosedürü olan 14 gün boyunca günlük olarak ölçülen yem ve su miktarı Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'te sunulmuştur. Kolit indüksiyonu yapılan gruplarda yem ve su tüketim miktarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişmediği görülmüştür ($p>0,05$). Ancak, tedavinin ilk günleri kolit indüksiyonu yapılan gruplarda yem ve su tüketiminin azaldığı, tedavinin devam etmesiyle artmaya başladığı belirlenmiştir. Mesalamin+alfa lipoik asit grubunda ise bu artışın diğer gruplara göre daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda, hayvanların beden ağırlığındaki değişimin yem ve su tüketim miktarlarına bağlı olmadığı görülmüştür.



Şekil 4.3. Ratların deney süresince tükettikleri yem miktarları. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit.

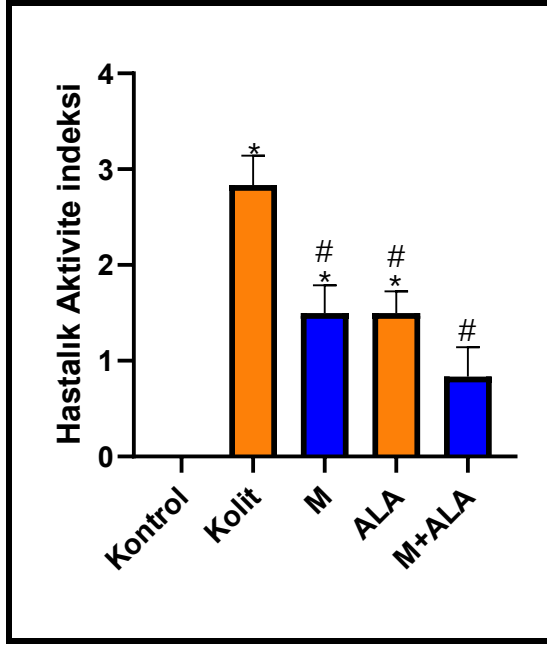


Şekil 4.4. Ratların deney süresince tükettikleri su miktarları. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit.

4.2. Hastalık Aktivite İndeksi

Ratların hastalık aktivite indeksi sonuçları Şekil 4.5.'te verilmiştir. Deney prosedürü boyunca hayvanların ağırlık kaybı, dışkıda kan varlığı ve dışkı yapısından elde edilen veriler doğrultusunda elde edilen hastalık aktivite indeksi skoruna göre kolit grubunda mesalamin ($p<0,05$), alfa lipoik asit ($p<0,01$) ve mesalamin+alfa lipoik asit ($p<0,0001$) gruplarına göre

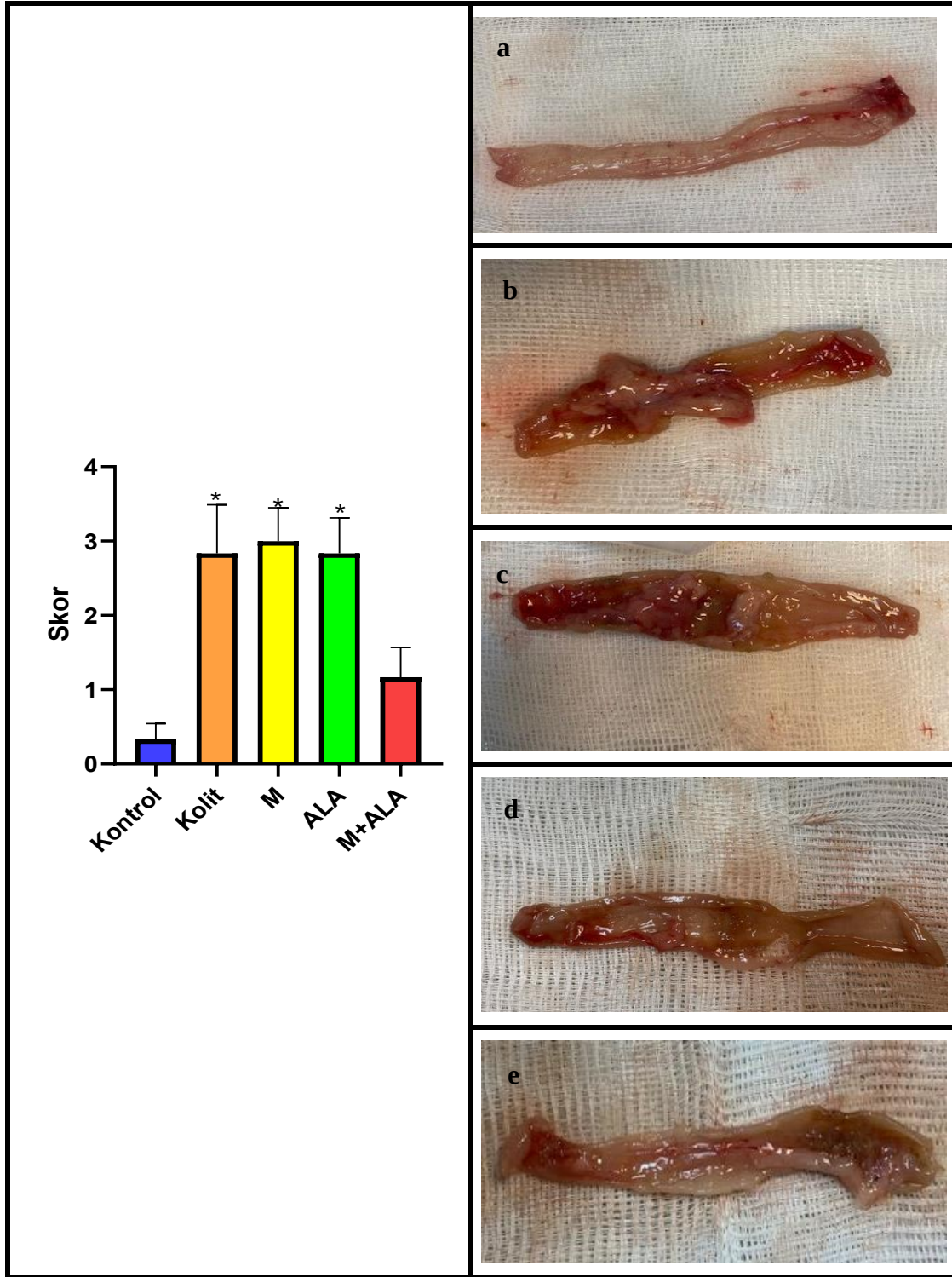
anlamli olarak daha yuiksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, hastalık aktivite indeksi skorunun kolit ($p<0,0001$), mesalamin ($p<0,01$) ve alfa lipoik asit ($p<0,01$) gruplarında kontrol grubuna göre anlamli olarak arttığı görülmüştür. Skor değerlendirmesinde kontrol ve mesalamin+alfa lipoik asit grupları arasında anlamli bir farklılık olmadığı dikkati çekmiştir ($p>0,05$).



şekil 4.5. Gruplara göre hastalık aktivite indeksi. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. * $p<0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli farklılığı; # $p<0,01$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli farklılığı; $^ap<0,05$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamli farklılığı; $^bp<0,01$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamli farklılığı; $^cp<0,0001$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamli farklılığı göstermektedir.

4.3. Kolonun Makroskopik Skor Bulguları

Ratlarda asetik asit ile indüklenen kolit modelinde ülserasyon, hiperemi ve mukozal ödeme bağlı meydana gelen kolon doku hasarının makroskopik görünümü ve skoru şekil 4.6.'da sunulmuştur. Kolit, mesalamin ve alfa lipoik asit gruplarındaki makroskopik skorun kontrol grubuna göre anlamli olarak artış gösterdiği belirlenmiştir ($p<0,01$). Mesalamin+alfa lipoik asit grubunda makroskopik skorun diğer kolit indüksiyonu yapılan gruplara göre azaldığı dikkati çekse de diğer gruplara göre farklılığının anlamli olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).



Şekil 4.6. Gruplara göre kolon dokusunun makroskopik görünümü ve skoru. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: mesalamin+alfa lipoik asit. * $p<0,01$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir. a) Kontrol, b) Kolit, c) Mesalamin, d) Alfa lipoik asit, e) Mesalamin+alfa lipoik asit

Kolit grubunda kolon dokusunun oldukça incelendiği ve bütünlüğünün bozulduğu, iki hayvanın kolonunda perforasyon olduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca, mesalamin grubunda bir hayvanın kolon dokusunda adezyon meydana geldiği görülmüştür (Resim 4.1.).



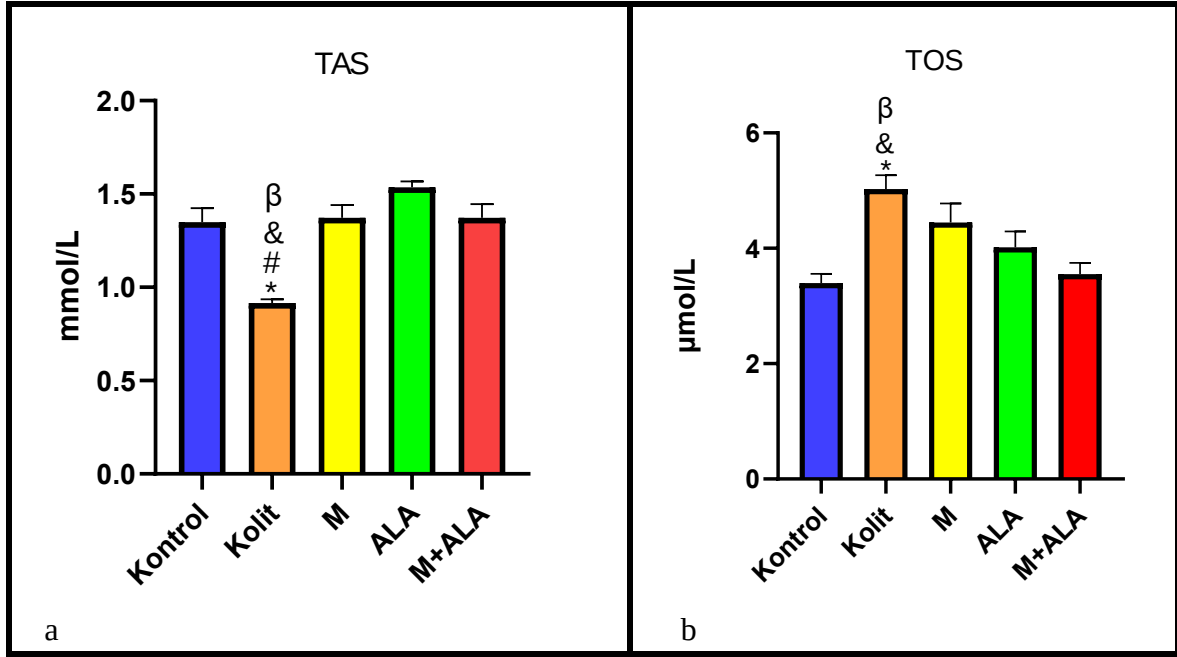
Resim 4.1. Kolit grubunda kolonun perforasyonu (a) ve mesalamin grubunda kolonun adezyonu (b)

4.4. Kolon Dokusu Biyokimya Bulguları

4.4.1. TAS, TOS ve OSI düzeyleri

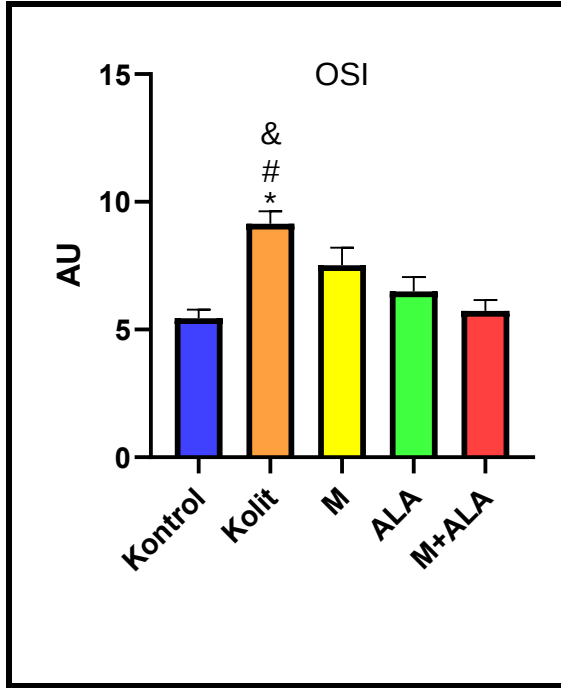
Deney protokolü sonrası elde edilen kolon dokularında TAS ve TOS seviyeleri belirlendikten sonra OSI değeri hesaplanmıştır. TAS seviyesi en düşük kolit grubunda ($0,91 \pm 0,02$ mmol/L) belirlenirken, kontrol ($1,35 \pm 0,07$ mmol/L) grubuna göre farklılığın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Ayrıca, (kolit grubunda TAS seviyesinin mesalamin ($1,37 \pm 0,06$ mmol/L; $p < 0,001$), alfa lipoik asit ($1,53 \pm 0,03$ mmol/L; $p < 0,0001$) ve mesalamin+alfa lipoik asit ($1,38 \pm 0,07$ mmol/L; $p < 0,0001$) gruplarına göre düşük seviyede olması da anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.7.a).

TOS seviyesi en yüksek kolit grubunda ($5,02 \pm 0,24$ μ mol/L) belirlenirken, kontrol ($3,39 \pm 0,16$ μ mol/L) grubuna göre farklılığın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,001$). Ayrıca, kolit grubunda TOS seviyesinin mesalamin+alfa lipoik asit ($3,55 \pm 0,19$ μ mol/L; $p < 0,01$) ve alfa lipoik asit ($4,01 \pm 0,28$ μ mol/L; $p < 0,05$) gruplarına göre yüksek seviyede olması da anlamlı bulunmuştur. Mesalamin ($4,4 \pm 0,33$ μ mol/L; $p > 0,05$) grubundaki farklılığın gruplar arası anlamlı olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.7.b).



Şekil 4.7. Deney protokolü sonrası elde edilen kolon dokularında TAS (a) ve TOS (b) seviyeleri. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit. * $p<0,001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0,001$, Mesalamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; & $p<0,0001$, Alfa lipoik asit ve Mesalamin+Alfa lipoik asit gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; ° $p<0,05$, Alfa lipoik asit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; $^{\beta}p<0,01$, Mesalamin+Alfa lipoik asit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

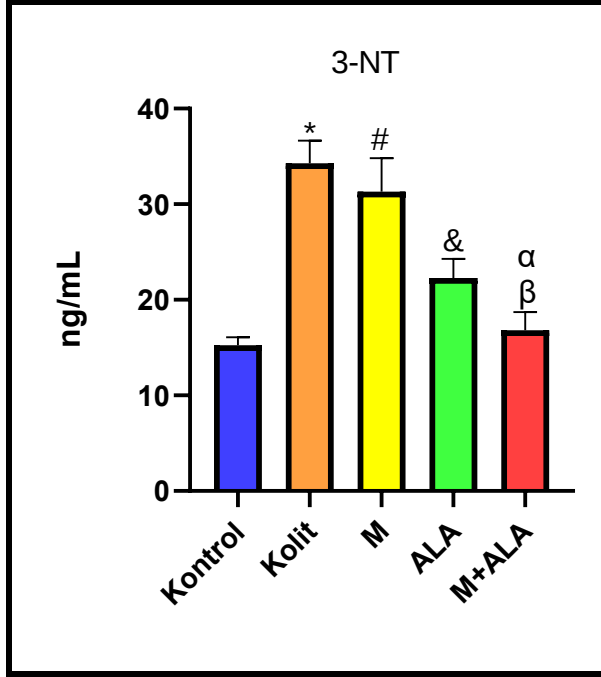
OSI değeri en yüksek kolit grubunda ($9,14\pm0,49$ AU) belirlenirken, kontrol ($5,44\pm0,34$ AU) grubuna göre farklılığın anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Ayrıca, kolit grubunda OSI değerinin alfa lipoik asit ($6,49\pm0,56$ AU; $p<0,01$) ve mesalamin+alfa lipoik asit ($5,73\pm0,42$ AU; $p<0,001$) gruplarına göre yüksek seviyede olması da anlamlı bulunmuştur. Mesalamin ($7,52\pm0,68$ $\mu\text{mol/L}$; $p>0,05$) grubundaki farklılığın gruplar arası anlamlılığının olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Deney protokolü sonrası elde edilen kolon dokularında OSI değerleri. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit. * $p<0,001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0,01$, Alfa lipoik asit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; & $p<0,001$, Mesalamin+Alfa lipoik asit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.2. Nitrotirozin düzeyi

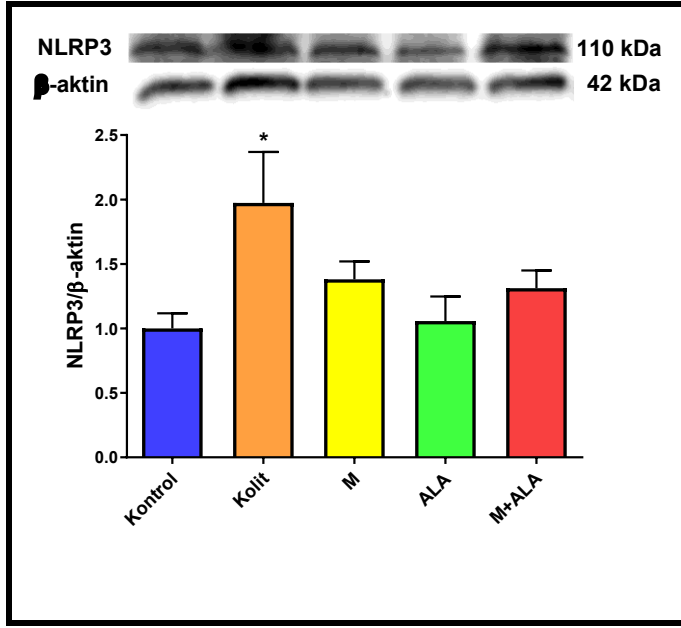
Deney sonrası ratların kolon dokularında nitrotirozin seviyesi değerlendirilmiştir. Nitrotirozin seviyesi en yüksek kolit grubunda ($34,27 \pm 2,4$ ng/mL) belirlenirken, kontrol ($15,24 \pm 0,84$ ng/mL; $p<0,0001$), alfa lipoik asit ($22,27 \pm 2,0$ ng/mL; $p<0,01$) ve mesalamin+alfa lipoik asit ($16,80 \pm 1,9$ ng/mL; $p<0,0001$) gruplarına göre yüksek seviyede olması da anlamlı bulunmuştur. Ayrıca, nitrotirozin düzeyinin, mesalamin ($31,31 \pm 3,5$ ng/mL) grubunda kontrol ($p<0,001$) ve mesalamin+alfa lipoik asit ($p<0,01$) gruplarına göre anlamlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Deney sonrası ratların kolon dokularında nitrotirozin (3-NT) seviyesi. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: mesalamin+alfa lipoik asit. * $p<0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0,001$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; & $p<0,01$, Mesalamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

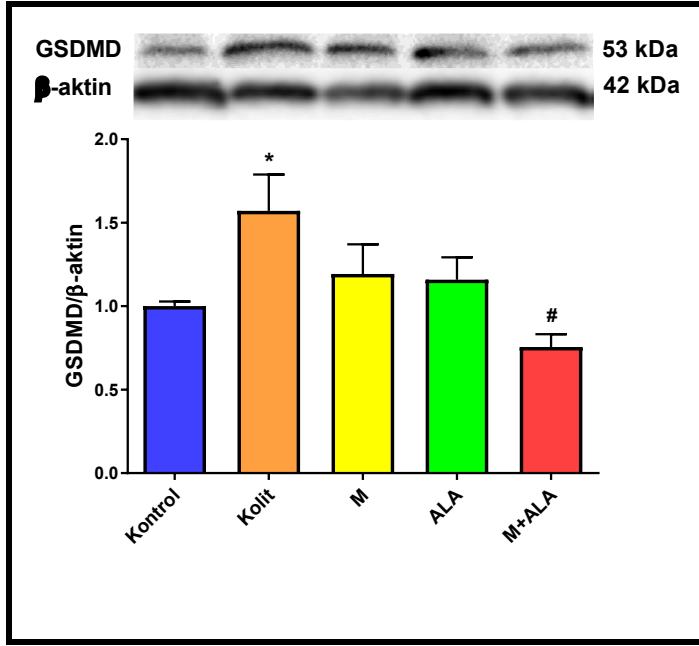
4.4.3. Kolon dokusunda NLRP3 ve GSDMD protein ekspresyonları

Deney sonrası ratların kolon dokularında NLRP3 ve GSDMD protein ekspresyonlarının seviyesi değerlendirilmiştir. NLRP3 protein ekspresyonu seviyesi en yüksek kolit grubunda ($1,97\pm0,40$) belirlenirken, kontrol grubuna ($1,00\pm0,12$) göre farklılığının anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Kolit indüksiyonu sonrası tedavi gruplarında NLRP3 protein ekspresyon seviyesinin azaldığı dikkati çekmiştir. Ancak, mesalamin ($1,38\pm0,14$), alfa lipoik asit ($1,05\pm0,19$) ve mesalamin+alfa lipoik asit ($1,31\pm0,14$) gruplarındaki farklılığın gruplar arası anlamlılığının olmadığı ($p>0,05$) saptanırken, NLRP3 protein ekspresyon seviyesinin alfa lipoik asit grubunda diğer tedavi gruplarına göre azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.10.).



Şekil 4.10. Ratların kolon doku örneklerinde NLRP3 protein düzeyi ve temsili bant görüntüsü. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit. * $p<0,05$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

GSDMD protein ekspresyonu seviyesi en yüksek kolit grubunda ($1,57\pm0,22$) belirlenirken, kontrol grubuna ($1,00\pm0,02$) göre farklılığının anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Tedaviyle birlikte kolon dokusu GSDMD protein ekspresyon seviyesinin azaldığı ve mesalamin+alfa lipoik asit ($0,75\pm0,07$) grubundaki azalmanın kolit grubuna göre farklılığının anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Mesalamin ($1,19\pm0,18$) ve alfa lipoik asit ($1,15\pm0,13$) gruplarındaki GSDMD protein ekspresyonu seviyesi farklılığının ise gruplar arası anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir (Şekil 4.11.).



Şekil 4.11. Ratların kolon doku örneklerinde GSDMD protein düzeyi ve temsili bant görüntüsü. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit. * $p<0,05$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0,01$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir

4.4.4. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analiz bulguları

Histopatolojik analiz

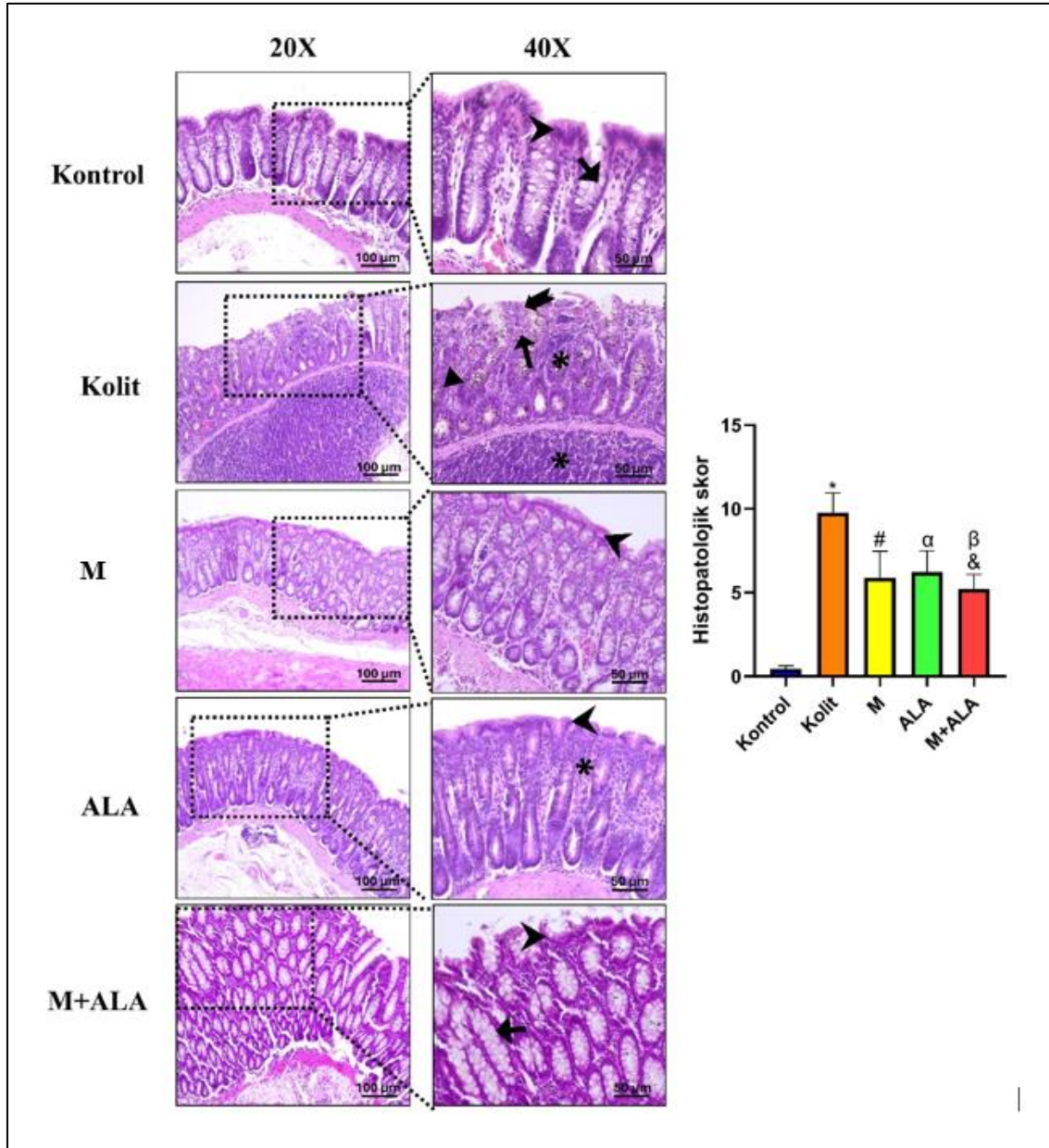
Mikroskopik Skori

Deney gruplarına ait kolon dokularının Hematoksilen&Eozin ile boyanması sonrası mikroskopik olarak değerlendirildiğinde, kontrol grubuna ait kesitlerde kolon dokusu normal histolojik yapıda olduğu görülmüştür. Kolon duvarını oluşturan Tunika mukoza, t. submukoza, t. muskularis ve t. serosa katmanları belirgin olarak ayırt edilmiştir. Tunika mukoza tabakasında, kolon epiteli goblet hücrelerinin ayırt edildiği tek katlı prizmatik epitel özelliğinde olup kript yapıları düzenli görünümüne sahip olduğu saptanmıştır. Kontrol grubu kolon kesitlerinde doku hasarına rastlanmamıştır (Resim 4.2.).

Kolit grubuna ait kolon kesitlerinde t. mukoza, t. submukoza ve t. serosa katmanlarını içeren inflamatuvar hücre infiltrasyonu, submukozal ödem, ülserasyon, hemoraji ve lokal nekrotik değişimler izlenmiştir. Buna bağlı olarak, bazı alanlarda epitel erozyonunun yanı sıra kript bütünlüğünde bozulma dikkati çekmiştir. Mesalamin ve alfa lipoik asit gruplarında

histopatolojik değişimlerin azaldığı görülürken, bazı alanlarda epitel ve kript bütünlük kaybının devam ettiği görülmüştür. Mesalamin+alfa lipoik asit grubunda ise inflamasyonun diğer gruplara göre azaldığı, epitel ve goblet hücre yapısının korunduğu, kript yapılarının normal histolojik yapıda olduğu izlenmiştir (Resim 4.2.).

Çizelge 3.5.'de belirtilen parametrelere göre yapılan mikroskobik değerlendirme sonrasında Kolit grubuna ($9,8 \pm 1,2$) ait histopatolojik skor, Kontrol ($0,44 \pm 0,18$), Mesalamin ($5,9 \pm 1,6$), Alfa lipoik asit ($6,2 \pm 1,3$) ve Mesalamin+alfa lipoik asit ($5,2 \pm 0,8$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (sırasıyla, $p < 0,0001$; $p < 0,05$; $p < 0,01$ ve $p < 0,05$). Mesalamin+alfa lipoik asit grubu Kolit grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik skorun Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü dikkati çekmiştir ($p < 0,05$). Diğer deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$) (Resim 4.2.).

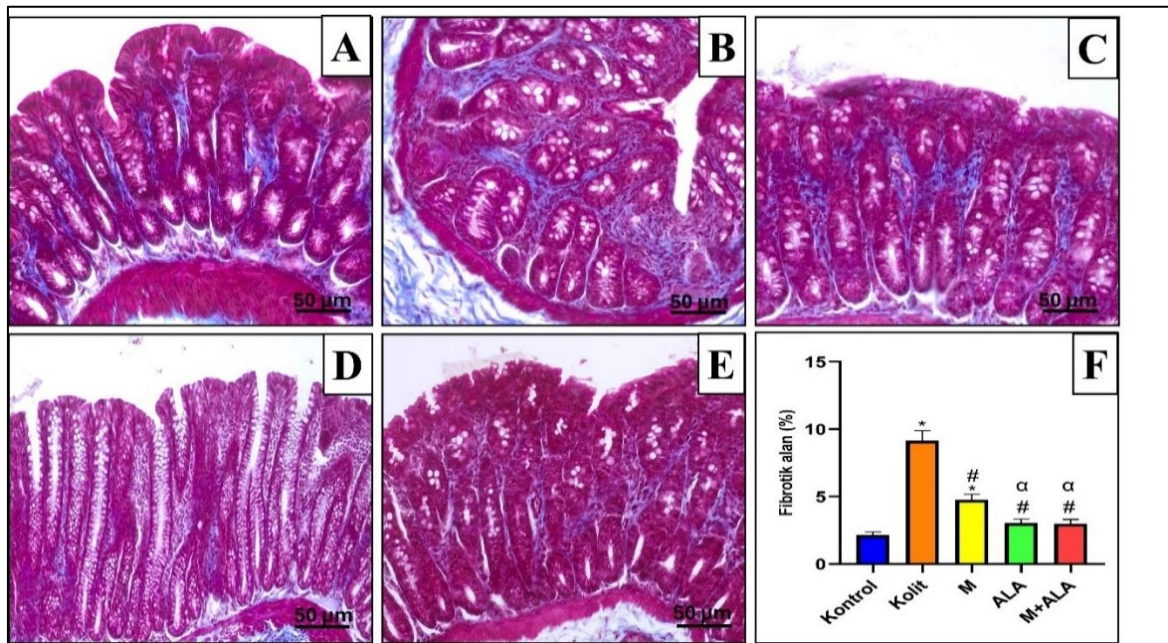


Resim 4.2. Deney gruplarına ait Hematoksilen-Eosin ile boyanmış kolon kesitlerine ait görüntüler. Goblet hücrelerinin (◀) net olarak ayırt edildiği epitel (◄), Kolit grubunda epitel erozyonu (♣), mukozal ülserasyon (▼) lenfosit infiltrasyonu (*) ve hemoraji (↔) izlenmektedir. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit. * $p<0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0,05$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; ^a $p<0,01$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; ^β $p<0,05$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; & $p<0,05$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Fibrotik Alan (%)

Kesitlere uygulanan *Masson'un* üçlü boyama protokolü sonrasında ise, boya içeriğindeki anilin mavisi ile boyanan alanlar *Image J* programı ile belirlenerek deney gruplarındaki

kolon dokusunun fibrotik alan yüzdesi değerlendirilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonrasında, Kolit ($9,2 \pm 0,75$) ve Mesalamin ($4,8 \pm 0,40$) gruplarında Kontrol grubuna ($2,1 \pm 0,24$) göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir ($p < 0,0001$). Mesalamin, Alfa lipoik asit ($3,0 \pm 0,30$) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit ($3,0 \pm 0,31$) gruplarında ise fibrotik alan yüzdesinin Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüş gösterdiği izlenmiştir ($p < 0,0001$). Alfa lipoik asit ve Mesalamin+Alfa lipoik asit gruplarında Mesalamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalış dikkati çekmiştir ($p < 0,05$) (Resim 4.3.).

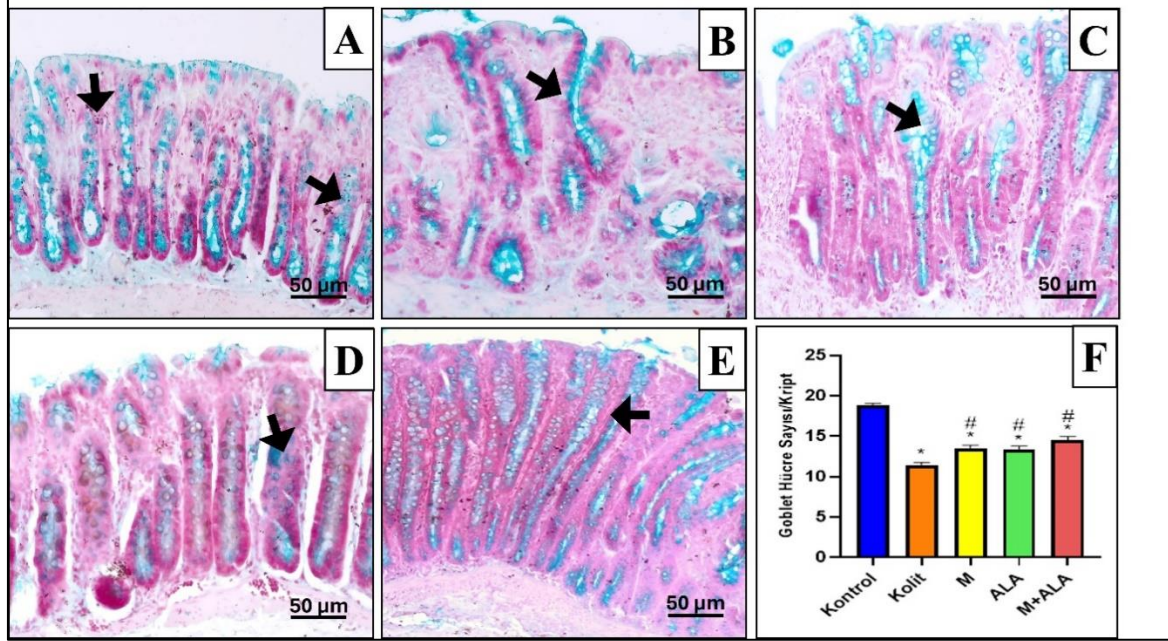


Resim 4.3. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait *Masson' un* üçlü boyama protokolü ile boyanmış kolon kesitleri (Masson' un üçlü boyası, X400). Fibrotik Alan (%) Grafiği (F). M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit. * $p < 0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p < 0,0001$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; α $p < 0,05$, Mesalamin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Goblet Hücre Sayısı/Kript

Goblet hücre sayısı, kolon kesitlerinin *Alcian* Mavisi ile boyanması sonucu değerlendirilmiştir. Kriptlerdeki goblet hücre sayısının istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda Kontrol grubuna ($19 \pm 0,29$) ait goblet hücre sayısı/kript diğer deney gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0,0001$). Mesalamin ($14 \pm 0,40$), Alfa lipoik asit ($13 \pm 0,42$) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit ($15 \pm 0,41$) gruplarındaki

goblet sayısının uygulanan tedaviler sonrasında Kolit grubuna ($11 \pm 0,42$) göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği dikkati çekmiştir ($p < 0,0001$). Mesalamin+Alfa lipoik asit grubu, Mesalamin ve Alfa lipoik asit gruplarına göre daha yüksek sayıda goblet hücresine sahipti, ancak, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Resim 4.4.).



