

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇÖLYAK HASTALIĞI, NON-SPESİFİK DUODENİT VE
İNTRAEPİTELYAL LENFOSİT ARTIŞI GÖSTEREN DUODENUM
BİYOPSİLERİNDE FAS/FASL EKSPRESYONLARININ ÖNEMİ

Dr. Nurdan TATAR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Pınar ATASOY

KIRIKKALE 2010

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Patoloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/06/2010

Prof.Dr.Önder BOZDOĞAN
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Pınar ATASOY
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye

Yrd. Doç. Dr. Şebnem KÜPANA AYVA
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD
Üye

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sűresince baőangıcından sonuna kadar gerekli tűm yardım, tavsiye ve yűnlendirmeleri yapan, karőılaőtıđım problemlerin özűműnde deneyimlerinden yararlandıđım, uzmanlık eđitimim sűresince desteđini hissettiđim deđerli tez danıőmanım Doç. Dr. Pınar Atasoy'a,

Uzmanlık eđitimim sűresince bilgi ve tecrűbesiyle daima yol gűsterici olan, mesleki tecrűbelerimizin oluőmasında bűyűk katkı sađlayan deđerli hocam Prof. Dr. Őnder Bozdođan'a,

Uzmanlık eđitimimin ilk gűnlerinden itibaren deđerli bilgilerinden faydalandıđım, sonsuz anlayıő ve gűveni ile her konuda destek olan deđerli hocam Yrd. Doç. Dr. őebnem Ayva'ya teőekkűr ediyor, saygılarımı sunuyorum.

Birlikte çalıőmaktan bűyűk mutluluk duyduđum asistan arkadaőlarım Dr. Ebru Mutlu'ya, Dr. Ayőenur Akatlı'ya, Dr. Sabahat Bűyűkturan'a, Dr. Sami Turan'a, Dr. Emre Ercin'e ve Dr. Fatma Tanrıku'na,

Tez çalıőmamda titiz ve hassas davranıőlarıyla yardımlarını esirgemeyen Uđur Esen'e, Hatice Keleő'e, Selahattin Gűnaylı'ya, Sinem Őzdemir'e ve Őzlem akırođlu'na teőekkűr ederim.

Aileme, gűsterdikleri űzveri ve desteklerinden dolayı çok teőekkűr ederim.

Dr. Nurdan TATAR

ÖZET

Tatar N,Çölyak Hastalığı, Non-spesifik Duodenit ve İntraepitelyal Lenfosit Artışı Gösteren Duodenum Biyopsilerinde Fas/Fasl Ekspresyonlarının Önemi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, KIRIKKALE, 2010.

Çölyak Hastalığı genetik olarak duyarlı kişilerde dietle gluten alımının neden olduğu ince barsağın kronik malabsorbsiyon hastalığıdır. Yaklaşık %1 prevalansa sahip olup toplumda sık görülen bir hastalıktır. FAS-FASL sistemi apoptozisi indükleyen en önemli yollardan biridir ve ÇH'de mukozal atrofi gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmanın amacı etyolojisi saptanamayan intraepitelyal lenfosit artışı gösteren duodenum mukozaları ve non-spesifik duodenit olgularında ÇH'den ayırıda FAS ve FASL ekspresyonlarının önemini araştırmaktır.

Bu araştırmada, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümünde DEA ön tanısı ile gelerek tanı almış yetişkinlere ait 29, çocuklara ait 7 ÇH, yetişkinlere ait 17, çocuklara ait 6 non-spesifik duodenit, yetişkinlere ait 24, çocuklara ait 6 İEL artışı gösteren duodenum, yetişkinlere ait 28 ve çocuklara ait 7 normal duodenum mukozasına ait parafin bloklardan hazırlanan kesitlerde immünohistokimyasal olarak CD3, CD8, FAS ve FASL ekspresyonları incelendi. Tüm gruplarda H-E kesitlerde saptanan İEL sayısının CD3 ile daha fazla sayıda olduğu görüldü. Yine tüm gruplarda İEL'lerin büyük çoğunluğunun CD3 ve CD8 eksprese ettiği saptandı. Hem yetişkin hem de çocuk gruplarında yüzey ve kript enterositlerindeki İEL'lerde, enterositlerde ve lamina propria hücrelerinde en yüksek FAS ekspresyonu ÇH'de idi. İELAG ve non-spesifik duodenit olgularında da kontrol grubuna göre daha fazla ekspresyon saptandı. FASL ekspresyonları da ÇH'de normale göre artış göstermekle birlikte İELAG ve non-spesifik duodenit gruplarından düşüktü.

Bulgularımız FAS-FASL ekspresyonunun yalnızca ÇH patogenezinde etkin bir mekanizma olmadığını ancak çok yüksek FAS ekspresyonunun ÇH ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. İELAG ve non-spesifik duodenit olgularında ÇH'den yüksek saptadığımız FASL ekspresyonlarının fonksiyonel öneminin apoptoz değerlendiren yöntemlerle araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz. Ayrıca şüpheli olgularda İEL sayısının saptanmasında CD3 immünohistokimyasal değerlendirmenin rutin kullanımı yararlı olabilir.

Anahtar Kelimeler:

Çölyak Hastalığı, intraepitelyal lenfosit artışı gösteren duodenum, non-spesifik duodenit, FAS, FASL, immünohistokimya

ABSTRACT

Tatar N, Importance of FAS/FASL expressions in duodenal biopsies of Coeliac disease, Non-specific duodenitis and Increased intraepithelial lymphocytic infiltration. University of Kırıkkale, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Specialization Thesis, KIRIKKALE, 2010.

Coeliac disease is a chronic malabsorbtive disease of small intestine that occurs after dietary intake of gluten, in genetically susceptible individuals. It is a common disease in the population with a prevalence of approximately 1%. FAS/FAS-L system is one of the most important pathways that induces apoptosis. The mucosal atrophy seen in coeliac disease is mainly attributed to the FAS/FAS-L system. The aim of this study is to investigate the importance of FAS/FAS-L expressions in the differential diagnosis of non-specific duodenitis and increased intraepithelial lymphocytosis of unknown etiology from coeliac disease.

In this study we examined the immunohistochemical expressions of CD3, CD8, FAS and FASL in 29 adult, 7 pediatric Coeliac; 17 adult, 6 pediatric non-specific duodenitis; 24 adult, 6 pediatric duodenum mucosa with increased IEL; 28 adult, 7 pediatric cases of normal duodenum mucosa in sections of paraffine embedded tissue specimens of patients who were presented to our department previously with the suspected diagnosis of IDA (iron deficiency anemia). In all groups there were more IEL counts with CD3 than H-E sections. Also in all groups the majority of IELs expressed CD3 and CD8. The highest FAS expressions of the IEL's in the superficial and crypt enterocytes were detected in both adult and pediatric coeliac patients. Also FAS expression levels reach the highest values in the enterocytes and the mononuclear cells of the lamina propria in both adult and pediatric coeliac groups. The duodenum with increased IEL groups and non-specific duodenitis groups revealed higher expressions when compared to the control group. FASL expressions were also increased in the coeliac group when compared to the controls, however but they were lower than the increased IEL and non-specific duodenitis groups.

Our results showed that expression of FAS–FASL overexpression is determinedly seen in coeliac patients. Moreover, there may be a significant relation between high level of FAS expression and coeliac disease. We think that the functional importance of higher FASL expressions of the increased IEL and non-specific duodenitis groups than the coeliac group should be studied with apoptosis assesment methods. Also in suspected cases routine CD3 immunohistochemical staining could be useful in detecting the exact number of IEL counts.

Key words: Coeliac disease, duodenum with increased IEL, non-specific duodenitis, FAS, FASL, immunohistochemistry.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
RESİMLER VE ŞEKİLLER	ix
TABLolar	xii
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnce barsak Anatomi ve Histolojisi	3
2.2. Çölyak Hastalığı	6
2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi	6
2.2.2. Epidemiyoloji	6
2.2.3. Patogenez	7
2.2.3.1. Çevresel Faktörler	7
2.2.3.2. Genetik Faktörler	8
2.2.3.3. İmmünolojik Faktörler	9
2.2.4. Klinik Prezantasyonlar	10
2.2.5. Klinik Görünüm	11
2.2.6. Tanı	13
2.2.6.1. Serolojik Testler	15
2.2.6.2. Diğer Laboratuvar Testleri	18
2.2.6.3. Endoskopik Bulgular	18
2.2.6.4. İnce Barsak Biyopsisi	19
2.2.6.5. Histopatolojik Bulgular	19
2.2.7. Tedavi	23
2.2.8. Prognoz	23
2.2.9. Komplikasyonlar	23
2.3. FAS/FASL	24
GEREÇ ve YÖNTEM	26

3.1.Olgu Seçimi	26
3.2.Histopatolojik İnceleme	26
3.3.İmmunohistokimya	26
3.3.1. CD3, CD8 ve FAS saptanması	26
3.3.2. FASL saptanması	27
3.3.3. CD3 ve CD8 immünreaktivitesinin değerlendirilmesi	28
3.3.4. FAS ve FASL immünreaktivitesinin değerlendirilmesi	28
3.4.İstatistiksel İnceleme	34
3.5.Etik Kurul Kararı	34
BULGULAR	35
TARTIŞMA	49
SONUÇ ve ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	61

SİMGELER ve KISALTMALAR

ÇH	: Çölyak Hastalığı
TG	: Transglutaminaz
HLA	: Human Leocyte Antigen
MHC	: Major Histocompatibility Complex
İEL	: İntraepitelyal lenfosit
TCR	: T cell reseptor
IL	: İnterlökin
DEA	: Demir Eksikliği Anemisi
ESPGAN	: European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition
AGA	: Antigliadin Antikor
AEA	: Antiendomisyal Antikor
tTG	: Tissue Transglutaminaz
GVHD	: Graft Versus Host Hastalığı
Ig	: İmmünglobulin
RCD	: Refractory Coeliac Disease
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FASL	: FAS ligand
TNF-R	: Tümör nekrozis faktör reseptörü
DD	: Death domain
FADD	: Fas-associating protein with death domain
DED	: Death effector domain
DISC	: Death-inducing signaling complex
AICD	: Activation induced cell death
mRNA	: “messenger” ribonükleik asit
DAB	: Diaminobenzidin
H-E	: Hematoksilen-Eozin
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
mh	: Mononükleer hücre
İELAG	: İntraepitelyal lenfosit artışı gösteren grup
Ark	: Arkadaşları