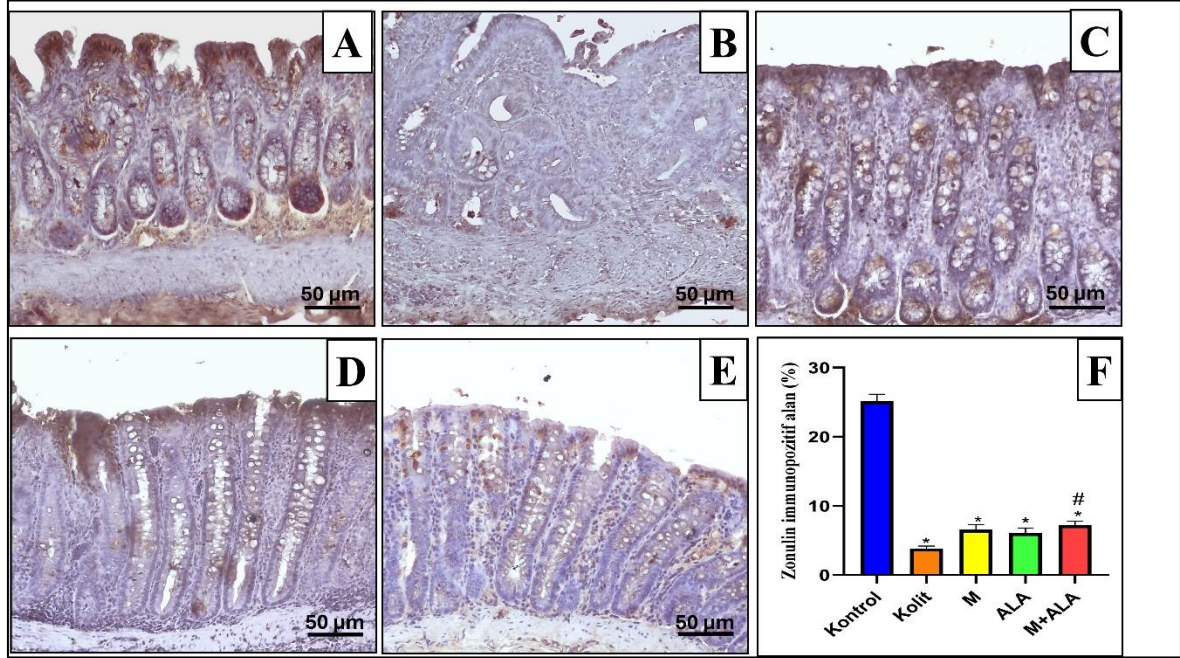
Resim 4.4. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait Alcian Blue ile boyanmış kolon kesitlerine ait görüntüler Goblet hücreleri (↔) (Alcian Blue, X400). Goblet hücre sayısı/Kript grafiği (F). M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit. * $p < 0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p < 0,0001$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

İmmunohistokimyasal Analiz

Zonulin-1, *Okludin* ve *Klaudin-1* immunohistokimyasal analizleri sonrasında, antikorlara ait immunopozitif alan yüzdesi *Image J* programında değerlendirilerek gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

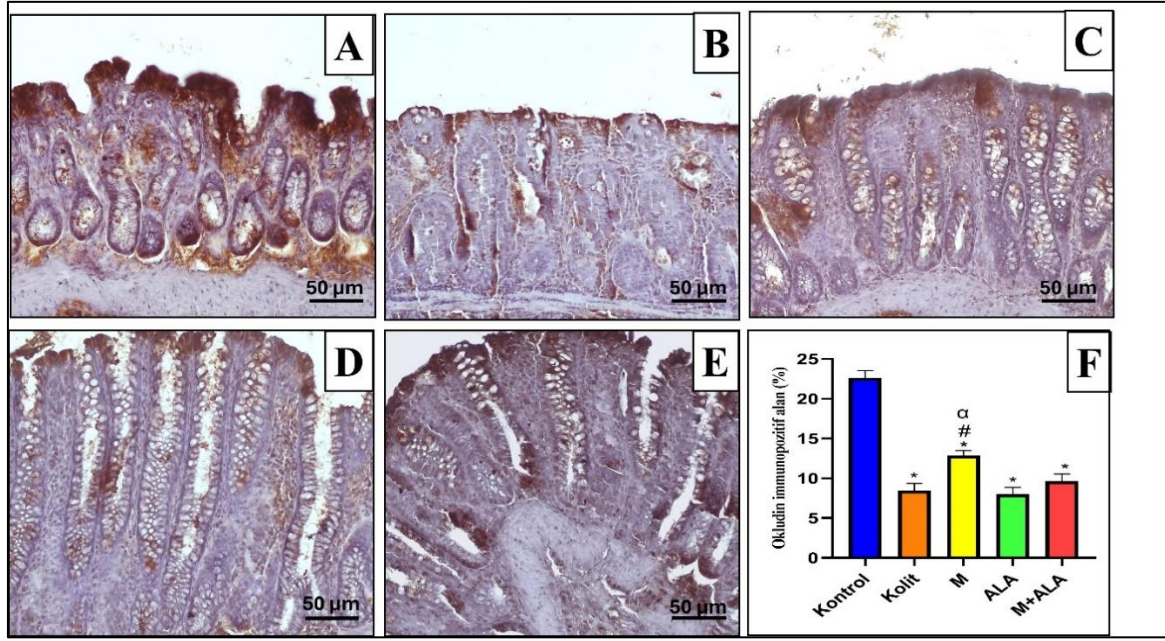
Zonulin-1 immunopozitif alan yüzdesi, kontrol grubunda ($25 \pm 1,0$) diğer deney gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0,0001$). Mesalamin ($6,6 \pm 0,71$) ve Alfa lipoik asit ($6,1 \pm 0,74$) grupları, Kolit grubuna ($3,8 \pm 0,34$) göre yüksek *Zonulin-1* immunoreaktivitesine sahip olsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Mesalamin+Alfa lipoik asit ($7,2 \pm 0,57$) grubunda kolit grubuna

göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek olan *Zonulin-1* immunopozitif alan yüzdesi dikkati çekmektedir ($p<0,01$) (Resim 4.5.).



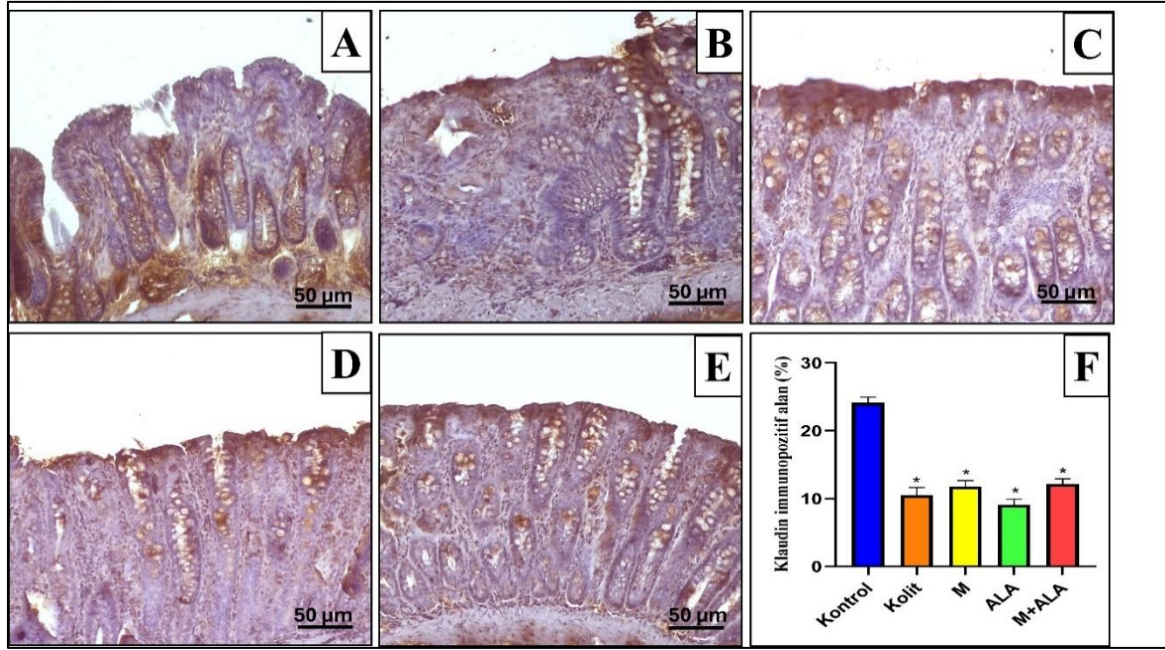
Resim 4.5. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait *Zonulin-1* immunohistokimyasal analizine ait görüntüler (DAB&Hematoksilen, X400) *Zonulin-1* immunopozitif alan yüzdesi (%) Grafiği (F). M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit. * $p<0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0,01$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Okludin immunoreaktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubu ($23\pm0,93$) diğer deney gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gösteren immunopozitif alan yüzdesine sahip olduğu görülmektedir ($p<0,0001$). Mesalamin grubu ($13\pm0,60$), Kolit ($8,5\pm0,89$) ve Alfa lipoik asit ($8,0\pm0,86$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek izlenen *Okludin* immunopozitif alan yüzdesine sahip olduğu gösterilmiştir (sırasıyla, $p<0,01$ ve $p<0,0001$). Mesalamin+Alfa lipoik asit grubunda ($9,6\pm0,89$) Kolit grubuna göre daha yüksek immunoreaktivite görülse de bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Resim 4.6.).



Resim 4.6. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait *Okludin* immunohistokimyasal analizine ait görüntüler (DAB&Hematoksilen, X400) *Okludin* immunopozitif alan yüzdesi (%) Grafiği (F); M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit. * $p<0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; # $p<0,01$, Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı; $^{\alpha}p<0,0001$, Alfa lipoik asit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

Klaudin-1 immunopozitif alan yüzdesi ise benzer şekilde Kontrol grubunda ($24\pm0,80$); Kolit ($11\pm1,1$), Mesalamin ($12\pm0,87$), Alfa lipoik asit ($9,1\pm0,77$) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit ($12\pm0,73$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Mesalamin+Alfa lipoik asit grubu Kolit grubuna göre artış gösteren *Klaudin-1* immunoreaktivitesine sahip olsa da bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Resim 4.7.).



Resim 4.7. Kontrol (A), Kolit (B), Mesalamin (C), Alfa lipoik asit (D) ve Mesalamin+Alfa lipoik asit (E) deney gruplarına ait *Klaudin-1* immunohistokimyasal analizine ait görüntüler (DAB&Hematoksilen, X400). *Klaudin-1* immunopozitif alan yüzdesi (%) Grafiği (F) M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit. * $p<0,0001$, Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

4.4.5. Bağırsak mikrobiyota bulguları

Asetik asit nedenli kolit modelinde alfa lipoik asitin tek başına ve mesalaminle olan kombinasyonunun bağırsak mikrobiyotası üzerindeki yararlı etkilerinin belirlenmesi için yeni nesil sekanslama yöntemi kullanılmıştır. Mikrobiyota analiz sonuçları sunulurken kullanılan bazı ifadelerin açıklamaları aşağıdaki gibidir:

- Bray-Curtis Dissimilarity:
 - Tür: Bolluk temelli metrik.
 - Açıklama: İki topluluğun bileşimini, paylaşılan türlerin bolluğuna dayalı olarak karşılaştırır. Bu metrik, 0 (tamamen aynı topluluklar) ile 1 (tamamen farklı topluluklar) arasında değişir.
 - Odak: Paylaşılan türlerin sayısını ve bolluklarını dikkate alır, ancak her iki toplulukta da bulunmayan türleri göz ardı eder.
 - Kullanım Durumu: Türlerin göreceli miktarının önemli olduğu bolluk temelli karşılaştırmalar için en uygun olanıdır.

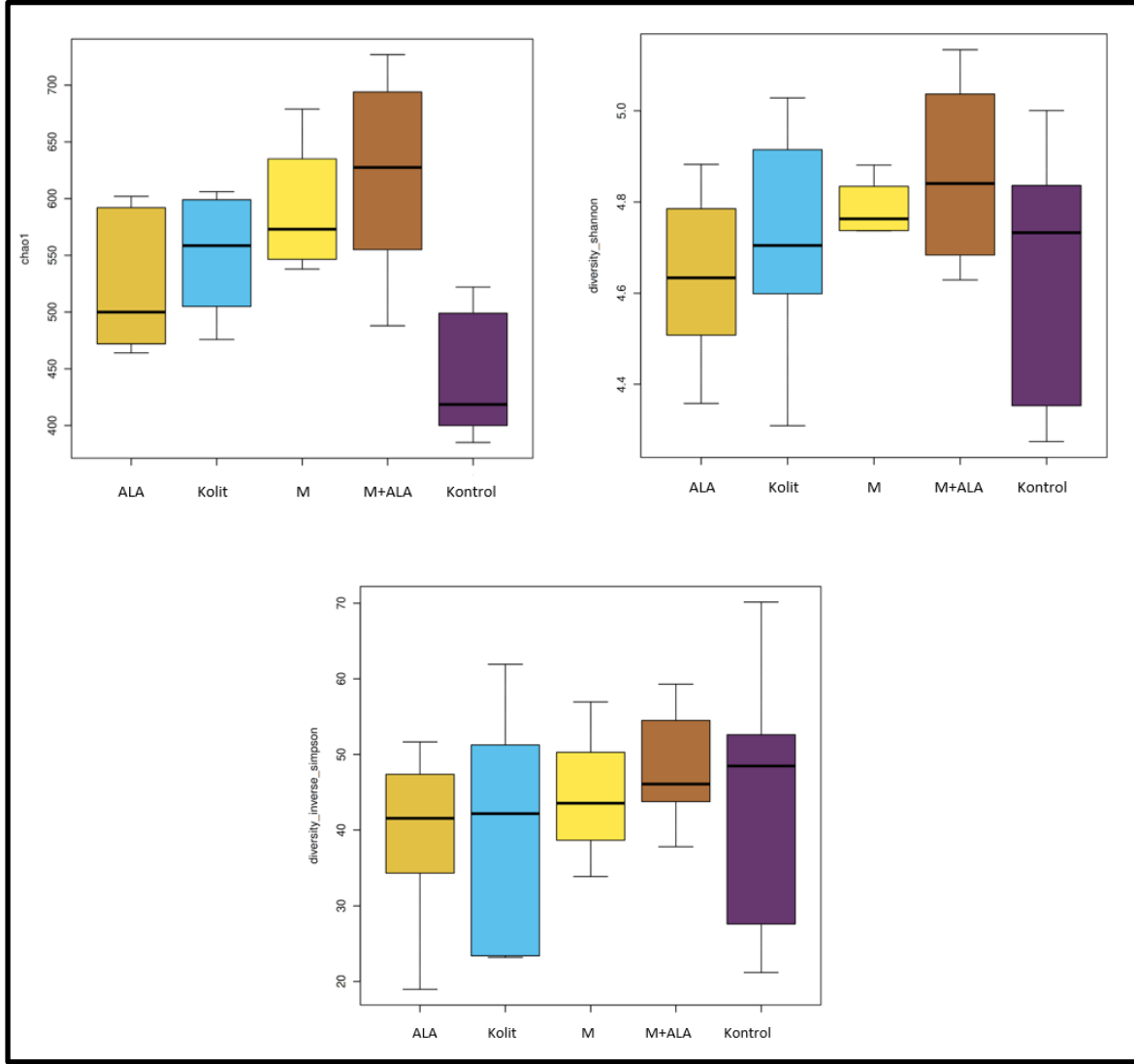
- Jaccard İndeksi:
 - Tür: Varlık/yokluk temelli metrik.
 - Açıklama: İki topluluk arasındaki benzerliği yalnızca türlerin varlığı veya yokluğu temelinde karşılaştırır, bollukları dikkate almaz. İndeks, paylaşılan türlerin toplam tür sayısına oranı olarak hesaplanır.
 - Odak: Bolluğu göz ardı eder ve yalnızca topluluklar arasında paylaşılan türleri dikkate alır.
 - Kullanım Durumu: Türlerin varlığı/yokluğu bolluktan daha önemli olduğunda, örneğin nadir türlerin tespitinde idealdir.
- Ağırlıklı UniFrac:
 - Tür: Filogeni temelli, bolluk ağırlıklı metrik.
 - Açıklama: Türler arasındaki evrimsel mesafeleri (filogeni) ve bu mesafeleri her örnekteki göreceli bolluklarıyla ağırlıklandırır. Filogenetik olarak daha ilişkili türleri paylaşan topluluklar, bu metrik açısından daha yakın kabul edilir.
 - Odak: Hem filogenetik ilişkileri hem de türlerin bolluklarını dikkate alır.
 - Kullanım Durumu: Hem evrimsel ilişkilerin hem de tür bolluklarının önemli olduğu, genellikle daha ayrıntılı ekolojik çalışmalarda en iyi sonuçları verir.
- Ağırlıksız UniFrac:
 - Tür: Filogeni temelli, varlık/yokluk metrik.
 - Açıklama: İki topluluk arasındaki filogenetik mesafeyi, filogenetik ağaçtaki paylaşılan dal uzunluklarına dayalı olarak ölçer, ancak türlerin bolluklarını dikkate almaz.
 - Odak: Sadece türlerin var olup olmadığını ve evrimsel ilişkilerini göz önüne alır, bolluğu göz ardı eder.
 - Kullanım Durumu: Filogenetik ilişkiler üzerine odaklanırken bolluğu göz ardı eden, özellikle nadir türlerin tespiti için kullanılır.

Temel Farklılıklar:

- Bray-Curtis ve Jaccard: Daha geleneksel ekolojik ölçümler olup, tür bileşimine odaklanır.
- UniFrac Metrikleri: Filogenetik ilişkileri içerir, bu da toplulukların evrimsel yapısı hakkında daha fazla bilgi sağlayabilir.

- Ağırlıklı vs Ağırlıksız: Ağırlıklı metrikler türlerin bolluklarını dikkate alırken, ağırlıksız metrikler yalnızca türlerin varlığı/yokluğuna odaklanır.
- Metrik Seçimi: Belirli ekolojik soruya bağlı olarak, bolluk, varlık/yokluk veya filogenetik ilişkilerle ilgili olup olmadığına göre değişir.

Feçes mikrobiyota verilerinin ortaya konulması amacıyla, alfa ve beta çeşitlilik analizleri, LDA ve LEfSe analizi ile taksonomik ayrıştırıcı analiz değerlendirilmiştir. Alfa çeşitlilik, her bir örneğin mikrobiyal çeşitliliğini göstermektedir. Alfa çeşitlilik analizinde, *Chao1* (toplam tür tahmini için), *Shannon* (belirli bir örnekteki mikrobiyal türlerin çeşitliliğini tahmin etmek için) ve *Simpson* (mevcut tür sayısını ve her türün göreceli bolluğunu) çeşitlilik indeksleri değerlendirilmiştir. Bu indekslere göre, gruplar arasındaki azalan veya artan çeşitlilik gösterilmektedir. Tez kapsamında yapılan analizlerde, alfa çeşitlilik indeksleri (*Chao1*, *Shannon* ve *Simpson*) Şekil 4.12.'de sunulmuştur. Chao indeksine göre, bağırsak mikrobiyotasının kontrol ve kolit grupları arasındaki farklılığının ($p<0,05$) anlamlı olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, kontrol ve mesalamin+alfa lipoik asit grupları arasında da Chao indeksine göre bakteri dağılımının anlamlı olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir.

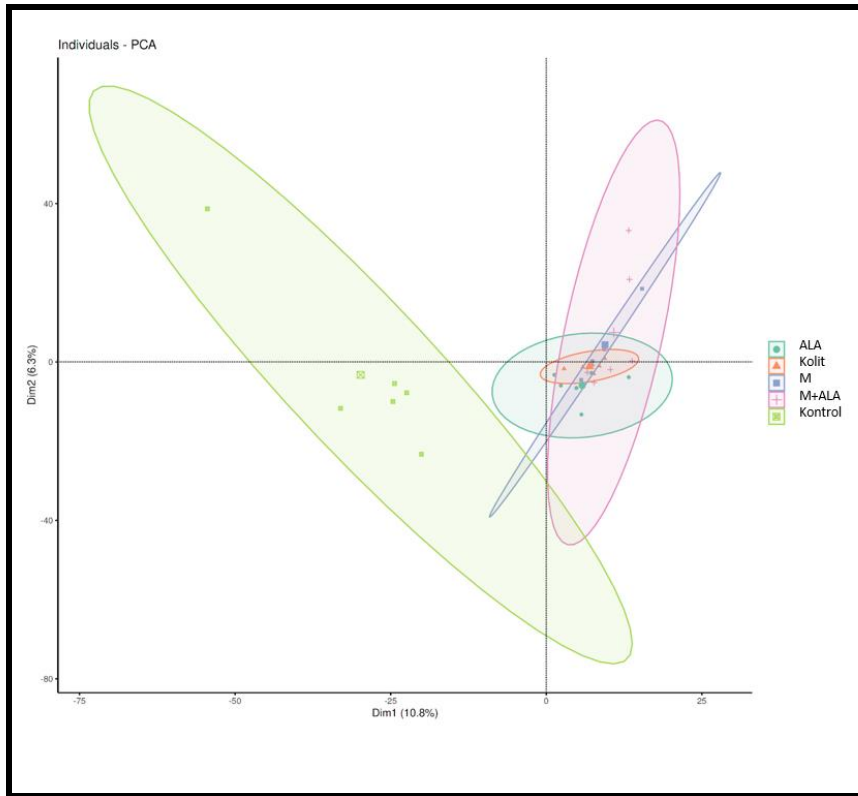


Şekil 4.12. Alfa çeşitlilik indeksinin a) *Chao1*, b) *Shannon* ve c) *Simpson*'a göre sınıflandırılması M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit

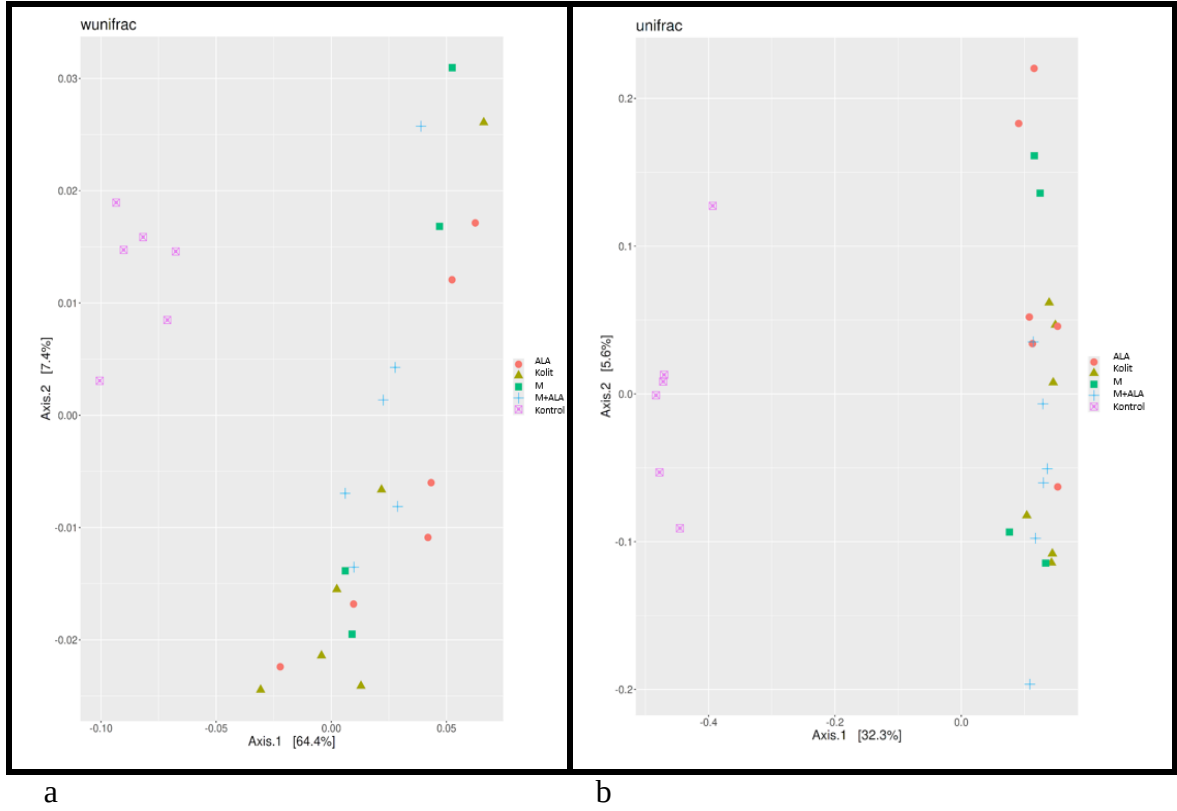
Beta çeşitlilik, örnekler arasındaki mikrobiyal çeşitlilik farklılıklarının ölçülmesi olarak tanımlanmaktadır. Bir başka ifadeyle, iki küme arasındaki kesişim kümesi dışında kalan türlerin oranını göstermektedir. Beta çeşitliliğin değerlendirilmesinde, üç boyutlu temel koordinat analizi grafiği (PCoA) kullanılmaktadır. Bu grafik, ampikon sekansı varyantları kullanılarak *Bray-Curtis* farklılığı ile hesaplanan örnekler arasındaki mesafenin matrisi kullanılarak oluşturulmaktadır. Beta çeşitlilik grafiğinde görülen her nokta, tüm mikrobiyal kompozisyon profilini temsil etmekte, benzer mikrobiyal bileşim profillerine sahip örnekler birbirine daha yakın, farklı profillere sahip örnekler ise birbirinden daha uzaktadır. Beta çeşitliliğin ağırlıklı *UniFrac* dağılımına göre, mikrobiyal çeşitliliğin hem filogenetik ilişkileri hem de türlerin bollukları dikkate alınırken, ağırlıksız *UniFrac* dağılımında sadece

türlerin var olup olmadığı ve evrimsel ilişkileri göz önüne alınır, analiz bolluğu göz ardı edilir.

Kontrol, kolit ve tedavi gruplarındaki ratlardan elde edilen feçes örneklerinin mikrobiyota analizlerinde beta çeşitlilik seviyelerini belirlemek için temel bileşen analizi (PCA) kullanılarak yapılan değerlendirmede bakteriler arasındaki ilişkinin tespit edildiği grafikler Şekil 4.13. ve 4.14.'de verilmiştir. Sağlıklı hayvanlardan oluşan kontrol grubu mikrobiyal yönden diğer gruplardan ayrışırken, kolit grubundaki bakteri çeşitliliğinin tedavi gruplarına göre birbirlerinden uzak olduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca, alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit grupları arasındaki bakteri ilişkisine bakıldığında farklılık olduğu görülmüştür.

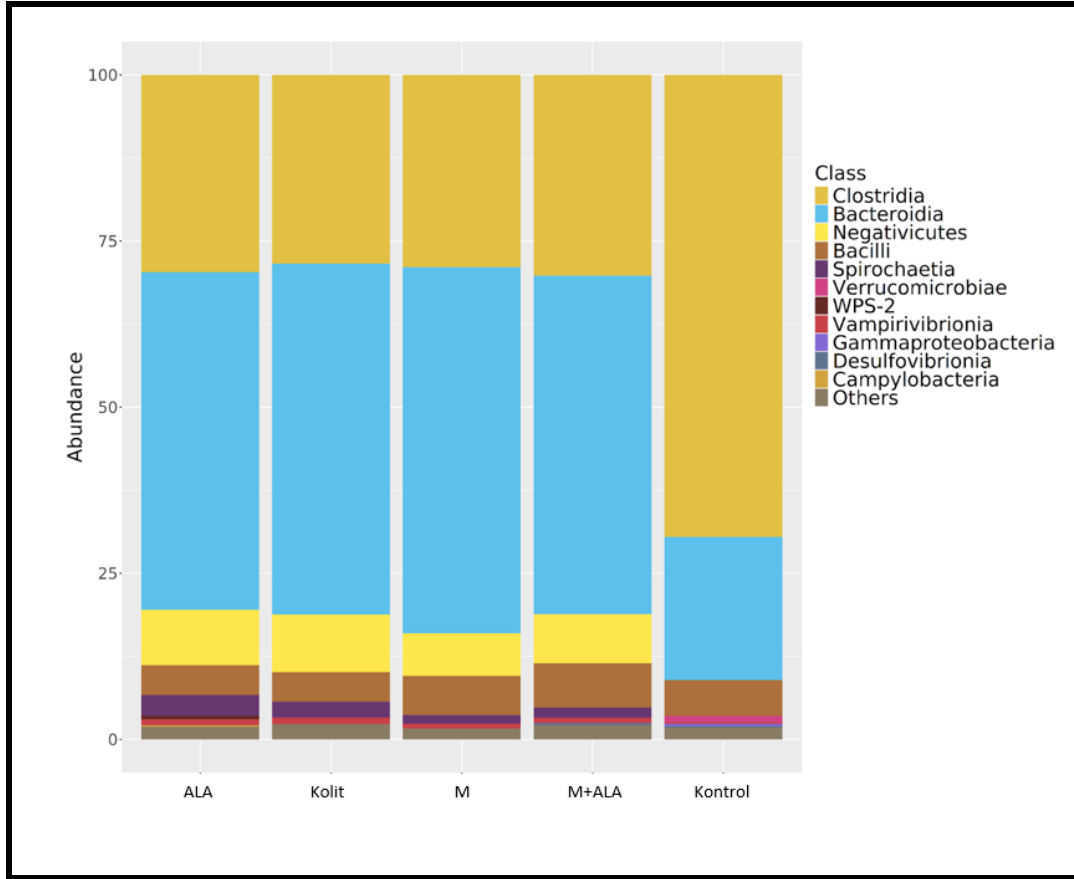


Şekil 4.13. Beta çeşitlilik analizi. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit



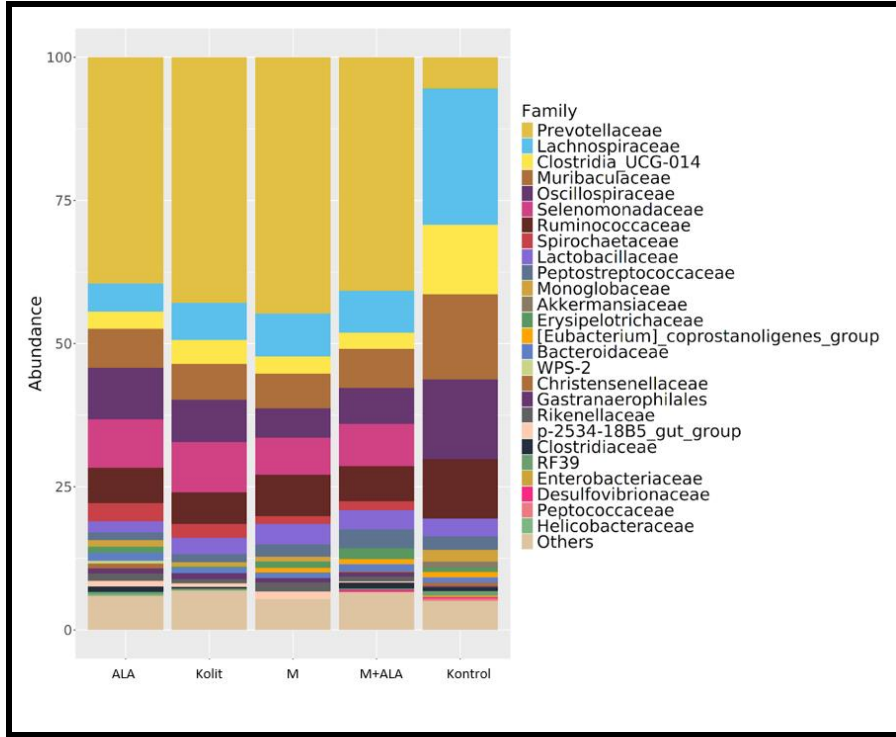
Şekil 4.14. Beta çeşitlilik analizinin Pcoa weighted (a) ve Pcoa unweighted (b) dağılımı. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit.

Taksonomik sınıflandırmanın analizinde, ilgi konusu bir takson daha sonraki analizleri kolaylaştırmak için ampikon sekanslarına ayrılabilir. Program ayrıştırıcısının çıktıları taksonomi sınıflandırmaları (Sınıf, Aile, Cins, Takım, Şube ve Türler) tarafından düzenlenmektedir. Tez kapsamında elde edilen mikrobiyota sonuç verilerinin bolluk dağılım bar grafikleri sunulmuştur. Bu grafikler, her bir taksonomik sınıflandırmada en çok bulunan 12 dizinin bar grafiği dağılımını göstermektedir. Taksonomik sınıflandırmanın gruplar arası bakteri çeşitliliğinin “Sınıf, Aile, Cins, Takım, Şube ve Türler” seviyesindeki dağılımları sırasıyla Şekil 4.15., 4.16., 4.17., 4.18., 4.19. ve 4.20.’de verilmiştir.



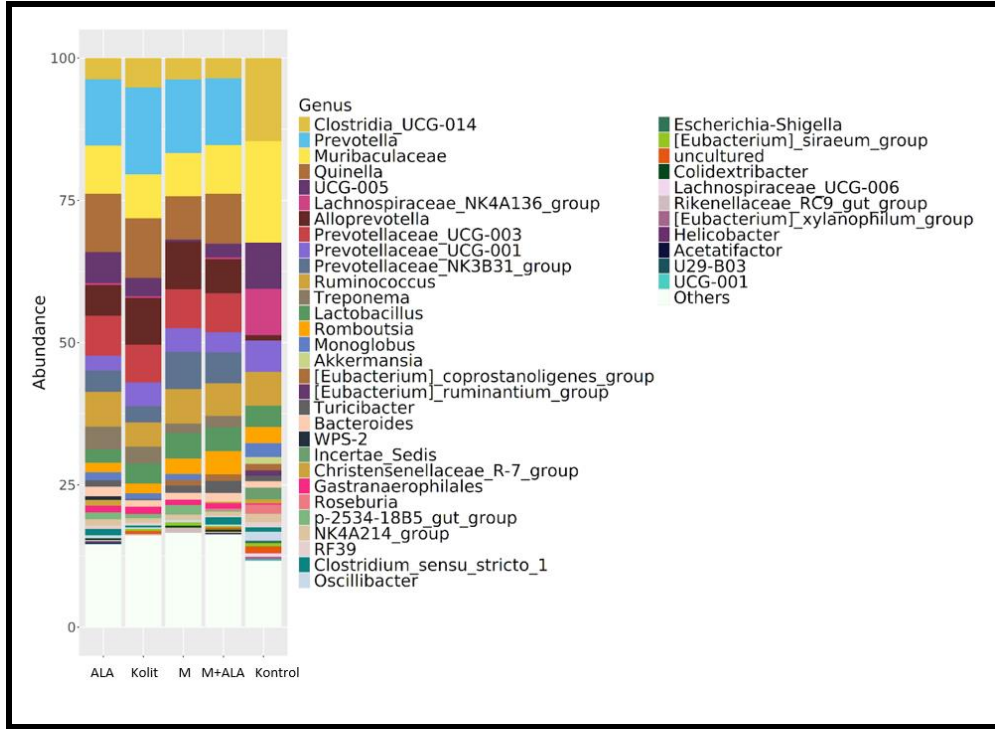
Şekil 4.15. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin sınıf taksonomisine göre göreceli bolluğu. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit.

Sınıf seviyesinde, tüm deney gruplarında *Clostridia* ve *Bacteroidia* sınıfı bakterilerinin çoğunlukta olduğu belirlenmiştir. *Clostridia*'nın en çok bulunduğu grup kontrol grubu iken, diğer gruplarda benzer bollukta olduğu saptanmıştır. Alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarında *Clostridia* bolluğunun kolit ve mesalamin gruplarına göre daha fazla olduğu görülmektedir. *Bacteroidia* bakterilerinin en fazla mesalamin grubunda, en az kontrol grubunda olduğu bulunmuştur. *Negativicutes* sınıfı bakterilerinin kontrol grubunda olmadığı, en fazla kolit grubunda en az ise mesalamin grubunda olduğu belirlenmiştir. *Bacilli* sınıfı bakterilerinin en çok mesalamin+alfa lipoik asit grubunda, en az ise kolit grubunda olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda görülmeyip diğer gruplarda olan bir diğer bakteri sınıfının *Spirochaetia* olduğu tespit edildi. Bu bakteri sınıfına en çok alfa lipoik asit grubunda, en az ise mesalamin grubunda rastlanmıştır. *Verrucomicrobiae* ve *Gammaproteobacteria* sınıfı bakterilerine sadece kontrol grubunda rastlanmıştır. WPS-2 sınıfı bakteriler ise, sadece alfa lipoik asit grubunda bulunmuştur. *Vampirivibrionia* bakterileri kontrol grubu hariç diğer gruplarda saptanmıştır. Ayrıca, *Campylobacteria* bakteri sınıfının sadece alfa lipoik asit grubunda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.15.).



Şekil 4.16. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin aile taksonomisine göre göreceli bolluğu. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit.

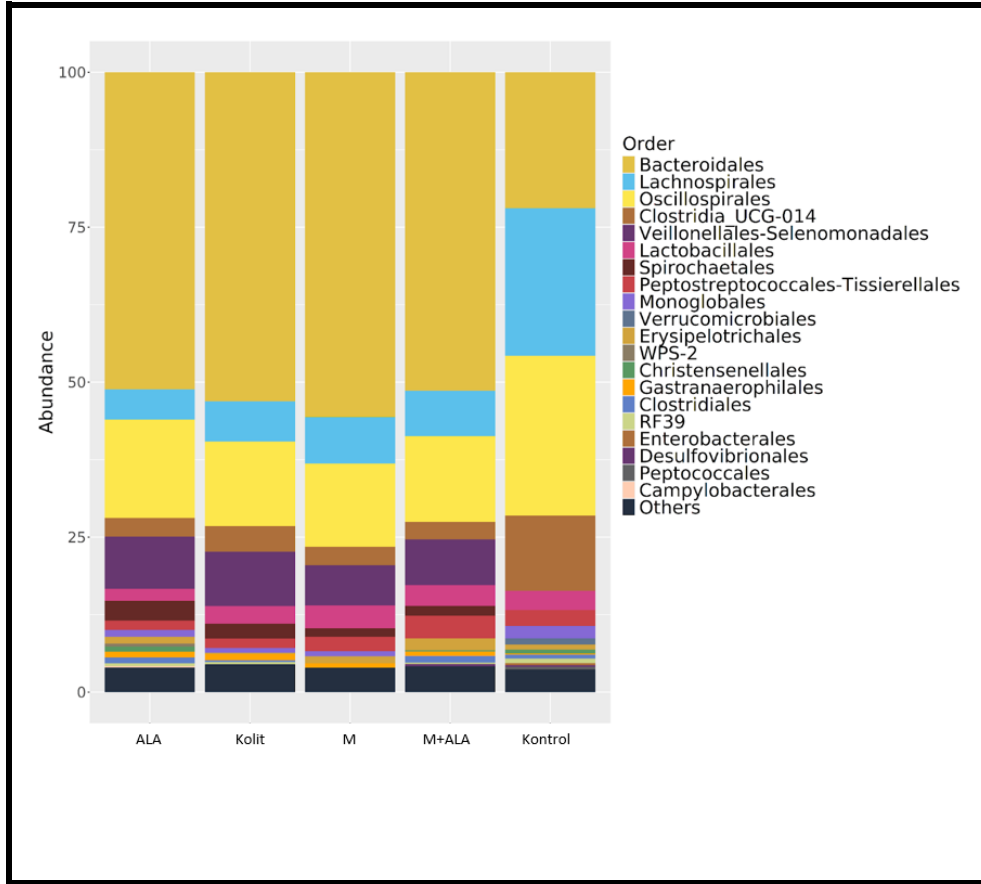
Aile seviyesinde, deney gruplarında en yaygın bakteriler *Prevotellaceae* iken, kontrol grubunda en yaygın *Lachnospiraceae* bakterilerinin baskın olduğu gözlemlenmiştir. *Prevotellaceae* en yoğun olarak mesalamin grubunda, *Lachnospiraceae* en az alfa lipoik asit grubunda bulunmaktadır. *Clostridia* UCG-014 en fazla kontrol grubundayken, kilit, alfa lipoik asit, mesalamin ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarında daha az seviyede tespit edilmiştir. *Selenomonadaceae* bakteri ailesi kontrol grubunda görülmezken, kilit ve tedavi gruplarında benzer miktarlarda saptanmıştır. Kilit grubunda *Selenomonadaceae* ailesi en fazla iken, mesalamin grubunda en az sayıda belirlenmiştir (Şekil 4.16.).



Şekil 4.17. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin genus (cins) taksonomisine göre göreceli bolluğu. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit.

Genus (cins) seviyesinde, kontrol grubunda *Clostridia UCG-014* ve *Muribaculaceae* bakterileri diğer gruplara göre baskın olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda görülmeyen *Prevotella* ve *Quinella* bakterileri kolit ve tedavi gruplarında tespit edilmiştir. Kontrol grubunda yoğun olarak bulunan *Muribaculaceae* bakterileri diğer gruplarda benzer oranda azaldığı görülmüştür. *UCG 005* bakterileri en yoğun kontrol grubunda en düşük miktarda ise mesalamin grubunda gözlemlenmiştir. *Lachnospiraceae NK4A136* bakterilerine mesalamin grubunda rastlanmamıştır. Bu bakteriler, en fazla kontrol grubunda belirlenirken, diğer gruplarda kontrole göre aşağı seviyede bulunmuştur. Kontrol grubunda düşük seviyede bulunan diğer bir bakteri cinsinin ise, *Alloprevotella* iken, kontrol grubuna göre diğer gruplarda oldukça yoğun olduğu tespit edilmiştir. *Prevotellaceae UCG003*, *Prevotellaceae NK3B31* ve *Treponema* bakterileri kontrol gruplarında bulunmayıp, diğer gruplarda benzer seviyelerde bulunan diğer bakterilerdir. Mesalamin+alfa lipoik asit grubunda bulunmayıp en yaygın kontrol grubunda olmak üzere diğer gruplarda da görülen diğer bir bakteri cinsi *Monoglobus* olarak saptanmıştır. *Akkermansia* bakteri cinsine kontrol grubu hariç diğer gruplarda rastlanmamıştır. *Lactobacillus* bakterilerine en çok tedavi gruplarından mesalamin ve mesalamin+ alfa lipoik asit gruplarında rastlandı. *Akkermansia* bakterileri sadece kontrol grubunda saptanmıştır. *[Eubacterium]-coprostanoligenes-group* bakterileri,

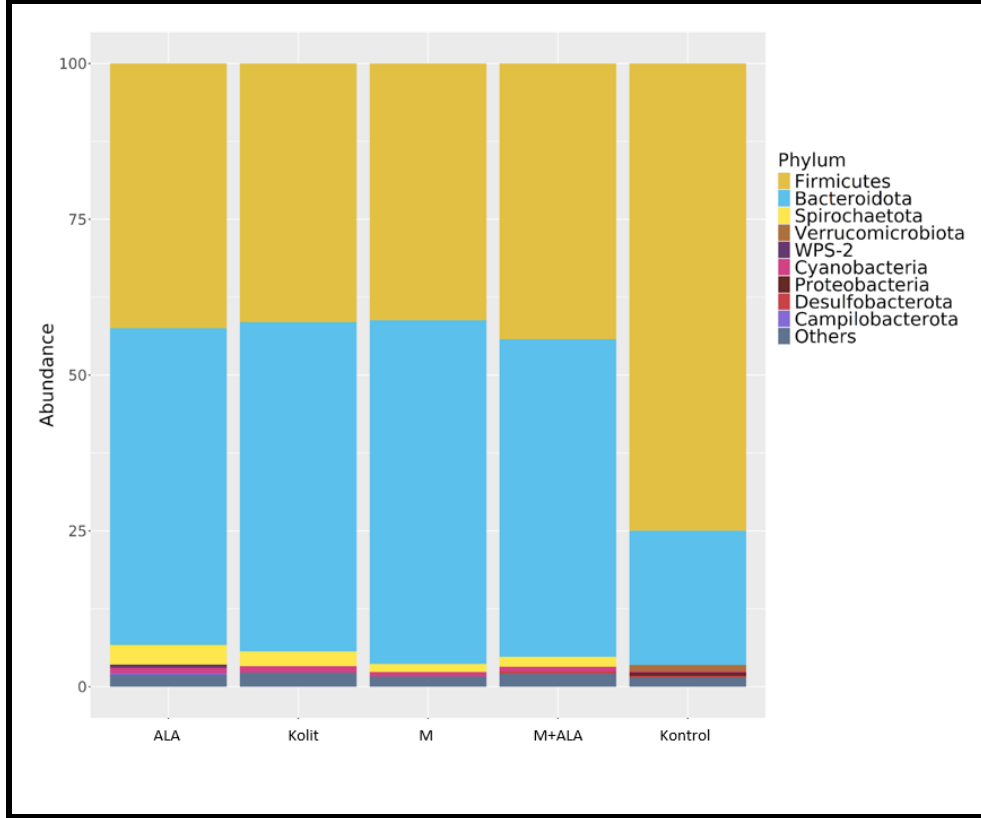
kontrol ve mesalamin+ alfa lipoik asit grubunda benzer bollukta, daha az olarak mesalamin grubunda görülmüş olup diğer gruplarda bu bakterilere rastlanmamıştır. [*Eubacterium*]-*ruminantium-group* bakterileri sadece kontrol grubunda saptanmıştır (Şekil 4.17.).



Şekil 4.18. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin takım taksonomisine göre göreceli bolluğu. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit.

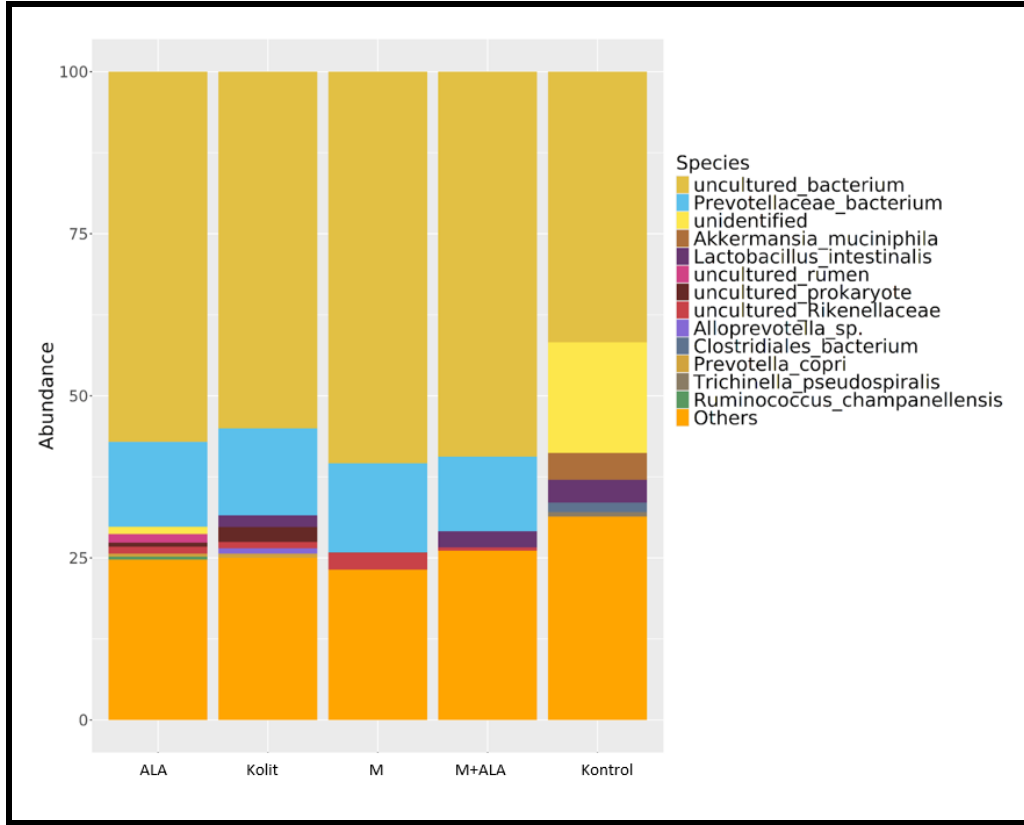
Takım düzeyinde bakıldığında, kontrol grubunda *Bacteroidales*, *Lachnospirales*, *Oscillospirales* ve *Clostridia UCG-014* bakterilerinin yaygın olduğu belirlenmiştir. Kolit ve tedavi gruplarında *Bacteroidales* takım bakterilerinin kontrol grubuna göre baskın olduğu dikkati çekmiştir. Ayrıca, *Lachnospirales* ve *Oscillospirales* takım bakterilerinin kontrol grubuna göre diğer gruplarda azaldığı belirlenmiştir. *Clostridia UCG-014* bakterilerinin sayıca en fazla kontrol grubunda, diğer gruplarda ise benzer düzeylerde olduğu tespit edilmiştir. *Veillonellales-Selenomonadales* bakterilerinin kontrol grubunda bulunmadığı, alfa lipoik asit ve kolit gruplarında benzer düzeyde, en az miktarın ise mesalamin grubunda olduğu saptanmıştır. *Lactobacillales* bakterilerinin sayıca en çok mesalamin, en az alfa lipoik asit grubunda olduğu, diğer gruplarda ise düzeylerin benzer olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda *Spirochaetales* bakteri türünün bulunmadığı belirlenmiştir. Bu bakteri

takımına, en çok alfa lipoik asit grubunda, en az ise mesalamin grubunda rastlanmıştır. *Peptostreptococcales-Tissierellales* bakterilerinin bolluğu en fazla alfa lipoik asit+ mesalamin grubunda iken, alfa lipoik asit ve kolit gruplarında diğer gruplara göre daha az miktarda bulunmuştur (Şekil 4.18.).



Şekil 4.19. Tüm gruplarda en yaygın on bakteri phylum (şube) göreceli bolluğu. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit.

Şube düzeyinde değerlendirme yapıldığında, tüm gruplarda *Firmicutes* ve *Bacteroidota* bakterilerinin yoğunlukta olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda, diğer gruplara göre *Firmicutes* bakteri şubesi fazla sayıda, *Bacteroidota* ise daha az sayıda olduğu dikkati çekmiştir. *Spirochaetota* şubesi kontrol grubunda bulunmazken, diğer gruplarda sırasıyla en çok alfa lipoik asit, kolit, mesalamin+ alfa lipoik asit gruplarında görülmüştür. *Verrucomicrobiota* şubesine sadece kontrol grubunda rastlanmıştır. WPS-2 şubesi bakterileri sadece alfa lipoik asit ve kontrol grubunda saptanmıştır. Alfa lipok asit, kolit, mesalamin ve mesalamin+kolit gruplarında benzer düzeylerde *Cyanobacteria* şubesi gözlemlenirken, kontrol grubunda daha az miktarda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.19.).

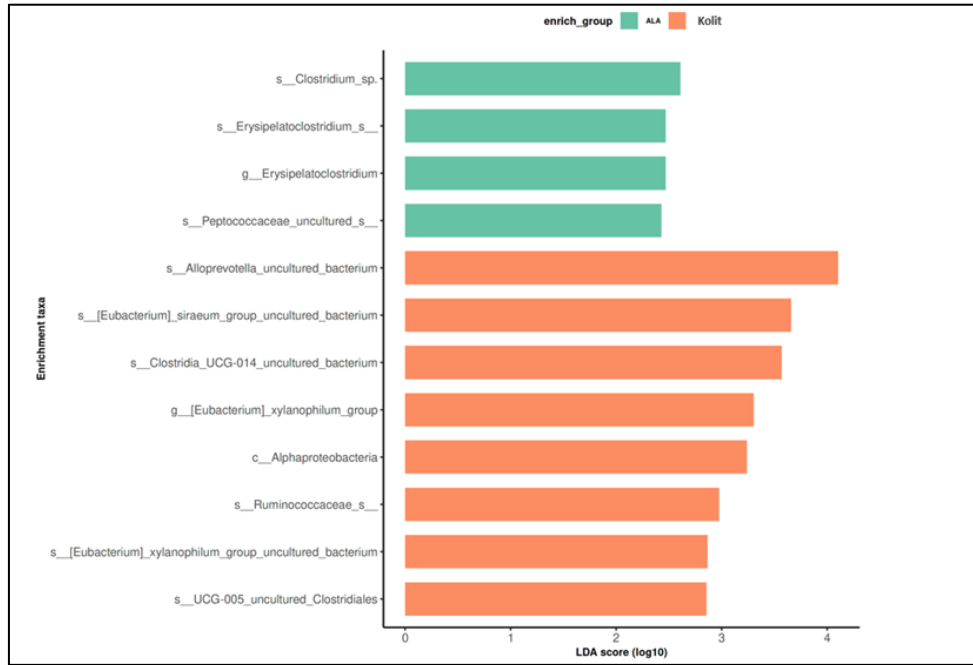


Şekil 4.20. Tüm gruplarda en yaygın bakteri türlerinin (*species*) göreceli bolluğu. M: Mesalamin, ALA: Alfa lipoik asit, M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit.

Deney grupları bakteri türleri açısından karşılaştırıldığında, tüm gruplarda *Uncultured bacterium* ve diğer bakteri türlerinin yoğunlukta olduğu görülmektedir. *Uncultured bacterium* türlerinin en az olduğu grup kontrol grubu iken, bu bakteri türünün en fazla mesalamin grubunda olduğu belirlenmiştir. *Prevotellaceae bacterium* türlerinin kontrol grubunda görülmediği, diğer gruplarda da benzer miktarlarda olduğu saptanmıştır. *Akkermansia muciniphila* sadece kontrol grubunda saptanmıştır. *Lactobacillus intestinalis* bakteri türünün kontrol grubunda diğer gruplara göre fazla olduğu görülmüş; kolit ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarında da düşük miktarda belirlendiği dikkati çekmiştir. Mesalamin grubunda *Lactobacillus intestinalis* türlerine rastlanmamıştır. *Uncultured Rikenellaceae* türlerinin kontrol grubunda görülmediği, mesalamin grubunda ise, diğer gruplara göre fazla sayıda bulunduğu saptanmıştır (Şekil 4.20.).

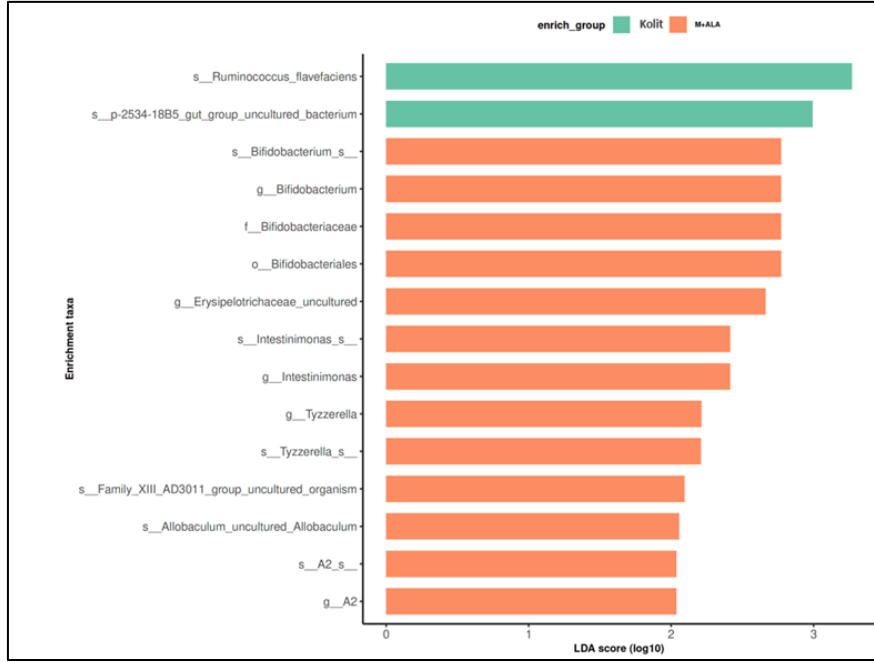
Tez çalışmasında yer alan grupların ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak farklı taksonları tanımlamak için Lineer Diskriminant Analizi (LDA) kullanılmıştır. Ayrıca, elde edilen farklılıkların taksonlarına odaklanmak için de “Linner Diskriminant Analizi Etki Büyüklüğü (LEfSe)” değerlendirilmiştir. Deney gruplarının istatistiksel olarak ikili

karşılaştırmalarında kullanılan Lefse grafiklerinde LDA skorunun ikiden büyük olduğu ($LDA > 2$) veriler anlamlı olarak kabul edilmiştir ($p < 0,05$). Taksonomik sınıflandırmaya göre *genus* (cins) seviyeleri dikkate alınarak sunulmuştur.



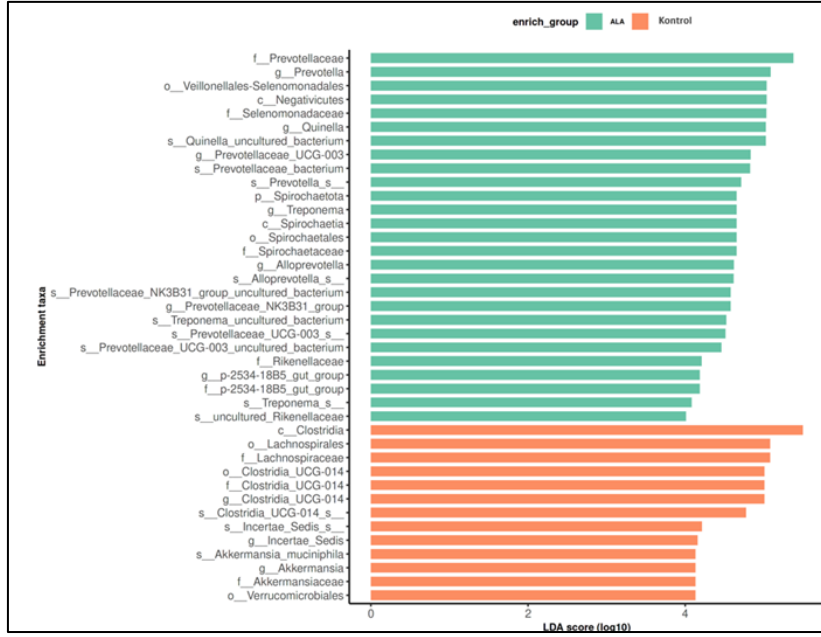
Şekil 4.21. ALA ve kolit grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor. ALA: Alfa lipoik asit

Bu karşılaştırmaya göre, *genus* (cins) düzeyinde alfa lipoik asit grubu hayvanların mikrobiyotalarında *Erysipelatoclostridium* bakterileri, kolit grubunda ise *Eubacterium xylanophilum group* cinsi bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$ ve LDA skoru > 2) (Şekil 4.21.).



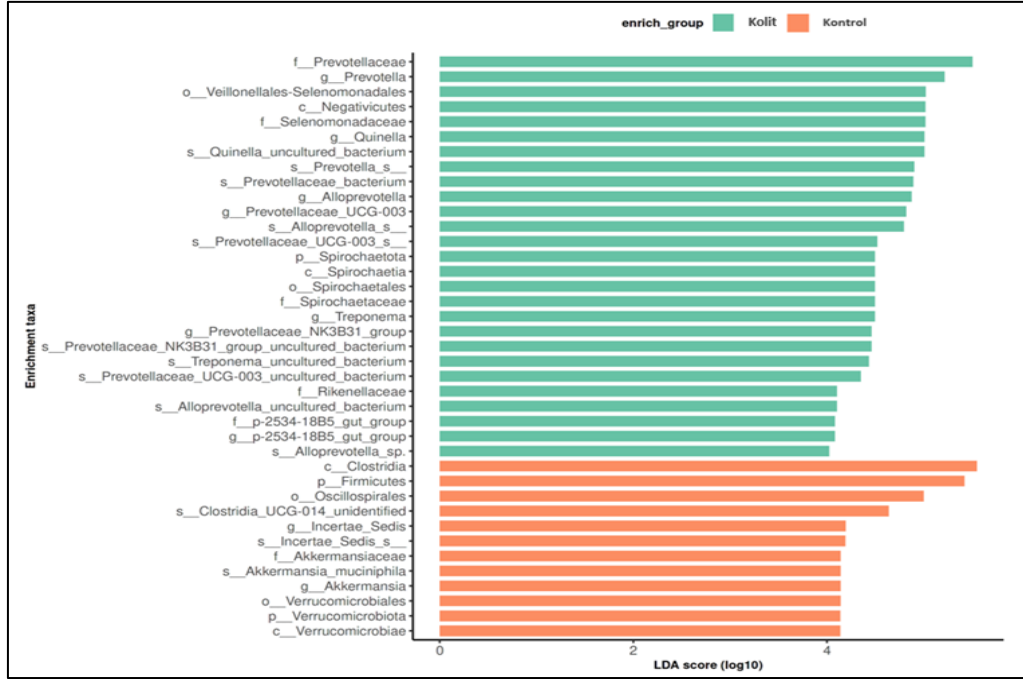
Şekil 4.22. Kolit ve mesalamin+alfa lipoik asit grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor. M+ALA: Mesalamin+alfa lipoik asit

Kolit ve mesalamin+alfa lipoik asit grubundaki hayvanların tür düzeyinde bakteri profili karşılaştırıldığında, kolit grubunda bakteri yoğunluğunun daha az olduğu ve *Ruminococcus flavefaciens* ve *p-2534-18B5 gut group uncultured bacterium* bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$ ve LDA skoru > 2). Mesalamin+alfa lipoik asit grubunda ise, bakteri yoğunluğunun daha fazla olduğu ve genus düzeyinde *Bifidobacterium*, *Erysipelotrichaceae uncultured*, *Intestinimonas*, *Tyzzerella* ve *A2* bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$ ve LDA skoru > 2) (Şekil 4.22.).



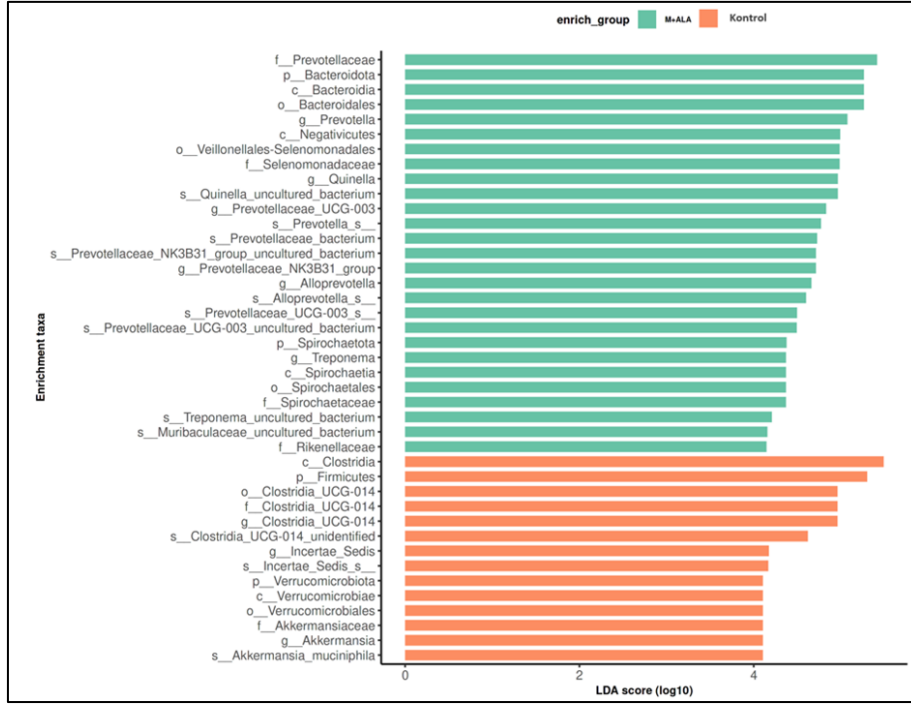
Şekil 4.23. ALA ve kontrol grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor. ALA: Alfa lipoik asit

Alfa lipoik asit ve kontrol grubundaki hayvanların mikrobiyotalarına bakıldığında, alfa lipoik asit grubundaki bakteri çeşitliliğinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Alfa lipoik asit grubunda yoğunluk sırasına göre; *Prevotella*, *Quinella*, *Prevotellaceae UCG-003*, *Treponema*, *Alloprevotella*, *Prevotellaceae NK3B31 group*, *p-2534-18B5 gut group* bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$ ve LDA skoru > 2). Kontrol grubunda ise yoğunluk sırasına göre; *Clostridia UCG-014*, *Incertae-Sedis* ve *Akkermansia* bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$ ve LDA skoru > 2) (Şekil 4.23.).



Şekil 4.24. Koliit ve kontrol grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor.

Koliit grubundaki bakteri çeşitliliğinin, kontrol grubuna göre daha fazla olduğu görülmüştür. Koliit grubunda yoğunluk sıralamasına göre; *Prevotella*, *Quinella*, *Prevotellaceae UCG-003*, *Treponema*, *Prevotellaceae NK3B31group*, *p-2534-18B5 gut group* bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$ ve LDA skoru > 2). Kontrol grubunda ise, yoğunluk sıralamasına göre; *Incertae-Sedis* ve *Akkermansia* bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$ ve LDA skoru > 2) (Şekil 4.24).



Şekil 4.25. Mesalamin+alfa lipoik asit ve kontrol grubunda yüksek oranda saptanan bakteriler: Lefse analizi ve LDA skor. M+ALA: Mesalamin+Alfa lipoik asit

Mesalamin+alfa lipoik asit grubunun bakteri çeşitliliğinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Mesalamin+alfa lipoik asit grubundaki hayvanların mikrobiyotalarındaki bakterilerin yoğunluk sırasına göre; *Prevotella*, *Quinella*, *Prevotellaceae UCG-003*, *Prevotellaceae NK3B31group*, *Alloprevotella* ve *Treponema* cins bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p<0.05$ ve LDA skoru >2). Kontrol grubunda bulunan hayvanların mikrobiyotalarındaki bakterilerin yoğunluk sırasına göre; *Clostridia UCG-014*, *Incertae_Sedis* ve *Akkermansia* cins bakterileri istatistiksel olarak anlamlı oranda daha yüksek saptanmıştır ($p<0.05$ ve LDA skoru >2) (Şekil 4.25.).

5. TARTIŞMA

Ülseratif kolit, kolonda inflamasyon ve oksidasyon süreçlerinin yol açtığı bir hastalık olup, hayat kalitesini önemli ölçüde düşüren abdominal ağrı, diyare, rektal kanama, kilo kaybı, dehidrasyon ve kanlı dışkılama gibi semptomlarla seyreden ağır bir klinik tablo oluşturmaktadır. Tedaviye geç kalınan veya yanıt alınamayan olgularda, yaşam kalitesinin bozulmasından bağırsak perforasyonu, sepsis ve kolorektal kanserlere kadar gidebilen durumlar görülebilmektedir (S. Zhang, Liang, Yao, Li ve Wang, 2022). Kolitin güncel tedavisinde, 5-aminosalisilatlar, glukokortikoidler, immunomodülatörler ve biyolojik ajanların kullanıldığı kademeli tedavi şemaları olmasına rağmen halen etkili bir yaklaşım bulunmamakta ve birçok yan etkilere (deri döküntüleri, baş ve mide ağrıları, kansızlık, kabızlık, diyare, sperm sayısında azalma, akciğer enfeksiyonu, pankreas iltihabı, böbrek hasarı vb) yol açtığı bilinmektedir (Bruner, White ve Proksell, 2023). Ülseratif kolitte tedavi etkinliğinin artırılmasına yönelik yapılan çalışmalara gösterilen ilgi hızla artmakta olup anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği olduğu bilinen ajanların potansiyel özellikleri farklı yollar üzerinden araştırılmaktadır. Bu bağlamda, ülseratif kolitin tedavisinde etkinliği yüksek, maliyeti düşük ve yan etkiler geliştirmeyen ajanların prelinik olarak araştırılması büyük önem arz etmektedir (Hazel ve O'Connor, 2020; Süntar, Cevik, Çeribaşı ve Gökbulut, 2020; Dizakar Akarca ve Demirel, 2022; Zhao ve diğerleri, 2022; Zhu ve diğerleri, 2022; Farid ve diğerleri, 2024).

Ülseratif kolit tedavisinde potansiyel etkinliği olduğu düşünülen ajanların araştırıldığı prelinik çalışmalarda, kolon mukozasının asetik asit, dekstran sülfat sodyum (DSS), 2, 4, 6-trinitrobenzen sülfonik asit 34 (TNBS), oksazolon, cartagena iyodoasetamid ve indometasin gibi kimyasallara maruz bırakılmasından sonra kolit geliştiği gösterilmiştir. Deneysel araştırmalarda, %4 asetik asitle intrarektal yoldan indüklenen kolit modelinin mukozal inflamasyondan bağırsak fibrozuna kadar insan ülseratif kolitinin tüm patolojik spektrumunu incelemek için kullanılabileceği ortaya konulmuştur (Hartmann, Martins, Tieppo, Fillmann ve Marroni, 2012; Al-Rejaie ve diğerleri, 2013; Subramanian, Du ve diğerleri, 2020). Bu tez kapsamında da, deneysel kolit modelinin indüksiyonu amacıyla %4 asetik asitin intrarektal yoldan uygulanması tercih edilmiştir. Asetik asit indüksiyonu sonrası tüm hayvanlarda hastalık aktivite indeksi bulgularına göre kolit modeli geliştiği gözlenmiş,

literatürde belirtildiği gibi, kolit modelinin ratlarda %4 asetik asit ile başarılı bir şekilde oluşturulduğu belirlenmiştir.

Alfa lipoik asit, organizmada kan-beyin bariyerini geçebilen ve hücrel metabolizma enzimlerinin kofaktörü olan biyolojik bir antioksidandır. Bu evrensel antioksidanın serbest radikalleri nötralize edici ve hücrel oksidoredüktif dengeyi sağlayıcı yetenekleri olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, alfa lipoik asitin anti-inflamatuvar, antioksidan, anti-kanser ve antiviral gibi farmakolojik özellikleri nedeniyle birçok hastalığın tedavisindeki etkinliği de araştırılarak etkinliği kanıtlanmıştır (X. Guo ve diğerleri, 2023; N. Zhao ve diğerleri, 2024). Ayrıca, yapılan prelinik araştırmalar doğrultusunda, alfa lipoik asit, özellikle diyabet ve nörolojik hastalıkların klinik tedavisinde de kullanım alanı bulmuştur (Dugbartey, Atule, Alornyo ve Adams, 2024; Gülşah ve Bekir, 2023).