RESİMLER

Resim no:	Sayfa no:
Resim 3.1: Villusda intraepitelyal lenfositler (H-Ex200)	29
Resim 3.2: CD3 pozitif intraepitelyal T lenfositler (DABx200)	29
Resim 3.3: Çölyak hastalığında intaepitelyal ve lamina propriada CD3 pozitif T lenfositler (DABx200)	30
Resim 3.4: Çölyak hastalığında lamina propriada CD8 pozitif T lenfositler (DABx200)	30
Resim 3.5: Çölyak hastalığında FAS ekspresyonu (DABx400)	31
Resim 3.6: Çölyak hastalığında FASL ekspresyonu (DABx400)	31
Resim 3.7: Normal duodenum mukozasında FAS ekspresyonu (DABx100)	32
Resim 3.8: Normal duodenum mukozasında FASL ekspresyonu (DABx400)	32
Resim 3.9: İntaepitelyal lenfosit artışı gösteren mukozada FAS ekspresyonu (DABx200)	33
Resim 3.10: İntaepitelyal lenfosit artışı gösteren mukozada FASL ekspresyonu (DABx200)	33

ŞEKİLLER

Şekil no:	Sayfa no:
Şekil 4.1: Yetişkinlerde CD3 değerlerinin boxplot grafiği	45
Şekil 4.2 : Çocuklarda CD3 değerlerinin boxplot grafiği	45
Şekil 4.3 : Yetişkinlerde CD8 ekspresyonlarının boxplot grafiği	46
Şekil 4.4 : Çocuklarda CD8 ekspresyonlarının boxplot grafiği	46
Şekil 4.5: Yetişkinlerde FAS ekspresyonlarının boxplot grafiği	47
Şekil 4.6: Çocuklarda FAS ekspresyonlarının boxplot grafiği	47
Şekil 4.7: Yetişkinlerde FASL ekspresyonlarının boxplot grafiği	48
Şekil 4.8: Çocuklarda FASL ekspresyonlarının boxplot grafiği	48

TABLolar

Tablo no:	Sayfa no:
Tablo 2.1: Çölyak hastalığının klinik belirtileri	13
Tablo 2.2: Çölyak Hastalığı İle Benzer Morfolojik Değişiklikler Yapan Antiteler	14
Tablo 2.3: Risk grupları ve birlikte görülen hastalıklar	17
Tablo 2.4: Serolojik testlerin sensitivite ve spesivitelele	18
Tablo 2.5: Modifiye Marsh-Oberhuber Sınıflandırması	23
Tablo 4.1: Yetişkin olguların gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılım özelliklele	35
Tablo 4.2: Çocuk olguların gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılım özelliklele	36
Tablo 4.3: Yetişkin olgularda CD3 pozitif hücre sayısı ortalama değerlele ve standart sapmaları	37
Tablo 4.4 : Yetişkin olgularda CD8 pozitif hücre sayısı ortalama değerlele ve standart sapmaları	37
Tablo 4.5: Yetişkin olgularda FASL HSKOR ortalama değerlele ve standart sapmaları	38
Tablo 4.6: Yetişkin olgularda FAS HSKOR ortalama değerlele ve standart sapmaları	39
Tablo 4.7: Çocuk olgularda CD3 pozitif hücre sayısı ortalama değerlele ve standart sapmaları	41
Tablo 4.8: Çocuk olgularda CD8 pozitif hücre sayısı ortalama değerlele ve standart sapmaları	41
Tablo 4.9: Çocuk olgularda FASL HSKOR ortalama değerlele ve standart sapmaları	42
Tablo 4.10: Çocuk olgularda FAS HSKOR ortalama değerlele ve standart sapmaları	43

GİRİŞ

Çölyak Hastalığı (Gluten sensitif enteropati) genetik olarak duyarlı kişilerde gluten içeren besin maddesinin sindirimi sonucunda ince barsak mukozasında hasar oluşumu ile karakterli bir malabsorbsiyon hastalığıdır. Doğu toplumlarında malabsorbsiyonun en sık nedenidir (1). Toplumda %1 sıklıkla görülmesi (2) ve tedavi edilmediği takdirde lenfoma, karsinoma gelişim riski (3) nedeniyle klinik olarak önemlidir.

Çölyak Hastalığı (ÇH) klinik bulgular, serolojik testler ve ince barsak biyopsisi eşliğinde tanı alır (1). Yalnızca intraepitelyal lenfosit artışının bulunduğu normal mukozal yapıdan absorbtif villusların tümüyle kaybına kadar değişen derecelerde histolojik görünüm sergileyebilir. Bu değişiklikler ÇH dışındaki patolojilerde de görülebileceğinden klinik bulgular eşliğinde tanı konulmalıdır (4).

ÇH genetik yatkınlık, çevresel etkenler ve immünolojik faktörlerin yer aldığı multifaktöryel etyopatogeneze sahiptir (5). Genetik olarak MHC molekülleri HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 ÇH'de anahtar rol oynamaktadır. Çünkü hastaların %90'ından fazlası HLA-DQ2 pozitif, kalanlar ise genellikle HLA-DQ8 pozitifdir (6). Çevresel etkenler içinde en iyi bilinen tetikleyici faktör gluten peptididir (7). Hastalığın patogenezinde doğal ve adaptif immün yanıtın birlikte rol aldığı düşünülmektedir (8).

Apoptozis doku homeostazisinin düzenlenmesinde görev alan, genetik olarak kontrol edilen bir hücre ölüm mekanizmasıdır (9). Apoptozis normal enterositin yapım-yıkım döngüsünü sağlayarak gastrointestinal sistemin epitelyal fonksiyonlarının sürdürülmesinde esas rolü üstlenir (10). ÇH'de gelişen mukozal hasarın oluşumunda en önemli mekanizmalardan birinin FAS-FASL etkileşiminin tetiklediği (11) artmış enterosit apoptozisi olduğu düşünülmektedir (12).

FAS (CD95/APO-1) aktive T ve B hücreleri yanısıra karaciğer, akciğer, barsak ve deri gibi çeşitli dokulardan salınan apoptotik hücre ölümünü uyaran TNF (tümör nekrozis faktör) ailesinden bir tip I integral membran proteinidir (13). FAS'ın spesifik ligandı FAS ligand (FASL) TNF ailesinden bir tip II integral membran proteinidir (14). FASL'nin FAS'ın hücre dışı alanına bağlanması reseptörün trimerizasyonunu sağlayarak apoptotik süreci başlatır. FASL'nin aktive T ve doğal öldürücü (NK, natural killer) hücreler yanısıra akciğer, karaciğer ve böbrek gibi farklı insan hücre ve dokularında eksprese olduğu bildirilmektedir (15,16,17).

FAS-FASL yolağının gastrointestinal sistemin patolojik hastalıklarında özel önemi olduğunu düşündürecek birçok neden vardır. Gastrointestinal sistemdeki birçok hücrenin FAS

eksprese ettiği ve FAS aracılı lme yüksek hassasiyet gösterdiği saptanmıştır (18). Özellikle kolonda daha fazla olmak üzere lamina propriadaki T hücrelerin FAS aracılı apoptozise duyarlı olduğu (19,20) ve intestinal epitelyal hücrelerin FAS eksprese ettiği, bazı koşullarda FAS aracılı hücre ölümüne duyarlı olduğu gösterilmiştir (21,22). H (23,24,25) başta olmak üzere Graft Versus Host Hastalığı (GVHH) (26), İnflamatuvar Barsak Hastalığı (İBH) (27,28) ve Helikobakter pylori enfeksiyonu (29,30,31) gibi birçok inflamatuvar süreçte FAS-FASL apoptotik yolağın etkin olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada, etyolojisi saptanamayan intraepitelyal lenfosit artışı gösteren duodenum mukozaları ve non-spesifik duodenit olgularında H'den ayrımda FAS ve FASL ekspresyonlarının önemi araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

2.1. İNCE BARSAK ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ

İnce barsak gastrik pilordan çekum ve çıkan kolonun bileşim yerine dek uzanan abdominal kavite yerleşimli tübüler bir organdır. Yetişkin insanda ortalama uzunluğu 6-7 metredir. Anatomik olarak çok farklı üç bölüm içerir: duodenum, jejenum ve ileum (32). Pankreas başı çevresinde C veya U şekli oluşturan duodenum 20-25 cm uzunluğundadır ve dört bölüme ayrılır. Bulbus olarak da isimlendirilen ilk parça yaklaşık 5 cm uzunluğundadır ve pilorun arkasından sağa doğru yukarı uzanır (32,1). İkinci parça yaklaşık 7 cm uzunluğundadır, pankreatik ve safra duktuslarının açıldığı Ampulla Vateriyi içerir (1,33). Üçüncü parça 7-9 cm uzunluğundadır ve üçüncü lumbar vertebra hizasında vena cava ve aortayı çaprazlar. Dördüncü parça değişen uzunluktadır ve üçüncü parçadan ayrımı zordur. İkinci lumbar vertebra hizasında yön değiştirerek orta hattın hemen solunda ince barsağın kalan kısmıyla devamlılık gösterir (32,1). Duodenumun birinci parça dışındaki kısımları retroperitoneal yerleşimlidir (1).

İnce barsağın üç parçası arasında kesin ayırım noktası yoktur (1,33). Treitz ligamanından sonraki ilk 40 cm jejenum, son 60 cm ise ileum olarak kabul edilir (1). Jejenumun lümeni ileumdan geniştir ve duvarı Kerkring foldları olarak da bilinen belirgin dairesel mukozal foldlar nedeniyle daha kalındır. Bu foldlar orta duodenum ve jejenum arasında en belirgin olmak üzere barsağın uzun aksı boyunca paralel seyreder ve distal ileumda kaybolur (1).

Duodenum gastroduodenal arterin superior pankreatikoduodenal dalı tarafından, dördüncü parçası ve kalan ince barsak segmentleri superior mezenterik arter tarafından beslenir (1). Gastrointestinal sistemi drene eden major venler portal sistemi oluşturur (33).

İnce barsağın sempatik innervasyonu çölyak ve superior mezenterik plexus ile, parasempatik innervasyonu ise nervus vagusun distal dalları ile olmaktadır (32).

Bölgesel histolojik farklılıklar göstermekle birlikte ince barsak duvarı dört ana tabakadan oluşmaktadır: mukoza, submukoza, muskularis eksterna veya propria ve seroza. İnce barsağın başlıca görevi sindirilmiş gıdaların emilimi olduğundan, lümen içeriği ile temas eden tabaka olan mukoza tabakası bu amaca uygun şekilde yapılanmıştır. Çeşitli yapısal adaptasyonlar yüzey alanını genişletmeye yardımcı olur. Bunlardan biri barsağın uzun aksına dik olarak uzanan çıplak gözle de fark edilebilen dairesel plikalardır. Villus adı verilen yüzey

epiteli ve lamina proprianın lümene doğru yaptığı uzantılar da yüzey alanını genişletici en önemli faktörlerden biridir (32).

Mukoza epitel, lamina propria ve muskularis mukozadan oluşmaktadır (34). Epitel farklı hücre tiplerine sahip ve temel fonksiyonları farklı olan iki kompartmana ayrılır: villus ve kript (32).