Alfa lipoik asit üzerine yapılmış çalışmalardan hareketle, bu tez kapsamında, kolit modeli uygulanan ratlarda alfa lipoik asitin birçok yolak üzerinden etkili olabileceği hipotezine varılmıştır. Çalışmamızda, asetik asit ile kolit modeli oluşturulduktan sonra ratlara 14 günlük tedavi uygulanmış ve hayvanlar 15. günde sakrifiye edilmiştir. Asetik asit uygulandıktan sonra ratların günlük olarak beden ağırlıkları, yem ve su tüketimleri ile hastalık aktivite indeksleri takip edilmiş ve her bir veri kaydedilmiştir. Kolit indüksiyonu yapılan gruplarda, özellikle deneyin ilk günlerinde, hayvanların beden ağırlıkları ile yem ve su tüketimlerinin kontrol grubuna (sağlıklı) göre azaldığı dikkati çekmiştir. Tedavi almayan kolit grubunda, deneyin üçüncü gününden itibaren beden ağırlığı artışı başlamasına rağmen, devam eden klinik semptomların şiddetine bağlı olarak ilerleyen günlerde beden ağırlığında kayıplarının tekrar başladığı saptanmıştır. Deneyin üçüncü gününden sonra, tedavi alan gruplarda yem ve su tüketiminin başlamasıyla birlikte beden ağırlığında artış olduğu görülmüştür. Deney protokolünün sonunda, beden ağırlığındaki artışın kontrol ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarında diğer gruplara göre daha fazla olduğu, deneyin 1. gün ve 14. günleri arasındaki artışın istatistiksel olarak anlamlılık gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, asetik asitle indüklenen kolit modelinde, tüm hayvanlarda diyare ve rektal kanama görüldüğü, ağırlık kaybının ise yaklaşık % 4 civarında olduğu bildirilmiştir (HosseiniRavesh ve diğerleri, 2024). Benzer çalışmalarda da, asetik asitle kolit oluşturulan ratlarda beden ağırlığının tedavi alan gruplara göre azaldığı belirtilmiştir (Osafo, Obiri, Danquah, Essel ve Antwi, 2019; Tanideh ve diğerleri, 2020; Minaiyan, Abolhasani, Sima ve Yegdaneh, 2024). Bu çalışmada da, literatür bulgularına paralel olarak, asetik asit ile kolit indüksiyonu sonrası

hayvanlarda beden ağırlık kaybı görülmüş, tedavi almayan grupta ağırlık kazanımının diğer gruplara göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, tedavi almayan grupta deney prosedürü boyunca devam eden şiddetli diyare tablosuna bağlı dehidrasyon nedeniyle olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda, kolit indüksiyonu yapılan gruplarda yem ve su tüketim miktarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişmediği görülmüştür. Ancak, tedavinin ilk günleri kolit indüksiyonu yapılan gruplarda yem ve su tüketiminin azaldığı, tedavinin devam etmesiyle 3. günden itibaren artmaya başladığı belirlenmiştir. Tedavi grupları arasında mesalamin+alfa lipoik asit grubunda, bu artışın diğer gruplara göre daha fazla olduğu dikkati çekmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda, hayvanların yem ve su tüketim miktarları artsa bile beden ağırlığındaki değişimi etkilemediği görülmüştür. Ratlarda asetik asitle oluşturulan ülseratif kolitte *Aloe vera* jelinin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, hayvanlar kolit indüksiyonundan yedi gün önce koruyucu tedaviye başlanan dört grup ve 72 saat sonra tedaviye başlanan dört grup olmak üzere sekiz gruba ayrılmıştır. Tedavide sülfasalazin ve *Aloe vera* jeli (50 mg/kg ve 300 mg/kg) uygulamasının, hayvanların yem ve su tüketimlerdeki gruplar arası farklılığının anlamlı olmadığı belirtilmiş (Bahrami ve diğerleri, 2020), sonuçlar bizim çalışmamızla paralellik göstermiştir. Bu bilgiler doğrultusunda, kolit deney prosedüründe, semptomlar iyileşmediği sürece yem ve su tüketiminde artış görülmesinin hastalığın şiddetini değiştirmeyeceği kanaatine varılmıştır.

Deney hayvanlarında kolondaki hasarın değerlendirilmesini sağlayan hastalık aktivite indeksi önemli bir klinik parametre olarak kullanılmaktadır. Hastalık aktivite indeksine (ağırlık kaybı, dışkıda kan varlığı ve dışkı yapısı) göre hastalığın şiddetini değerlendirmek mümkün olmaktadır (J. Li, Zhang, Xu ve Yang, 2024). Doğal antioksidan ve anti-inflamatuvar bir mikroorganizma olan *Aspergillus awamori*'nin asetik asitle indüklenen kolitli ratlarda referans madde olan sülfasalazinle birlikte hastalık aktivite indeksi üzerine etkileri araştırılmıştır. Tedavi almayan grupta, hastalık aktivite indeksinin tedavi alan gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (Abd-Ellatieff ve diğerleri, 2024). Kolitli ratlarda alfa lipoik asitin etkinliği üzerine yapılan bir çalışmada, kolit grubunda hastalık aktivite indeksi kontrol, alfa lipoik asit ve kolit+alfa lipoik asit gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Alfa lipoik asit uygulamasının kolitli hayvanlarda hastalık aktivite indeksinin azalmasını sağladığı görülmüştür. Kontrol, alfa lipoik asit ve kolit+alfa lipoik asit grupları arasında hastalık aktivite indeksi açısından anlamlı fark

bulunmamıştır (Ergül ve diğerleri, 2019). Avokado ve narın kolitli ratlar üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, asetik asitle indüksiyonu sonrası tedavi almayan hayvanların hastalık aktivite indekslerinin tedavi alan gruplara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (El-Ashmawy, Khedr, El-Zamarany ve Ahmed, 2024). *Origanum majorana* polifenollerinin kolit üzerine etkilerini gösteren bir çalışmada, kolit + *O. majorana* grubunda hastalık aktivite indeksinin tedavi almayan gruba göre düşük olduğu ve polifenol tedavisiyle hastalık şiddetinin azaldığı belirlenmiştir (Taha ve diğerleri, 2023). Bu tez kapsamında da, hayvanların ağırlık kaybı, dışkıda kan varlığı ve dışkı yapısından elde edilen veriler doğrultusunda, kolit grubu hastalık aktivite indeksi skorunun tedavi alan gruplara göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, hastalık aktivite indeksi skorunun kolit, mesalamin ve alfa lipoik asit gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Tedavi grupları arasında hastalık aktivite indeksi en düşük mesalamin+alfa lipoik asit grubunda olduğu belirlense de kontrol grubu arasındaki farklılığın anlamlı olmadığı görülmüştür. Bu bilgiler doğrultusunda, % 4 asetik asit ile indüklenen kolit modelinde, tedavi almayan hayvanlarda hastalık aktivite indeksinin deney prosedürü boyunca yüksek kaldığı ve tedavi alan gruplarda bu indeksin düşmeye başladığı görülmüştür. Sonuç olarak, kolitin tedavisinde mesalamin ve alfa lipoik asitin birlikte kullanımının kolit hastalık aktivite indeksinin azalmasında olumlu etkilerinin olduğu saptanmıştır. Ratlarda kolit modeli üzerine yaptığımız bu tez kapsamında, hayvanların beden ağırlığı, yem ve su tüketimleri ile hastalık aktivite indeksleri birlikte değerlendirildiğinde, beden ağırlığındaki değişimin yem ve su tüketim miktarına bağlı olmadığı, hastalık aktivite indeksinin beden ağırlığı üzerindeki etkisinin daha önemli olduğu kanısına varılmıştır.

Ratlarda indüklenen kolit modelinde, ülserasyon, hiperemi ve mukozal ödeme bağlı olarak kolon doku hasarı meydana gelmektedir. Bu nedenle, deneysel kolit modeli sonrası hastalığın şiddeti ve tedavi etkinliğinin belirlenmesi amacıyla makroskobik hasar skorlaması yapılmaktadır. Bu skorlamaya göre, kolon dokusundaki ülserasyon, inflamasyon ve erozyonların varlığı, uzunluğu ve şiddetleri değerlendirilmektedir (Y. H. Wang ve diğerleri, 2016; Lleal ve diğerleri, 2019). Safranda bulunan ve karotenoid grubundan bir etken madde olan krosin ile mesalazinin kolit üzerindeki etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, yüksek dozlarda kullanılan krosin grubu ve yüksek doz mesalazin kullanılan grubun mukozal ülser ve makroskobik hasar skorlarının azalttığı, ancak, en düşük skorun mesalazin+krosin kombinasyonu uygulana grupta olduğu saptanmıştır (Faramarzpour, Tehrani, Tamaddonfard ve Imani, 2019). *Acacia arabica* ve *Ocimum basilicum*'un ülseratif

rat kolit modeli üzerine iyileştirici etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *Acacia arabica* ve *Ocimum basilicum* birlikte uygulandığı grupta makroskobik skorun sulfalazin verilen gruba göre anlamlı derecede azaldığı görülmüştür (Bejeshk ve diğerleri, 2023). Çalışmamızda, kolit, mesalamin ve alfa lipoik asit gruplarındaki makroskobik skorun kontrol grubuna (sağlıklı) göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Mesalamin+alfa lipoik asit grubunda ise, kolon dokusundaki makroskobik skorunun kolit ve diğer tedavi gruplarına göre anlamlı olarak azaldığı dikkati çekmiştir. Böylece, mesalamin ve alfa lipoik asitin birlikte kullanımının kolon dokusu mukozasının iyileşmesinde alfa lipoik asitin tek başına kullanımına göre daha etkili olabileceği görülmüştür.

Ülseratif kolit olgularında meydana gelen inflamasyon, oksidatif strese neden olmakta ve bu durum iyileşme sürecini olumsuz yönde etkilemektedir. Hastalığın patogeneğinde ve tedavi edilen dokulardaki iyileşme oranının belirlenmesinde oksidatif stres indeksi önemli bir parametredir. Bu nedenle, deneysel kolit çalışmalarında kolon dokusundaki oksidasyon düzeyi ve uygulanan tedavinin etkinliği bu parametreler üzerinden sıklıkla araştırılmaktadır (Yuksel ve diğerleri, 2017; Jawhara, 2024). Kolit modeli uygulanan farelerde yapılan bir çalışmada, prednisolon ile kurkuminin etkinliği karşılaştırılmış, TAS seviyesi en yüksek kurkuminle tedavi edilen grupta, en düşük ise tedavi almayan kolit grubunda görülmüştür. Yine aynı çalışmada, TOS ve OSI değerlerine bakıldığında, en yüksek değerlerin tedavi almayan kolit grubunda olduğu, sadece kurkumin kullanıldığında bile TOS ve OSI değerlerinin anlamlı derecede düştüğü tespit edilmiştir (Hales ve diğerleri, 2022).

Yapılan çalışmalarda, SOD düzeyindeki azalmanın ülseratif kolit derecesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ülseratif kolitin temel sebeplerinden biri, reaktif oksijen türlerinin üretiminin fazla olması ve buna bağlı olarak SOD düzeyinin azalmasıyla oksidatif stresin artmasıdır (Hwang ve diğerleri, 2020; Ashique ve diğerleri, 2023). Bu bilgiler ışığında, ülseratif kolitte antioksidan ajanlar kullanılarak azalan SOD seviyesinin artırılması yoluyla tedaviye katkı sağlayacağı ortaya konulmuştur (Zhou ve diğerleri, 2006; İspiroğlu ve diğerleri, 2020; Ashique ve diğerleri, 2023; Blagov ve diğerleri, 2023; W.Y. Li ve diğerleri, 2023). Rat kolit modeli üzerine yapılan bir çalışmada, alfa lipoik asit tedavisinin, kolon dokusunda MDA, NO ve iNOS düzeylerini önemli ölçüde azalttığı, glutasyon seviyesi ve SOD aktivitesinin de anlamlı şekilde artırdığı saptanmıştır (J. Sun, Zhang, Guan, Zhou ve Sun, 2015).

Alfa lipoik asitin ratlarda radyasyon kaynaklı beyin sapı hasarındaki nöroprotektif etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, radyasyon indüksiyonu öncesinde koruyucu olarak alfa lipoik asit uygulanmış, diğer gruba ise radyasyon indüksiyonu ile birlikte alfa lipoik asit verilmiştir. Alfa lipoik asit uygulaması yapılan gruplarda, tedavi almayan gruba göre beyin sapı dokusunda bir oksidasyon parametresi olan MDA düzeyinin anlamlı derecede düşük olduğu; TAS seviyesinin ise anlamlı derecede yükseldiği belirlenmiştir (Motallebzadeh, Aghighi, Vakili, Talaei ve Mohseni, 2023). İyonize radyasyon ile hepatotoksisite modeli uygulanan ratlarda, hayvanların karaciğer dokularındaki SOD seviyesinin anlamlı olarak azaldığı, alfa lipoik asit uygulamasıyla bu değerin arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, oksidatif stresin bir belirteci olan MDA değerinin iyonize radyasyon uygulanan ratların karaciğer dokusunda anlamlı olarak arttığı; alfa lipoik asit tedavisiyle bu değerin anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Gezer, Laloğlu ve Kirli-Bölükbaş, 2023).

Bu tez çalışmasında, deney protokolü sonrası elde edilen kolon dokularında tüm oksidan ve antioksidan parametreleri yansıtan TOS ve TAS seviyeleri belirlendikten sonra OSI değeri hesaplanmıştır. Kolit grubunda, TOS ve OSI değerlerinin diğer gruplara göre en yüksek seviyede olduğu görülmüştür. Diğer gruplarda, tedaviyle birlikte TOS ve OSI değerlerinin kolit grubuna göre anlamlı olarak azaldığı belirlenirken, mesalamin+alfa lipoik asit tedavi grubunda anlamlı olarak en düşük seviyede olduğu dikkati çekmiştir. Bununla birlikte, kolit grubunda TAS seviyesinin diğer gruplara göre anlamlı olarak en düşük değerde olduğu, tedavi alan gruplarda bu seviyenin yükseldiği belirlenmiştir. En yüksek TAS değeri, sadece alfa lipoik asit alan tedavi grubundayken, mesalamin+alfa lipoik asit grubunda da benzer olarak artış gösterdiği bulunmuştur. Kolit modeli, bu çalışmada da, diğer yapılmış çalışmalara benzer bir şekilde kolon dokusunda oksidasyona yol açarak oksidasyon belirteçlerinin yükselmesine neden olmuştur. Alfa lipoik asitin serbest radikalleri süpürmedeki güçlü etkisinden dolayı hem tek başına kullanımının hem de mesalamin ile kombinasyonunun bu parametreleri düzenlemesi hipotezimizi doğrulamıştır.

Proteinlere nitro-oksidatif zarar veren nitrozatif stres, NO'nun aşırı üretimi ve eş zamanlı süperoksit anyonlarının meydana gelmesiyle karakterizedir. Bir amino asit olan tirozinin nitrasyonu ile 3-NT molekülü oluşmakta, bu molekülün ONOO- ve serbest nitrojen türlerinin oluşturduğu oksidatif hasarda oldukça spesifik bir biyobelirteç olduğu düşünülmektedir (Bandoowala ve Sengupta, 2020b; DE Angelis, Dorg, Phan ve Andersen, 2021). 3-NT düzeyinin, inflamasyon, iskemi, sepsis ve kolit gibi patolojik durumlarda arttığı

bilinmektedir. Bu bilgilerden hareketle, 3-NT düzeyinin, hastalığın dokularda oluşturduğu harabiyeti hakkında fikir verebileceği ve tedavi etkinliğini ortaya koyabileceği düşünülmektedir (Bandookwala ve Sengupta, 2020b). Yapılan bir çalışmada, rat sepsis modelinde alfa lipoik asitin 3-NT ve sitokin seviyeleri üzerine etkisi değerlendirilmiş, alfa lipoik asit verilen hayvanlarda 3-NT, IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin azaldığı görülmüştür (B. Çimen, Çimen ve Çetin, 2019). İnsülin dirençli ratlarda diyetle alfa lipoik asit eklenmesinin beyin dokusundaki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, alfa lipoik asitin hipotalamusta oksidasyon düzeylerini azaltarak 3-NT düzeyini düşürdüğü görülmüştür (Maciejczyk, Żebrowska, Nesterowicz, Żendzian-Piotrowska ve Zalewska, 2022).

Kolit modeli oluşturulmuş ratlarda oksidatif stres belirteci olan 3-NT düzeyinin anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir (Almasi ve diğerleri, 2020; Török ve diğerleri, 2023). Bu çalışmanın hipotezlerinden biri rat kolit modelinde alfa lipoik asitin antioksidatif ve anti-inflamatuvar etkilerini baz alarak 3-NT düzeylerinin azalacağı yönündeydi. Bu bilgilere paralel olarak, çalışmamızda, 3-NT seviyesi en yüksek kolit grubunda belirlenirken, tedavi alan gruplarda en düşük 3-NT seviyesinin mesalamin+alfa lipoik asit grubunda olduğu görülmüştür. Ayrıca, 3-NT düzeyinin, mesalamin grubunda kontrol ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bilgilerin ışığı altında, kolon dokusu 3-NT düzeyinin kolit olgularında arttığı; mesalaminin tek başına kullanılmasının bu parametre üzerinde yeterli düzenleyici etki sağlamadığı, kolit tedavi protokollerine alfa lipoik asit eklenmesinin nitrozatif stresi azaltarak iyileşme sürecine daha fazla katkı sağlayabileceği kanaatine varılmıştır.

İnflamazomlar ve kaspaz-1'le regüle edilen prosesler intestinal homeostaz ve inflamasyon için çok önemli bir rol oynamaktadır (Bauer, Duewell, Lehr, Endres ve Schnurr, 2012). NLRP3 inflamazomu, immün sistem hücrelerine ulaşan tehlikeli iç ve dış sinyallerle aktive olmaktadır. Bu inflamazomun en iyi bilinen uyarıcısı ROS'lardır (Xue ve diğerleri, 2023). Bu inflamazom, *tehlikeli uyararı tanıyan sitozolik NLRP3 proteini, kaspaz aktive edici bölge içeren apoptoz ilişkili benek benzeri protein (ASC)* ve *pro-kaspaz-1*'den meydana gelmektedir. Aktive edildiğinde, üç bileşeni bir araya gelmekte ve pro-kaspaz-1 kesilerek aktif kaspaz-1 formuna dönüşmektedir. Aktif kaspaz-1 de, proinflamatuvar sitokinleri aktif formlarına (IL-1 β ve IL-18) dönüştürerek inflamatuvar yanıtı şiddetlendirmektedir (Tourkochristou, Aggeletopoulou, Konstantakis ve Triantos, 2019). Diğer yandan normal koşullarda bağırsak epitelindeki NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu, kommensal

mikrobiyotanın düzenlenmesi, zararlı bakterilerin eradikasyonu ve defensin (antimikrobiyal sitokin) sentezi yoluyla homeostazı sağlayacağından koruyucu bir rol oynamaktadır. Ancak, endojen ve ekzojen uyaranların etkisiyle bağırsak epitel bariyeri bozulduğunda, mikrobiyota *lamina propriaya* sızmakta ve bağışıklık hücrelerinin toplanmasını sağlamaktadır. Bu durumda, NLRP3 aktivasyonu mukozal inflamasyonun şiddetini artırarak zararlı hale gelmesini sağlamaktadır (Zhen ve Zhang, 2019). DSS ile indüklenen fare kolit modelinde bir safra asidi olan deoksikolik asitin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, yüksek yağ içeren beslenme rejiminin safra metabolizmasını etkilemesi sonucunda miktarları yükselen fekal deoksikolik asitin, NLRP3 inflamazomunu aktive ederek kolitin şiddetini artırdığı gösterilmiştir (Zhao ve diğerleri, 2016). İnsanlarda yapılan bir kohort çalışmada aktif ülseratif kolitli olguların kolon mukoza biyopsilerinde NLRP3 ve IL-1 β aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir (Ranson ve diğerleri, 2018). İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, ülseratif kolitte NLRP3 inflamazomunun yukarıda belirtilen aktivasyonu hastalığın patogenezinde görev aldığı ve tanı ile tedavisinde hedef parametre olabileceği düşünülmektedir (Bauer ve diğerleri, 2012; Itani ve diğerleri, 2016; Zhen ve Zhang, 2019; Q. L. Chen, Yin, He ve Wang, 2021; Xiao, Sun, Wang, Abu-Amer ve Mbalaviele, 2022; Zeng ve diğerleri, 2022; Ali ve diğerleri, 2023; Z.J. Zhou ve diğerleri, 2024).

Ülseratif kolit üzerine yapılan prelinik çalışmalarda, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği olduğu bilinen doğal bileşiklerden sülforafanın (Z.J. Zhou ve diğerleri, 2024), fenolik bileşiklerin (ananas yaprağı, klorojenik asit, rosmarinik asit, resveratrol), flavonoidlerin (baicalein, floretin, apigenin, naringin, TGFU, lonicer, formononet, oroxind, alpinetin, procyanid, kaempferol), terpenoidlerin (paeoniflorin, celastrol, asiatic asit, karnosik asit, libertellon) ve saponinlerin artan NLRP3 aktivasyonunu azalttığı belirlenmiştir (Ali ve diğerleri, 2023; Xue ve diğerleri, 2023). Subaraknoid hemoraji modeli oluşturulmuş ratlarda, alfa lipoik asit takviyesinin inflamasyon ve nörofonksiyonlar üzerine etkilerine bakıldığı çalışmalarda, alfa lipoik asit tedavisiyle, NLRP3 inflamozumu aktivitesinin azaldığı, nörofonksiyonlarda iyileşme gözlemlendiği ve böylelikle beyin hasarının erken dönemde azaltılabileceği belirtilmiştir (Zhou ve diğerleri, 2018; Lin ve diğerleri, 2024). Tip 2 diyabetik rat modelinde, yüksek yağlı diyetle beslenen hayvan grubunda, alfa lipoik asit takviyesinin hepatik NLRP3 aktivitesini baskılayarak hepatik lipid birikimi ve non-alkolik karaciğer hastalığı üzerine yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (Ko ve diğerleri, 2021). Bu bilgilerden hareketle bu tez kapsamında, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği bilinen alfa lipoik asitin ülseratif kolit olgularında kolon dokusu NLRP3

inflamazomunu modüle edeceği hipotezine varılmıştır. Çalışmamızda, literatürde belirtildiği gibi kolit indüksiyonu yapılan ve tedavi almayan hayvanlarda NLRP3 inflamazomunun aktive olduğu, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği belirlenmiştir. Uygulanan tedavilerle birlikte NLRP3 seviyesinin tedavi almayan kolit grubuna göre azaldığı dikkati çekmiştir. Tedavi grupları arasında en düşük NLRP3 düzeyinin sadece alfa lipoik asit grubunda, en yüksek NLRP3 düzeyinin ise mesalamin grubunda olduğu saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında, ülseratif kolitte bağırsakta artan NLRP3 inflamazomunun alfa lipoik asit uygulamasıyla modüle edilebileceği ve iyileşme sürecine katkı sağlayabileceği kanaatine varılmıştır.

GSDMD, efektör protein kaspaz-1'in etkisiyle N terminal bölgesinden uzaklaştırılarak hücre membranında gözeneklerin oluşmasına neden olmaktadır. Daha sonra, IL-1 β ve IL-18 sitokinlerinin salınmasına aracılık ederek inflamasyonun ve piroptozun (inflamasyonla tetiklenen hücre ölüm şekli) meydana gelmesine yol açar (Shi ve diğerleri, 2015; J. Xiao ve diğerleri, 2022; Dai ve diğerleri, 2023). Çeşitli uyaranlarla aktive olan GSDMD'nin, ülseratif koliti de kapsayan birçok inflamatuvar hastalıklarla bağlantısı olduğu düşünülmektedir. Kolitli olgularda alınan mukozal biyopsilerde GSDMD seviyelerinin yüksek olması bu hastalıkta patojenik bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Xiao ve diğerleri, 2022). GSDMD eksik olarak üretilen farelerin, bağırsak inflamasyonuna karşı daha dirençli oldukları gösterilmiştir (Bulek ve diğerleri, 2020). Bu bilgiler doğrultusunda, son yıllarda, ülseratif kolitte GSDMD aktivasyonunun belirlenmesiyle, kolitin patogenezi, tanı ve tedavisinde hedef olabileceği bildirilmiştir (C. Ma ve diğerleri, 2020; Magnani, Colantuoni ve Mortellaro, 2022; S. Zhang, Liang, Yao, Li ve Wang, 2022; Sun ve diğerleri, 2024).

Ülseratif kolit üzerine yapılan prelinik çalışmalarda, anti-bakteriyel ve immun sistemi düzenleyici aktivitesi olan ve arı sütünde majör yağ asidi olarak kabul edilen *trans-10-hidroksi-2-dekanoik asit* ile Çin tıbbında anti-inflamatuvar ve antioksidan olarak kullanılan *Kuijieling* ve *Shaoyao* dekoksasyonlarının kolon dokusunda artan GSDMD düzeyini azalttığı belirlenmiştir (Ali ve diğerleri, 2023). Yapılan bir çalışmada, rat diyabet modelinde alfa lipoik asit (100 mg/kg/gün) uygulamasının siyatik sinirde GSDMD protein ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir (Sun ve diğerleri, 2019). Bu bilgilerden hareketle, yapılan tez çalışmasında, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği bilinen alfa lipoik asitin ülseratif kolit modelinde artan kolon dokusu GSDMD düzeyini azaltabileceği kanısına varılmıştır.

Çalışmamızda, literatür bulgusuyla uyumlu olarak asetik asitle indüklenen deney gruplarında kolon dokusu GSDMD düzeyinin en yüksek kolit grubunda olduğu belirlenmiştir. Tedavi gruplarında GSDMD düzeyinin kolit grubuna göre azaldığı ve en düşük mesalamin+alfa lipoik asit grubunda olduğu görülmüştür. Tedavi grupları arasında tek başına mesalamin uygulanan hayvanlarda GSDMD düzeyinin diğer tedavi gruplarına göre daha yüksek olduğu dikkati çekmiştir. Ülseratif kolit tedavisinde en sık kullanılan ajan olan mesalaminin, GSDMD inflamazomu üzerine modülasyonunun alfa lipoik asitle birlikte uygulanmasıyla daha etkili olabileceği görülmüştür. Bu tez kapsamında elde edilen bilgiler doğrultusunda, NLRP3 inflamazomu ve bununla ilişkili GSDMD düzeyinin ülseratif kolit olgularının tanı ve prognozunda belirleyici birer parametre olduğu, hipotezimizle uyumlu olarak, alfa lipoik asit uygulamasının NLRP3 inflamazomu ve aktivasyonu üzerine modüle edici etkisi ilk kez gösterilmiştir.

Ülseratif kolitin patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da, kolon mukozasında hasar, ülserasyon, kriptlerde deformasyon ve inflamasyon, glandüler atrofi ve ödem ile karakterize histopatolojik bulgular görüldüğü bilinmektedir (Zhu, Gu ve Shen, 2019; Kellermann ve Riis, 2021; Villanacci ve diğerleri, 2021; Jucan ve diğerleri, 2023). Ülseratif kolit üzerine yapılan prelinik çalışmalarda da, hastalığın şiddeti ve tedavi etkinliğinin belirlenebilmesi için kolon dokusundaki bu histopatolojik değişiklikler (kolon mukoza inflamasyonu, ülserasyon, kanama ve bozulmuş kriptalar) skorlanarak değerlendirilmektedir (Dizakar ve Demirel, 2022; Elbastawisy ve Mohamed, 2022; El-Ghannam, Saad, Nassar, El-Yamany ve El-Bahy, 2022). Bu tez çalışmasında da, literatürle uyumlu olarak, deney grubu ratlarda kolon dokusunda inflamasyon, mukozal erozyon, kanama, ülserasyon, lenfosit infiltrasyonu gibi bulgulara rastlanmıştır. Kolon dokusu histopatolojik inflamasyon skoru en yüksek kolit grubunda belirlenirken, kontrol ve tedavi grupları arasındaki farklılığın anlamlı olduğu görülmüştür. Asetik asitle kolit modeli indüklenen ratlarda yapılan bir çalışmada, antioksidan ve anti-inflamatuvar etkinliği bilinen *koenzim Q10*'un kolon dokusunda inflamasyonu, ülserasyonu, kriptlerin yapısal deformasyonu, kriptiti, glandular atrofiyi ve ödemi azaltarak tedaviye olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Dizakar ve Demirel, 2022). Asetik asitle indüklenen rat kolit modeli üzerine yapılan çalışmalarda, kersetin (Martin ve Bolling, 2015), kurkumin (Martin ve Bolling, 2015; Celani ve diğerleri, 2022), ferulik asit (Ghasemi-Dehnoo, Amini-Khoei, Lorigooini, AnjomShoa ve Rafieian-Kopaei, 2023) ve asiatic asit (Lokman ve diğerleri, 2024) gibi anti-inflamatuvar ve antioksidan ajanların histopatolojik inflamasyon skorunu azaltarak tedavide etkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan

bir çalışmada, ratlarda kolit modelinde, anti-inflamatuvar ve immunomodulator etki gösteren *Ganoderma lucidum* ile mesalazinin tek başına ve birlikte kullanımları karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Tek başına oral yolla uygulanan *Ganoderma lucidum* ve intarektal mesalazin tedavilerinin intestinal inflamasyon yanıtını ve mukoza hasarını azalttığı, ancak; *Ganoderma lucidum* ve mesalazinin birlikte kullanımının bağırsak mukozası üzerindeki iyileştirici etkilerinin (mukozal inflamasyon ülserasyon, hasar ve fibrozisi azaltarak) daha iyi olduğu görülmüştür (Özden ve diğerleri, 2022). Ayrıca, ratlarda kolit modelinde, kurkuminin tek başına ve mesalamin kombinasyonu ile olan kullanımının kolon dokusu histopatolojik skoru üzerine olan etkileri karşılaştırılmış ve kurkumin+mesalamin uygulamasının daha etkili olduğu belirlenmiştir (Heikal ve diğerleri, 2023). Histopatolojik skoru yüksek olarak bulunduğu kolit modeli çalışmalarında, alfa lipoik asitin tedavi edici yönleri değerlendirilmiş, kolon dokusundaki inflamasyon, hemoraji, ülserasyon ve mukozal hasarı azaltarak histopatolojik skoru düşürdüğü belirlenmiştir (Samman, Elaidy, Essawy ve Hassan, 2018; Moeinian, Abdolghaffari, Nikfar, Momtaz ve Abdollahi, 2019). Bu bilgilerden hareketle, bu tez çalışmasında da, tedavi gruplarında histopatolojik inflamasyon skorunun azaldığı, mesalamin+alfa lipoik asit grubunun ise en düşük skora sahip olduğu dikkati çekmiştir. Alfa lipoik asitin ülseratif kolit indüksiyonu yapılan ratlarda, anti-inflamatuvar ve antioksidatif etkisiyle histopatolojik skoru azalttığı; mesalamin ile birlikte kullanımının (mesalamin+alfa lipoik asit grubu) diğer çalışmalarla (Özden ve diğerleri, 2022; Heikal ve diğerleri, 2023) benzer olarak tedavide daha etkili olduğu saptanmıştır.

Ülseratif kolit de dahil olmak üzere kronik bağırsak inflamasyonu gelişen olgularda kolon dokusunda fibrozis görülmesi muhtemeldir. Fibrozis, ekstraselüler matrisin submukozal tabakada aşırı birikmesi sonucu mukozal tabakanın kalınlaşması olarak tanımlanmaktadır (Ippolito ve diğerleri, 2016; Gordon ve diğerleri, 2018; Y. Chen, Cheng, Zhang, Chen ve Seralu, 2021). Kolit olgularında fibrozisin gelişmesiyle birlikte kolon duvarının kalınlaştığı ve lümenin daraldığı bilinmektedir. Ayrıca, fibrozis, kolonun hareketliliğini ve emici fonksiyonlarını da olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum, karın ağrısı, diyare ve idrar kaçırma gibi kolit semptomlarının şiddetlenmesine neden olabilmektedir (Gordon ve diğerleri, 2018). Ülseratif kolit modeli üzerine yapılan prelinik çalışmalarda da, kolon mukozasında fibrozis meydana geldiği gösterilmiştir (Ma ve diğerleri, 2010; Guan ve diğerleri, 2011; Loeuillard ve diğerleri, 2014; Elbastawisy ve Mohamed, 2022, Elhefnawy, Zaki, El Maraghy Ahmed ve Abd El-Haleim, 2023). Bu tez çalışmasında da, diğer

çalışmalarla paralel olarak, kolit grubu fibrozis yüzdesinin kontrol ve tedavi grupları arasındaki farklılığının anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur. Daha önce yapılan çalışmalarda, kolitte bağırsak goblet hücreleri sayısının ve dolayısıyla musin salgısının sağlıklı gruba göre anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir (Oliveira ve diğerleri, 2014; Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022). Musin salgısının azalması, kolit dahil inflamatuvar bağırsak hastalığının semptomlarıyla ilişkili olup, kolon mukozasında bakteriyel enfeksiyonların oluşmasını önleyen mukoza bariyerinin etkinliğini zayıflatmaktadır (Fawzy, El-Din Abo-Elnou, Abd-El-Maksoud El-Deeb ve Yousry Abd-Elkader, 2013; Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022). Tez çalışmamızda da, yapılan çalışmalarla benzer olarak, kolit grubunda, goblet hücresi sayısının kontrol ve tedavi gruplarına göre anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Elde edilen bulgular, fibrozis artışının, goblet hücresi sayısı ve musin sekresyonu azalmasının, ülseratif kolit etiyopatogenezinde önemli bir etken olduğunu desteklemektedir.

Ülseratif kolit üzerine yapılan preklinik çalışmalarda, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği bilinen sinapik asit (W.Y. Li ve diğerleri, 2023), kurkumin (Lin, Liu, Bu, Chen ve Ye, 2022), resveratrol (Li ve diğerleri, 2014), *Aloe vera* (Bahrami ve diğerleri, 2020), arktijenin, bosvelik asit, kateşin, gimnemik asit, zencefil (Gupta ve diğerleri, 2022), koenzim Q10 (Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022), asiatik asit (Lokman ve diğerleri, 2024) ve arbutin (Alemdar ve diğerleri, 2024) uygulamasının kolon dokusundaki ülserasyon, kript distorsiyonu, ödem, fibrozisi azaltarak ve goblet hücresi sayısını artırarak etki gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca, alfa lipoik asit tedavisinin, kolitte görülen histopatolojik hasarı azalttığı, goblet hücrelerinin yoğunluğunu arttırarak musin salgısını düzenlediği ve submukozal kollajen liflerinde azalmayı sağlayarak fibrozis şiddetini azalttığı belirtilmiştir (Trivedi ve Jena, 2013; Samman, Elaidy, Essawy ve Hassan, 2018). Ratlarda kolit modelinde, kurkuminin tek başına ve mesalamin kombinasyonu ile kullanımının kolon goblet hücre sayısı üzerine olan etkileri karşılaştırılmış; kurkumin+mesalamin uygulamasının kolon dokusunu daha iyi iyileştirdiği ve kolitle birlikte azalan goblet hücresi sayısını artırdığı belirlenmiştir (Heikal ve diğerleri, 2023). Bu tez çalışmasında da, alfa lipoik asit uygulamasının fibrozis yüzdesini anlamlı olarak düşürdüğü ve goblet hücre sayısını anlamlı olarak artırdığı görülmüştür. Alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarında fibrotik alan yüzdesinin mesalamin grubuna göre daha düşük; goblet hücre sayısının ise daha yüksek olduğu dikkati çekmiştir. Yapılan çalışmalarda, alfa lipoik asitin anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği ile ekstrasellüler matrisi azaltarak anti-fibrotik etki

gösterdiği (Ryu ve diğerleri, 2016; El-Maadawy, Hammam, Seif el-Din ve El-Lakkany, 2020; Kocak ve diğerleri, 2022); bağırsak dokusunda ilerleyici bir iyileşme sağlayarak goblet hücreleri sayısını artırdığı (Sun, Zhang, Guan, Zhou ve Sun, 2015; Ceylanlı ve diğerleri, 2022) vurgulanmıştır. Bu bilgiler ışığında, literatürlerle uyumlu olarak çalışmamızda, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliğe sahip alfa lipoik asitin, özellikle de mesalaminle olan kombinasyonunun, kolit olgularında kolon dokusunda gelişen fibrozisi azaltarak ve goblet hücre sayısını artırarak tedaviye katkı sağlayabileceği kanısına varılmıştır.

Kolonun mukozal bariyerindeki hasarın kolit patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bağırsak bariyer bütünlüğünü sağlayan sıkı bağlantı proteinleri, transmembran proteinleri, kladinler, okludinler ve zonulin ailesi proteinlerinden oluşmaktadır. *Okludin*, *zonula okludens-1* ve *kludin-1* bu mukozal bariyerin önemli birer yapısal faktörüdür. Bağırsağın sıkı bağlantı proteinleri, bakteri ve toksinlerin istilasını önlemektedir (Bhat ve diğerleri, 2019). Bariyer bütünlüğünün kaybolmasına neden olan faktörler bağırsak epitelindeki sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu azaltıcı yönde değiştirmektedir. Ülseratif kolitte sıkı bağlantı proteinlerinin azalması yönündeki değişiklikler, inflamasyonun derecesi ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkilidir (Nighot ve diğerleri, 2015). İnflamatuvar bağırsak hastalarında, bağırsak bütünlüğü bozulduğu için bağırsaklık hücreleri mukoza tabakasına sızmakta ve bu süreç proinflamatuvar sitokinlerin salınımını indüklemektedir (Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022).

Kolit üzerine yapılan çalışmalarda, *okludin*, *zonula okludens-1* ve *kludin-1* gibi sıkı bağlantı proteinlerinde kayıplar olduğu ve musinin azaldığını gösterilmiştir (Ma ve diğerleri, 2017; Nighot ve diğerleri, 2021; Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022; Wu ve diğerleri, 2022; Moonwiriya ve diğerleri, 2023; W. Liu, ve diğerleri, 2024). Bu bilgilerden hareketle, bu tez çalışmasında, kolon dokusu sıkı bağlantı proteinlerinden *okludin*, *zonula okludens-1* ve *kludin-1* düzeyleri immünohistokimyasal analizle değerlendirilmiştir. Kolit grubunda sıkı bağlantı proteinlerinin (*Okludin*, *zonula okludens-1*, *kludin-1*) ekspresyonu kontrol ve tedavi gruplarına göre azalmıştır. Elde edilen bu bulgunun, daha önce yapılan çalışmalarla uyumluluk gösterdiği (Porter ve diğerleri, 2020; Nighot ve diğerleri, 2021; Dizakar-Akarca ve Demirel, 2022; Jing ve diğerleri, 2023; Z.Chen, Wang, Tan ve Liu, 2024), kolonun sıkı bağlantı proteinlerinin kolit patofizyolojisinde belirleyici birer faktör olabileceği bilgisi doğrulanmıştır.

Ülseratif kolitte immunohistokimyasal analizler üzerine yapılan preklinik çalışmalarda, antioksidan özellikleri bilinen sinapik asit (W.Y.Li ve diğerleri, 2023) *Sanguinaria canadensis* bitkisinin kök kısmından izole edilen polisiklik bir alkaloid olan *sanguarin* (N. Zhao ve diğerleri, 2024), bitkilerden izole edilen bir flavonoid olan *morin* (Qui ve diğerleri, 2024), *Momordica charantia* L. olarak bilinen kudret narı tohumu yağı (Y. Ma ve diğerleri, 2024), ginsenositler (Yuan ve diğerleri, 2024), *Atractylodes lancea rhizome* bitkisinden izole edilen *hinesol* (Y.X. Li ve diğerleri, 2024) ekstrelerinin uygulanmasıyla kolitle birlikte azalan kolon mukozasındaki *okludin*, *zonula okludens-1* ve *klaudin-1* gibi sıkı bağlantı proteinlerini artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, alfa lipoik asitin, insan kolon epitel (NCM460) ve insan kolorektal karsinoma hücreleri (Caco-2) üzerine etkilerinin araştırıldığı *in vitro* deneysel bir çalışmada, alfa lipoik asitin *okludin* ve *zonula okludens-1* sıkı bağlantı protein ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Yang ve diğerleri, 2022). Çalışmamızda, *zonula okludens-1* ve *klaudin-1* immunopozitif alan yüzdesi, tedavi alan gruplarda artarken, mesalamin+alfa lipoik asit grubundaki bu artışın kolit grubuna göre anlamlı olduğu belirlenmiştir. *Okludin* immunopozitif alan yüzdesine bakıldığında ise, kolit indüksiyonu ile azalan *okludin* düzeyinin tedavi alan gruplarda arttığı görülmüştür. Bu bilgiler ışığında, anti-inflamatuvar ve antioksidan özellikleri olan alfa lipoik asitin kolitte azalan sıkı bağlantı proteinlerinin artışını sağlayarak doku iyileşmesine yol açtığı gözlenmiştir. Mesalamin+ alfa lipoik asit tedavisinin, alfa lipoik asitin tek başına uygulandığı gruba göre kolon sıkı bağlantı proteinlerindeki bozulmayı daha fazla iyileştirdiği dikkati çekmiştir. Elde edilen bu veriler doğrultusunda, kolitin mevcut tedavi protokolüne alfa lipoik asit eklenmesinin kolon sıkı bağlantı proteinlerini artırması yoluyla yararlı etkiler gösterebileceği düşünülmüştür.

İnsan bağırsağı mikrobiyotasını, çoğunluğu bakteriler olmak üzere virüsler, mantarlar, arkeler, parazitlerden oluşan ve 100 trilyondan fazla mikroorganizma bulunan bir ekosistem oluşturmaktadır. Sağlıklı insanlarda, ince ve kalın bağırsak mikrobiyotasında *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* ve *Verrucomicrobia* yaygın bulunan mikroorganizmalar arasındadır. Kolon mikrobiyotası ise, *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* adı verilen iki ana bakteriyel şubeden meydana gelmekte olup bakteri yoğunluğuna göre sırayla *Actinobacteria*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia* şubeleri takip etmektedir. Kolonda, genus seviyesinde *Prevotella*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Odoribacter* olarak adlandırılan tür seviyesindeki bakterilere *Roseburia*, *Bacteroides vulgatus*, *Fusicatenibacter saccharivorans*, *Bacteroides fragilis*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Clostridium leptum* ve *Ruminococcus*

bromii örnek verilebilmektedir (Zakerska-Banaszak ve diğerleri, 2024). Bu bakterilerin birçoğu, probiyotik etki göstermekte ve kolon mukozası homeostazının devam etmesine katkıda bulunmaktadır. Örneğin, basit karbonhidratlar kolondaki yararlı bakteriler tarafından laktat, asetat, propiyonat ve bütirat gibi KZYA'lara dönüştürülmektedir. KZYA'lar patojen bakterilerin virulansını etkileyerek çoğalmalarını engellemektedir (Mann, Lam ve Uhlig, 2024). Yukarıda belirtilen bakteriler, distal kolonun önemli anti-inflamatuvar taksonu olup ülseratif kolitte ve ülseratif kolitle ilişkili kolon kanseri olgularında azaldığı bilinmektedir (Acevedo-Román, Pagán-Zayas, Velázquez-Rivera, Torres-Ventura ve Godoy-Vitorino, 2024; Zakerska-Banaszak ve diğerleri, 2024).

Son yıllarda, bağırsak mikrobiyotasının beyin ve bağırsak arasında karşılıklı bir ilişki oluşturduğu vurgulanmış, bu ilişkinin insan sağlığı üzerinde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Bağırsak mikrobiyotasındaki yararlı ve zararlı mikroorganizmalar nörotransmitterler aracılığıyla nöral yolları ve merkezi sinir sistemini uyarmaktadır. Bu nedenle, bağırsak mikrobiyotasının birçok hastalığın etiyopatogenezinde etkili olduğu ve o hastalığa özgü farklı bir mikrobiyota profili görülebildiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotasında disbiyozis yönünde oluşabilecek değişikliklerin immunité, hormonal sistem ve metabolizma üzerinde etki göstererek kanser, obezite, ateroskleroz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, depresyon, Parkinson ve Alzheimer gibi birçok hastalığa neden olabileceği gösterilmiştir (Le ve diğerleri, 2011; Ottman, Smidt, de Vos ve Belzer, 2012; Koeth ve diğerleri, 2013; Yu ve diğerleri, 2017; Asadifard, Hokmabadi, Hashemi ve Bereimipour, 2024; Kerstens ve Joyce, 2024; Zhang ve diğerleri, 2024; Zhao, Tian, Hou, Yin ve Li, 2024). Ülseratif kolit olgularında da, mikrobiyal çeşitliliğin azaldığı ve homeostazın bozularak disbiyozise neden olduğu saptanmıştır. Yapılan küresel araştırmalar, ülseratif kolit olgularında, şube düzeyinde *Firmicutes* (*Streptococcus*, *Veillonella*, *Clostridium*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, *Lactobacillus*) ve bazı *Bacteroidetes* bakterilerinin azaldığını; *Proteobacteria* ve *Actinomycetes* bakterileri ile bazı *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Prevotella* ve *Porphyromonas*) bakterilerinin ise arttığını göstermektedir (Z.H.Yang ve diğerleri, 2021; Mah ve diğerleri, 2023; Acevedo-Román ve diğerleri, 2024). Ayrıca, ülseratif kolit hastalarından alınan mukozal biyopsi örneklerinde genus düzeyinde bazı *Bacteroides* ve *Prevotella* bakteri bolluğunun arttığı bildirilmiştir (Lucke, Miehlke, Jacobs ve Schuppler, 2006). Ülseratif kolitli olguların çoğunda intestinal mukozada proinflamatuvar etki gösteren, *Fusobacteria* üyelerinden *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium varium* ve *Fusobacterium spp.* ve *Proteobacteria* (*E.coli*,

Enterobacteriaceae, *Klebsiella* ve *Proteus spp.*) ve *Actinobacteria* (*Desulfovibrio*) bakterilerinin arttığı (Paramsothy ve diğerleri, 2017; Zakerska-Banaszak ve diğerleri, 2024), özellikle de, *Proteus mirabilis*'in kolit bulgularını anlamlı derecede şiddetlendirdiği de saptanmıştır (Baldelli, Scaldaferri, Putignani ve Del Chierico, 2021; M. Li ve diğerleri, 2022).

Genus düzeyindeki *Prevotellaceae* UCG003 ve *Prevotellaceae* NK3B31 (*Bacterioidetes* şubesi-*Prevotellaceae* ailesi) bakterileri bağırsak mikrobiyotasında fizyolojik sınırlarda bulunduğu KZYA'nın üretimine katkıda bulunarak yararlı etkiler göstermektedir. Aynı zamanda, *Prevotellaceae* UCG003 immün sistem ve inflamatuvar süreçlerin regülasyonunu sağlayarak bağırsak sağlığının korunmasında (Lan ve diğerleri, 2023), *Prevotella* ve *Prevotellaceae* NK3B31 bakterileri ise pektin metabolizmasında görev almaktadırlar (Gu, Suleria, Dunshea ve Howell, 2020). Ancak, *Bacteroides* ve *Prevotellaceae* bakterilerinin fizyolojik sınırların üzerinde görülen bolluğu karın içi enfeksiyonlara ve inflamasyon bulgularının şiddetlenmesine neden olabilmektedir (Brook, 2004; Elinav ve diğerleri, 2011). Ayrıca, romatoid artrit, metabolik hastalıklar, periodontit, bağırsak ve vajinal disbiyosiz teşhisi alan bireylerin mukozal yüzeylerinde de genus düzeyinde *Prevotella* bakterilerinin artan bolluğuna rastlanmaktadır (Iljazovic, Amend, Galvez de-Oliveira ve Strowig, 2021). DSS ile indüklenen fare kolit modelinde, kolit grubunda *Bacteroides* şubesi-*Prevotellaceae* ailesinden genus düzeyinde *Alloprevotella* bakterilerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu belirtilmiştir (Huangfu ve diğerleri, 2021). Tez çalışmamızda, *Prevotella*, *Prevotellaceae* UCG-003 ve *Prevotellaceae* NK3B31 group bakterilerinin kontrol grubunda olmadığı ya da düşük yoğunlukta olduğu belirlenmiştir. Kolit indüksiyonu yapılan grupta ise, *Prevotella*, *Prevotellaceae* UCG-003 ve *Prevotellaceae* NK3B31 group bakterilerin diğer gruplara göre daha fazla yoğunlukta olduğu ve bu sonucun diğer çalışmalarla uyumluluk gösterdiği belirlenmiştir. Kolit indüksiyonu ile bağırsak mikrobiyotasında artan bu bakterilerin alfa lipoik asit uygulamasıyla (alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit grupları) azaldığı dikkati çekmiştir. Genus düzeyinde *Alloprevotella* bakterilerinin ise, literatür bulgusuyla uyumlu olarak kontrol grubunda düşük, kolit grubunda ise daha yüksek bollukta olduğu gözlenmiştir. Alfa lipoik asitle tedavinin ardından *Alloprevotella* bakterilerinin azalmaya başladığı ve sırasıyla en az bolluğunun alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit gruplarında olduğu belirlendi. Kolit indüksiyonuyla *Prevotellaceae* ailesine ait bakterilerde görülen artışın, daha önceki çalışmalarda da vurgulandığı gibi inflamatuvar yanıtla olan ilişkisine bağlı olduğu düşünülmüştür (Jia ve

diğerleri, 2022; Salberg ve diğerleri, 2023). Ayrıca, alfa lipoik asitin anti-inflamatuvar özelliğinden dolayı hem tek başına hem de mesalaminle kombine olarak uygulanmasının, iki yönlü inflamasyonu azaltarak etkili olduğu kanaatine varılmıştır.

Ülseratif kolitte, şube düzeyinde *Firmicutes/Bacteroidetes* oranı sağlıklı bağırsak mikrobiyotasına göre daha düşük bulunmaktadır. Bu oran, bağırsaktaki bakteri dengesinin temel göstergesidir (Shukla ve diğerleri, 2018). Bizim çalışmamızda da, şube düzeyinde *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının en yüksek sağlıklı hayvanlarda olduğu görülmüştür. Kolit indüksiyonuyla bu oranının düştüğü, tedavide mesalamin+alfa lipoik uygulamasının diğer gruplara göre bu oranı daha fazla arttığı izlenmiştir.

Kolon sağlığı devamlılığı için önemli olan *Firmicutes* şubesinden *Roseburia*, *Faecalibacterium* ve *Lactobacillus* bakterilerinin de ülseratif kolitte azaldığı bildirilmiştir (Z.H.Yang, Liu, Zhu, ve diğerleri, 2021; Ning ve diğerleri, 2023; Acevedo-Román ve diğerleri, 2024). Ayrıca, yapılan çalışmalarda, yüksek miktarda bütirat (KZYA) üretip, intestinal inflamasyon süreçlerini kontrol ederek immun sistem destekleyici bakterilerden *Ruminococcaceae* UCG-005 (*Ruminococcaceae* aile-*Firmicutes* şube) ile *Lachnospiraceae* NK4A136 (*Lachnospiraceae* aile- *Firmicutes* şube)'nın kolitli kolon mukozasında azaldığı gösterilmiştir (Rindom-Krogsgaard, Kristian-Munck, Bytzer ve Wildt, 2019; Magadán-Corpasve diğerleri, 2024). Bizim çalışmamızda da, *Ruminococcaceae* UCG-005 ve *Lachnospiraceae* NK4A136 bakterilerinin en fazla bolluğunun kontrol grubunda olduğu, kolit indüksiyonuyla azaldıkları saptanmıştır. Tedaviyle birlikte, mesalamin grubunda *Lachnospiraceae* NK4A136 bakterilerine rastlanmazken, diğer tedavi gruplarında benzer bollukta görülmüştür. *Ruminococcaceae* UCG-005 bakterilerinin ise, tedaviyle birlikte en az bolluğunun mesalamin grubunda, en fazla alfa lipoik asit grubunda olduğu belirlenmiştir. Ülseratif kolitte ilk tedavi seçeneği olan mesalaminin tek başına kullanımı, genus düzeyinde bu iki bakteri bolluğunu beklenen düzeyde artırmamıştır. Tedavi grupları arasında, alfa lipoik asitin özellikle tek başına kullanımının immun sistem destekleyicisi olduğu bilinen bu bakterilerin bolluğunu daha fazla artırdığı belirlenmiştir.

Firmicutes şubesi *Ruminococcaceae* ailesinden genus düzeyinde *Monoglobus* (*Monoglobus pectinilyticus*) bakterileri, insanlarda pektinin parçalanmasını sağlayarak önemli bir rol üstlenmektedir. Ülseratif kolitte bu bakterilerin azaldığı gösterilmiştir (S. Zhu ve diğerleri, 2022). Yüksek fruktoz-yag içeren diyetlerle beslenen ratlarda antioksidan özelliği olan *chia*

(*Salvia hispanica* L.) ununun bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek *Monoglobus* bakterilerini artırdığı bildirilmiştir (Morais ve diğerleri, 2023). Tez çalışmamızda, *Monoglobus* bakterileri en fazla kontrol grubunda belirlenirken, kolit indüksiyonu ile birlikte azalan bu bakteri bolluğunun alfa lipoik asit uygulamasıyla arttığı görülmüştür.

Quinella (*Firmicutes* şube-Veillonellaceae ailesi) bakterileri, ilk kez 1913 yılında rumen mikrobiyotasında belirlenmiştir. Bu bakterinin özellikleriyle ilgili bilgiler az ve sonuçlar çelişkili olsa da, laktat ve propiyonat gibi KZYA üretebilen şartlı patojenik bakteriler olduğu bilinmektedir (Kumar ve diğerleri, 2022). Yapılan prelinik çalışmalarda, kolit indüksiyonuyla bu bakterilerin azalabileceği, tedaviye eklenen antioksidan ajanlarla bolluğunun artabileceği gösterilmiştir. (Jing ve diğerleri, 2018; Xinjun, Chunjiang, Yaping, Chenhui ve Junshu, 2019). Potansiyel antioksidan özellikleri bilinen *Nitraria tangutorum*'un koyunların rumen mikrobiyotasında artan *Quinella* bakterilerinin bolluğunu azaltarak immünite üzerine olumlu yönde etki ettiği gösterilmiştir (Du ve diğerleri, 2022). Asetik asitle indüklenen rat gastrik ülser modelinde, *Vigna mungo* L.'nin (küçük siyah soya fasulyesi), *Quinella* ve diğer patojen bakterileri azaltarak, gastrik mikrobiyotayı regüle ettiği bildirilmiştir (Z.Huang ve diğerleri, 2023). Çalışmamızda, kontrol grubu bağırsak mikrobiyotasında genus düzeyinde *Quinella* bakterileri görülmezken, diğer gruplarda bu bakteriye farklı bolluklarda rastlanmıştır. Diğer çalışmalarla uyumlu olarak, kolit grubunda *Quinella* bolluğunun diğer gruplara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tedavi grupları arasında en az bolluğun sırasıyla, mesalamin, mesalamin+alfa lipoik asit ve alfa lipoik gruplarında olduğu saptanmıştır. Kolitte, mesalaminin hem tek başına hem de alfa lipoik asitle birlikte kullanımının bu bakteri bolluğu üzerine etkili olduğu belirlenmiştir.

Sağlıklı bir mikrobiyotada bulunan *Lactobacillus* ve *Clostridia* UCG-014 bakterileri protein sentezi için önemli olan triptofan metabolizmasında görev almaktadır. Yapılan çalışmalarda, triptofan metabolizması yoluyla intestinal homeostazın sağlanmasında rol oynayan ve triptofan metabolitlerinin ana kaynağı olarak düşünülen bu bakterilerin ülseratif kolitli olguların bağırsak mikrobiyotasında sağlıklı bireylere göre oldukça az görüldüğü bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2021; Yang, Du, Ren, Yang ve Zhao, 2021; Gu, Zhang, Han, Huang ve Chen, 2022). *Lactobacillus* (*Firmicutes* şube) bakterileri glikoz ve diğer basit karbonhidratların laktik asite ayrışmasını sağlayan bağırsak mikrobiyotasının önemli kommensal bakterilerindendir. *Lactobacillus* bakterilerinin, proinflamatuvar ve inflamatuvar sitokinleri azaltıp, anti-inflamatuvar sitokinleri artırmasıyla intestinal

inflamasyonu azalttığı; ürettiği laktik asit ile zararlı bakterilerin kolonize olmasını engellediği; bağırsağın sıkı bağlantı protein ekspresyonunu artırarak epitel hücre bariyerini güçlendirdiği ve mukus ekspresyonunu artırarak mukus bariyerini güçlendirdiği ortaya konulmuştur (Wang ve diğerleri, 2014; Ganji-Arjenaki ve Rafieian-Kopaei, 2018; Q. Chen ve diğerleri, 2024). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında probiyotik destekli tedaviyi temsil eden bu bakterilerin birden fazla suşunun (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri*) bağırsak hasarını onardığı ve bağırsak immünolojik bariyerini, epitelyal hücre bariyerini ve mukus bariyerini güçlendirdiği kanıtlanmıştır (Heeney, Gareau ve Marco, 2018). *Lactobacillus* bakterileri, bağırsak-beyin eksenini ve karaciğer-bağırsak eksenini yollarıyla inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla ilişkili kolit kaynaklı kolorektal kanserler, Alzheimer, depresyon, anksiyete ve otoimmün hepatit gibi hastalıkların semptomlarının azaltılmasında da etkili bulunmuştur (C. Li, Peng, Xiao, Long ve Yu, 2023). Bu tez kapsamında, *Lactobacillus* bakterileri bütün deney gruplarında görülmesine rağmen, en çok bolluğu mesalamin ve mesalamin+alfa lipoik asit tedavisi uygulanan gruplarda izlenmiştir. Alfa lipoik asitin anti-inflamatuvar özellikleri nedeniyle bu bakterilerin kolonizasyonuna yardımcı olduğu düşünülmüştür. Tür düzeyinde *Lactobacillus intestinalis*'in kontrol grubunda yoğunluğunun en fazla olduğu, kolit indüksiyonuyla birlikte azalma gösterdiği ve tedavi gruplarında bolluğunun sırasıyla en fazla mesalamin+alfa lipoik asit ve alfa lipoik asit uygulaması yapılan gruplarda izlenmiştir. Ancak, mesalaminin tek başına uygulandığı grupta bu bakteriye rastlanmamıştır. Alfa lipoik asitin hem tek başına hem de mesalaminle birlikte uygulamasının bir probiyotik bakteri olarak bilinen *Lactobacillus intestinalis* bakteri türünün bolluğunu artırdığı için kolit tedavisinde umut vaat edebileceği kanısına varılmıştır.

Muribaculaceae, endojen (musin glikanlar) ve ekzojen polisakkaritler (diyet lifleri) yoluyla KZYA üretebilen probiyotik bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Aynı zamanda, konakçı için B1 (tiamin), B2 (riboflavin), B3 (niasin), B5 (pantotenik asit), B7 (biotin) ve B9 (folat) vitaminlerinin üretilmesini sağlamaktadır (Zhu ve diğerleri, 2024). Kolonun mukus tabakasına tutunan *Muribaculaceae* bakterileri, bağırsakta miksoglikanın simbiyotik kullanıcısı olarak görev yapar. Mukozaya tutunarak kolonize olan *Muribaculaceae* bakterilerinin temel besin kaynağı mukus tabakasıdır (Li ve diğerleri, 2020). Ayrıca, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* bakterileri ile çapraz-besleme ilişkileri de bulunmaktadır. Son yıllarda, konakçı sağlığının korunmasındaki faydalı rollerinden dolayı büyük ilgi gören

Muribaculaceae bakterileri KZYA'ları üreterek bağırsak bariyer fonksiyonunu ve bağışıklık tepkisini düzenlemekte, bu nedenle, umut verici bir "yeni nesil probiyotik" olarak kabul edilmektedir (Zhu ve diğerleri, 2024). Kolitle birlikte mukoza tabakasının bütünlüğü bozulduğu için bu bakterilerin yaşama şanslarının azaldığı düşünülmüştür (Li ve diğerleri, 2020). Kolit modeli üzerine yapılan çalışmalarda, *Muribaculaceae* bakterilerinin kolitle birlikte azaldığı (Shang ve diğerleri, 2021), bu durumun, goblet hücre sayısının azalmasıyla birlikte musinin de azalması nedeniyle olduğu bildirilmiştir (Zhu ve diğerleri, 2024). Ayrıca, probiyotik özelliği olduğu bilinen *Clostridia-UCG-014* bakterisinin kolite bağlı mukozal hasarı iyileştirme potansiyeline sahip olabileceği de bildirilmiştir (S.K. Zhou ve diğerleri, 2024). Bu tez kapsamında, kontrol grubundaki hayvanlarda, *Clostridia UCG-014* (*Firmicutes*) ve *Muribaculaceae* (*Bacteriodales*) bakterilerinin diğer gruplara göre daha yoğun olduğu tespit edilmiştir. *Clostridia UCG-014* bakterilerinin kolit ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre bolluğunun azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, kolit indüksiyonuyla birlikte *Muribaculaceae* bakterilerinin oldukça azaldığı dikkati çekmiştir. Tedavi gruplarında bu bakteri bolluğunun kolit grubuna göre arttığı, en fazla bolluğun mesalamin+alfa lipoik asit grubunda olduğu görülmüştür. Alfa lipoik asitin mesalaminle birlikte kullanımının kolon mukoza tabakası bütünlüğünü koruyarak *Muribaculaceae* bakterileri bolluğunu artırmasına katkı sağladığı düşünülmüştür.

Karbonhidratların indirgenmesinde, sülfür metabolizmasında görev alan, musini parçalama özelliği ve anti-inflamatuvar etkileri olan *Verrucomicrobia* şubesi bakterilerinin kolitte azalma gösterdiği bildirilmiştir (Paramsothy ve diğerleri, 2017; Zakerska-Banaszak ve diğerleri, 2024). Sağlıklı insan bağırsak mikrobiyotasındaki mikroorganizmaların %1-5'ini *Verrucomicrobiota* şubesinden *Akkermansia muciniphila* bakterileri oluşturmaktadır (Shen ve diğerleri, 2018). Ülseratif kolitte, kolon mukozal bariyer fonksiyonunu ve mikrobiyal kominiteyi geliştirerek mukozal inflamasyonu modüle edici özellikleri olan *Akkermansia* (*Verrucomicrobiota* şubesi) ve KZYA'ları üreterek mukozal inflamasyonun azaltılmasını sağlayan *Bacteriodes* (*Muribaculaceae*) ve *Bifidobacterium* bakterileri (Kabeerdoss, Jayakanthan, Pugazhendhi ve Ramakrishna, 2015; Ganji-Arjenaki ve Rafieian-Kopaei, 2018; Bian ve diğerleri, 2019; C.Yang ve diğerleri, 2021) ile *Firmicutes* şubesinden *Roseburia* bakterilerinin (Shen ve diğerleri, 2018) azaldığı gözlemlenmiştir. Son yıllarda, ülseratif kolitte azalan *Akkermansia muciniphila* bakterilerinin artırılmasına yönelik hedef bir tedavi uygulanması ile ilgili görüşler bulunmaktadır (Shen ve diğerleri, 2018). Ülseratif kolitle ilgili yapılan prelinik çalışmalarda, antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri olan

turmerik polisakkaritlerinin tedavide uygulanmasının genus düzeyinde (C.Yang ve diğerleri, 2021) *Lactobacillus*, *Akkermansia*, *Bifidobacterium* ve *Clostridia* UCG-014 bakterilerini, dut antosiyoninlerinin genus düzeyinde (Mo ve diğerleri, 2022) *Muribaculaceae*, *Allobaculum* ve *Akkermansia* bakterilerini, üzüm çekirdeği proantosiyoninlerinin (Sheng ve diğerleri, 2020) genus düzeyinde *Verrucomicrobia* ve *Akkermansia* bakterilerini artırarak *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının artmasına dolayısıyla mikrobiyotanın modüle edilmesine yardımcı oldukları belirlenmiştir. Bu tez kapsamında, kontrol grubu dışındaki gruplarda *Verrucomicrobia* şubesine ait bakterilere rastlanmamıştır.

Treponema cinsi bakteriler hem patojen hem de patojen olmayan türleri içermektedir. İnsan patojenleri, sifiliz (*T pallidum subsp pallidum*), ekvator frengisi (*T pallidum subsp pertenue*), endemik sifiliz (*T pallidum subsp endemicum*) ve pinta adı verilen deri lezyonları (*T carateum*) olmak üzere dört çeşit treponematoza neden olmaktadır. Patojenik olmayan *Treponema* cinsi bakteriler, bağırsak kanalının, ağız boşluğunun veya genital kanalın normal mikrobiyotasının bir parçası olabilmektedir (Krieg ve diğerleri, 2010:501-31). Ayrıca, bağırsağın normal mikrobiyotasında bulunan *Treponema*, yüksek düzeyde KZYA üretmek için ksilan, ksiloz ve karboksimetilselüloz kullanan bir bakteri topluluğudur. Bu bakteriler, ksilanaz, karboksimetilselülaz ve endoglukanaz gibi karbonhidrat-aktif enzimler yoluyla hem ksilanı hem de selülozu fermente edebilmektedir (Angelakis ve diğerleri, 2018). Yapılan çalışmalarda, kolit indüksiyonu yapılan ratlarda, *Treponema* bakterilerinin azaldığı tespit edilmiştir (Liu ve diğerleri, 2020; Xia ve diğerleri, 2022). Kolit indüksiyonu yapılan çalışmalarda, antioksidan özelliği olduğu bilinen orizanol (Xia ve diğerleri, 2022) ve *Codonopsis pilosula* saponinlerinin (Jing ve diğerleri, 2018) tedavide uygulamasıyla *Treponema* bakteri bolluğunun arttığı gösterilmiştir. Bu tez çalışmasında da, yukarıda belirtilen literatürlerle uyumlu olarak kolit indüksiyonunun bu bakteri bolluğunu azalttığı, en fazla bolluğun alfa lipoik asit grubunda, en az bolluğun ise mesalamin grubunda olduğu görülmüştür. Selülöz sindiriminde önemli bir yeri olan *Treponema* bakterilerinin kolit ile birlikte azalarak sindirim üzerine olumsuz etkilere neden olabileceği, alfa lipoik asit tedavisinin bu bakteri bolluğu artışına etkisi olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, alfa lipoik asit ve mesalamin+alfa lipoik asit grupları kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında, potansiyel probiyotik özellikler gösterebilen *Prevotella*, *Quinella*, *Prevotellaceae* UCG-003, *Prevotellaceae* NK3B31, *Alloprevotella* ve *Treponema* bakterilerinin genus düzeyinde anlamlı olarak artış gösterdiği bulunmuştur. Kolit grubu ile

karşılaştırıldığında, genus düzeyinde *Bifidobacterium*, *Intestinimonas*, *Lachnospiraceae bacterium A2* ve *Tyzeralla* gibi potansiyel probiyotik özellikleri olan bakterilerin mesalamin+alfa lipoik asit grubunda bolluklarının anlamlı olarak arttığı dikkati çekmiştir. Tedavide alfa lipoik asitin hem tek başına hem de mesalaminle kombine olarak uygulanmasıyla kolon mikrobiyotasında yararlı özellikler gösterebilecek probiyotik bakterilerin çeşitliliğini ve bolluğunu kolit ve kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde artırmıştır. Özellikle, alfa lipoik asitin mesalaminle olan kombinasyonunun kolitte potansiyel tedavi edici özelliği olan *Bifidobacterium* bakterilerinin anlamlı olarak artışı sağlaması çalışmamızın önemli bulguları arasında yer almaktaydı. Ülseratif kolit tedavisinde, alfa lipoik asitin bağırsak mikrobiyotasını modüle edici özelliğinden dolayı umut vaat edici olduğu kanaatine varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülseratif kolit klinik veya nadiren subklinik olarak seyreden ve yaşam kalitesini bozan önemli bir hastalıktır. Gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünyada oldukça sık görülen ülseratif kolitte, diyare, abdominal ağrı ve kramplar, rektal kanama, kilo kaybı, dehidrasyon ve kanlı dışkılama gibi semptomlar görülmektedir. Bu hastalarda, rahatsızlık vermesine bağlı yetersiz besin alımı, tedaviye yönelik gıda kısıtlamaları ve alınan besinlerin diyareye yol açması nedeniyle malnütrisyon görülmektedir. Ayrıca, alınan besin maddelerinin yeterli düzeyde emilememesi de önemli sağlık sorunlarını doğurabilmektedir. Hastalığın ilerleyen olgularında, bağırsak perforasyonu, toksik megakolon veya kolektomi görülebilmektedir. Etiyolojide, genetik, immunolojik ve çevresel faktörler rol oynamakta olup tedavisi dirençli ve ciddi maddi kayıplara yol açmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotasının disbiyozis yönünde değişiminin ülseratif kolit patogeneziyle ilişki olduğu da vurgulanmıştır. Ancak, bağırsak mikrobiyotasındaki değişim ile ülseratif kolit arasındaki ilişki ve uygulanan tedavinin mikrobiyota modülasyonuna etkisi henüz tam olarak ortaya konulamamıştır.

Çalışmamızda, vücut tarafından sentezlenebilen, birçok besin maddelerinde bulunan ve dışarıdan takviye olarak alınabilen alfa lipoik asitin asetik asit nedenli rat kolit modeli üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Alfa lipoik asitin antioksidan, anti-inflamatuvar etkilerinin yanı sıra bağırsak mikrobiyotasını düzenleyici etkilerinin de ortaya konulduğu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda ülseratif kolit tedavisinde çok yönlü etki gösterebileceği yönünde hipotez oluşmuştur. Rat ülseratif kolit modelinde alfa lipoik asitin etkilerinin ilk kez çok yönlü olarak araştırıldığı çalışmamız sonunda elde ettiğimiz bulgular hipotezimizi doğrulamış, daha önce yapılan benzer çalışmalarla paralellik göstermiştir. Bu tez kapsamında, ülseratif kolitin kolon dokusunda inflamasyona ve oksidasyona neden olarak 3-NT, NLRP3, GSDMD ve TOS düzeylerinin artışına yol açtığı belirlenmiştir. Ayrıca, kolitin histopatolojik olarak kolon dokusu inflamasyon skorunun artışıyla birlikte sıkı bağlantı proteinlerini azalttığı görülmüştür. Elde edilen bu veriler, kolit olgularında kolon dokusunda inflamasyon, oksidasyon ve mukozal geçirgenliğin artışının meydana geldiği bilgisini doğrulamıştır. Bu sonuçlarımıza ek olarak, ülseratif kolitin bağırsak mikrobiyotasını disbiyozis yönünde değiştirdiği de saptanmıştır.

Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz veriler, sağlığı ve yaşam kalitesini olumsuz etkileyen ülseratif kolitin patogenezi ve bağırsak mikrobiyotası ile olan ilişkisinin ortaya konulmasına; alternatif bir tedavi yönteminin sunulmasına olanak sağlamıştır. Kolit indüksiyonunu takiben kullanılan alfa lipoik asitin hem tek başına uygulamasının hem de mesalaminle olan kombinasyonunun hayvanların beden ağırlıkları, hastalık aktivite indeksi ve kolonun makroskopik görünümü üzerine olumlu etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, alfa lipoik asitin hem tek başına uygulamasının hem de mesalaminle olan kombinasyonunun kolon dokusunda artan NLRP3 ve GSDMD protein ekspresyonu ile TOS ve 3-NT düzeylerini azaltarak inflamazom, oksidasyon ve inflamasyon parametreleri üzerine iyileştirici etkiler gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte, alfa lipoik asit uygulamasının histopatolojik olarak kolon dokusunda inflamasyon skorunu azaltarak ve sıkı bağlantı proteinlerini (*Zonulin-1*, *Okludin* ve *Klaudin-1*) artırarak tedaviye katkı sağladığı görülmüştür. Ayrıca, kolit tedavisinde alfa lipoik asit uygulamasının bağırsak mikrobiyota düzenleyici etkisi olduğu da tespit edilmiştir. Tez kapsamında yapılan tüm değerlendirmeler göz önünde bulundurulduğunda, alfa lipoik asitin kolit tedavisinde potansiyel etkinliği olabildiği, mesalaminle olan kombinasyonunun ise daha iyi etkiler gösterdiği belirlenmiştir.