Absorbtif hücre (enterosit) villöz epitelin en sık görülen tipidir. Uzun, kolumnar, bazal yerleşimli yuvarlak-oval nükleuslu ve eozinofilik sitoplazmalıdır. Apikal yüzeylerinde dens eozinofilik, periodic acid-Schiff (PAS) pozitif boyanan, mikrovilluslar ve glikokaliks içeren fırçamsı kenarları vardır. En iyi ultrastrüktürel incelemede görülen mikrovilluslar ince barsağın mukozal yüzey alanını genişleten yüzey uzantılarıdır. Mikrovillöz membran-glikokaliks kompleksi sindirimin son basamağında görev alan enzimleri barındırmanın dışında mikroorganizmalar ve diğer yabancı maddelere karşı bariyer görevi görür (32). Goblet hücreleri mukozayı çevreleyen müköz jele mukus, iyonlar ve su sekrete ederek mukozayı koruyucu önemli bir rol üstlenir. Kolumnar şekillidir, nükleusu bazal yerleşimlidir ve yüzeyel kısmı sitoplazmik müsin damlacığı içermesi nedeniyle yassı görünür. Kriptlerde de yerleşen bu hücre tipi villöz uca doğru sayıca azalır. Villus ucunda absorbtif hücreye oranı yaklaşık 8:1'dir. İnce barsak boyunca ileumda en fazla olmak üzere giderek sıklığı artar (1). Endokrin hücreler kriptlerde çok daha fazla sayıda olmak üzere villöz epitelde de mevcuttur. Epitelyal lenfositler, her beş epitel hücresine bir lenfosit normal kabul edilecek şekilde dağınık olarak hücreler arasında uzanırlar. Bu lenfositlerin çoğu T-supresör/sitotoksik (CD8-pozitif) hücrelerdir (32).

Lieberkühn kriptleri epitelin alt %20'sini oluşturur ve proliferatif zonu temsil eder (34). Kript epiteli başlıca görevi epitel yenilenmesi olduğundan ortalama mitoz/kript oranı 1-12 olacak şekilde sık mitotik aktivite gösterir. Goblet hücreleri, kolumnar hücreler ve farklılaşmamış veya kök hücreler kript epitelinde belirgindir. Absorbtif, goblet, endokrin ve paneth hücreleri olarak bilinen mukozanın dört ana hücre tipi bu kök hücrelerden köken alır. Paneth hücreleri piramidal şekillidir ve çeşitli sindirim enzimleri, lizozim içeren geniş eozinofilik sitoplazmik granülleri vardır. Gastrointestinal sistem boyunca tipik bölgesel yayılım ve bileşime sahip en az onaltı farklı endokrin hücre tipi tanımlanmıştır (32).

Mukozanın orta tabakasını oluşturan lamina propria yapısal ve ve immünolojik olarak görev yapar. Muskularis mukoza üzerine oturmuştur, kriptleri çevreleyerek villusların merkezine doğru uzanır (32). Lamina propriada epiteli besleyen kan damarları yanısıra kollajen lifleri, düz kas demetleri, sinirler, lenfositler, plazma hücreleri, eozinofiller, makrofajlar, mast hücreleri ve nötrofiller bulunur (34). Hücrelerin çoğu villuslardan ziyade

kript çevresinde yerleşir (1). Plazma hücreleri lamina propriada en sık görülen hücre tipidir ve çoğu sitoplazmik immünglobulin (Ig) A, bir kısmı ise IgM içerir. Lenfositler hem T hem de B hücrelerinden oluşur. Lamina propriadaki baskın T hücre alt tipi yardımcı/baskılayıcı (CD4 pozitif) immünofenotipindedir. Lenfositler sıklıkla muskularis mukozanın hemen üzerinde infiltratlar oluştururlar. Hatta çoğu germinal merkeze sahip lenfoid agregat ve nodüller distale doğru giderek artan yoğunlukta ince barsak boyunca dağınık olarak uzanırlar. Makrofajların çoğu villus ucuna yakın yerleşimlidir. Mast hücreleri diğer organlara oranla ince barsakta çok sayıda görülmekle birlikte distale doğru sayıca azalır (32). Bazal lamina propria çok sayıda dendritik hücre de içerir (1).

Mukozanın en dış tabakası ya da sınırı olan muskularis mukoza içte sirküler, dışta longitudinal uzanan elastik lifler ve düz kastan oluşan ince band şeklinde dokudur (32). Duodenumda Brunner glandların lüminal yüzeyi üzerine oturur (1). Mukoza için yapısal temel oluşturduğundan biyopsi örneklerinde muskularis mukozanın bulunmaması villöz oryantasyon kaybına yol açabilir (32).

Muskularis mukoza ile muskularis eksterna arasında kollajenöz ve elastik lifler ile fibroblastlardan oluşan gevşek, az sayıda hücre içeren submukoza tabakası yer alır. Submukozada dağınık olarak histiyositler, lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri yanısıra adipöz doku bulunabilir. Submukozada arterioller, venüller ve lenfatik damarlar çok sayıda pleksus ve ağ oluşturmuştur. Nöral yapılar da submukozada belirgindir, submukozal Meissner pleksusu burada yerleşmiştir (32). Duodenumda, özellikle ilk iki bölümünde submukozada Brunner glandı olarak bilinen mukus sekrete eden glandlar vardır (34).

Muskularis eksterna (propria) içte sirküler, dışta longitudinal uzanan kas lifleri ve bunlar arasında uzanan Auerbach myenterik pleksusundan oluşmuştur. Bu pleksus içinde ganglion hücreleri, satellit hücreler ve perinöral fibroblastlar yanısıra düz kas hücreleriyle aynı mezodermal öncülden köken alan Cajal'ın interstisyel hücreleri yer alır (34). Cajal'ın interstisyel hücreleri barsak motilitesinde rol oynadığı düşünülen "pacemaker" hücrelerdir. Muskularis eksternadan ayrıca kan damarları ve lenfatikler geçer (32).

Seroza dışta tek sıralı küboidal mezotelyal hücre ve bunun altında ince bir band şeklinde uzanan gevşek bağ dokudan oluşmuştur. Burada kan damarları, lenfatikler ve sinirler yer alır (32).

2.2. ÇÖLYAK HASTALIĞI

2.2.1. Tanımı ve Tarihçesi

Gluten sensitif enteropati olarak da bilinen Çölyak Hastalığı genetik olarak duyarlı kişilerde gluten içeren besin maddesinin sindirimi sonucunda ince barsak mukozasında hasar oluşumu ile karakterli bir malabsorbsiyon hastalığıdır (1).

Çölyak hastalığı ile uyumlu semptomlar ilk kez II. Yüzyılda Yunanlı bir hekim olan Aretaeus tarafından tanımlanmıştır (35). 19. yüzyılda başta Samuel Gee olmak üzere hekimler hastalığın semptomlarını ve özelliklerini daha ileri seviyede açıklamış ve tedavi hakkında çeşitli fikirler öne sürmüşlerdir. 1940'lı yıllarda Willem Karel Dicke ilk kez hastalıktan sorumlu tahılların diyetten uzaklaştırılmasının önemini tanımlarken, John W. Paulley ince barsaktaki hastalık ile ilişkili histolojik değişiklikleri tanımlamıştır. Hastalığın spesifik HLA markerları ve glutene özgü T hücreleri ile ilişkisinin keşfi ve transglutaminaz 2 (TG2) 'nin antiendomisyal otoantijeninin hedefi olarak kabulü 1980 ve 1990'larda yerini almıştır (5).

2.2.2. Epidemiyoloji

ÇH doğu toplumlarında malabsorbsiyonun en sık nedenidir (1). Daha önceleri prevalans oranı yaklaşık 1:5000 olarak bilinmekte ve bu nedenle daha nadir görüldüğü düşünölmekteydi (2). Bu oranlar hastalığın klasik prezentasyonuna dayanılarak yapılmıştır ve günümüzde klasik prezentasyon ÇH'nin yalnızca bir formu olarak görölmektedir. Bu oranların artık ÇH buzdüğının tepesini temsil ettiğı ve hastaların çoğunun hafif ve sinsi semptomlarla kendini gösterdiği bilinmektedir. Taramada kullanılan serolojik testlerin yardımıyla son yıllarda epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler değışmiştir (7). ÇH ile ilişkili antikorların pozitifliğine göre risk grubunda olmayanlarda yaklaşık 1:133 (36), risk grubundakilerde ise 1:100 gibi yüksek oranlar bildirilmektedir (37). ÇH ile ilişkili antikorların tespitini takiben ince barsak biyopsisi ile yapılan farklı çalışmalarda çok sayıda değışik popülasyonda prevalans %1 olarak bulunmuştur (2).

ÇH için artmış risk taşıyan popülasyonlar tanımlanmıştır. Tip 1 diabetli hastalar (38), otoimmün tiroid hastalıkları (39), Çölyaklı hastaların akrabaları (36,40), Turner Sendromlu hastalar (41) ve Down sendromlu hastalar (42) bunlardan bazılarıdır.

Çoğu çalışma kadın/erkek oranını 2:1 olarak bildirmektedir ancak eşit oran bildiren çalışmalar da mevcuttur (43).

2.2.3. Patogenez

ÇH çevresel faktörler, genetik yatkınlık ve immünolojik faktörlerin etkileşimi ile sonuçlanan kompleks etyopatogeneze sahiptir (5,44).

2.2.3.1. Çevresel Faktörler

ÇH çevresel tetikleyicinin (gluten) kesin olarak bilinmesi, hastalığın ortaya çıkışı için gerekli baskın HLA kalıtımı (DQ2 veya DQ8) ve TG'a (transglutaminaz) karşı otoantikorların hastaların %95'inden fazlasında saptanabilir olması nedeniyle diğer otoimmün hastalıklar içinde tektir (7).

Gluten buğday ve karabuğday gibi tahıllar yanısıra sos, sucuk, sosis, bira, ekmekek ve ekmekek ürünleri gibi işlenmiş besin maddelerinde de bulunur (1).

Glutenin ÇH'de hasar oluşturan parçasının kesin yapısı tam olarak bilinmemektedir. Buğday tanesinin öğütülerek ayrılan üç ana bileşeni vardır: dış kabuk ya da kepek, tohum ve endosperm. Beyaz un (endosperm) tanenin ağırlık olarak %70-72'sini oluşturur ve toksik bileşenleri içerir. Buğday endosperm proteinlerinin iki ana grubu vardır; prolaminler (etanolda çözünen parça) ve gluteninler. Farklı tahıllardaki prolaminlere verilen değişik isimler vardır; buğdayda gliadinler, çavdarda secalinler, arpada hordeinler, yulafta aveninler ve çölyak için toksik olmayan mısırda zeinler (43).