Bu tez kapsamında, ülseratif kolit modelinde potansiyel terapötik değerini araştırdığımız alfa lipoik asitin kolon dokusuna spesifik diğer yollar üzerindeki etkinliğinin de aydınlatılmasına yönelik daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Ayrıca, çalışmamızda uygulanan 14 günlük tedavi protokolünün farklı sürelerde uzatılarak sonuçların karşılaştırmalı olarak incelenmesi de önerilmektedir. Çalışmamızda, fekal mikrobiyota profili, 16S rRNA genlerinin dizilemesi ve biyoinformatik analizi ile elde edilmiştir. İleri çalışmalarda, “shotgun metagenomik” analiz ile feçes içerisindeki tüm nükleik asit bilgisine ulaşılarak toplam genomik materyalin tümünün dizilenmesi sağlanabilir. Ancak, bu yöntemin 16S rRNA dizilemesine göre maliyetinin daha yüksek olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abd-Ellatieff, H. A., Georg, K., Abourawash, A. A, Ghazy, E. W., Samak, D. H., and Goda, W. M. (2024). *Aspergillus awamori*: potential antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic activities in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. ***Inflammopharmacology***, 32 (4), 2541-2553.
- Acevedo-Román, A., Pagán-Zayas, N., Velázquez-Rivera, L. I., Torres-Ventura, A. C., and Godoy-Vitorino F. (2024). Insights into Gut Dysbiosis: Inflammatory Diseases, Obesity, and Restoration Approaches. ***International Journal of Molecular Sciences***, 25 (17), 9715.
- Agista, A. Z., Chien, Y. S., Koseki, T., Nagaoka. H., Ohnuma, T., Ohsaki, Y., Yeh, C. L., Yang, S. C., Ardiansyah Budijanto, S., Komai, M., and Shirakawa, H. (2024). Investigation of *Rhizopus oligosporus* Metabolites in Fermented Wheat Bran and Its Bio Function in Alleviating Colitis in Mice Model. ***Metabolites***, 14 (7), 359.
- Agrawal, M., Allin, K. H., Mehandru, S., Faith, J., Jess, T., and Colombel, J.F. (2023). The appendix and ulcerative colitis - an unsolved connection. ***Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology***, 20 (9) ,615-624.
- Agrawal, M., Allin, K. H., Petralia, F., Colombel, J. F., and Jess, T. (2022). Multiomics to elucidate inflammatory bowel disease risk factors and pathways. ***Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology***, 19, 399-409. [CrossRef]
- Ahadi, M., Rouhbakhsh-Zahmatkesh, M. R., Ebrahimi, P., and AkbariRad, M. (2024). The Role of Dietary Habits in the Pathogenesis and Development of Inflammatory Bowel Disease: A Narrative Review. ***Middle East Journal of Digestive Diseases***, 16 (1), 5-11.
- Ahmed, I., Roy, B., Khan, S., Septer, S., And Umar, S. (2016). Microbiome, metabolome and inflammatory bowel disease. ***Microorganisms***, 4 (2), 20.
- Ahsan H. (2013). 3-Nitrotyrosine: A biomarker of nitrogen free radical species modified proteins in systemic autoimmunogenic conditions. ***Human Immunology*** ,74 (10), 1392-9.
- Akyuz, F., Agargun, B. F., Atug, O., Eskazan, T., Yuksel, I., Kochan, K., Barutcu, S., Asil, M., Demirtas, C., Bozkurt, B., Cankurtaran, E., Degirmenci, A., Kefeli, A., Ustaoglu, M., Keskin, M. K., Sahin, M., Ucer, M., Erurker Ozturk, T., Dervis Hakim, M., Uyanikoglu, A., Poturoglu, S., Kalkan, I. H., Gulden, M., Arhan, M., Kav, T., Toruner, M., Akpınar, H., Issever, H., and Celik, A. F. (2024). P1131 Epidemiological Characteristics of Inflammatory Bowel Diseases in The Last Decade: Multi-Center Türkiye Data, ***Journal of Crohn's and Colitis***, 18 (1), 2025–2027.
- Alattar, A., Alshaman, R., and Al-Gayyar, M. M. H. (2022). Therapeutic effects of sulforaphane in ulcerative colitis: effect on antioxidant activity, mitochondrial biogenesis and DNA polymerization. ***Redox Report***, 1, 128-138.

- Aleisa, A. M., Al-Rejaie, S. S., Abuohashish, H. M., Ola, M. S., Parmar M. Y., and Ahmed, M. M. (2014). Pretreatment of *Gymnema sylvestre* revealed the protection against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 1-11.
- Alemdar, M. B., Şirinyıldız, F., Coşkun, A., Meteoglu, İ., Taşkıran, İ., Kandemir, A., and Yaşa, M. H. (2024). Investigation of Possible Positive Effects of Arbutin Application in Experimental Colitis Model. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 35(7), 523-531.
- Ali, F. E. M., Ibrahim, I. M., Ghogar, O. M., Abd-Alhameed, E. K., Althagafy, H. S., and Hassanein, E. H. M. (2023). Therapeutic interventions target the NLRP3 inflammasome in ulcerative colitis: Comprehensive study. *World Journal of Gastroenterology*, 29(6), 1026-1053.
- Almási, N., Török, S., Valkusz, Z., Tajti, M., Csonka, Á., Murlasits, Z., Pósa, A., Varga, C., and Kupai, K. (2020). Sigma-1 Receptor Engages an Anti-Inflammatory and Antioxidant Feedback Loop Mediated by Peroxiredoxin in Experimental Colitis. *Antioxidants (Basel)*, 9(11), 1081.
- Al-Rejaie, S. S., Abuohashish, H. M., Al-Enazi, M. M., Al-Assaf, A. H., Parmar, M. Y., and Ahmed, M. M. (2013). Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 19, 5633.
- Amre, D. K., D'Souza, S., Morgan, K., Seidman, G., Lambrette, P., Grimard, G., Israel, D., Mack, D., Ghadirian, P., Deslandres, C., Chotard, V., Budai, B., Law, L., Levy, E., and Seidman, E.G. (2007). Imbalances in dietary consumption of fatty acids, vegetables, and fruits are associated with risk for Crohn's disease in children. *The American Journal of Gastroenterology*, 102(9), 2016-25.
- Angelakis, E., Bachar, D., Yasir, M., Musso, D., Djossou, F., Gaborit, B., Brah, S., Diallo, A., Ndombe, G. M., Mediannikov, O., Robert, C., Azhar, E. I., Bibi, F., Nsana, N. S., Parra, H. J., Akiana, J., Sokhna, C., Davoust, B., Dutour, A., and Raoult D. (2019). *Treponema* species enrich the gut microbiota of traditional rural populations but are absent from urban individuals. *New Microbes and New Infections*, 27, 14-21.
- Anh N. T. N., Huynh, T. V., Nguyen, V. T., Nguyen, T. K. A., and Doong, R. A. (2024). MXene nanosheet-derived N, S-codoped graphene quantum dots for ultrasensitive and selective detection of 3-nitro-L-tyrosine in human serum. *Analytica Chimica Acta*, 1292, 342237.
- Ariturk, L. A., Cilingir, S., Kolgazi, M., Elmas, M., Arbak, S., and Yapislar, H. (2024). Docosahexaenoic acid (DHA) alleviates inflammation and damage induced by experimental colitis. *European Journal of Nutrition*, 63(7), 2801-2813.
- Asadifard, E., Hokmabadi, M., Hashemi, M., and Bereimipour A. (2024). Linking gut microbiota dysbiosis to molecular pathways in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 16, 149242.

- Ashique, S., Mishra, N., Garg, A., Sibuh, B. Z., Taneja, P., Rai, G., Djearamane, S., Wong, L. S., Al-Dayyan, N., Roychoudhury, S., Kesari, K. K., Slama, P., Roychoudhury, S., and Gupta, P. K. (2023). Recent updates on correlation between reactive oxygen species and synbiotics for effective management of ulcerative colitis. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1-12.
- Assimakopoulos, S. F., Triantos, C., Maroulis, I., and Gogos, C. (2018). The Role of the Gut Barrier Function in Health and Disease. *Gastroenterology Research*, 11(4), 261-263.
- Bahrani, G., Malekshahi, H., Miraghaee, S., Madani, H., Babaei, A., Mohammadi, B., and Hatami, R. (2020). Protective and Therapeutic Effects of Aloe Vera Gel on Ulcerative Colitis Induced by Acetic Acid in Rats. *Clinical Nutrition Research*, 9(3), 223-234.
- Baldelli, V., Scaldaferri, F., Putignani, L., and Del Chierico, F. (2021). The Role of Enterobacteriaceae in Gut Microbiota Dysbiosis in Inflammatory Bowel Diseases. *Microorganisms*, 9(4), 697.
- Balta, A. Z., and Akın, M. L. (2013). Inflammatory bowel diseases. *Turkish Journal of Colorectal Disease*, 223(1), 1-16.
- Bandookwala, M., and Sengupta, P. (2020b). 3-Nitrotyrosine: a versatile oxidative stress biomarker for major neurodegenerative diseases. *International Journal of Neuroscience*, 130(10), 1047-1062.
- Bandookwala, M., Thakkar, D., and Sengupta, P. (2020a). Advancements in the Analytical Quantification of Nitrooxidative Stress Biomarker 3-Nitrotyrosine in Biological Matrices. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 250(3), 265-289.
- Barber, G. E., and Gubatan, J. (2023). Editorial: treat-to-target in ulcerative colitis clinical management-a small price to pay? *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 57(5), 569-570.
- Başak, N., Özgürsoy-Uran, B. N., and Sarıtaş-Yüksel, E. (2022). Treatment Adherence of Anti-TNF Drugs in the Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Scale Development Study. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 33(4), 36-345.
- Bauer C., Duewell, P., Lehr, H. A., Endres, S., and Schnurr, M. (2012) Protective and aggravating effects of Nlrp3 inflammasome activation in IBD models: influence of genetic and environmental factors. *Digestive Diseases and Sciences*, 1, 82-90.
- Bayır, E., and Elgin Cebe, G. (2024). Enflamatuar Bağırsak Hastalığı ve Tıbbi Bitkiler: Güncel Bir Gözden Geçirme. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 48(2), 642-657.
- Bejeshk, M. A., Aminizadeh, A. H., Rajizadeh, M. A., Rostamabadi, F., Bagheri, F., Khaksari, M., and Azimi, M. (2023). Ameliorating effects of *Acacia arabica* and *Ocimum basilicum* on acetic acid-induced ulcerative colitis model through mitigation of inflammation and oxidative stress. *Heliyon*, 9(11), e22355.

- Benninghoff, A. D., Hintze, K. J., Monsanto, S. P., Rodriguez, D. M., Hunter, A. H., Phatak, S., Pestka, J. J., Wettere, A. J. V., and Ward, R. E. (2020). Consumption of the Total Western Diet Promotes Colitis and Inflammation-Associated Colorectal Cancer in Mice. *Nutrients*, 12(2), 544.
- Besharat, S., Sakhavi, F., Sookhtehsaraei, P., Teimoorian, M., Livani, S., Norouzi, A., and Amiriani, T. (2024). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and obesity in inflammatory bowel disease (IBD) patients in Gorgan. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 15(2), 299-306.
- Bhat, A. A., Uppada, S., Achkar, I. W., Hashem, S., Yadav, S. K., Shanmugakonar, M., Al-Naemi, H. A., Haris, M., and Uddin, S. (2019). Tight Junction Proteins and Signaling Pathways in Cancer and Inflammation: A Functional Crosstalk. *Frontiers in Physiology*, 9, 1942.
- Bian, X., Wu, W., Yang, L., Lv, L., Wang, Q., Li, Y., Ye, J., Fang, D., Wu, J., Jiang, X., Shi, D., and Li, L. (2019). Administration of *Akkermansia muciniphila* Ameliorates Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis in Mice. *Frontiers in Microbiology*, 10, 259.
- Biewenga, G. P., Haenen, G. R., and Bast, A. (1997). The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *General Pharmacology*, 29 (3), 315-31.
- Billgren, E. S., Cicchillo, R. M., Nesbitt, N. M., and Booker, S. J. (2010). Lipoic acid biosynthesis and enzymology. In *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology* Elsevier Ltd. (Vol. 7, pp. 181-212).
- Bilska, A., and Wlodek, L. (2005). Lipoic acid - the drug of the future?. *Pharmacological Reports*, 57, 570-7.
- Bitencourt, K. C. Q. M., Schapochnik, A., de Souza, V., Rodrigues, V. M. M., da Cruz, M. P., Damazo, A. S., Ferreira, C. M., Cecatto, R. B., Rodrigues, M. F. S. D., and Lino-Dos-Santos-Franco, A. (2023). Effects of photobiomodulation in the experimental acetic acid-induced colitis: comparison between male and female. *Lasers in Medical Science*, 38(1), 271.
- Blagov, A. V., Orekhova, V. A., Sukhorukov, V. N., Melnichenko, A. A., and Orekhov, A. N. (2023). Potential Use of Antioxidant Compounds for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Pharmaceuticals (Basel)*, 16(8), 1150.
- Bourgonje, A. R., Feelisch, M., Faber, K. N., Pasch, A., Dijkstra, G., and van Goor, H. (2020). Oxidative Stress and Redox-Modulating Therapeutics in Inflammatory Bowel Disease. *Trends in Molecular Medicine*, (11), 1034-1046.
- Brook, I. (2004). Intra-abdominal, retroperitoneal, and visceral abscesses in children. *European Journal of Pediatric Surgery*, 14, 265-273.
- Bruner, L. P., White, A. M., and Proksell, S. (2023). Inflammatory Bowel Disease. *Primary Care - Clinics in Office Practice*, 50(3), 411-427.

- Bulek, K., Zhao, J., Liao, Y., Rana, N., Corridoni, D., Antanaviciute, A., Chen, X., Wang, H., Qian, W., Miller-Little, W. A., Swaidani, S., Tang, F., Willard, B. B., McCrae, K., Kang, Z., Dubyak, G. R., Cominelli, F., Simmons, A., Pizarro, T. T., and Li, X. (2020). Epithelial-derived gasdermin D mediates nonlytic IL-1 β release during experimental colitis. *Journal of Clinical Investigation*, 130(8), 4218-4234.
- Buttó, L. F., and Haller, D. (2016). Dysbiosis in intestinal inflammation: Cause or consequence. *International Journal of Medical Microbiology*, 306(5), 302-9.
- Calderón-Torres, C. M., Sarabia-Curz, L., Ledesma-Soto, Y., Murguía-Romero, M., and Terrazas, L.I. (2019). Denitrase activity of *Debaryomyces hansenii* reduces the oxidized compound 3-nitrotyrosine in mice liver with colitis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 17(5), 3748-3754.
- Can, G., Poşul, E., Yılmaz, B., Can, H., Korkmaz, U., Ermiş, F., Kurt, M., and Dağlı, Ü. (2019). Epidemiologic features of inflammatory bowel disease in Western Blacksea region of Turkey for the last 10 years: retrospective cohort study. *The Korean Journal Internal Medicine*, 34(3), 519-529.
- Carlsson, A. H., Yakymenko, O., Olivier, I., Håkansson, F., Postma, E., Keita, A. V., and Söderholm, J. D. (2013). Faecalibacterium prausnitzii supernatant improves intestinal barrier function in mice DSS colitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 48(10), 1136-44.
- Celani, L. M. S., Egito, E. S. T., Azevedo, Í. M., Oliveira, C. N., Dourado, D., and Medeiros, A. C. (2022). Treatment of colitis by oral negatively charged nanostructured curcumin in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 37(6), e370602.
- Ceylanlı, D., Şehirli, A. Ö., Gençosman, S., Teralı, K., Şah, H., Gülmez, N., and Sayiner, S. (2022). Protective Effects of Alpha-Lipoic Acid against 5-Fluorouracil-Induced Gastrointestinal Mucositis in Rats. *Antioxidants (Basel)*, 11(10), 1930.
- Chen, P., Tang, Y., He, W., Yang, R., Lan, Z., Chen, R., and Zhang, P. (2022). Potential pathophysiological mechanisms underlying multiple organ dysfunction in cytokine release syndrome. *Mediators Inflammation*, 2022, 7137900.
- Chen, Q., Fang, Z., Yang, Z., Xv, X., Yang, M., Hou, H., Li, Z., Chen, Y., and Gong, A. (2024). *Lactobacillus plantarum*-Derived Extracellular Vesicles Modulate Macrophage Polarization and Gut Homeostasis for Alleviating Ulcerative Colitis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(26), 14713-14726.
- Chen, Q.-L., Yin, H.-R., He, Q.-Y. and Wang, Y. (2021). Targeting the NLRP3 inflammasome as new therapeutic avenue for inflammatory bowel disease. *Biomed Pharma*, 138, 111442
- Chen, X., Liu, J., Liu, Y., Li, X., An, D., Liu, X. and Zhang, L. (2024). Alpha-lipoic acid improves cryopreservation of rooster semen by reducing oxidative stress. *Poultry Science*, 103(5), 103632.
- Chen, Y., Chen, L., Huang, S., Yang, L., Wang, L., Yang, F., Huang, J. and Ding, X. (2024). Predicting novel biomarkers for early diagnosis and dynamic severity monitoring of human ulcerative colitis. *Frontiers in Genetics*, 15, 1429482.

- Chen, Y., Cheng, J., Zhang, Y., Chen, J.D.Z. and Seralu, F.M. (2021). Electroacupuncture at ST36 Relieves Visceral Hypersensitivity via the NGF/TrkA/TRPV1 Peripheral Afferent Pathway in a Rodent Model of Post-Inflammation Rectal Hypersensitivity. *Journal of Inflammation Research*, 14, 325-339.
- Chen, Z., Wang, H., Tan, L., and Liu, X. (2024). Protective Effects of Four Structurally Distinct Sanshools Ameliorate Dextran Sodium Sulfate-Induced Ulcerative Colitis by Restoring Intestinal Barrier Function and Modulating the Gut Microbiota. *Antioxidants (Basel)*, 13(2), 153.
- Cohen, R. D., Yu, A. P., Wu, E. Q., Xie, J., Mulani, P. M., and Chao, J. (2010). Systematic review: the costs of ulcerative colitis in Western countries. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 31(7), 693-707.
- Crittenden, S., Goepf, M., Pollock, J., Robb, C. T., Smyth, D. J., Zhou, Y., Andrews, R., Tyrrell, V., Gkikas, K., Adima, A., O'Connor, R. A., Davies, L., Li, X. F., Yao, H. X., Ho, G. T., Zheng, X., Mair, A., Vermeren, S., Qian, B. Z., Mole, D. J., Gerasimidis, K., Schwarze, J. K. J., Breyer, R. M., Arends, M. J., O'Donnell, V. B., Iredale, J. P., Anderton, S. M., Narumiya, S., Maizels, R. M., Rossi, A. G., Howie, S. E., and Yao, C. (2021). Prostaglandin E2 promotes intestinal inflammation via inhibiting microbiota-dependent regulatory T cells. *Science Advances*, 7(7), eabd7954.
- Çimen, B., Çimen, L., and Çetin, İ. (2019). Lipoic Acid Decreases 3-Nitrotyrosine and Cytokine Levels In A Rat Sepsis Model. *Eastern Journal of Medicine*, 24(3), 265-270.
- Dai, Y., Lu, Q., Li, P., Zhu, J., Jiang, J., Zhao, T., Hu, Y., Ding, K., and Zhao, M. (2023). Xianglian Pill attenuates ulcerative colitis through TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway. *The Journal of Ethnopharmacology*, 300, 115690.
- Day, A. S., Leach, S. T., and Lemberg, D. A. (2017). An update on diagnostic and prognostic biomarkers in inflammatory bowel disease. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 17, 835–43.
- De -la -Fuente, M., Franchi, L., Araya, D., Díaz-Jiménez, D., Olivares, M., Álvarez-Lobos, M., Golenbock, D., González, M. J., López-Kostner, F., Quera, R., Núñez, G., Vidal, R., and Hermoso, M. A. (2014). Escherichia coli isolates from inflammatory bowel diseases patients survive in macrophages and activate NLRP3 inflammasome. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(3-4), 384-92.
- DE-Angelis, P. M., Dorg, L., Pham, S., and Andersen, S.N. (2021). Dna repair protein expression and oxidative/nitrosative stress in ulcerative colitis and sporadic colorectal cancer. *Anticancer Research*, 41(7), 3261-3270.
- Démaris, A., Widigson, E. S. K., Ilvemark, J. F. K. F., Steenholdt, C., Seidelin, J. B., Huisinga, W., Michelet, R., Aulin, L. B. S., and Kloft, C. (2022). “Ulcerative colitis and acute severe ulcerative colitis patients are overlooked in infliximab population pharmacokinetic models: results from a comprehensive review. *Pharmaceutics*, 14(10), 2095.

- Demirel, M. A., Han, S., Tokmak, A., Ercan-Gokay, N., Uludag, M. O., Yildirim Ustun, T., and Cicek, A. F. (2019). Therapeutic effects of resveratrol in Escherichia coli-induced rat endometritis model. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 392(12), 1577-1589.
- Derikx, L. A., Dieleman, L. A., and Hoentjen, F. (2016). Probiotics and prebiotics in ulcerative colitis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 30(1), 55-71.
- Dieleman, L. A., Ridwan, B. U., Tennyson, G. S., Beagley, K. W., Bucy, R. P., and Elson, C. O. (1994). Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice. *Gastroenterology*, 107, 1643-1652.
- Dignass, A., Lindsay, J. O., Sturm, A., Windsor, A., Colombel, J. F., Allez, M., D'Haens, G., D'Hoore, A., Mantzaris, G., Novacek, G., Oresland, T., Reinisch, W., Sans, M., Stange, E., Vermeire, S., and Travis, S. (2012). Van Assche G. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current management. *Read the latest articles of Journal of Crohn's and Colitis*, 6(10), 991-1030.
- Di-Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., and Victor, V. M. (2016). Role of ros and rns sources in physiological and pathological conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1245049.
- Dizakar-Akarca, S. Ö., and Demirel, M.A. (2022). Histopathological investigation of the effect of coenzyme q10 on intestinal mucosa and tight junction proteins in experimental colitis model. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 38 (3), 199-205.
- Dovrolis, N., Michalopoulos, G., Theodoropoulos, G. E., Arvanitidis, K., Kolios, G., Sechi, L. A., Eliopoulos, A. G., and Gazouli, M. (2020). The Interplay between Mucosal Microbiota Composition and Host Gene-Expression is Linked with Infliximab Response in Inflammatory Bowel Diseases. *Microorganisms*, 8(3), 438.
- Dryden, G. W., and Seidner, D. L. (2014). Nutrition in inflammatory bowel disease: Implications for its role in the management of crohn disease and ulcerative colitis. In: Ross AC, *Modern Nutrition in Health and Disease*. (11th edition). China: Lippincott Williams & Wilkins; p.1080-8
- Du, G., Qiao, Y., Zhuo, Z., Zhou, J., Li, X., Liu, Z., Li, Y., and Chen, H. (2020). Lipoic acid rejuvenates aged intestinal stem cells by preventing age-associated endosome reduction. *EMBO Reports*, 21(8), e49583.
- Dugbartey, G. J., Atule, S., Alornyo, K. K., and Adams, I. (2024). Hepatoprotective potential of alpha-lipoic acid against gliclazide-induced liver injury in high-glucose-exposed human liver cells and experimental type 2 diabetic rats. *Biochemical Pharmacology*, 227, 116447.
- Dumlu-Bilgin G., and Şimşek, M. (2023). Ülseratif kolit ve beslenme. Ersoy G, editör. Gastrointestinal Sorunlara Güncel Beslenme Yaklaşımları. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2023. p.37- 46

- Duranti, S., Gaiani, F., Mancabelli, L., Milani, C., Grandi, A., Bolchi, A., Santoni, A., Lugli, G. A., Ferrario, C., Mangifesta, M., Viappiani, A., Bertoni, S., Vivo, V., Serafini, F., Barbaro- M. R., Fugazza A, Barbara G, Gioiosa L, Palanza P, Cantoni A. M., de'Angelis G. L., Barocelli E, de'Angelis, N., van-Sinderen, D., Ventura, M., and Turrone. F. (2016). Elucidating the gut microbiome of ulcerative colitis: bifidobacteria as novel microbial biomarkers. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(12), fiw191.
- Dziąbowska-Grabias, K., Sztanke, M., Zając, P., Celejewski, M., Kurek, K., Szkutnicki, S., Korga, P., Bulikowski, W. and Sztanke, K. (2021). Antioxidant Therapy in Inflammatory Bowel Diseases. *Antioxidants (Basel)*, 10(3), 412.
- Ek, W. E., D'Amato, M., and Halfvarson, J. (2014). The history of genetics in inflammatory bowel disease. *Annals of Gastroenterology*, 27(4), 294-303.
- El-Ashmawy, N. E., Khedr, E. G., El-Zamarany, E. A., and Ahmed, S.M. (2024). Suppression of inflammation in ulcerative colitis rats by avocado and pomegranate. *Clinical Nutrition ESPEN*, 61, 253-265.
- Elbastawisy, Y. M., and Mohamed, H. A. (2022). Therapeutic Effect of Amygdalin on Acetic Acid-induced Colitis in Rats: Histopathological and Immunohistochemical Study. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 14(1), 27-41.
- El-Ghannam, M. S., Saad, M. A., Nassar, N. N., El-Yamany, M. F., and El-Bahy, A. A. Z. (2022). Linagliptin ameliorates acetic acid-induced colitis via modulating AMPK/SIRT1/PGC-1 α and JAK2/STAT3 signaling pathway in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 438, 115906.
- Elhefnawy, E. A., Zaki, H. F., El Maraghy, N. N., Ahmed. K. A., and Abd El-Haleim, E. A. (2023). Genistein and/or sulfasalazine ameliorate acetic acid-induced ulcerative colitis in rats via modulating INF- γ /JAK1/STAT1/IRF-1, TLR-4/NF- κ B/IL-6, and JAK2/STAT3/COX-2 crosstalk. *Biochemical Pharmacology*, 214, 115673.
- Elinav, E., Strowig, T., Kau, A. L., Henao-Mejia, J., Thaiss, C. A., Booth, C. J., Peaper, D. R., Bertin, J., Eisenbarth, S. C., Gordon, J. I. and Flavell, R. A. (2011). NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis. *Cell*, 124(5), 745-57.
- El-Maadawy, W., Hammam, O., Seif el-Din, S., and El-Lakkany, N. (2020). α -Lipoic acid modulates liver fibrosis: A cross talk between TGF- β 1, autophagy, and apoptosis. *Human and Experimental Toxicology*, 39(4), 440-450.
- Eminler, A. T., Toka, B., and Uslan, M. İ. (2017). İnflamatuvar Barsak Hastalığı ve Barsak Mikrobiyotası. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1(Special issue), 81-85.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277-85.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38, 1103-11.

- Ergene, E. (2018). Alfa Lipoik Asit ve Metabolik Etkileri Üzerine Bir Araştırma. **Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi**, 2(3), 159-165.
- Ergül, B., Doğan, Z., Sarıkaya, M., Filik, L., Utku, Ö. G., Gönültaş, M., Hücümenoğlu, S., Güven, B., and Can, M. (2019). Antioxidative and Immunomodulatory Effects of A-Lipoic Acid in Rat Colitis Model Induced by Acetic Acid. **Gazi Medical Journal**, 30(2), 125-129.
- Erol-Doğan Ö, Karaca-Çelik K. E., Baş, M., Alan, E. H., and Çağın, Y. F. (2024). Effects of Mediterranean Diet, Curcumin, and Resveratrol on Mild-to-Moderate Active Ulcerative Colitis: A Multicenter Randomized Clinical Trial. **Nutrients**, 16(10), 1504.
- Esfahani, S. K., Dehghani, S., Hosseinzadeh, H., Abnous, K., Taghdisi, S. M., Ramezani, M., and Alibolandi, M. (2024). An exosomal approach for oral delivery of resveratrol: Implications for inflammatory bowel disease treatment in rat model. **Life Sciences**, 346, 122638.
- Esposito, C., Ugo-Garzarella, E., Santarcangelo, C., Di Minno, A., Dacrema, M., Sacchi, R., Piccinocchi, G., Piccinocchi, R., and Daglia, M. (2021). Safety and efficacy of alpha-lipoic acid oral supplementation in the reduction of pain with unknown etiology: A monocentric, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 144, 112308.
- Faramarzpour, A., Tehrani, A. A., Tamaddonfard, E., and Imani, M. (2019). The effects of crocin, mesalazine and their combination in the acetic acid-induced colitis in rats. **Veterinary Research Forum**, 10(3), 227-234.
- Farid, M. S., Shafique, B., Xu, R., Łopusiewicz, Ł., and Zhao, C. (2024). Potential interventions and interactions of bioactive polyphenols and functional polysaccharides to alleviate inflammatory bowel disease - A review. **Food Chemistry**, 462, 140951.
- Fawzy, S. A., El-Din Abo-Elnou, R. K., Abd-El-Maksoud El-Deeb, D. F., and Yousry Abd-Elkader, M. M. (2013). The possible role of mesenchymal stem cells therapy in the repair of experimentally induced colitis in male albino rats. **International Journal of Stem Cells**, 6(2), 92-103.
- Flores, A., Burstein, E., Cipher, D. J., and Feagins, L. A. (2015). Obesity in Inflammatory Bowel Disease: A Marker of Less Severe Disease. **Digestive Diseases and Sciences**, 60(8), 2436-45.
- Fujimori, S., Gudis, K., Mitsui, K., Seo, T., Yonezawa, M., Tanaka, S., Tatsuguchi, A., and Sakamoto, C. (2009). A randomized controlled trial on the efficacy of synbiotic versus probiotic or prebiotic treatment to improve the quality of life in patients with ulcerative colitis. **Nutrition**, 25(5), 520-5.
- Fumery, M., Dauchet, L., Vignal, C., and Gower-Rousseau, C. (2014). Epidemiology, risk factors and factors associated with disabling course in inflammatory bowel disease. **Revue du Praticien**, 64(9), 1210-15.
- Ganji-Arjenaki, M., and Rafieian-Kopaei, M. (2018). Probiotics are a good choice in remission of inflammatory bowel diseases: A meta analysis and systematic review. **Journal of Cellular Physiology**, 233(3), 2091-2103.

- Ge, Q., Chen, X., Zhao, Y., Mu, H., and Zhang, J. (2021). Modulatory mechanisms of NLRP3: Potential roles in inflammasome activation. *Life Sciences*, 267, 118918.
- Gezer, A., Laloglu, A., and Kirli-Bölükbaş, M. (2023). Protective Effects of Alpha Lipoic Acid Against Ionizing Radiation-Induced Hepatotoxicity in Rats. *The Eurasian Journal of Medicine*, 55(2), 104-108.
- Ghasemi-Dehnoo, M., Amini-Khoei, H., Lorigooini, Z., AnjomShoa, M., and Rafieian-Kopaei, M. (2023). Ferulic acid ameliorates ulcerative colitis in a rat model via the inhibition of two LPS-TLR4-NF- κ B and NF- κ B-INOS-NO signaling pathways and thus alleviating the inflammatory, oxidative and apoptotic conditions in the colon tissue. *Inflammopharmacology*, 31(5), 2587-2597.
- Ghosh, S., Spoorthi, B. C., Banerjee, P., Saha, I., Dua, T. K., Sahu, R., and Maiti, A. K. (2024). 10-(6-Plastoquinonyl) decyltriphenylphosphonium imparts anti-colitogenic protection through recovery of mitochondrial dysfunction in ulcerated murine colon: Implications in ulcerative colitis. *Life Sciences*, 348, 122700.
- Ginter, E., and Simko, V. (2015). Recent data on Mediterranean diet, cardiovascular disease, cancer, diabetes and life expectancy. *Bratislavské Lekárske Listy*, 116(6), 346-348.
- Gochman, E., Mahajna, J., Shenzer, P., Dahan, A., Blatt, A., Elyakim, R. and Reznick, A.Z. (2012). The expression of iNOS and nitrotyrosine in colitis and colon cancer in humans. *Acta Histochemica*, 114(8), 827-35.
- Goraça, A., Huk-Kolega, H., Piechota, A., Kleniewska, P., Ciejka, E., and Skibska, B. (2011) Lipoic acid - biological activity and therapeutic potential. *Pharmacological Reports*, 263(4), 849-58.
- Gordon, I. O., Agrawal, N., Willis, E., Goldblum, J. R., Lopez, R., Allende, D., Liu, X., Patil, D. Y., Yerian, L., El-Khider, F., Fiocchi, C., and Rieder, F. (2018). Fibrosis in ulcerative colitis is directly linked to severity and chronicity of mucosal inflammation. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 47(7), 922-939.
- Gotschlich, E. C., Colbert, R. A., and Gill, T. (2019). Methods in microbiome research: Past, present, and future. *Best Practice & Research: Clinical Rheumatology*, 33(6), 101498.
- Gu, C., Suleria, H. A. R., Dunshea, F. R., and Howell, K. (2020). Dietary Lipids Influence Bioaccessibility of Polyphenols from Black Carrots and Affect Microbial Diversity under Simulated Gastrointestinal Digestion. *Antioxidants (Basel)*, 9(8), 762.
- Gu, W., Zhang, L., Han, T., Huang, H., and Chen, J. (2022). Dynamic Changes in Gut Microbiome of Ulcerative Colitis: Initial Study from Animal Model. *Journal of Inflammation Research*, 15, 2631-2647.
- Guan, Q. A. (2019). Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Immunology Research*, 2019, 7247238.

- Guan, Q., Ma, Y., Hillman, C. L., Qing, G., Ma, A. G., Weiss, C. R., Zhou, G., Bai, A., Warrington, R. J., Bernstein, C. N., and Peng, Z. (2011). Targeting IL-12/IL-23 by employing a p40 peptide-based vaccine ameliorates TNBS-induced acute and chronic murine colitis. *Molecular Medicine*, 17(7-8), 646-56.
- Guo, N., and Lv, L.L. (2023). Mechanistic insights into the role of probiotics in modulating immune cells in ulcerative colitis. *Immunity, Inflammation and Disease*, 2011(10), e1045.
- Guo, X., Wu, S., Shang, J., Dong, W., Li, Y., Peng, Q., Xie, Z., and Chen, C. (2023). The effects of lipoic acid on respiratory diseases. *International Immunopharmacology*, 116, 109713.
- Guo, Y., Wang, B., Gao, H., He, C., Xin, S., Hua, R., Liu, X., Zhang, S., and Xu, J. (2023). Insights into the Characteristics and Functions of Mast Cells in the Gut. *Gastroenterology Insights*, 14(4), 637-652.
- Gupta, M., Mishra, V., Gulati, M., Kapoor, B., Kaur, A., Gupta, R., and Tambuwala, M.M. (2022). Natural compounds as safe therapeutic options for ulcerative colitis. *Inflammopharmacology*, 30(2), 397-434.
- Gurung, A. B., and Bhattacharjee, A. (2018). Impact of tyrosine nitration at positions Tyr307 and Tyr335 on structural dynamics of Lipoprotein-associated phospholipase A2-A therapeutically important cardiovascular biomarker for atherosclerosis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107(Pt B), 1956-1964.
- Gülsah, Ö., and Bekir, D. E. (2023). Efficacy of intravenous alpha lipoic acid in the treatment of neuropathic pain due to carpal tunnel syndrome. *İdeggýýaszatý Szemle*, 76(9-10), 319-326.
- Gürler, M., Can, G., Can, H., Ünsal, G., Soyly, A. R., Ümit, H. C., and Akdoğan- Kayhan, M. (2020). The relationship between hematological parameters and disease activity in inflammatory bowel disease. *The Anatolian Current Medical Journal*, 2(3), 68-74.
- Hales, D., Muntean, D. M., Neag, M. A., Kiss, B., Ștefan, M. G., Tefas, L. R., Tomuță, I., Sesărman, A., Rațiu, I. A., and Porfire, A. (2022). Curcumin-Loaded Microspheres Are Effective in Preventing Oxidative Stress and Intestinal Inflammatory Abnormalities in Experimental Ulcerative Colitis in Rats. *Molecules*, 27(17), 5680.
- Hamouda, R. A., Abd El Latif, A., Elkaw, E. M., Alotaibi, A. S., Alenzi, A. M., and Hamza, H. A. (2022). Assessment of Antioxidant and Anticancer Activities of Microgreen Alga *Chlorella vulgaris* and Its Blend with Different Vitamins. *Molecules*, 27(5), 1602.
- Han, L., Liu, X. W., Zang, T., Ren, H., Liang, D. S., Bai, S. C., Li, C., Liao, X. P., Liu, Y. H., Zhang, C., and Sun, J. (2022). H₂S responsive PEGylated poly (lipoic acid) with ciprofloxacin for targeted therapy of Salmonella. *The Journal of Controlled Release*, 351, 896-906.