Buğday proteinleri çözünürlük özelliklerine göre sınıflara ayrılır: gliadinler %40-90'lık etanolde çözünürken, gluteninler nötr sulu veya tuzlu solusyonlarda ve etanolde çözünmezler (43). Hem gliadinler hem de gluteninler hastalığı aktive eden peptidleri içerirler (45). Gliadinler yüksek prolin ve glutamik asit içeriğine sahip prolaminlerdir. Elektroforetik olarak dört ana parçaya ayrılırlar: α -, β -, γ -, ω - gliadinler. Dört tip de toksik olarak düşünülmeyle birlikte α -gliadin en patojenik olanıdır (46,47). Toksik gliadinler pro-ser-gln-gln ve gln-gln-gln-pro zincirleri içerirler (48,49). Gliadinler, gluteninler, hordeinler ve secalinler yüksek prolin ve glutamik asit içeriğine sahip olduğundan prolin endopeptidaz aktivitesinden yoksun gastrik, pankreatik ve barsağın fırçamsı kenar enzimleri tarafından tümüyle proteolitik sindirime dirençlidirler (50). α -gliadinin intestinal enzimler tarafından sindirimi sonucu oluşan 33-mer peptid CD4+ T hücreleri için güçlü stimulatördür (50,51) ve doku transglutaminazları tarafından deamidasyon için spesifik substrattır. Bu 33-mer peptid ÇH oluşturmeyen tahıl proteinlerinde mevcut değildir (1). Bu sindirime dirençli α -gliadin parçasının doku transglutaminazları tarafından deamidasyon için yüksek afinitesi olduğu ve altı kadar T hücre epitopu bulundurduğu gösterilmiştir (52).

Farklı gluten peptidlerinin hastalığın seyrinde, bazı parçaların “toksik” diğerlerinin ise “immünojenik” olarak farklı davranış sergilediği bilinmektedir. Mukozal hasar oluşturabilen parçalar toksik, özellikle HLA-DQ2- veya DQ8-’e özgü T hücre klonlarını uyarabilen parçalar immünojenik olarak tanımlanmaktadır (53).

ÇH genetik olarak duyarlı kişilerde bir virüs, genellikle adenovirüs tarafından immün sistemin aktivasyonu ile de tetiklenebilir. α -gliadin adenovirüsün protein tabakası ile homolog bir amino asit bölgesi içermektedir. Çölyak hastalarında kontrol grubuna göre adenovirüs 12 enfeksiyon öyküsünün belirgin yüksek prevalansa sahip olduğu bildirilmektedir (54).

2.2.3.2. Genetik Faktörler

Çölyak hastalarının birinci derece akrabalarının ince barsak biyopsileri ile yapılan çalışmalar genetik faktörlerin hastalık üzerine etkisini kanıtlamıştır. Farklı çalışmalarda çoğunluk %10 olmak üzere %5 ile %20 arasında birbirinden farklı risk oranları bildirilmektedir. Sonuçlar arasındaki bu farklılık populasyonlar arasındaki genetik ve çevresel heterojenite yanısıra çalışmalarda farklı tanısal kriterlerin kullanımı ile ilişkili olabilir (55). ÇH gelişimindeki genetik yatkınlığı destekleyen bulgulardan biri de ikiz çalışmalarıdır. Monozigot ikizlerde ÇH uyum oranı %75 iken dizigot ikizlerde %11’dir (56).

HLA (human leucocyte antigen) 6. kromozomun kısa kolu üzerindeki MHC (major histocompatibility complex) genleri tarafından kodlanır (57). MHC geniş protein dizileri kodlayan genler içerir. Bu genler klas I, II ve III genleri olmak üzere üç ana gruba ayrılabilir. Klas I ve klas II genleri T hücrelerinin antijen tanınmasında anahtar rol oynayan özelleşmiş ve oldukça polimorfik hücre yüzey glikoproteinleri kodlar. HLA klas I molekülleri yüzeyinde CD8 protein eksprese eden T hücrelerine antijen sunumunda görev alırlar. Bu nedenle CD8 T hücrelerinin klas I’e özgü olduğu söylenebilir. Klas II genleri MHC’nin sentromerik ucundaki HLA-D bölgesinde kodlanırlar. HLA-D bölgesi –DP, -DQ ve –DR olarak adlandırılan üç ana alt gruba ayrılır. HLA klas II molekülleri B hücreleri, makrofajlar, dentritik retiküler hücreler ve aktive T hücrelerinin yüzeyinde bulunurlar (58). Bazı özel durumlarda barsak epitelyal hücreleri gibi diğer hücre tiplerinde de eksprese olabilirler (59). HLA klas II genleri (DP, DQ ve DR) hücre yüzeyindeki yabancı antijeni tanınması için T helper (CD4) hücrelere antijen sunumuna katılırlar (60). MHC molekülleri HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 ÇH’de anahtar rol oynamaktadır. Çünkü hastaların %90’ından fazlası HLA-DQ2 pozitif, kalanlar ise genellikle HLA-DQ8 pozitifdir (58,61). Bu DQ allelleri ÇH için gerekli olmakla birlikte sağlıklı populasyonda da tespit edilebildiğinden hastalığın ortaya çıkışı için yeterli değildir (2).

2.2.3.3. İmmünolojik Faktörler

ÇH patogenezinde doğal ve adaptif immün yanıtın birlikte yer aldığı düşünülmektedir (8).

Son yıllarda ÇH'de barsağın inflamatuvar yanıtı altında yatan anahtar basamaklarla ilgili bilgiler hızla artmıştır. Bu basamaklar: (I) buğday glutenindeki toksik proteinlere karşı doğal immün sistem aracılığıyla epitelin direk cevabı, (II) buğday gluten proteinlerinin doku transglutaminazı tarafından modifikasyonu, (III) HLA-DQ'nun toksik buğday proteinlerinin T hücrelerine sunumundaki rolü ve (IV) buğdaydaki toksik protein dizilimlerinin tanımlanmasıdır. Bu gelişmeler çölyak hastalığı tedavisinde glutensiz diet dışında yeni tedavi yöntemleri kullanıma olasılığını ilk kez ortaya koymuştur (2).

Komplike olmamış ÇH'de iki ana İEL altgrubu etkilenir. Büyük çoğunluğu oluşturan alfa beta TCR taşıyan CD8 pozitif İEL'ler aktif ÇH'de artarlar ve adaptif immün yanıt ile ilişkilidirler. $\gamma\delta$ TCR taşıyan diğer İEL altgrubu antijen tanımak için HLA ekspresyonuna gerek duymaksızın epitelyal strese yanıt verdiği için doğal immün yanıt ile ilişkilidir (62,63). Latent ÇH'de villöz atrofi oluşmadan artmaya başlarken diet tedavisinden yıllar sonra bile artmış sayıda bulduklarından latent ÇH'nin mukozal belirteci olarak düşünülürler (62).

Adaptif T hücre yanıtında patogenez üç faza ayrılarak incelenebilir: 1- luminal ve erken mukozal olaylar, 2- patojenik CD4+ T hücrelerin aktivasyonu, 3- doku hasarına yol açan olaylar. İlk faz gluten alımıyla başlar. Gluten peptidlere parçalanırken prolin endopeptidaz enzimi yokluğu nedeniyle sindirim sonucunda prolin ve glutaminden zengin büyük gluten peptidleri açığa çıkar. ÇH'ye yatkınlık oluşturan HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 kodlayan allellere sahip olsa da populasyonun yaklaşık %99'unda ÇH gelişmezken HLA-DQ2 veya HLA-DQ8 pozitif olup genetik ve/veya immünolojik faktörler ve/veya çevresel etkenler nedeniyle ÇH için artmış hassasiyet gösteren kişilerde bu gluten peptidleri ÇH ile sonuçlanan bir dizi immünolojik olayı başlatır (44).

Kısmen parçalanmış gluten peptidlerinin ince barsak epitelinden girerek lamina propriaya nasıl geçtiği tam olarak belirlenememiş olmakla birlikte hasarlı epitelyal hücre tabakası sayesinde parasellüler geçiş, transepitelyal geçiş ve/veya dentritik hücreler tarafından peptidlerin tutulumu gibi yolakların burada rol oynadığı düşünülmektedir (44). Gastrointestinal enfeksiyonlar gibi barsak geçirgenliğinde değişiklik yapan stres faktörlerinin lamina propriaya geçişi kolaylaştırdığına dair görüşler mevcuttur (64). Glutene karşı doğal immün cevap da geçirgenlik artışına yol açacak mukozal değişiklikleri oluşturabilir (5). Nötral gluten peptidleri lamina propriada TG2 tarafından deamidasyon yoluyla negatif yüklü glutamik asitlere dönüştürülür. HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 molekülleri eksprese eden antijen

sunan hücrelerin (APC) negatif yüklü bu deamide peptidlere artmış afinitesi vardır (65). İkinci fazda bu immünojenik peptidler dentritik hücreler, makrofajlar veya B hücreleri gibi antijen sunan hücrelerce lamina propriadaki gluten spesifik CD4+ T hücrelerine sunulurlar (5,44). Bu bağlanma CD4+ T hücrelerinin güçlü aktivasyonuna yol açar. Üçüncü fazda bu aktivasyon sebebiyle proinflamatuvar sitokinlerin salınımıyla ekstrasellüler matriks ve bazal membran hasarı oluşturacak metalloproteinazların salınımı için sitotoksik T hücreleri ve fibroblastlar uyarılır. Ayrıca aktive T lenfositler karakteristik mukozal lezyon oluşturmak üzere sitotoksik Fas ligand ve granzim gibi moleküller salgılatarak enterosit apoptozisini harekete geçirirler. Bunların yanısıra B lenfositlerin spesifik antigliadin ve anti-doku transglutaminaz antikörlerini üretecek plazma hücrelerine diferansiyasyonu indüklenir (53).

Doğal immün cevap bir sitokin olan interlökin (IL)-15'in merkezinde gerçekleşen intraepitelyal lenfositler, enterositler ve dentritik hücrelerin aracılık ettiği bir süreçtir (66). Enterositler ve dentritik hücreler tarafından üretilen IL-15'i gluten peptidlerinin indüklediği düşünülür. IL-15 enterositlerde bulunan bir stres molekülü olan MICA'nın (MHC class I-related chain protein A) ve İEL'lerde bulunan doğal öldürücü (natürel killer) reseptörü olan NKG2D'nin ekspresyonunu uyarır (2). Artmış İEL sayısı aktif ÇH için tipik bir bulgudur. İEL'lerin büyük çoğunluğu $\alpha\beta$ + T hücre reseptörü (TCR) taşıyan CD3+/CD8+ lenfositlerdir, az miktarda ise $\gamma\delta$ + TCR taşıyan lenfositlerdir (2). Bu lenfositler ile stres molekülü MIC ve HLA-E molekülü eksprese eden epitelyal hücrelerin etkileşimi IFN- γ ve epitelyal hücre ölümüne katılan sitotoksik moleküllerin salınımıyla sonuçlanır (5).