- Hartmann, R. M., Martins, M. I. M., Tieppo, J., Fillmann, H. S., and Marroni, N. P. (2012). “Effect of *Boswellia serrata* on antioxidant status in an experimental model of colitis rats induced by acetic acid”, ***Digestive Diseases and Sciences***, 57, 2038-2044.
- Hazel, K., and O'Connor, A. (2020). Emerging treatments for inflammatory bowel disease. ***Therapeutic Advances in Chronic Disease***, 11, 2040622319899297.
- Heeney, D. D., Gareau, M. G., and Marco, M. L. (2018). Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride? ***Current Opinion in Biotechnology***, 49, 140-147.
- Heikal, E. J., Kaoud, R. M., Gad, S., Mokhtar, H. I., Alattar, A., Alshaman, R., Zaitone, S. A., Moustafa, Y. M., and Hammady, T. M. (2023). Development of Novel pH-Sensitive Eudragit Coated Beads Containing Curcumin-Mesalamine Combination for Colon-Specific Drug Delivery. ***Gels***, 9(4), 264.
- HosseiniRavesh, F., Ghalibaf, A. M., Askari, V. R., Fayedeh, F., Rahimi, V. B., Etemad, L., and Taherzadeh, Z. (2024). Therapeutic potential of *Capparis spinosa* in experimental model of acute acetic acid-induced colitis: Anti-inflammatory and antioxidant effects. ***Heliyon***, 10(12), e32836.
- Huang, C., Hao, W., Wang, X., Zhou, R., and Lin, Q. (2023). Probiotics for the treatment of ulcerative colitis: a review of experimental research from 2018 to 2022. ***Frontiers in Microbiology***, 14, 1211271.
- Huang, Z., Hu, M., Peng, X., Wang, R., Song, X., and Yin, J. (2023). The protective effect of small black soybean (*Vigna Mungo* L.) polysaccharide on acetic acid-induced gastric ulcer in SD rats and its impact on gut microbiota and metabolites. ***Food Bioscience***, volume 56, 2023, 103187, ISSN 2212-4292.
- Huangfu, L. X., Cai, X. T., Yang, J. N., Wang, H. C., Li, Y. X., Dai, Z. F., Yang, R. L., and Lin, X. H. (2021). Irisin attenuates inflammation in a mouse model of ulcerative colitis by altering the intestinal microbiota. ***Experimental and Therapeutic Medicine***, 22(6), 1433.
- Hwang, J., Jin, J., Jeon, S., Moon, S. H., Park, M. Y., Yum, D.-Y., Kim, J. H., Kang, J.-E., Park, M. H., Kim, E.-J., Pan, J.-G., Kwon, O., and Oh, G. T. (2020). SOD1 suppresses pro-inflammatory immune responses by protecting against oxidative stress in colitis. ***Redox Biology***, 37, 101760.
- Iacucci, M., de Silva, S., and Ghosh, S. (2010). Mesalazine in inflammatory bowel disease: a trendy topic once again? ***Canadian Journal Of Gastroenterology And Hepatology***, 24(2),127-33.
- Iizuka, M., and Konno, S. (2011). Wound healing of intestinal epithelial cells. ***World Journal of Gastroenterology***, 17(17), 2161–2171.
- Iljazovic, A., Amend, L., Galvez, E. J. C., de Oliveira, R., and Strowig, T. (2021). Modulation of inflammatory responses by gastrointestinal *Prevotella* spp. - From associations to functional studies. ***International Journal of Medical Microbiology***, 311(2), 151472.

İnternet: Azer, S. A., and Sun, Y. (2022). Colitis. **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Web: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31082081/> adresinden 26 Eylül 2023'te alınmıştır

İnternet: Lynch, W. D., Hsu, R. (2023). Ulcerative Colitis. [Updated 2023 Jun 5]. **StatPearls** Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459282/> adresinden 12 Ocak 2024'te alınmıştır.

İnternet: Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2023). Türkiye sağlık araştırması verileri-2022, sayı, 49747. Web: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Turkiye-Saglik-Arastirmasi-2022-49747> adresinden 4 Eylül 2024'de alınmıştır.

Ippolito, C., Colucci, R., Segnani, C., Errede, M., Girolamo, F., Virgintino, D., Dolfi, A., Tirotta, E., Bucciante, P., Di -Candio, G., Campani, D., Castagna, M., Bassotti, G., Villanacci, V., Blandizzi, C., and Bernardini, N. (2016). Fibrotic and Vascular Remodelling of Colonic Wall in Patients with Active Ulcerative Colitis. **Journal of Crohn's and Colitis**, 10(10), 1194-204.

Itani, S., Watanabe, T., Nadatani, Y., Sugimura, N., Shimada, S., Takeda, S., Otani, K., Hosomi, S., Nagami, Y., Tanaka, F., Kamata N, Yamagami H, Tanigawa T, Shiba M, Tominaga, K., Fujiwara, Y., and Arakawa, T. (2016). NLRP3 inflammasome has a protective effect against oxazolone-induced colitis: a possible role in ulcerative colitis. **Scientific Reports**, 6, 39075.

İspiroğlu, M., Kantarçeken, B., Çiralık, H., ve Bülbüloğlu, E. (2021). Ratlarda deneysel olarak oluşturulan kolit modelinde n-asetil sistein ve β -glukanın etkileri. **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, 16(3), 357-364.

Jawhara S. (2024). How Do Polyphenol-Rich Foods Prevent Oxidative Stress and Maintain Gut Health? **Microorganisms**, 12(8), 1570.

Jia, Y. J., Li, T. Y., Han, P., Chen, Y., Pan, L. J., and Jia, C. S. (2022). Effects of different courses of moxibustion treatment on intestinal flora and inflammation of a rat model of knee osteoarthritis. **Journal of Integrative Medicine**, 20(2), 173-181.

Jiang, P., Zhai, Z., Zhao, L., Zhang, K., and Duan, L. (2024). α -Lipoic acid alleviates dextran sulfate sodium salt-induced ulcerative colitis via modulating the Keap1-Nrf2 signaling pathway and inhibiting ferroptosis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 104(3), 1679-1690.

Jin, J. Q., Sato, T., Hachisuka, S. I., and Atomi, H. (2022). A Lipoate-Protein Ligase Is Required for *De Novo* Lipoyl-Protein Biosynthesis in the Hyperthermophilic Archaeon *Thermococcus kodakarensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, 88(13), e0064422.

Jing, C., Shangbin, L., Yi, Z., Shuangyuan, H. U., Pengfei, W., Wenhua, Z., and Junfeng, S. (2023). Efficacy of Qifu Lizhong enema prescription on intestinal mucosal tight junction function modulation of ulcerative colitis rat model. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, 43(2), 303-311.

- Jucan, A. E., Gavrilescu, O., Dranga, M., Popa, I. V., Mihai, I. R., Mihai, V. C., Stefanescu, G., Drug, V. L., Prelipcean, C. C., Vulpoi, R. A., Barboi, O. B., Ciortescu, I., and Mihai, C. (2023). Evaluation of Disease Activity in Inflammatory Bowel Disease: Diagnostic Tools in the Assessment of Histological Healing. *Biomedicines*, 11(11), 3090.
- Kaakoush, N.O. (2015). Insights into the Role of Erysipelotrichaceae in the Human Host. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, 84.
- Ka Kabeerdoss, J., Jayakanthan, P., Pugazhendhi, S., and Ramakrishna, B. S. (2015). Alterations of mucosal microbiota in the colon of patients with inflammatory bowel disease revealed by real time polymerase chain reaction amplification of 16S ribosomal ribonucleic acid. *Indian Journal of Medical Research*, 142(1), 23-32.
- Kamm, M. A., Lichtenstein, G. R., Sandborn, W. J., Schreiber, S., Lees, K., Barrett, K., and Joseph, R. (2008). Randomised trial of once- or twice-daily MMX mesalazine for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Gut*, 57(7), 893-902.
- Kane, S., Huo, D., and Magnanti, K. (2003). A pilot feasibility study of once daily versus conventional dosing mesalamine for maintenance of ulcerative colitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 1(3), 170-3.
- Karaca, E. G. (2008). Lipoik asit: evrensel antioksidan. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 231-246.
- Karaca, E. G., and Sözbilir, N. B. (2007). Dietilnitrozamin Verilen Ratlarda Alfa Lipoik Asidin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 7, 11-17.
- Karakoyun, B., Yuksel, M., Ercan, F., Erzik, C., and Yegen, B. C. (2009). Alpha-lipoic acid improves acetic acid-induced gastric ulcer healing in rats. *Inflammation*, 32(1), 37-46.
- Kastaniotis, A. J., Autio, K. J., Kerätär, J. M., Monteuuis, G., Mäkelä, A. M., Nair, R. R., Pietikäinen, L. P., Shvetsova, A., Chen, Z., and Hiltunen, J. K. (2017). Mitochondrial fatty acid synthesis, fatty acids and mitochondrial physiology. *Biochimica et Biophysica Acta. Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1862(1), 39-48.
- Kayal, M., and Shah, S. (2019). Ulcerative colitis: current and emerging treatment strategies *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 94.
- Kellermann, L., and Riis, L. B. (2021). A close view on histopathological changes in inflammatory bowel disease, a narrative review. *Digestive Medicine Research*, 2021, 4, 3.
- Kerstens, R., and Joyce, P. (2024). The Gut Microbiome as a Catalyst and Emerging Therapeutic Target for Parkinson's Disease: A Comprehensive Update. *Biomedicines*, 12(8), 1738.
- Ko, C. Y., Lo, Y. M., Xu, J. H., Chang, W. C., Huang, D. W., Wu, J. S., Yang, C. H., Huang, W. C., and Shen, S. C. (2021). Alpha-lipoic acid alleviates NAFLD and triglyceride accumulation in liver via modulating hepatic NLRP3 inflammasome activation pathway in type 2 diabetic rats. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2733-2742.

- Kocak, A., Ural, C., Harmanci, D., Oktan, M. A., Afagh, A., Sarioglu, S., Yilmaz, O., Birlik, M., Akdogan, G. G., and Cavdar, Z. (2022). Protective effects of alpha-lipoic acid on bleomycin-induced skin fibrosis through the repression of NADPH Oxidase 4 and TGF- β 1/Smad3 signaling pathways. *Human and Experimental Toxicology*, 41, 9603271211065975.
- Koeth, R. A., Wang, Z., Levison, B. S., Buffa, J. A., Org, E., Sheehy, B. T., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., Li, L., Smith, J. D., DiDonato, J. A., Chen, J., Li, H., Wu, G. D., Lewis, J. D., Warrier, M., Brown, J. M., Krauss, R. M., Tang, W. H., Bushman, F. D., Lusi, A. J., and Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*, 19(5), 576-85.
- Kolgazi, M., Jahovic, N., Yüksel, M., Ercan, F., and Alican, I. (2007). Alpha-lipoic acid modulates gut inflammation induced by trinitrobenzene sulfonic acid in rats. *The Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22(11), 1859-65.
- Korta, A., Kula, J., and Gomulka, K. (2023). The role of IL-23 in the pathogenesis and therapy of inflammatory bowel disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 10172. [CrossRef]
- Kottakis, G., Kambouri, K., Giatromanolaki, A., Valsami, G., Kostomitsopoulos, N., Tsaroucha, A., and Pitiakoudis, M. (2022). Effects of the Antioxidant Quercetin in an Experimental Model of Ulcerative Colitis in Mice. *Medicina (Kaunas)*, 59(1), 87.
- Köseler, E. (2016). Ülseratif Kolitte Nutrisyon. *Güncel Gastroenteroloji*, 20(3), 262-266.
- Krieg, N. R., Staley, J. T., Brown, D. R., Hedlund, B. P., Paster, B. J., Ward, N. L., Ludwig, W., and Whitman, W. B. (2010). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. second. Springer; New York: pp. 501–531.
- Kucharzik, T., Maaser, C., Lügering, A., Kagnoff, M., Mayer, L., Targan, S., and Domschke, W. (2006). Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies. *Inflammatory Bowel Disease*, 12(11), 1068-83.
- Kugathasan, S., Nebel, J., Skelton, J. A., Markowitz, J., Keljo, D., Rosh, J., LeLeiko, N., Mack, D., Griffiths, A., Bousvaros, A., Evans, J., Mezo, A., Moyer, S., Oliva-Hemker, M., Otley, A., Pfefferkorn, M., Crandall, W., Wyllie, R., and Hyams, J., Wisconsin Pediatric Inflammatory Bowel Disease Alliance, Pediatric Inflammatory Bowel Disease Collaborative Research Group. (2007). Body mass index in children with newly diagnosed inflammatory bowel disease: observations from two multicenter North American inception cohorts. *The Journal of Pediatrics*, 151(5), 523-7.
- Kumar, A., Hecht, C., Priyamvada, S., Anbazhagan, A. N., Alakkam, A., Borthakur, A., Alrefai, W. A., Gill, R. K., and Dudeja, P. K. (2014). Probiotic Bifidobacterium species stimulate human SLC26A3 gene function and expression in intestinal epithelial cells. *The American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 307(12), C1084-92.
- Kumar, S., Altermann, E., Leahy, S. C., Jauregui, R., Jonker, A., Henderson, G., Kittelmann, S., Attwood, G. T., Kamke, J., Waters, S. M., Patchett, M. L., and Janssen, P.H. (2022). Genomic insights into the physiology of Quinella, an iconic uncultured rumen bacterium. *Nature Communications*, 13(1), 6240.

- Lan, Q., Lian, Y., Peng, P., Yang, L., Zhao, H., Huang, P., Ma, H., Wei, H., Yin, Y., and Liu, M. (2023). Association of gut microbiota and SCFAs with finishing weight of Diannan small ear pigs. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1117965.
- Laukoetteri, M. G., Nava, P., and Nusrat, A. (2008). Role of the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 14(3), 401-407.
- Le Gall, G., Noor, S. O., Ridgway, K., Scovell, L., Jamieson, C., Johnson, I. T., Colquhoun, I. J., Kemsley, E. K., and Narbad, A. (2011). Metabolomics of fecal extracts detects altered metabolic activity of gut microbiota in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *Journal of Proteome Research*, 10(9), 4208-18.
- Le-Berre, C., Honap, S., and Peyrin-Biroulet, L. (2023). Ulcerative colitis. *Lancet*, 402 (10401), 571-584.
- Li, A. L., Ni, W. W., Zhang, Q. M., Li, Y., Zhang, X., Wu, H. Y., Du, P., Hou, J. C., and Zhang, Y. (2020). Effect of cinnamon essential oil on gut microbiota in the mouse model of dextran sodium sulfate-induced colitis. *Microbiology and Immunology*, 64(1), 23-32.
- Li, C., Peng, K., Xiao, S., Long, Y., and Yu, Q. (2023). The role of Lactobacillus in inflammatory bowel disease: from actualities to prospects. *Cell Death Discovery*, 9(1), 361.
- Li, J., Zhang, C., Xu, Y., and Yang, L. (2024). Efficacy and safety of berberine plus 5-ASA for ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 19(9), e0309144.
- Li, M., Yang, L., Mu, C., Sun, Y., Gu, Y., Chen, D., Liu, T., and Cao, H. (2022). Gut microbial metabolome in inflammatory bowel disease: From association to therapeutic perspectives. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 20, 2402-2414.
- Li, P., Liang, M. L., Zhu, Y., Gong, Y. Y., Wang, Y., Heng, D., and Lin, L. (2014). Resveratrol inhibits collagen I synthesis by suppressing IGF-1R activation in intestinal fibroblasts. *World Journal of Gastroenterology*, 20(16), 4648-61.
- Li, Q., Li, H., Guo, J., Zhu, Z., Teng, W., Hu, Y., Luo, Y., Wang, M., and Liu, S. (2023). Ameliorative Effect of Orally Administered Nano-Superoxide Dismutase Liposomes on Ulcerative Colitis in Mice. *Food Science*, 44(1), 166-174.
- Li, W. Y., Liu, J. Y., Wang, Z. X., Wang, K. Y., Huang, C. X, He, W., and Song, J. L. (2023). Sinapic Acid Attenuates Chronic DSS-Induced Intestinal Fibrosis in C57BL/6J Mice by Modulating NLRP3 Inflammasome Activation and the Autophagy Pathway. *ACS Omega*, 9(1), 1230-1241.
- Li, X., Wu, X., Wang, Q., Xu, W., Zhao, Q., Xu, N., Hu, X., Ye, Z., Yu, S., Liu, J., He, X., Shi, F., Zhang, Q., and Li, W. (2022). Sanguinarine ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and modulating intestinal microbiota in C57BL/6 mice. *Phytomedicine*, 104, 154321.

- Li, Y. X., Liu, J., and Li, F. (2024). Hinesol attenuates DSS-induced ulcerative colitis through the suppression of Src-mediated NF- κ B and chemokine signaling pathway. ***Cell Biochemistry and Biophysics***, 82(3), 2747-2757.
- Lin, C., He, C., Li, L., Liu, Y., Tang, L., Ni, Z., Zhang, N., Lai, T., Chen, X., and Wang, X. (2024). Alpha-lipoic acid (ALA) ameliorates early brain injury after subarachnoid hemorrhage in Sprague-Dawley (SD) rats via inhibiting STING-NLRP3 inflammatory signaling. ***Neuroreport***, 35(4), 250-257.
- Lin, Y., Liu, H., Bu, L., Chen, C., and Ye, X. (2022). Review of the Effects and Mechanism of Curcumin in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. ***Frontiers in Pharmacology***, 13, 908077.
- Liu, B., Piao, X., Niu, W., Zhang, Q., Ma, C., Wu, T., Gu, Q., Cui, T., and Li, S. (2020). Kuijieyuan Decoction Improved Intestinal Barrier Injury of Ulcerative Colitis by Affecting TLR4-Dependent PI3K/AKT/NF- κ B Oxidative and Inflammatory Signaling and Gut Microbiota. ***Frontiers in Pharmacology***, 11, 1036.
- Liu, J., Zhang, Q., Hao, H., Bi, J., Hou, H., and Zhang, G. (2024). Benzyl Isothiocyanate and Resveratrol Synergistically Alleviate Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Mice. ***Foods***, 13(13), 2078.
- Liu, L., Dong, Y., Ye, M., Jin, S., Yang, J., Joosse, M. E., Sun, Y., Zhang, J., Lazarev, M., Brant, S. R., Safar, B., Marohn, M., Mezey, E., and Li, X. (2017). The pathogenic role of nlrp3 inflammasome activation in inflammatory bowel diseases of both mice and humans. ***Journal of Crohn's and Colitis***, 11(6), 737-750.
- Liu, W., Zhong, X., Yi, Y., Xie, L., Zhou, W., Cao, W., and Chen, L. (2024). Prophylactic Effects of Betaine on Depression and Anxiety Behaviors in Mice with Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 72(38), 21041-21051.
- Liu, Y., Zhou, M., Yang, M., Jin, C., Song, Y., Chen, J., Gao, M., Ai, Z., and Su, D. (2021). *Pulsatilla chinensis* Saponins Ameliorate Inflammation and DSS-Induced Ulcerative Colitis in Rats by Regulating the Composition and Diversity of Intestinal Flora. ***Frontiers in Cellular and Infection Microbiology***, 11, 728929.
- Liu, J. (2024). Aged garlic therapeutic intervention targeting inflammatory pathways in pathogenesis of bowel disorders. ***Heliyon***, 10(14), e33986.
- Lleal, M., Sarabayrouse, G., Willamil, J., Santiago, A., Pozuelo, M., and Manichanh, C. (2019). A single faecal microbiota transplantation modulates the microbiome and improves clinical manifestations in a rat model of colitis. ***EBioMedicine***, 248, 630-641.
- Loeuillard, E., Bertrand, J., Herranen, A., Melchior, C., Guérin, C., Coëffier, M., Aziz, M., Déchelotte, P., Savoye, G., and Marion-Letellier, R. (2014). 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced chronic colitis with fibrosis and modulation of TGF- β 1 signaling. ***World Journal of Gastroenterology***, 20(48), 18207-15.

- Lokman, M. S., Kassab, R. B., Salem, F. A. M., Elshopakey, G. E., Hussein, A., Aldarmahi, A. A., Theyab, A., Alzahrani, K. J., Hassan, K. E., Alsharif, K. F., Albrakati, A., Tayyeb, J. Z., El-Khadragy, M., Alkhateeb, M. A., Al-Ghamdy, A. O., Althagafi, H. A., Abdel Moneim, A. E., and El-Hennamy, R. E. (2024). Asiatic acid rescues intestinal tissue by suppressing molecular, biochemical, and histopathological changes associated with the development of ulcerative colitis. **Bioscience Reports**, 44(5), BSR20232004.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 193(1), 265-275.
- Luchini, A. C., de Oliveira, D. M., Pellizzon, C. H., Di Stasi, L. C., and Gomes, J. C. (2009). Relationship between mast cells and the colitis with relapse induced by trinitrobenzenesulphonic acid in Wistar rats. **Mediators of Inflammation**, 2009, 432493.
- Lucke, K., Miehlke, S., Jacobs, E., and Schuppler, M. (2006). Prevalence of Bacteroides and Prevotella spp. in ulcerative colitis. **Journal of Medical Microbiology**, 55(Pt 5), 617-624.
- Ma, C., Yang, D., Wang, B., Wu, C., Wu, Y., Li, S., Liu, X., Lassen, K., Dai, L., and Yang, S. (2020). Gasdermin D in macrophages restrains colitis by controlling cGAS-mediated inflammation. **Science Advances**, 6(21), eaaz6717.
- Ma, S., Yeom, J., and Lim, Y. H. (2020). Dairy *Propionibacterium freudenreichii* ameliorates acute colitis by stimulating MUC2 expression in intestinal goblet cell in a DSS-induced colitis rat model. **Scientific Reports**, 10, 5523.
- Ma, Y., Guan, Q., Bai, A., Weiss, C. R., Hillman, C. L., Ma, A., Zhou, G., Qing, G., and Peng, Z. (2010). Targeting TGF-beta1 by employing a vaccine ameliorates fibrosis in a mouse model of chronic colitis. **Inflammatory Bowel Diseases**, 16(6), 1040-50.
- Ma, Y., Yue, J., Zhang, Y., Shi, C., Odenwald, M., Liang, W. G., Wei, Q., Goel, A., Gou, X., Zhang, J., Chen, S. Y., Tang, W. J., Turner, J. R., Yang, F., Liang, H., Qin, H., and Wu, X. (2017). ACF7 regulates inflammatory colitis and intestinal wound response by orchestrating tight junction dynamics. **Nature Communications**, 8, 15375.
- Ma, Y., Zhou, W., Wang, H., Wu, M., Jiang, S., Li, Y., Ma, C., Zhang, R., and He, J. (2024). The double-layer emulsions loaded with bitter melon (*Momordica charantia* L.) seed oil protect against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, 278(Pt 1), 134279.
- Maciejczyk, M., Żebrowska, E., Nesterowicz, M., Żendzian-Piotrowska, M., and Zalewska, A. (2022). α -Lipoic Acid Strengthens the Antioxidant Barrier and Reduces Oxidative, Nitrosative, and Glycative Damage, as well as Inhibits Inflammation and Apoptosis in the Hypothalamus but Not in the Cerebral Cortex of Insulin-Resistant Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2022, 7450514.

- Magadán-Corpas, P., Pérez-Valero, Á., Ye, S., Sordon, S., Huszcza, E., Popłoński, J., Villar, C. J., and Lombó, F. (2024). Gut Microbiota and Inflammation Modulation in a Rat Model for Ulcerative Colitis after the Intraperitoneal Administration of Apigenin, Luteolin, and Xanthohumol. *International Journal of Molecular Sciences*, 225(6), 3236.
- Magen-Rimon, R., Day, A. S., and Shaoul, R. (2023). Nutritional aspects of inflammatory bowel disease. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 17(7), 731-740.
- Magnani, L., Colantuoni, M., and Mortellaro, A. (2022). Gasdermins: New Therapeutic Targets in Host Defense, Inflammatory Diseases, and Cancer. *Frontiers in immunology*, 13, 898298.
- Magne, F., Gotteland, M., Gauthier, L., Zazueta, A., Pessoa, S., Navarrete, P., and Balamurugan, R. (2020). The Firmicutes/Bacteroidetes Ratio: A Relevant Marker of Gut Dysbiosis in Obese Patients? *Nutrients*, 12(5), 1474.
- Mah, C., Jayawardana, T., Leong, G., Koentgen, S., Lemberg, D., Connor, S. J., Rokkas, T., Grimm, M. C., Leach, S. T., and Hold, G. L. (2023). Assessing the Relationship between the Gut Microbiota and Inflammatory Bowel Disease Therapeutics: A Systematic Review. *Pathogens*, 12(2), 262.
- Mahdavi-Roshan, M., Salari, A., Kheirikhah, J., and Ghorbani, Z. (2022). The Effects of Probiotics on Inflammation, Endothelial Dysfunction, and Atherosclerosis Progression: A Mechanistic Overview. *Heart, Lung and Circulation*, 31(5), e45-e71.
- Majumder, A., and Bano, S. (2024). How the Western Diet Thwarts the Epigenetic Efforts of Gut Microbes in Ulcerative Colitis and Its Association with Colorectal Cancer. *Biomolecules*, 14(6), 6332022 Feb 10. PMID: 35153150.
- Mann, E. R., Lam, Y. K., and Uhlig, H. H. (2024). Short-chain fatty acids: linking diet, the microbiome and immunity. *Nature Reviews Immunology*, 24(8), 577-595.
- Martin, D. A., and Bolling, B. W. A. (2015). Review of the efficacy of dietary polyphenols in experimental models of inflammatory bowel diseases. *Food & Function*, 6(6), 1773-86.
- Masahiro, H., Suzuki, K., Kassai, Y., and Konishi, Y. (2024). 3-Nitrotyrosine shortens axons of non-dopaminergic neurons by inhibiting mitochondrial motility. *Neurochemistry International*, 179, 105832.
- McDowell C., Farooq U., and Haseeb M. (2023). Inflammatory Bowel Disease. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Mehta, S., Silver, A., and Lindsay, J. (2013). Review article: strategies for the management of chronic unremitting ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 38(2), 77-97.
- Melton, S. L., Day, A. S., Bryant, R. V., and Halmos, E. P. (2024). Revolution in diet therapy for inflammatory bowel disease. *JGH Open*, 8(7), e13097.

- Minaiyan, M., Abolhasani, S., Sima, S., and Yegdaneh, A. (2024). Effect of *Tamarindus indica* L. fruit pulp and seed extracts on experimental ulcerative colitis in rats. **Research in Pharmaceutical Sciences**, 19(3), 276-286.
- Mischopoulou, M., D'Ambrosio, M., Bigagli, E., Luceri, C., Farrugia, G., and Cipriani, G. (2022). Role of Macrophages and Mast Cells as Key Players in the Maintenance of Gastrointestinal Smooth Muscle Homeostasis and Disease. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, 13(6), 1849-1862.
- Mo, J., Ni, J., Zhang, M., Xu, Y., Li, Y., Karim, N., and Chen W. (2022). Mulberry Anthocyanins Ameliorate DSS-Induced Ulcerative Colitis by Improving Intestinal Barrier Function and Modulating Gut Microbiota. **Antioxidants (Basel)**, 11(9), 1674.
- Moeinian, M., Abdolghaffari, A. H., Nikfar, S., Momtaz, S., and Abdollahi, M. (2019). Effects of alpha lipoic acid and its derivative "andrographolid-lipoic acid-1" on ulcerative colitis: A systematic review with meta-analysis of animal studies, **Journal of Cellular Biochemistry**, 120(4), 4766-4782.
- Moonwiriyaakit, A., Pathomthongtaweethai, N., Steinhagen, P. R., Chantawichitwong, P., Satianrapapong, W., and Pongkorpsakol, P. (2023). Tight junctions: from molecules to gastrointestinal diseases. **Tissue Barriers**, 11(2), 2077620.
- Morais, V. N., Gomes, M. J. C., Grancieri, M., Moreira, L. P. D., Toledo, R. C. L., Costa, N. M. B., da Silva, B. P., and Martino, H. S. D. (2023). Chia (*Salvia hispanica* L.) flour modulates the intestinal microbiota in Wistar rats fed a high-fat and high-fructose diet. **Food Research International**, 172, 113095.
- Motallebzadeh, E., Aghighi, F., Vakili, Z., Talaei, S. A., and Mohseni, M. (2023). Neuroprotective effects of alpha-lipoic acid on radiation-induced brainstem injury in rats. **Research in Pharmaceutical Sciences**, 18(2), 202-209.
- Moura, F. A., De Andrade, K. Q., De Araújo, O. R., Nunes-Souza, V., Santos, J. C., Rabelo, L. A., and Goulart, M. O. (2016). Colonic and hepatic modulation by lipoic acid and/or n-acetylcysteine supplementation in mild ulcerative colitis induced by dextran sodium sulfate in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2016, 4047362.
- Muro, P., Zhang, L., Li, S., Zhao, Z., Jin, T., Mao, F., and Mao, Z. (2024). The emerging role of oxidative stress in inflammatory bowel disease. **Frontiers in Endocrinology(Lausanne)**, 15,1390351.
- Nagib, M. M., Tadros, M. G., ELSayed, M. I., and Khalifa, A. E. (2013). Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of olmesartan medoxomil ameliorate experimental colitis in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 271, 106-113.
- Nakashima, J., Patel, P., and Preuss, C. V. (2024). Mesalamine (USAN). 2024 Feb 15. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 31869178.
- Nasiri, G., Bastani, A., Haji-Aghamohammadi, A. A., Nooshabadi, M. R., Shahmirzalou, P., and Haghighian, H. K. (2021). Effects of probiotic and alpha-lipoic acid supplements, separately or in combination on the anthropometric indicators and maintenance of weight in overweight individuals. **Clinical Nutrition ESPEN**, 41, 242-248.

- Neurath, M. F. (2014). Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*, 14(5), 329-42.
- Ng, S. C., Shi, H. Y., Hamidi, N., Underwood, F. E., Tang, W., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J. C., and Chan, F. K. (2017). Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet*, 390, 2769-2778.
- Nighot, M., Ganapathy, A. S., Saha, K., Suchanec, E., Castillo, E. F., Gregory, A., Shapiro, S., Ma, T., and Nighot, P. (2021). Matrix Metalloproteinase MMP-12 Promotes Macrophage Transmigration Across Intestinal Epithelial Tight Junctions and Increases Severity of Experimental Colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*, 15(10), 1751-1765.
- Nighot, P., Al-Sadi, R., Rawat, M., Guo, S., Watterson, D. M., and Ma, T. (2015). Matrix metalloproteinase 9-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability contributes to the severity of experimental DSS colitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 309(12), G988-97.
- Ning, L., Zhou, Y.-L., Sun, H., Zhang, Y., Shen, C., Wang, Z., Xuan, B., Zhao, Y., Ma, Y., and Yan, Y. (2023). Microbiome and Metabolome Features in Inflammatory Bowel Disease via Multi-Omics Integration Analyses across Cohorts. *Nature Communications*, 14, 7135.
- Nitzan, O., Elias, M., Peretz, A., and Saliba, W. (2016). Role of antibiotics for treatment of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 22(3), 1078-87.
- Niu, Z., Li, X., Yang, X., and Sun, Z. (2024). Protective effects of sinomenine against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in rats via alteration of HO-1/Nrf2 and inflammatory pathway. *Inflammopharmacology*, 32(3), 2007-2022.
- Oliveira, L. G., Cunha, A. L., Duarte, A. C., Castañón, M. C., Chebli, J. M., and Aguiar, J. A. (2014). Positive correlation between disease activity index and matrix metalloproteinases activity in a rat model of colitis. *Arquivos de Gastroenterologia*, 51(2), 107-12.
- Osafo, N., Obiri, D. D., Danquah, K. O., Essel, L. B., and Antwi, A. O. (2019). Potential effects of xylopic acid on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 30(8), 732-744.
- Ottman, N., Smidt, H., de Vos, W. M., and Belzer, C. (2012). The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 104.
- Özbeyli, D., Berberoglu, A. C., Özen, A., Erkan, O., Başar, Y., Şen, T., Akakın, D., Yüksel, M., and Kasımay-Çakır, Ö. (2017). Protective effect of alpha-lipoic acid, aerobic or resistance exercise from colitis in second hand smoke exposed young rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 44(1), 62-70.
- Özden, H., Şahin, Y., Kilitçi, A., Karaca, G., Gömeç, M., Yildiz, A., and Uçar, C. (2022). Comparison of the healing effects of mesazaline and *Ganoderma lucidum* in acetic acid-induced colitis in rats. *Annals of Surgical Treatment and Research*, 102(1), 29-35.

- Özgürsoy-Uran, B. N., Başak, N., and Saritaş-Yüksel, E. (2020). Güncel Kılavuzlar Işığında Anti Tümör Nekrozis Faktör-Alfa Biyolojik Ajanların Klinik Kullanımı. **Güncel Gastroenteroloji**, 24(3), 138-146.
- Packer, L., Witt, E. H., and Tritschler, H. J. (1995). Alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. **Free Radical Biology and Medicine**, 19(2), 227-50.
- Pakdin, M., Zarei, L., Bagheri- Lankarani, K., and Ghahramani, S. (2023). The cost of illness analysis of inflammatory bowel disease. **BMC Gastroenterology**, 23(1), 21.
- Paramsothy, S., Kamm, M. A., Kaakoush, N. O., Walsh, A. J., van den Bogaerde, J., Samuel, D., Leong, R. W. L., Connor, S., Ng, W., Paramsothy, R., Xuan, W., Lin, E., Mitchell, H. M., and Borody, T. J. (2017). Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. **Lancet**, 389(10075), 1218-1228.
- Paredes -Méndez, J. E., Junes-Pérez, S. I., Vargas- Marcacuzco, H. T., Alosilla -Sandoval, P. A., Gutiérrez -Córdova, I. B., Fernández- Luque, J. L., and Alvarado-Ortiz- Blanco, E. (2021). Manejo médico quirúrgico de la enfermedad inflamatoria intestinal moderada-severa [Medical and surgical management of moderate-to-severe inflammatory bowel disease]. **La Revista de Gastroenterología del Perú**, 41(2),79-85.
- Park, C., Cha, H. J., Lee, H., Kim, G. Y., and Choi, Y. H. (2021). The regulation of the TLR4/NF-κB and Nrf2/HO-1 signaling pathways is involved in the inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammation and oxidative reactions by morroniside in RAW 264.7 macrophages. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 706, 108926.
- Peterson, M. A., and Wu, A. W. (2018). Disorders of the Large Intestine. In R. Walls, R. Hockberger, M. Gausche-Hill (Eds.), *Rosen's Emergency Medicine: Concepts and Clinical Practice* (pp. 1159-1162). Philadelphia: Elsevier.
- Peyrin-Biroulet, L., Ferrante, M., Magro, F., Campbell, S., Franchimont, D., Fidder, H., Strid, H., Ardizzone, S., Veereman-Wauters G., Chevaux, J. B., Allez, M., Danese, S., and Sturm, A. (2011). Scientific workshop of the ecco. i: impact of mucosal healing on the course of inflammatory bowel disease. **Journal of Crohn's and Colitis**, 5(5), 477-83.
- Piechota-Polanczyk, A. and Fichna, J. (2014). Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 387(7), 605-620.
- Porter, R. J., Kalla, R., and Ho, G. T. (2020). Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. **F1000Research**, 9, F1000 Faculty Rev-294.
- Pravda, J. (2005). Radical induction theory of ulcerative colitis. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, 11, 2371.
- Privitera, G., Pugliese, D., Rapaccini, G. L., Gasbarrini, A., Armuzzi, A., and Guidi, L. (2021). Predictors and Early Markers of Response to Biological Therapies in Inflammatory Bowel Diseases. **Journal of Clinical Medicine**, 10(4),853.