2.2.4. Klinik Prezantasyonlar

Tipik Form:

Klasik malabsorbsiyon bulgularının görüldüğü gluten sensitif enteropatinin tüm özelliklerine sahip formudur. Serolojik olarak endomisyal ve tTG antikor pozitifliği ve tanısal biyopsileri vardır. Bu form genellikle genç hastalarda görülür (1).

Atipik Form:

Boy kısalığı, anemi, infertilite gibi atipik manifestasyonların görüldüğü gluten sensitif enteropati olgularıdır (1).

Latent Form:

Normal ince barsak villöz yapısına sahip biyopsisi olup daha sonra villöz atrofi gelişen hastaları kapsar. İki varyant tanımlanmıştır. Biri çocukluk çağında ÇH tanısı almış ve glutensiz diyetle tamamen düzelmiş hastalardır. Bunlarda normal diyetle başlansa bile hastalık latent olarak kalır. Diğerleri ise daha önce gluten alırken normal biyopsiye sahipken daha sonra tipik ÇH bulguları gösteren hastalardır. Latent durumdan aktif duruma geçişi sıklıkla besin yetersizlikleri, tümör etkisi veya komplikasyonu ya da enfeksiyonlar, çevresel değişiklikler, cerrahi, travma veya gebelik gibi fizyolojik stresler tetikler. Bu hastalar anormal jejunal geçirgenlik ve yüksek seviyelerde antiendomisyal antikora sahiptirler. Bu hastaların biyopsilerinde villöz değişiklikler bulunmazken artmış sayıda İEL varlığı saptanabilir (1).

Potansiyel Form:

Bu grup hastaların biyopsisinde karakteristik değişiklikler saptanmaz ancak hastalarda karakteristik serolojik özellikler bulunur. HLA-DQ2 bu hastalarda çok daha sık pozitif ve hastalar sıklıkla ÇH olan birinci derece akrabaya sahiptir (1).

Sessiz Form:

Serolojik otoantikörleri pozitif ve tanısız biyopsiye sahip (1), gastrointestinal semptomları ya hiç olmayan ya da olduğu takdirde belirgin olmayan hastaları kapsar. Ancak hastalar diğer barsak dışı semptomlar gösterebilir (67).

Dirençli (Refractory) Form:

En az altı aylık katı glutensiz diyetle yanıt vermeyen şiddetli, semptomatik, intestinal atrofiye sahip hastalardır (1).

2.2.5. Klinik Görünüm

Gee tarafından yapılan ilk ÇH tanımlaması çoğunlukla 1-5 yaş arası çocuklarda gelişen steatore ve kaşeksi şeklindeydi. 40 yıl süre içinde ÇH klinik bulguları değişmiş, çok daha hafif bulgularla seyreden vakalar tanımlanırken Gee tarafından tanımlanan hastalığın en uç formuna nadir olarak rastlanmaktadır (68). Bu durum özellikle uygun biyopsi ve serolojik testler gibi tanı koymada ulaşılan yeni gelişmelerin yardımıyla daha önceleri atlanan vakaların tanı alması ya da bebeklerin beslenme alışkanlıklarının değişimi ve yetişkinlerde sigara kullanımı (2) gibi bazı çevresel faktörlere bağlı olarak hastalığın kendi doğasının değişime uğraması nedeniyle olabilir (68).

ÇH herhangi bir yaşta tanı alsa da çoğunlukla ya erken çocukluk döneminde (9-24 ay arası) ya da yaşamın üçüncü veya dördüncü dekatında ortaya çıkar. Diare, steatore, kilo kaybı, bitkinlik ve anemi ile karakterli “klasik” gastrointestinal malabsorbsiyon sendromu şiddetli olgularda görülebilirse de çoğu hasta ya hiç semptom göstermez ya da karında rahatsızlık hissi, şişkinlik, hazımsızlık gibi daha hafif semptomlar veya barsak dışı semptomlar gösterebilir (69). İleri dekatlarda atipik prezentasyonlar çok daha sık görüldüğünden ÇH artık yalnızca gastrointestinal sisteme özgü bir hastalıktan ziyade multisistemik bir hastalık olarak değerlendirilmektedir (70).

Çocuklarda semptomlar genellikle doğum sonrası 6. aylarda, tahıl alımına başladıktan sonra ortaya çıkar. Semptomlar ilk atak yaşına bağlı olarak değişir. Küçük çocuklarda büyüme geriliği, diare, kusma, kas güçsüzlüğü, abdominal distansiyon, karın ağrısı ve ara sıra konstipasyon görülür. Büyük çocuklarda ise anemi, rikets, boy kısalığı, dental enamel bozukluklar, düşük okul performansı ve davranış bozuklukları şeklinde semptomlarla karşılaşılabilir (71).

Yetişkinlerde en sık semptomlar karın ağrısı, kronik diare ve demir eksikliği anemisi (DEA). Diare hastaların %50'sinde bulunmayabilir, steatore ise daha az sıklıkla (%40) eşlik eder ve hastalığın şiddetiyle ilişkilidir (71). ÇH ile ilişkili semptomlar **Tablo 2.1**'de özetlenmiştir.

Demir ince barsağın proksimalinden emilir ve emilim sağlam mukozal yüzey, barsak asiditesi gibi birçok faktörden etkilenir (72,73). ÇH'de demir eksikliği gelişiminin en başta nedeni barsak mukozasındaki villöz atrofi nedeniyle emilimin azalmasıdır (72). Villöz atrofisinin şiddeti ile orantılı olarak gizli gastrointestinal kanama da ÇH'de DEA nedenleri arasında bildirilmektedir (74,75). ÇH'de kronik hastalık anemisi tanımlayan çalışmalar da mevcuttur (76,77).

Anemi ÇH'nin tek bulgusu ya da en sık barsak dışı semptomu olarak sıklıkla bildirilmektedir. Folat ve kobalamin eksikliği de ÇH'nin bilinen komplikasyonları olmalarına rağmen ÇH'de en sık görülen nutrisyonel anemi demir eksikliğidir. Bir çalışmada subklinik çölyak hastalarının %46'sında DEA saptanmış ve prevalansının yetişkinlerde çocuklara göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (78). Bir vaka-kontrol çalışmasında ÇH tanısı almadan önce 5 yıl boyunca izlenen değişik klinik prezentasyonlar gösteren hastalarda yalnızca anemi ve diare bağımsız prediktör olarak saptanmıştır (79). Benzer şekilde toplum taramasında saptanan hastaların %50'sinin ilk belirlemede anemik olduğu görülmüştür (80).

DEA ve ÇH üzerine yapılan araştırmaların çoğunun ulaştıkları nokta nedeni bilinmeyen DEA'lı her hastada klinisyenin anemi nedeni olarak ÇH olasılığını düşünmesi gerektiğidir.

İngiltere Gastroenteroloji Derneği'nin yeni tavsiyesi aşikar bir nedeni olmayan demir eksikliğinde endoskopi sırasında biyopsi alınmasıdır (81).

Hastalığın semptomlarına bağlı morbidite yanısıra bu hastalar metabolik kemik hastalığı, enteropati ilişkili T hücreli lenfoma ve gastrik, özefajial, mesane, meme ve beyin maligniteleri gibi hastalıklar için de risk altındadırlar (82).

Son yıllarda yaşlı hastalarda ÇH yakalama sıklığı artmıştır. Yetişkin ÇH ilk atak olarak ortaya çıkabileceği gibi çocukluktan beri varolagelen asemptomatik (sessiz) ÇH de olabilir. Semptomların daha sınırlı oluşu, klinisyenin şüphelenme oranının düşüklüğü ve kognitif bozukluğa bağlı güçlükler nedeniyle tanıda gecikilebilir. Ancak hayatın geç döneminde tanı alan ÇH tekrarlayan ya da dirençli hastalık ve lenfoma gelişimi ile çok daha sık ilişkilidir (83).

Tablo 2.1 Çölyak hastalığının klinik belirtileri

Gastrointestinal ve hepatik belirtiler	GİS dışı belirtiler
Abdominal ağrı	Gecikmiş puberte/boy kısalığı
Abdominal distansiyon	Osteopeni/osteoporoz
Bulantı/kusma	Folat eksikliği anemisi
Steatore	Rekürren abortus
Aftöz stomatit	Trombositoz (Hiposplenizm)
Çeilozis	İnfertilite
Diare	Anksiyete/depresyon
Hepatik steatoz	Artralji/artropati
İzole hipertransaminasemi	Dental enamel hipoplazi
Kilo kaybı	Ataksi
	K vitamin eksikliği
	Polinöropati
	Dilate kardiomyopati

Tablonun hazırlanmasında 71 no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

2.2.6. Tanı

Hastalık ile ilgili bilgilerin gelişimiyle birlikte son 30 yıl içinde ÇH için tanı kriterleri çok değişiklik göstermiştir. 1970 ESPGAN (European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition) kriterlerine göre kesin tanı için üç ayrı biyopsi gerekmektedir. Bunlar; glutenli diet alımı sırasında alınan ilk biyopside anormal mukoza izlenmesi, glutensiz diet sonrası biyopside yapısal düzelmenin görülmesi ve diete tekrar gluten eklenmesinden sonra alınan

biyopside mukozada bozulmanın izlenmesiydi. Bu kriterler 1990 yılında revize edilmiş ve glutensiz diete tam yanıt ile birlikte karakteristik ÇH lezyonları içeren tek biyopsi tanı için yeterli bulunmuştur (68,71). Glutensiz diete yanıt veren, tanı esnasında ise pozitif olan seroloji (anti-gliadin, anti-retikülin, anti-endomisyum) tanıyı destekleyici olarak kabul görmüştür (68). Tekrar biyopsisi şüphe halinde, benzer morfolojik değişiklikler yapan antitelerin ekartasyonu için gerekebilir (71). Benzer morfolojik değişiklikler yapan antiteler **Tablo 2.2**'de özetlenmiştir.

ÇH tanısı için pratikte şu zincir takip edilir: semptomlara, belirtilere, ilişkili hastalıklara bağlı olarak veya asemptomatik kişilerde tarama esnasında kilinik şüphe → pozitif seroloji → ince barsak biyopsisi → glutensiz diete yanıt (47).

Tedavi edilmeyen ÇH artmış morbiditeye yol açtığından doğru tanı önemlidir. Genel popülasyonda tarama yapılması tartışılmış ancak herhangi bir ülkede henüz bu yönde başlayan bir sağlık programı bilinmemektedir (84).

Tablo 2.2 Çölyak Hastalığı İle Benzer Morfolojik Değişiklikler Yapan Antiteler

İntraepitelyal lenfosit artışı yapan durumlar	Villöz küntleşme yapan durumlar
Protein allerjileri (yumurta, inek sütü vb.)	Protein allerjileri (yumurta, inek sütü vb.)
Çeşitli otoimmün hastalıklar	Otoimmün enteropati
Bakteriyel aşırı çoğalma	Kollajenöz sprue
Kör barsak sendromu	Kombine immün yetmezlik
Dermatitis herpetiformis	İlaç alımı
Giardiazis	Hipogamaglobulinemik sprue
Graft-versus-host hastalığı	İskemi
Helikobakter pylori	Kwashiorkor hastalığı
İnflamatuar barsak hastalığı	Radyasyon/kemoterapi
İrritable barsak sendromu	Enteropati ilişkili T hücreli lenfoma
Mikroskopik kolit	Zollinger-Ellison hastalığı
Tropikal sprue	Eozinofilik gastroenterit
Viral enteritler	

Tablonun hazırlanmasında 4 ve 85 no'lu kaynaklardan yararlanılmıştır.

2.2.6.1 Serolojik Testler

ÇH'de serolojik testlerin klinisyen tarafından pratikte kullanımı çok yararlıdır. Düşük ya da orta derecede ÇH olasılığı olan hastalar biyopsi alınması yerine serolojik olarak taranabilir. Ancak popülasyonda geniş çaplı taramaya gerek yoktur, riskli hasta grubunun (**Tablo 2.3**) taranması gereklidir (80). Serolojik testler aynı zamanda hastaların glutensiz diete uyumunu takip etmek için de yararlıdır (71).

ÇH serolojik kanıtın olmadığı durumlarda da ortaya çıkabilir. Total villöz atrofiden daha hafif lezyona sahip hastalar daha az oranda antikör pozitivitesine sahiptir. Serolojik test ve biyopsi öncesi hastanın diyetten gluteni çıkarmamış olması gereklidir. Pozitif serolojik test tek başına ÇH tanısı için yeterli olmamakla birlikte tek negatif serolojik marker sonucu hayat boyu ÇH'yi ekarte ettirmez. Gluten alımı azalınca serolojik test seviyeleri de düşer. Örneğin, günlük gluten alımı 2 grama yakın olan Çölyak hastalarının %80'inde endomisyal antikörlerin negatif olduğu görülmüştür (71).

Klinikte rutin olarak kullanılan serolojik testler IgA ve IgG izotipinde anti gliadin antikörleri (AGA IgA ve IgG) ve IgA izotipinde anti endomisyal antikörlerdir (AEA). Bunlar içinde AEA, sensitivite ve spesifitesi en fazla olması nedeniyle en güvenilir olanıdır (86). Serolojik testlerin spesivite ve sensitiviteyi **Tablo 2.4'de** karşılaştırılmıştır.

Gliadin, ÇH'de güçlü humoral cevap oluşturan, glutenin alkolde çözünen kısmıdır. Gliadinin hem IgA hem de IgG altgrup antikörleri ÇH tanısı için adjuvan olarak kullanılmışlardır (71). IgA ve IgG AGA genellikle ELİSA yöntemi ile değerlendirilir (86). ÇH için spesiviteyi olmayan ve yeni testlerin gelişimi nedeniyle klinik olarak artık kullanılmamaktadırlar. Glutensiz diete yanıtı takip etmek için kullanılabilirler. İnflamatuvar barsak hastalığı, peptik ülser, gastroözefajial reflü ve gastroenterit gibi çeşitli gastrointestinal hastalıklarda yanlış pozitif sonuçlar elde edilebilir (71).

Endomisyum insan ve maymun dokularında kollajenöz matrikste bulunan bir bağ doku proteindir (71). Endomisyumda hedef antijen doku transglutaminazdır (87). Önceleri maymun özefagusundan elde edilen kitler kullanılmışsa da daha sonra geliştirilen insan umbilikal kord dokusundan elde edilen kitler daha sensitif ve villöz atrofiyle uyumlu sonuçlar vermiştir (88). IgA EMA neredeyse %100 sensitif ve spesifik olması nedeniyle tedavi edilmemiş çölyak hastalarında en iyi immünolojik marker olarak düşünülmektedir (89). Ancak bu test büyük çaplı tarama için subjektif, kullanışsız, zaman alıcı ve pahalıdır. Asemptomatik hastalarda tarama testi olarak kullanılması hastalığın prevalansının daha düşük saptanmasına yol açabilir (90). Antikör seviyesi glutensiz diete başlandığında azalır ve tedavi görmüş hastalarda saptanamayacak dereceye kadar düşebilir (1). Ayrıca selektif IgA eksikliği

çölyak hastalarında genel populusyona göre daha sık görüldüğünden bu hastalarda IgA EMA testi yararsızdır ve ince barsak biyopsisi gerekir (91).

tTG hasarlanmış epitelden salınan sitozolik bir proteindir (71). EMA tarafından tanınan otoantijenin tTG olduğu saptanmıştır (71,84). Guinea pig veya insan tTG antijenleri içeren kitler kullanılarak yapılan ELİSA yöntemiyle IgA ölçümü yapılabilmektedir (71). İnsan rekombinant tTG'si kullanılarak yapılan testlerin daha doğru sonuçlar verdiği görülmektedir (92). IgG'ye dayalı tTG testlerin ileride geniş çapta kullanım bulacağı ve IgA ile ilişkili ÇH tanısında yardımcı olabileceği düşünülmektedir (71). Hem EMA'nın hem de tTG'nin 2 yaş ve altı çocuklarda sensitiviteyi yetişkinlere oranla daha düşüktür (1).

tTG testinin kullanımının avantajı EMA kullanımında karşılaşılan yüksek maliyet, fazla zaman gerektirmesi, maymun özefagusu kullanımı ve immunfloresan analizin subjektif yorumu gibi olumsuzlukları ortadan kaldıran ELİSA yöntemiyle değerlendirilmesidir (71).

ÇH'de görülebilecek diğer otoantikörler antiretikülin ve antismooth muscle actin antikörleridir fakat bunlar rutinde kullanılmazlar (1).

Tablo 2.3 Risk grupları ve birlikte görülen hastalıklar

- Birinci derece akrabalar
- Down ve Turner Sendromu
- Ig A yetmezliği
- Endokrin hastalıklar
 - Tip 1 DM
 - Otoimmün tiroid hastalıkları
 - Alopesi areata
- Nörolojik Hastalıklar
 - Serebellar ataksi
 - Epilepsi
 - Periferel nöropati
 - Multiple Sklerozis
- Karaciğer Hastalıkları
 - Primer bilier siroz
 - Otoimmün hepatit
 - Otoimmün kolanjit
 - İdyopatik hipertransaminazemi
- Romatolojik Hastalıklar
 - Romatoid Artrit
 - Sjögren Sendromu
- Kalp hastalıkları
 - İdyopatik dilate kardiomyopati
 - Otoimmün myokardit
- Kutanöz hastalıklar
 - Dermatitis herpetiformis
 - Psöriazis
 - Vitiligo
- Diğerleri
 - Demir eksikliği anemisi
 - Osteoporozis
 - İnfertilite
 - Amenore
 - Dental enamel defektler
 - Depresyon ve anksiyete
 - Kronik asteni

Tablonun hazırlanmasında 70 no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

Tablo 2.4 Serolojik Testlerin Sensitivite ve Spesivite

Serolojik test	Sensitivite (%)	Spesivite (%)
AGA		
IgA AGA	75-90	82-95
IgG AGA	69-85	73-90
IgA EMA		
İndirekt immunfloresan	85-98	97-100
Guinea pig tTG	95-98	94-97
Human tTG	93-96	99-100

Tablonun hazırlanmasında 71 no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

2.2.6.2. Diğer Laboratuvar Testleri

Baryumlu ince barsak grafisi (43), serumda demir, folat, albumin, kalsiyum, potasyum değerlerinin ölçümü, karaciğer fonksiyon testleri, periferik kan ve gaita incelenmesi ÇH tanısında kullanılabilecek yardımcı testlerdir (1).

2.2.6.3. Endoskopik Bulgular

ÇH'de villöz atrofiyi gösteren dört endoskopik işaret tanımlanmıştır: duodenal Kerkring's foldlarında kayıp ya da küçülme, mozaik mukozal patern, duodenal foldlarda taraklanma bulgusu ve mukozada mikronodüler patern (93). Bunlara ek olarak damarlanma artışı da görülebilir (1). Bu işaretler endoskopiste ne zaman biyopsi alması gerektiği hususunda yardımcı olur. ÇH tanısında bu işaretlerin sensitivitelerinin %47-%100 arasında olduğu bildirilmektedir. Aralığın bu kadar geniş olması villöz atrofi hafif şiddette olduğu olgularda endoskopik belirteçlerin bulunmayışıdır. Bu nedenle biyopsi alınmayan endoskopik değerlendirmeler ne tanıyı doğrular ne de ekarte ettirir. Endoskopik belirteçler bulunduğu anda ise %92-100 arasında yüksek spesifiteye sahiptir (93). Yine de Crohn hastalığı gibi duodenumu tutan hastalıkların da benzer bulgular gösterebileceği akılda tutulmalıdır. Kapsül endoskopi çalışmaları hastalığın makroskopik yayılımını ve komplikasyonlarını değerlendirmede yardımcıdır. "Double balloon enteroscopy" ince barsak boyunca biyopsi alımını mümkün kıldığından özel durumlarda etkin bir araç olarak kullanıma girmiştir ve böylece kapsül çalışmaları ile daha önce gözden kaçan patolojik değişiklikler saptanabilmektedir (94).

2.2.6.4. İnce Barsak Biyopsisi

ÇH için bugün altın standart kabul edilen tanı testi üst GİS endoskopisi sırasında duodenumun ikinci veya üçüncü parçasından alınan multiple ince barsak biyopsileridir. Çok sayıda çalışmada aynı hastadan alınan duodenal ve jejunal biyopsiler karşılaştırılmış ve duodenumdan yeterince örnek alındığı takdirde nadiren çok küçük farklılıklar tespit edilmiştir (71). Tanının kesin güvenilirliği için dört endoskopik biyopsi alınması gereklidir (95). Biyopsi örnekleri genellikle duodenumun distalinden alınmaktadır ancak duodenal bulbusta da izole yama tarzı villus atrofi bildirildiğinden (96) bu bölgeden ek biyopsi alınması önerilmektedir (97). Özetle, ince barsak biyopsileri hem ÇH tanısını koymak ya da ekarte ettirmek için hem de çölyaklı hastalarda hasarın şiddetini değerlendirmek ve hastalığın yaşamı tehdit eden komplikasyonlarını tanımlamak için kullanılır (1).

2.2.6.5. Histopatolojik Bulgular

Hasta normal dietine devam ederken biyopside histolojik değişikliklerin bulunması ve glutensiz dietle bu değişikliklerin düzelmesi tanısaldır. Daha sonra gluten yüklemesi mukozada hasar oluşturur. ÇH'nin histolojik değişikliklerinin dağılımı sıklıkla yamasal tarzda olduğundan tanıyı doğrulamak için endoskopik olarak normal ve anormal alanlardan birden fazla biyopsi alınıp incelenmelidir. Histolojik değişiklikler en fazla duodenumun ikinci ve üçüncü parçasında belirgindir, distale doğru özellikle de ileumda daha hafif ve yamasal tarzdadır (1). Rektal mukozada da özellikle lenfositik proktit gibi değişiklikler bildirilmektedir (98).