- Probert, C. S., Dignass, A. U., Lindgren, S., Oudkerk- Pool, M., and Marteau. P. (2014). Combined oral and rectal mesalazine for the treatment of mild-to-moderately active ulcerative colitis: rapid symptom resolution and improvements in quality of life. *Journal of Crohn's and Colitis*, 8(3), 200-7.
- Qiu, L., Yan, C., Yang, Y., Liu, K., Yin, Y., Zhang, Y., Lei, Y., Jia, X., and Li, G. (2024). Morin alleviates DSS-induced ulcerative colitis in mice via inhibition of inflammation and modulation of intestinal microbiota. *International Immunopharmacology*, 140, 112846.
- Radziszewska, M., Smarkusz-Zarzecka, J., Ostrowska, L., and Pogodziński, D. (2022). Nutrition and Supplementation in Ulcerative Colitis. *Nutrients*, 14(12), 2469.
- Raine, T., Bonovas, S., Burisch, J., Kucharzik, T., Adamina, M., Annese, V., Bachmann, O., Bettenworth, D., Chaparro, M., Czuber-Dochan, W., Eder, P., Ellul, P., Fidalgo, C., Fiorino, G., Gionchetti, P., Gisbert, J. P., Gordon, H., Hedin, C., Holubar, S., Iacucci, M., Karmiris, K., Katsanos, K., Kopylov, U., Lakatos, P. L., Lytras, T., Lyutakov, I., Noor, N., Pellino, G., Piovani, D., Savarino, E., Selvaggi, F., Verstockt, B., Spinelli, A., Panis, Y., and Doherty, G. (2022). ECCO Guidelines on Therapeutics in Ulcerative Colitis: Medical Treatment. *Journal of Crohn's and Colitis*, 16(1), 2-17.
- Rana, S., Sharma, S., Prasad, K., Sinha, S., and Singh, K. (2014). Role of oxidative stress & antioxidant defence in ulcerative colitis patients from north India. *The Indian Journal of Medical Research*, 139, 568.
- Ranson, N., Veldhuis, M., Mitchell, B., Fanning, S., Cook, A. L., Kunde, D., and Eri, R. (2018). NLRP3-Dependent and -Independent Processing of Interleukin (IL)-1 β in Active Ulcerative Colitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1), 57.
- Rao, K., Qin, S., Yang, Y., Zhan, K., Wu, H., Zheng, H., and Huang, S. (2022). Shenling baizhu powder alleviates tnbs-induced colitis in rats by improving intestinal epithelial permeability and inhibiting inflammation through the tlr5/myd88/nf-kb pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 883918.
- Reinisch, W., Sandborn, W. J., Hommes, D. W., D'Haens, G., Hanauer, S., Schreiber, S., Panaccione, R., Fedorak, R. N., Tighe, M. B., Huang, B., Kampman, W., Lazar, A., and Thakkar, R. (2011). Adalimumab for induction of clinical remission in moderately to severely active ulcerative colitis: results of a randomised controlled trial. *Gut*, 60(6), 780-7.
- Repici, A., Hasan, A., Capra, A. P., Scuderi, S. A., Paterniti, I., Campolo, M., Ardizzone, A., and Esposito, E. (2024). Marine Algae and Deriving Biomolecules for the Management of Inflammatory Bowel Diseases: Potential Clinical Therapeutics to Decrease Gut Inflammatory and Oxidative Stress Markers? *Marine Drugs*, 22(8), 336.
- Rindom- Krogsgaard, L., Kristian- Munck, L., Bytzer, P., and Wildt, S. (2019). An altered composition of the microbiome in microscopic colitis is driven towards the composition in healthy controls by treatment with budesonide. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 254(4), 446-452.

- Rochette, L., Ghibu, S., Muresan, A., and Vergely, C. (2015). Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 93(12), 1021-7.
- Roy, P., Tomassoni, D., Martinelli, I., Bellitto, V., Nittari, G., Amenta, F., and Tayebati, S. K. (2024). Protective effects of the R-(+)-thioctic acid treatment: possible anti-inflammatory activity on heart of hypertensive rats. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24(1), 281.
- Ruchika, Bhardwaj, N., and Saneja, A. (2024). Orally fast dissolving α -lipoic acid electrospun nanofibers mitigates lipopolysaccharide induced inflammation in RAW 264.7 macrophages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 264(Pt 1), 130623.
- Rutgeerts, P., Vermeire, S., and Van Assche, G. (2007). Mucosal healing in inflammatory bowel disease: impossible ideal or therapeutic target? *Gut*, 56(4), 453-5.
- Ryu, S. H., Park, E. Y., Kwak, S., Heo, S. H., Ryu, J. W., Park, J. H., Choi, K. C., and Lee, S. W. (2016). Protective effect of α -lipoic acid against radiation-induced fibrosis in mice. *Oncotarget*, 7(13), 15554-65.
- Salberg, S., Macowan, M., Yamakawa, G. R., Beveridge, J. K., Noel, M., Marsland, B. J., and Mychasiuk, R. (2023). Gut instinct: Sex differences in the gut microbiome are associated with changes in adolescent nociception following maternal separation in rats. *Developmental Neurobiology*, 83(5-6), 219-233.
- Samman, F. S., Elaidy, S. M., Essawy, S. S., and Hassan, M. S. (2018). New insights on the modulatory roles of metformin or alpha-lipoic acid versus their combination in dextran sulfate sodium-induced chronic colitis in rats. *Pharmacological Reports*, 70(3), 488-496.
- Samsami-Kor, M., Daryani, N. E., Asl, P. R., and Hekmatdoost, A. (2015). Anti-Inflammatory Effects of Resveratrol in Patients with Ulcerative Colitis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Pilot Study. *Archives of Medical Research*, 4(4), 280-5.
- Sandborn, W. J., Colombel, J. F., Enns, R., Feagan, B. G., Hanauer, S. B., Lawrance, I. C., Panaccione, R., Sanders, M., Schreiber, S., Targan, S., van Deventer, S., Goldblum, R., Despain, D., Hogge, G. S., and Rutgeerts, P. (2005). International efficacy of natalizumab as active Crohn's therapy (enact-1) trial group; evaluation of natalizumab as continuous therapy (enact-2) trial group. natalizumab induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *New England Journal of Medicine*, 353(18), 1912-25.
- Schieber, M., and Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*, 24(10), R453-R462.
- Senturk, A., Alver, A., Karkucak, M., Küçük, M., and Ahmadi- Rendi, T. (2023). Oxidative modification of carbonic anhydrase by peroxynitrite trigger immune response in mice and rheumatic disease patients. *The American Journal of The Medical Sciences*, 366(6), 438-448.

- Seo, S. U., Kamada, N., Muñoz-Planillo, R., Kim, Y. G., Kim, D., Koizumi, Y., Hasegawa, M., Himpfl, S. D., Browne, H. P., Lawley, T. D., Mobley, H. L., Inohara, N., and Núñez, G. (2015). Distinct commensals induce interleukin-1 β via nlrp3 inflammasome in inflammatory monocytes to promote intestinal inflammation in response to injury. *Immunity*, 42(4), 744-55.
- Serrano-Fernandez, V., Laredo-Aguilera, J. A., Navarrete-Tejero, C., Molina-Gallego, B., Lopez-Fernandez-Roldan, A., and Carmona-Torres, J. M. (2024). The Role of Environmental and Nutritional Factors in the Development of Inflammatory Bowel Diseases: A Case-Control Study. *Nutrients*, 16(15), 2463.
- Serrya, M. S., El-Sheakh, A. R., and Makled, M. N. (2021). Evaluation of the therapeutic effects of mycophenolate mofetil targeting Nrf-2 and NLRP3 inflammasome in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Life Sciences*, 271, 119154.
- Shahid, M., Raish, M., Ahmad A., Bin Jordan, Y. A., Ansari, M. A., Ahad, A., Alkharfy, K. M., Alaofi, A. L., and Al-Jenoobi, F. I. (2022). Sinapic acid ameliorates acetic acid-induced ulcerative colitis in rats by suppressing inflammation oxidative stress, and apoptosis. *Molecules*. 27(13), 4139.
- Shanaida, M., Lysiuk, R., Mykhailenko, O., Hudz, N., Abdulsalam, A., Gontova, T., Oleshchuk, O., Ivankiv, Y., Shanaida, V., Lytkin, D., and Bjørklund, G. (2024). Alpha-lipoic Acid: An Antioxidant with Anti-Aging Properties for Disease Therapy. *Current Medicinal Chemistry*, doi: 10.2174/0109298673300496240416114827. Epub ahead of print. PMID: 38644711.
- Shang, L., Liu, H., Yu, H., Chen, M., Yang, T., Zeng, X., and Qiao, S. Core Altered Microorganisms in Colitis Mouse Model: A Comprehensive Time-Point and Fecal Microbiota Transplantation Analysis. *Antibiotics (Basel)*, 10(6),643.
- Shao, A., Zhao, Q., and Chen, M. (2024). Homocysteine Promotes Intestinal Inflammation in Colitis Mice Through the PGE2/STAT3 Signaling Pathway. *Digestive Diseases and Sciences*, 69(10), 3742-3752.
- Shastri, S., Shinde, T., Sohal, S. S., Gueven, N., and Eri, R. (2020). Idebenone protects against acute murine colitis via antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 484.
- Shen, Z. H., Zhu, C. X., Quan, Y. S., Yang, Z. Y., Wu, S., Luo, W. W., Tan, B., and Wang, X. Y. (2018). Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation. *World Journal of Gastroenterology*, 24(1), 5-14.
- Sheng, K., Zhang, G., Sun, M., He, S., Kong, X., Wang, J., Zhu, F., Zha, X., and Wang, Y. (2020). Grape seed proanthocyanidin extract ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis through intestinal barrier improvement, oxidative stress reduction, and inflammatory cytokines and gut microbiota modulation. *Food and Function*, 11(9), 7817-7829.
- Shi, J., Zhao, Y., Wang, K., Shi, X., Wang, Y., Huang, H., Zhuang, Y., Cai, T., Wang, F., and Shao, F. (2015). Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 526(7575), 660-5.

- Shukla, P. K., Meena, A. S., Rao, V., Rao, R. G., Balazs, L., and Rao, R. (2018). Human Defensin-5 Blocks Ethanol and Colitis-Induced Dysbiosis, Tight Junction Disruption and Inflammation in Mouse Intestine. **Scientific Reports**, 8(1), 16241.
- Siracusa, R., Fusco, R., Peritore, A. F., Cordaro, M., D'Amico, R., Genovese, T., Gugliandolo, E., Crupi, R., Smeriglio, A., and Mandalari, G. (2020). The antioxidant and anti-inflammatory properties of *Anacardium occidentale* L. cashew nuts in a mouse model of colitis. **Nutrients**, 12, 834.
- Solomonson, A., and DeBerardinis, R. J. (2018). Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation. **The Journal of Biological Chemistry**, 293(20), 7522-7530.
- Stein, R. A., and Riber, L. (2023). Epigenetic effects of short-chain fatty acids from the large intestine on host cells. **Microlife**, 4, uqad032.
- Stojanov, S., Berlec, A., and Štrukelj, B. (2020). The Influence of Probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Treatment of Obesity and Inflammatory Bowel disease. **Microorganisms**, 8(11), 1715.
- Subramanian, S., Du, C., and Tan, X. D. (2020). Can rodent model of acetic acid-induced colitis be used to study the pathogenesis of colitis-associated intestinal fibrosis?. **Journal of Investigative Surgery**, 35(1), 223-224.
- Sulaimany, S., Farahmandi, K., and Mafakheri, A. (2024). Computational prediction of new therapeutic effects of probiotics. **Scientific Reports**, 14(1), 11932.
- Sun, J., and Sun, M. J. (2016). [Mechanism of alpha-lipoic acid in treating TNBS-induced colitis in mice]. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, 96(40), 3246-3250. Chinese.
- Sun, J., Wang, S., Zhao, Z., Lu, J., Zhang, Y., An, W., Li, W., Yang, L., and Tong, X. (2024). Oxymatrine Attenuates Ulcerative Colitis through Inhibiting Pyroptosis Mediated by the NLRP3 Inflammasome. **Molecules**, 29(12), 2897.
- Sun, J., Zhang, H., Guan, L., Zhou, H., and Sun, M. (2015). Alpha-lipoic acid attenuates trinitrobenzene sulfonic acid-induced ulcerative colitis in mice. **Journal of Experimental and Clinical Medicine**, 8(1), 358-67.
- Sun, Q., Wang, C., Yan, B., Shi, X., Shi, Y., Qu, L., and Liang, X. (2019). Jinmaitong Ameliorates Diabetic Peripheral Neuropathy Through Suppressing TXNIP/NLRP3 Inflammasome Activation In The Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Model. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity**, 12, 2145-2155.
- Süntar, I., Cevik, C. K., Çeribaşı, A. O., and Gökbulut, A. (2020). Healing effects of *Cornus mas* L. in experimentally induced ulcerative colitis in rats: From ethnobotany to pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, 248, 112322.
- Szabo, E., Nagy, B., Czajlik, A., Komlodi, T., Ozohanics, O., Tretter, L., and Ambrus, A. (2024). Mitochondrial Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complexes: Recent Developments on Structure and Function in Health and Disease. **Subcellular Biochemistry**, 104, 295-381.

- Sztolsztener, K., Hodun, K., and Chabowski, A. (2022). α -lipoic acid ameliorates inflammation state and oxidative stress by reducing the content of bioactive lipid derivatives in the left ventricle of rats fed a high-fat diet. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 1868(9), 166440.
- Taha, M., Elazab, S. T., Abdelbagi, O., Saati, A. A., Babateen, O., Baokbah, T. A. S., Qusty, N. F., Mahmoud, M. E., Ibrahim, M. M., and Badawy, A. M. (2023). Phytochemical analysis of *Origanum majorana* L. extract and investigation of its antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory effects against experimentally induced colitis downregulating Th17 cells. *The Journal of Ethnopharmacology*, 317, 116826.
- Tanideh, N., Sadeghi, F., Amanat, S., Firoozi, D., Noorafshan, A., Iraj, A., and Koohi-Hosseinabadi, O. (2020). Protection by pure and genistein fortified extra virgin olive oil, canola oil, and rice bran oil against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Food and Function*, 11(1), 860-870.
- Teichert, J., Tuemmers, T., Achenbach, H., Preiss, C., Hermann, R., Ruus, P., and Preiss, R. (2005). Pharmacokinetics of alpha-lipoic acid in subjects with severe kidney damage and end-stage renal disease. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 45(3), 313-28.
- Tetikçok, R., Özçetin, M., Çeltek, N. Y., Oktay, G., Ünlü, U., and Şengül, M. (2015). Lipoik asit. *Çağdaş Tıp Dergisi*, 5(3), 206-209.
- Thomas, S. P., and Denu, J. M. (2021). Short-chain fatty acids activate acetyltransferase p300. *Elife*, 10, e72171.
- Tian, T., Wang, Z., and Zhang, J. (2017). Pathomechanisms of oxidative stress in inflammatory bowel disease and potential antioxidant therapies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 4535194.
- Toklu, H. Z., Hakan, T., Celik, H., Biber, N., Erzik, C., Ogunc, A. V., Akakin, D., Cikler, E., Cetinel, S., Ersahin, M., and Sener, G. (2010). Neuroprotective effects of alpha-lipoic acid in experimental spinal cord injury in rats. *Journal of Spinal Cord Medicine*, 33(4), 401-9.
- Tokmak, D., Şirinyıldız, F., and Ek, R. O. (2021). Protective and Therapeutic Effects of Beta Glucan Administration on Experimental Ulcerative Colitis Model Induced by TNBS. *Duzce Medical Journal*, 23(3), 276-281.
- Tourkochristou, E., Aggeletopoulou, I., Konstantakis, C., and Triantos, C. (2019). Role of NLRP3 inflammasome in inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 25(33), 4796-4804.
- Towbin, H., Staehelin, T., and Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(9), 4350-4354.
- Török, S., Almási, N., Veszelka, M., Börzsei, D., Szabó, R., and Varga, C. (2023). Protective Effects of H₂S Donor Treatment in Experimental Colitis: A Focus on Antioxidants. *Antioxidants (Basel)*, 12(5), 1025.

- Tripathi, A. K., Ray, A. K., Mishra, S. K., Bishen, S. M., Mishra, H., and Khurana. A. (2023). Molecular and Therapeutic Insights of Alpha-Lipoic Acid as a Potential Molecule for Disease Prevention. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 33(2), 272-287.
- Tripathi, K., and Feuerstein, J. D. (2019). New developments in ulcerative colitis: latest evidence on management, treatment, and maintenance. *Drugs in Context*, 8, 212572.
- Trivedi, P. P., and Jena, G. B. (2013). Role of α -lipoic acid in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice: studies on inflammation, oxidative stress, DNA damage and fibrosis. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 339-55.
- Uygur, A. G., Şingirik, E., and Yücel, A. H. (2019). Metotreksat kaynaklı hasarlarda alfa lipoik asit'in koruyucu etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 28(3), 227-236.
- Ülker, İ., and Akbulut, G. (2017). Ülseratif kolit hastalığına güncel diyetetik bakış, *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 2(1), 25-31.
- Ümit, H., ve Fırat, D. (2012). İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında Nutrisyon. *Güncel Gastroenteroloji*, 16(2), 166-170.
- Van-Buiten, C. B., Seitz, V. A., Metcalf, J. L., and Raskin. I. (2024). Dietary Polyphenols Support *Akkermansia muciniphila* Growth via Mediation of the Gastrointestinal Redox Environment. *Antioxidants (Basel)*, 13(3), 304.
- Varasteh, S., Fink-Gremmels, J., Garssen, J., and Braber, S. (2018) α -Lipoic acid prevents the intestinal epithelial monolayer damage under heat stress conditions: model experiments in Caco-2 cells. *European Journal of Nutrition*, 57(4), 1577-1589.
- Velankanni, P., Go, S. H., Jin, J. B., Park, J. S., Park, S., Lee, S. B., Kwon, H. K., Pan, C. H., Cha, K. H., and Lee, C. G. (2023). *Chlorella vulgaris* Modulates Gut Microbiota and Induces Regulatory T Cells to Alleviate Colitis in Mice. *Nutrients*, 15(15), 3293.
- Villanacci, V., Reggiani-Bonetti, L., Salviato, T., Leoncini, G., Cadei, M., Albarello, L., Caputo, A., Aquilano, M. C., Battista, S., and Parente, P. (2021). Histopathology of IBD Colitis. A practical approach from the pathologists of the Italian Group for the study of the gastrointestinal tract (GIPAD). *Pathologica*, 113(1), 39-53.
- Villavicencio-Tejo, F., and Quintanilla, R. A. (2021). Contribution of the Nrf-2 Pathway on Oxidative Damage and Mitochondrial Failure in Parkinson and Alzheimer's Disease. *Antioxidants (Basel)*, 10(7), 1069.
- Wang, B., Liu, J., Lei, R., Xue, B., Li, Y., Tian, X., Zhang, K., and Luo, B. (2022). Cold exposure, gut microbiota, and hypertension: A mechanistic study. *Science of the Total Environment*, 833, 155199.
- Wang, W., Chen, L., Zhou, R., Wang, X., Song, L., Huang, S., Wang, G., and Xia, B. (2014). Increased proportions of Bifidobacterium and the Lactobacillus group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(2), 398-406.

- Wang, F., Yuan, Q., Chen, F., Pang, J., Pan, C., Xu, F., and Chen, Y. (2021). Fundamental Mechanisms of the Cell Death Caused by Nitrosative Stress. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 742483.
- Wang, Y. H., Dong, J., Zhang, J. X., Zhai, J., and Ge, B. (2016b). Effects of mimic of manganese superoxide dismutase on 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. *Archives of Pharmacal Research*, 39(9), 1296-1306.
- Wang, Z., Li, S., Cao, Y., Tian, X., Zeng, R., Liao, D. F., and Cao, D. (2016a). Oxidative stress and carbonyl lesions in ulcerative colitis and associated colorectal cancer. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 9875298.
- Wasti, S., Sah, N., Lee, C. N., Jha, R., and Mishra, B. (2021). Dietary supplementation of alpha-lipoic acid mitigates the negative effects of heat stress in broilers. *PLoS One*, 16(7), e0254936.
- Wu, Y., Jha, R., Li, A., Liu, H., Zhang, Z., Zhang, C., Zhai, Q., and Zhang, J. (2022). Probiotics (*Lactobacillus plantarum* HNU082) Supplementation Relieves Ulcerative Colitis by Affecting Intestinal Barrier Functions, Immunity-Related Gene Expression, Gut Microbiota, and Metabolic Pathways in Mice. *Microbiology Spectrum*, 10(6), e0165122.
- Xia, X., Lin, H., Luo, F., Wu, X., Zhu, L., Chen, S., Luo, H., Ye, F., Peng, X., Zhang, Y., Yang, G., and Lin, Q. (2022). Oryzanol Ameliorates DSS-Stimulated Gut Barrier Damage via Targeting the Gut Microbiota Accompanied by the TLR4/NF- κ B/NLRP3 Cascade Response In Vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(50), 15747-15762.
- Xia, P., Li, R., Chen, M., Zeng, F., Zhou, W., and Hou, T. (2024). Proanthocyanidins and β -Glucan Synergistically Regulate Intestinal Inflammation in Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis Mice. *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(35), 19366-19377.
- Xiao, J., Sun, K., Wang, C., Abu-Amer, Y., and Mbalaviele, G. (2022). Compound loss of GSDMD and GSDME function is necessary to achieve maximal therapeutic effect in colitis. *Journal of Translational Autoimmunity*, 5, 100162.
- Xinjun, C., Chunjiang, Z., Yaping, J., Chenhui, L., and Junshu, W. (2019). Different Drugs in Modulating Gut Microbiome of Colitis Mice. *International Journal on Complementary and Alternative Medicine*, 9(2), 555757.
- Xiong, Y., Li, Q., Ding, Z., Zheng, J., Zhou, D., Wei, S., Han, X., Cheng, X., Li, X., and Xue, Y. (2022) Dietary α -lipoic acid requirement and its effects on antioxidant status, carbohydrate metabolism, and intestinal microflora in oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* (De Haan). *Aquaculture*, 547, 737531.
- Xue, J. C., Yuan, S., Hou, X. T., Meng, H., Liu, B. H., Cheng, W. W., Zhao, M., Li, H. B., Guo, X. F., Di, C., Li, M. J., and Zhang, Q. G. (2023). Natural products modulate NLRP3 in ulcerative colitis. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1265825.

- Xue, S., Xue, Y., Dou, D., Wu, H., Zhang, P., Gao, Y., Tang, Y., Xia, Z., Yang, S., and Gu, S. (2022). Kui jie tong ameliorates ulcerative colitis by regulating gut microbiota and nlrp3/caspase-1 classical pyroptosis signaling pathway. *Disease Markers*, 2022, 2782112.
- Yadav, S., Dwivedi, A., Tripathi, A., and Tripathi, A. K. (2022) Therapeutic potential of short-chain fatty acid production by gut microbiota in neurodegenerative disorders. *Nutrition Research*, 106, 72-84.
- Yaman, S., Özdemir, Z., Şit, M., Özer, B., and Çatal, O. (2018). Antioksidanları antioksidanı alfa lipoik asit, *First International Symposium on Innovative Approches in Scientific Studies, Setsci Conference Idexing System*, Vol-2 388-390, Antalya, Turkey.
- Yang, Z. H., Liu, F., Zhu, X. R., Suo, F. Y., Jia, Z. J. and Yao, S. K. (2021). Altered profiles of fecal bile acids correlate with gut microbiota and inflammatory responses in patients with ulcerative colitis. *World Journal of Gastroenterology*, 27(24), 3609-3629.
- Yang, C., Du, Y., Ren, D., Yang, X., and Zhao, Y (2021). Gut microbiota-dependent catabolites of tryptophan play a predominant role in the protective effects of turmeric polysaccharides against DSS-induced ulcerative colitis. *Food and Function*, 12(20), 9793-9807.
- Yang, Y., Xiao, Y., Jiang, Y., Luo, J., Yuan, J., Yan, J., and Tong, Q. (2022). Alpha-Lipoic Acid Promotes Intestinal Epithelial Injury Repair by Regulating MAPK Signaling Pathways. *Mediators of Inflammation*, 2022, 1894379.
- Yapar, S. B., ve Eskiocak, S. (2014). Alfa lipoik asidin rat karaciğer homojenatlarında hidrojen peroksit ile indüklenmiş lipid peroksidasyonuna etkisi. *Türk Biyokimya Dergisi*, 39(3), 317-327.
- Yu, M., Jia, H., Zhou, C., Yang, Y., Zhao, Y., Yang, M., and Zou, Z. (2017). Variations in gut microbiota and fecal metabolic phenotype associated with depression by 16S rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 138, 231-239.
- Yu, B., Wang, Y., Tan, Z., Hong, Z., Yao, L., Huang, S., Li, Z., Zhang, L., and Li. H. (2024). Resveratrol ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by acting on mouse gut microbiota. *Inflammopharmacology*, 32(3), 2023-2033.
- Yu, G., Yu, H., Yang, Q., Wang, J., Fan, H., Liu, G., Wang, L., Bello, B. K., Zhao, P., Zhang, H., and Dong, J. (2022). *Vibrio harveyi* infections induce production of proinflammatory cytokines in murine peritoneal macrophages via activation of p38 MAPK and NF- κ B pathways, but reversed by PI3K/AKT pathways. *Developmental and Comparative Immunology*, 127, 104292.
- Yuan, L., Li, W., Hu, S., Wang, Y., Wang, S., Tian, H., Sun, X., Yang, X., Hu, M., and Zhang, Y. (2024). Protective effects of ginsenosides on ulcerative colitis: a meta-analysis and systematic review to reveal the mechanisms of action. *Inflammopharmacology*, 32(5), 3079-3098.

- Yuksel, M., Ates, I., Kaplan, M., Arikan, M. F., Ozin, Y. O., Kilic, Z. M. Y., Topcuoglu, C., and Kayacetin, E. (2017). Is Oxidative Stress Associated with Activation and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease? *The Journal of Medical Biochemistry*, 36(4), 341-348.
- Yüksel, B., Bayram, S., Cindoruk, M., and Küçük. H. (2022). Relationship of disease-specific activity with depression and inflammatory markers in inflammatory bowel diseases. *The Turkish Journal of Academic Gastroenterology*, 21, 15-20.
- Yürük, A. A., ve Ayaz, A. (2014). Alfa Lipoik asidin sağlık üzerine etkileri. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 1(1), 11-23.
- Zakerska-Banaszak, O., Zuraszek-Szymanska, J., Eder, P., Ladziak, K., Slomski, R., and Skrzypczak-Zielinska, M. (2024). The Role of Host Genetics and Intestinal Microbiota and Metabolome as a New Insight into IBD Pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(17), 9589.
- Zehiroglu, C., and Ozturk-Sarikaya, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *The Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4757-4774.
- Zeng, B., Huang, Y., Chen, S., Xu, R., Xu, L., Qiu, J., Shi, F., Liu, S., Zha, Q., Ouyang, D., and He, X. (2022). Dextran sodium sulfate potentiates NLRP3 inflammasome activation by modulating the KCa3.1 potassium channel in a mouse model of colitis. *Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 19(8), 925-943.
- Zhang, F., Li, Y., Wang, X., Wang, S., and Bi, D. (2019). The impact of *lactobacillus plantarum* on the gut microbiota of mice with DSS-induced colitis. *BioMed Research International*, 2019, 3921315.
- Zhang, H. M., Yuan, S., Meng, H., Hou, X. T., Li, J., Xue, J. C., Li, Y., Wang, Q., Nan, J. X., Jin, X. J., and Zhang, Q. G. (2022). Stem cell-based therapies for inflammatory bowel. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8494.
- Zhang, K., Zhang, Q., Qiu, H., Ma, Y., Hou, N., Zhang, J., Kan, C., Han, F., Sun, X., and Shi, J. (2024). The complex link between the gut microbiome and obesity-associated metabolic disorders: Mechanisms and therapeutic opportunities. *Heliyon*, 10(17), e37609.
- Zhang, S., Liang, Y., Yao, J., Li, D. F., and Wang, L. S. (2022). Role of Pyroptosis in Inflammatory Bowel Disease (IBD): From Gasdermins to DAMPs. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 833588.
- Zhang, W. J., and Frei, B. (2001). Alpha-lipoic acid inhibits TNF-alpha-induced NF-kappaB activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. *FASEB Journal*, 15(13), 2423-32.
- Zhang, Y., Si, X., Yang, L., Wang, H., Sun, Y., and Liu, N. (2022). Association between intestinal microbiota and inflammatory bowel disease. *Animal Models and Experimental Medicine*, 5(4), 311-322.

- Zhao, M., Tian, J., Hou, W., Yin, L., and Li, W. (2024). Global research trends on the associations between the microbiota and lung cancer: a visualization bibliometric analysis (2008-2023). *Frontiers in Microbiology*, 15, 1416385.
- Zhao, N., Shen, M., Zhao, R., Ao, D., Luo, Z., Zhang, Y., Xu, Z., Fan, F., and Zheng, H. (2024). Sanguinarine alleviates ulcerative colitis in mice by regulating the Nrf2/NF- κ B pathway. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 44(8), 1467-1475.
- Zhao, P., Hou, Y., Yan, T., Kang, J., Tian, Y., Li, J., Zeng, C., Geng, F., and Liao, Q. (2024). Synthesis and biological evaluation of chrysin derivatives containing α -lipoic acid for the treatment of inflammatory bowel disease. *Frontiers in Chemistry*, 12, 1406051.
- Zhao, S., Gong, Z., Zhou, J., Tian, C., Gao, Y., Xu, C., Chen, Y., Cai, W., and Wu, J. (2016). Deoxycholic Acid Triggers NLRP3 Inflammasome Activation and Aggravates DSS-Induced Colitis in Mice. *Frontiers in Immunology*, 7, 536.
- Zhao, Y., Nakatsu, C., Jones-Hall, Y., and Jiang, Q. (2022). Supplementation of polyphenol-rich grapes attenuates colitis, colitis-associated colon cancer, and disease-associated dysbiosis in mice, but fails to mitigate colitis in antibiotic-treated mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 109, 109124.
- Zhen, Y., and Zhang, H. (2019). NLRP3 Inflammasome and Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Immunology*, 10, 276.
- Zheng, C., Liu, R., Chen, J., Li, S., Ling, Y., and Zhang, Z. (2024). Development of a selective electrochemical microsensor based on molecularly imprinted polydopamine/ZIF-67/laser-induced graphene for point-of-care determination of 3-nitrotyrosine. *Biosensors and Bioelectronics*, 55, 116246.
- Zhou, K., Enkhjargal, B., Xie, Z., Sun, C., Wu, L., Malaguit, J., Chen, S., Tang, J., Zhang, J., and Zhang, J.H. (2018). Dihydrolipoic Acid Inhibits Lysosomal Rupture and NLRP3 Through Lysosome-Associated Membrane Protein-1/Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II/TAK1 Pathways After Subarachnoid Hemorrhage in Rat. *Stroke*, 49(1), 175-183.
- Zhou, S. K., Xu, J. D., Gao, X. Q., Zhang, R. J., Cheng, F. F., Yao, W. F., Zhang, Y., Geng, T., and Zhang, L. (2024). Fructus Jujubae cooperated with water-expelling members in Shizao decoction alleviated intestinal injury and malignant ascites by modulating gut microbiota and metabolic homeostasis. *Phytomedicine*, 133, 155895.
- Zhou, Y.-H., Yu, J.-P., Liu, Y.-F., Teng, X.-J., Ming, M., Lv, P., An, P., Liu, S.-Q., & Yu, H.-G. (2006). Effects of Ginkgo biloba Extract on Inflammatory Mediators (SOD, MDA, TNF- α , NF- κ Bp65, IL-6) in TNBS-Induced Colitis in Rats. *Mediators of Inflammation*, 2006(5), 92642.
- Zhou, Z. J., Dong, J. Y., Qiu, Y., Zhang, G. L., Wei, K., He, L. H., Sun, Y. N., Jiang, H. Z., Zhang, S. S., Guo, X. R., Wang, J. Y., and Chen, D. P. (2024). Sulforaphane decreases oxidative stress and inhibits NLRP3 inflammasome activation in a mouse model of ulcerative colitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 175, 116706.

- Zhu, L., Gu, P., and Shen, H. (2019). Protective effects of berberine hydrochloride on DSS-induced ulcerative colitis in rats. *International Immunopharmacology*, 68, 242-251.
- Zhu, R., Tang, J., Xing, C., Nan, Q., Liang, G., Luo, J., Zhou, J., Miao, Y., Cao, Y., Dai, S., and Lan, D. (2022). The distinguishing bacterial features from active and remission stages of ulcerative colitis revealed by paired fecal metagenomes. *Frontiers in Microbiology*, 13, 883495.
- Zhu, S., Han, M., Liu, S., Fan, L., Shi, H., and Li, P. (2022). Composition and diverse differences of intestinal microbiota in ulcerative colitis patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 953962.
- Zhu, Y., Chen, B., Zhang, X., Akbar, M. T., Wu, T., Zhang, Y., Zhi, L., and Shen, Q. (2024). Exploration of the *Muribaculaceae* Family in the Gut Microbiota: Diversity, Metabolism, and Function. *Nutrients*, 16(16), 2660.
- Zwierz, M., Chabowski, A., and Sztolsztener, K. (2023). α -Lipoic acid - a promising agent for attenuating inflammation and preventing steatohepatitis in rats fed a high-fat diet. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 750, 109811.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onay Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 25.08.2023-E.727893



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : E-66332047-604.01.02-727893
Konu : Değerlendirme ve Onay

25.08.2023

Sayın Prof. Dr. Mürşide Ayşe DEMİREL
Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Mürşide Ayşe DEMİREL, Saadet Özen AKARCA DİZAKAR, İrem TANER, Nur Banu BAL ve Veysel BAY'dan oluşan, G.Ü.ET-23.078 kod numaralı ve "*Deneyisel Rat Kolit Modelinin Kolon Doku Histopatolojisi ve Oksidatif Değişiklikleri ile Fekal Mikrobiyota Üzerine Etkilerinin Araştırılması: Alfa Lipoik Asitin Terapötik Değeri*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-23.078 and entitled "*Investigation of the Effects of Experimental Rat Colitis Model on Histopathological and Oxidative Changes in Colon Tissue, and Fecal Microbiota: The Therapeutic Value of Alpha Lipoic Acid*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 34

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Belge Doğrulama Kodu :BS4FR1KVNZ

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys>

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1. (devam) Etik Kurul Onay Belgesi

Evrak Tarih ve Sayısı: 25.08.2023-E.727198
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 18/08/2023		TOPLANTI SAYISI : 08	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)			
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.İlker ŞEN			
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Serkan YAVUZ			
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER			
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN			
Doç.Dr.Elvan ANADOL			
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ			
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN			
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ			
Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN			
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı TANER, İrem
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri
 Telefon
 e-mail

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Besin Analizleri ve Beslenme	
Lisans	Hacettepe Üniversitesi/ Beslenme ve Diyetetik	
Lise	Ankara Lisesi	

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2012 - Devam ediyor	Gazi Üniversitesi Hastanesi	Diyetisyen
2006 - 2012	Gazi Üniversitesi SKS Daire Başkanlığı	Diyetisyen

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

Kızılarşlanoglu M.C., Kilic, M.K., Toruk, E., Cevik I., Demir, H., Altun, H., Turkoglu, M., Aygencel, G., Yuksel, O., Ibis, M., Kati, I., Ulger, Z. (2015). Oral Nutritional Supplement Taste Preferences of Inpatients. *Gazi Medical Journal*, 26(2), 48-51. doi:10.12996/gmj.2015.16.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

Taner, İ., Bal, N.B., Dizakar A.S.Ö., Bay, Veysel., Demirel, M.A., (2024, 6-7 Temmuz). *Deneyisel Rat Kolit Modelinde Alfa Lipoik Asitin NLRP3 İnflamasyonu ve Oksidatif Stres İndeksi Üzerine Etkileri*, 16. Uluslararası Tıp ve Sağlık Bilimleri Araştırmaları Kongresi UTSAK, Ankara, Turkey.

Hobiler

Kitap okumak, spor ve kültür gezileri



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