Hastalığın patolojik bulguları normal yapısal düzenin korunduğu, intraepitelyal lenfosit artışıyla karakterli infiltratif lezyon ile tamamen düzleşmiş mukoza aralığında değişir (97). Histolojik değişiklikler çok karakteristiktir ve tümüyle geliştiğinde patoloğa ÇH tanısını işaret eder. Yine de ÇH'yi taklit eden diğer hastalıklar da göz önüne alındığında tanı yalnızca histolojik bulgularla konulmamalıdır (1).

ÇH'nin en başta gelen histolojik özellikleri villöz düzleşme, küntleşme ve kayıp yanısıra kript hiperplazisi, enterosit dejenerasyonu, intraepitelyal lenfositosis, lamina propriada mononükleer hücreler ve eozinofillerde artıştır. Bu nedenle patoloji raporu intraepitelyal lenfosit sayısı ile birlikte kript hiperplazisi ve villöz atrofinin derecesini açıkça belirtmelidir. Modifiye Marsh kriterinin kullanımıyla sağlanan standardizasyon klinisyenle iletişimi de kolaylaştırır (1).

Marsh beş tip lezyon tanımlamıştır (99) (**Tablo 2.5**):

Tip 0 preinfiltratif lezyon: Normal ince barsak mukozasını temsil eder. Dermatitis herpetiformisli bazı hastalarda antigliadin antikor üretimine karşın normal mukoza izlenir (43).

Tip 1 infiltratif lezyon: Villöz yapı korunurken mukozada artmış sayıda İEL mevcuttur. Bu tip lezyonlar dermatitis herpetiformisli hastalarda, çölyak hastalarının birinci dereceden akrabalarında gluten yüklemesi sonrasında ve latent ÇH’de tanımlanmıştır (100). Bu lezyonda malabsorpsiyonun semptom ve belirtileri bulunmaz, barsak geçirgenlik çalışmaları normaldir (43).

Tip 2 hiperplastik lezyon: Bu lezyonda yüzey ve kript epitelinde artmış İEL sayısı yanısıra kript derinliğinde artış vardır. Villus boyu değişmez. Bu tip lezyon dermatitis herpetiformisli hastalarda ve gluten yüklemesi sonrası çölyak hastalarında görülebilir (43,100).

Tip 3 destrüktif lezyon: Bu ÇH’nin klasik lezyonudur. Aslında “destrüktif” terimi çok uygun olmaz. Çünkü bu terim ÇH’de nadiren görülen mukozal kayıp ve ülserasyon gibi çok daha şiddetli lezyon anlamına gelmektedir. “Flat” mukoza daha uygun terim olabilir (100). Bu lezyon ÇH için karakteristik olmakla birlikte tanısız değildir. Şiddetli giardiazis, infantil ilaç duyarlılığı, GVHH, ince barsağın kronik iskemisi, tropikal sprue, immünglobülin eksiklikleri ve diğer immün yetersizlikler gibi durumlarda da görülebilir (43).

Tip 4 hipoplastik lezyon: Bu lezyon mukoza ve submukozada kollajen depolanması yanısıra ince, gerçekten atrofik mukoza ile karakterizedir. Gluten çekilmesine yanıt vermeyen az sayıdaki hastada görülen son evre lezyonu olarak değerlendirilebilir. Bu hastalarda dirençli ÇH ve malign komplikasyonlar gelişebilir (43,100).

Histolojik değişikliklerin şiddeti klinik belirti ve semptomlarla korelasyon göstermez. Ancak hastalığın ince barsaktaki yayılımı klinik şiddeti ile uyumludur. Şiddetli villöz atrofi görülen çölyak hastası ince barsak tutulumunun kısa olması nedeniyle asemptomatik olabilir. Diğer yandan daha uzun barsak segmentini tutan minimal histolojik değişiklikler klinik semptomlar verebilir (1).

ÇH’de epitelin olmazsa olmaz patolojik özelliklerinden biri intraepitelyal lenfosit artışıdır. Yüksek İEL sayısı her zaman villöz atrofi ve kript hiperplazisinin derecesi ile uyumlu değildir ve normal villöz yapının bulunduğu tip 1 infiltratif lezyonlarda da görülebilir (100). Özellikle İEL’ler villus içinde yer aldığı ÇH’nin sensitif bulgusu olmakla birlikte spesifikliğin nisbeten düşük olması faydasını sınırlar. İEL sayımı oryantasyonu düzgün 3-4 mikronluk kesitlerde yapılmalıdır. Normal ince barsak epiteli H.E. kesitlerde 100 enterosite 20 kadar lenfosit içerir. Daha fazla sayıda lenfosit lenfoid foliküller ve lenfoid agregatların

üzerinde de görülebilir. Bu nedenle intraepitelyal lenfosit sayımı bu alanlarda yapılmamalıdır. ÇH tanısı için modifiye Marsh sınıflandırmasına göre anlamlı intraepitelyal lenfosit artışı 40 lenfosit/100 yüzey ya da üst kript enterositinden fazla olarak tanımlanmıştır. Goldstein ve Underhill villus ucunda epitelde lenfositlerin kümeleşerek (sayıları 12'yi geçmek kaydıyla) yanlardan aşağıya doğru uzanmasının ÇH'nin bir işareti olabileceğini göstermişlerdir (101). Bazıları ise erken ÇH'de kontrollere göre villus ucundaki lenfositlerde belirgin artış gözlemlemekle birlikte kontrol grubu ve erken çölyak hastaları arasında intraepitelyal lenfosit dağılımında fark bulamamışlardır (102).

İnce barsak İEL'leri T lenfositlerin heterojen popülasyonundan oluşmaktadır. Normalde İEL'lerin çoğu CD3+ CD8+ T hücreleridir ve çoğunlukla TCR- $\alpha\beta$ + hücrelerdir, CD4+ İEL'ler çok küçük bir kısmı oluşturur. Tedavi edilmemiş çölyak hastalarında ise TCR- $\gamma\delta$ ekspresyona eden CD3+CD8- hücrelerde artış vardır. İEL artışı ÇH için spesifik olmadığından CD3+CD8- hücre üstünlüğünü göstermek için İEL'lerin immünofenotiplendirmesinin yararı olabilir (103).

ÇH'de enterositler fırçamsı kenarda azalma, küboidal görünüm, supranükleer sitoplazmik vakuolizasyon, sitoplazmik bazofili, polarite kaybı ve bazal nükleer oryantasyon kaybı gibi nonspesifik değişiklikler gösterirler. Hücreler kalabalıklaşmaya başladığından psödostratifikasyon gösterebilirler. Yüzey erozyonu olağan değildir ancak şiddetli vakalarda görülebilir. Goblet hücreleri normal ya da bazen artmış sayıdadır. Subepitelyal bazal membran normal ya da kalınlaşmış görünümündedir. Erken histolojik değişiklikler villus boyunda hafif kısalma ile birlikte villöz genişlikte aşırı artışı içerir. Enterosit proliferasyonunda ve turnoverında belirgin artış ile ilişkili enterosit yıkımı villöz değişikliklere neden olur. Kriptlerdeki mitotik aktivitenin arttığı mukozal hiperkinetik evre yüzey hasarını kompanse ederek hastalığın erken döneminde total mukozal kalınlığın korunmasını sağlar. Kriptin proliferatif zonu genişler ve enterosit mitotik aktivitesinde artış olur. Kriptlerin bazalinde yerleşen enterositler rejeneratif görünürler ve goblet hücreleri sayıca azalır. Villöz uzunluk/kript derinliği oranı 1/3 veya daha fazla genellikle 1/4 veya 1/5 normal olarak kabul edilmiştir. Bu oranın altının villöz atrofiyi gösterdiği düşünülür. Endokrin hücreler ve Paneth hücreleri sıklıkla sayıca artmıştır ve kript içinde düzensizce dağılım gösterirler. Bu değişiklikler mukozal düzleşmenin artışı ve kript hücrelerinin genişlemesiyle ilerler. Endokrin hücrelerdeki artışın ince barsak mukozasında emilim yüzeyinin azalmasına sebep olduğu düşünülür. Endokrin hücre hiperplazisi ÇH'de görülen diareye katkıda bulunabilir. Pilorik metaplazi gelişebilir (1).

Lamina propriada ödem, konjesyon ve değişen derecelerde inflamasyon bulunur. İnflamatuar infiltrat baskın olarak lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşur. Eozinofiller, mast hücreleri, bazofiller ve bazen nötrofiller de inflamasyona eşlik edebilir (1). Nötrofiller bazen çok sayıda görülebilirler ancak kriptit ve kript absesi oluşturuyorsa öncelikle otoimmün enteropati, peptik hasar veya Crohn hastalığı gibi alternatif tanılar akla gelmelidir. İnflamasyon özellikle mukozanın üst yarısında belirgindir. Eozinofil sayısı dikkat çekici olabilir ancak allerjik enteritten farklı olarak artışları mononükleer hücre sayısının artışı ile paralellik gösterir (104). IgA- baskın olmak üzere IgA-, IgG- ve IgM salgılayan hücreler 2-6 kat artmıştır. IgA yetmezliği ve ÇH olan hastalar lamina propriada daha az şiddette kronik inflamatuvar infiltrat içerir. Lamina propria sinirleri artabilir (1).

Glutensiz diyetle ince barsaktaki morfolojik düzelmenin ardından gluten yüklemesi ile tekrar alevlenmesi çoğunluk tarafından benimsenmiş tanı kriteridir. Gluten çekilmesinin ardından tekrarlayan biyopsiler genellikle aktif hastalık belirtisi olmadan iyileşmekte olan enterit bulguları gösterir. Biyopsiler normale dönmezse iki olasılık düşünülmelidir: ya hasta diyetle uyumsuzluk gösteriyordur ya da başka bir hastalık vardır. Yetişkinler genellikle glutenin diyetten çekilmesine klinik semptom olarak iyi yanıt vererek tekrar biyopsisine ihtiyaç duymazken çocuklar sıklıkla daha karışık görünüm sergilerler. Bu nedenle çocuklarda diyetle yanıtı değerlendirmek için daha düzenli biyopsi gerekir (1).

Glutensiz diyetin en hızlı etkisi villusları döşeyen enterositlerde görülür. Mukoza iyileştikçe inflamatuvar infiltrat azalır, epitelyal hücreler kolumnar şekillerine döner ve yüzey mikrovillusları yeniden belirir. Hücreler uzar ve intraepitelyal lenfosit sayısında giderek azalma görülür. Hastalar bu zaman periodunda klinik olarak iyileşirler. Villuslar için ise bu birkaç ay zaman gerektirir. Eğer biyopsiler iyileşmekte olan dönemde alınmışsa intraepitelyal lenfosit artışı ve hafif epitelyal hasar gibi klasik görünümler olmayabilir ancak kriptler biraz hiperplastik ve villuslar atrofik görünebilir. Glutensiz diyetle duodenal-jejunal bileşkede yerleşen lezyonların tamamen normale dönmesi için birkaç yıl gerekebilir (1).

Tablo 2.5 Modifiye Marsh-Oberhuber Sınıflandırması

Tip	İEL/100 epitelyal hücre	Kript	Villus görünümü
Preinfiltratif Tip 0	<40	Normal	Normal
İnfiltratif Tip 1	>40	Normal	Normal
Hiperplastik Tip 2	>40	Hipertrofik	Normal
Destruktif Tip 3a	>40	Hipertrofik	Hafif küntleşme
Destruktif Tip 3b	>40	Hipertrofik	Orta şiddette küntleşme
Destruktif Tip 3c	>40	Hipertrofik	Şiddetli küntleşme
Hipoplastik Tip 4	>40	Atrofik	Şiddetli küntleşme

Tablonun hazırlanmasında 4 no'lu kaynaktan yararlanılmıştır.

2.2.7. Tedavi

ÇH'nin kanıtlanmış tek tedavisi yaşam boyu katı glutensiz diettir. Tahıl, çavdar, arpa ve türevlerinden gluten içeren tüm yiyecek ve ilaçların kullanımı kesilmelidir çünkü küçük miktarlar bile zararlı olabilir (97).

2.2.8. Prognoz

Tanı esnasında atipik veya sessiz (silent) çölyak hastalarının klasik semptomları olan hastalara göre belirgin derecede daha iyi yaşam kalitesine sahip oldukları bildirilmektedir. Atipik semptomları olan hastalar da dahil olmak üzere semptomatik hastalar glutensiz diyetle hızlı ve önemli derecede iyileşme gösterirken sessiz (silent) grupta bu yarar gösterilememiştir (105).

2.2.9. Komplikasyonlar

Hastaların yaklaşık %5-30'u diete cevap vermez ve bu duruma dirençli (refractory) ÇH (RCD) denir. Dirençli ÇH'nin iki tipi vardır: tip 1 RCD normal İEL popülasyonu içerirken tip 2 RCD baskın olarak tipik olmayan İEL fenotipi sergiler. RCD'li hastalar özellikle de tip 2 RCD'li olanlar ülseratif jejunitis ve enteropati tip T hücreli lenfoma komplikasyonları için artmış risk içerirler (106).

Hastalığın şiddeti ne olursa olsun tedavi edilmezse uzun dönemde ciddi komplikasyonlar gelişebilir. Özefajiel skuamöz hücreli karsinoma, primer ince barsak adenokarsinoma, non-Hodgkin lenfoma, özellikle enteropati tip T hücreli lenfoma riskinde artış tanımlanmıştır. 5 yıldan uzun süre katı glutensiz diyet uygulanması bu neoplazilerin gelişim riskini ortadan kaldırır (104).

2.3 FAS/FASL

Apoptozis doku hemostazisinin düzenlenmesinde görev alan, genetik olarak kontrol edilen bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Morfolojik olarak hücre büzülmesi, membran değişimi, kromatin yoğunlaşması ile DNA ve hücrenin apoptotik cisimciklere parçalanması ile karakterlidir (9).

Apoptozis normal enterositin yapım-yıkım döngüsünü sağlayarak gastrointestinal sistemin epitelyal fonksiyonlarının sürdürülmesinde esas rolü üstlenir. Fizyolojik koşullarda apoptotik hücreler ince barsağın villus ucuna sınırlıdır ve eşit sayıda proliferen olan immatür kript hücresi ile yer değiştirirler (10). ÇH gibi immün aracılı hastalıklarda artmış sayıda enterosit kript-villus eksenini boyunca prematür apoptozise gider (12). ÇH'de mukozal düzleşmenin nedeninin lenfositlerdeki litik perforin granüllerinin enterositleri hasara uğratması ve FAS/FASL aracılı artmış enterosit apoptozisi olduğu düşünülmektedir (11,12).

Apoptozisin düzenlenmesinde ekstrinsek ve intrinsek yollar tanımlanmıştır. Ekstrinsek yolda pro-apoptotik sinyallerin iletiminde yüzey reseptörleri ve spesifik ligandların rolü vardır. Mikroçevreden gelen ölüm sinyalini hücreye taşıyarak sitoplazma ve organellerde apoptozisi aktive ederler. Intrinsek yolda apoptozis hücre içinden nükleus ve sitoplazmada bulunan spesifik hücre algılayıcıları yoluyla aktive olur. Her iki yolda ortak bir noktada birleşerek kaspaslar adı verilen enzimlerin aktivasyonunu sağlarlar (9).

Ekstrinsek yolda pro-apoptotik sinyalleri hücre dışından içeriye aktarmada ölüm reseptörleri ya da TNF-R (tümör nekrozis faktör reseptörü) denilen membran reseptör ailesinin üyeleri görev alır. Bu reseptörlerin ortak özellikleri ligand bağlanması için gerekli olan sisteinden zengin hücre dışı bileşenlerinin ve apoptotik sinyal iletimi için gerekli olan bir hücre içi ölüm alanı (Death domain-DD) içermeleridir (107,108).

FAS (CD95/APO-1) aktive T ve B hücreleri yanısıra karaciğer, akciğer, barsak ve deri gibi çeşitli dokulardan salınan apoptotik hücre ölümünü uyaran bir tip I integral membran proteindir (13). FAS'ın spesifik ligandı FAS ligand (FASL) TNF (tümör nekrozis faktör) ailesinden bir tip II integral membran proteindir. FASL aktive T ve doğal öldürücü (NK, natural killer) hücreler tarafından eksprese olur. FASL membran proteini olarak sentez edilen bir sitokindir ve metalloproteinazların proteolitik etkisiyle hücre yüzeyinden homotrimerler olarak salınır (60). Ölüm reseptörleri bir kere aktive olduğunda kendi DD'leri ile sitoplazmada bulunan adaptör proteinlerin (FADD-Fas-associating protein with death domain) DD'lerinin etkileşimi yoluyla adaptör proteinleri çalıştırır. Adaptör proteinler DD dışında apoptozisi başlatan enzim olan prokaspas-8'in DED (Death effector domain)'i ile

etkileşecek DED alanı içermektedirler. FAS reseptörünün trimerize olmuş DD'leri FADD'nin DD'si ile birleşince FASL'ye bağlanır. Bu moleküler kompleks (FAS/FADD/kaspaşlar) death-inducing signaling complex (DISC) (109) olarak isimlendirilir (110). Bu kaspaşların konsantrasyonlarının artışı aktive olmalarını sağlar ve sitoplazmaya aktive kaspaş-8 ve kaspaş-10 salınımı gerçekleşir. Böylece apoptotik sinyal tetiklenmiş olur (111). Kaspaşlar hücre içi sistein proteazlardır. Etkin kaspaşlar (kaspaş-3, -6 ve -7) hücre elemanlarının proteolizi yoluyla hücre ölümünden sorumludur (110).

İmmün sistem FAS-FASL'nin başlıca apoptotik mediatör olarak tanımlandığı ilk alandır. Daha sonra lenfoid dokulara (dalak ve timus) ek olarak sıklıkla lenfositik infiltrasyonun bulunduğu ince barsak, kalın barsak, akciğer ve karaciğer gibi dokularda da önemli derecede FASL mRNA seviyeleri saptanmıştır (18).

Lenfoid hücrelerdeki FAS ve FASL'nin başlıca rolü immün cevabın kontrolünde aktivasyonun indüklediği hücre ölümü (AICD) ile lenfosit sayısının düzenlenmesidir. Antijen taşıyan lenfositlerin artışını takiben aktif T hücrelerinde bu hücrelerin dokudan uzaklaştırılması için gerekli olan FASL upregülasyonu gerçekleşir. Antijenin ortadan kalkmasından sonra aktif T hücre popülasyonunun devam etmesi otoreaktivite gibi potansiyel zararlı etkilere yol açabilir. AICD'ye ek olarak aktif T hücreleri periferel, lenfoid doku dışı alanlarda FASL ekspresyonu yoluyla da silinebilirler (18).

FAS-FASL'nin immün yanıtı kontrolü üzerine yapılan çalışmaların çoğu periferel lenfositler üzerinde veya in vitro olarak yapılmıştır. Gastrointestinal sistem gibi organa spesifik çalışmalar değildir. Her ne kadar kontrolsüz lenfositik cevap gastrointestinal sistemde dolaylı yoldan şiddetli sonuçlara neden olabilirse de lenfoid hücrelerde bulunan FASL'nin en fazla potansiyel zararlı etkisi FAS pozitif hücrelere olan sitolitik aktivitesidir. Olasılıkla, birçok immün reaksiyonda aktif ve FASL eksprese eden lenfositler barsağı infiltre ederek hedef hücrelerde hasara neden olabilir (18).

FAS-FASL yolağının gastrointestinal sistemin patolojik hastalıklarında özel önemi olduğunu düşündürecek birçok neden vardır. Gastrointestinal sistemdeki birçok hücrenin FAS eksprese ettiği ve FAS aracılı ölüme yüksek hassasiyet gösterdiği saptanmıştır. Özellikle kolonda daha fazla olmak üzere lamina propriadaki T hücrelerin FAS aracılı apoptozise duyarlı olduğu (19,20) ve intestinal epitelyal hücrelerin FAS eksprese ettiği, bazı koşullarda FAS aracılı hücre ölümüne duyarlı olduğu gösterilmiştir (21,22).

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi:

2005-2010 yılları arasında Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümünde DEA ön tanısı ile gelerek tanı almış yetişkinlere ait 29 adet, çocuklara ait 7 adet ÇH, yetişkinlere ait 17 adet, çocuklara ait 6 adet non-spesifik duodenit, yetişkinlere ait 24 adet ve çocuklara ait 6 adet İEL (intraepitelyal lenfosit) artışı gösteren duodenum olgusu çalışma kapsamına alındı. Çölyak hastaları klinik olarak ÇH ön tanılı vakalardı. Yetişkinlere ait 28 adet ve çocuklara ait 7 adet normal duodenum mukoza biyopsisi kontrol olarak kullanıldı. Vakaların tümü duodenumun ikinci kısmından alınmış endoskopik biyopsi materyali idi. Olgulara ait H-E boyalı preparatlar tekrar değerlendirilerek villus oryantasyonu değerlendirmeye uygun vakalar seçildi.

3.2. Histopatolojik İnceleme

Çölyak hastaları Modifiye Marsh kriterlerine göre değerlendirildiğinde yetişkin grubunda 20 olgu Tip IIIc, 8 olgu Tip IIIb ve 1 olgu Tip IIIa, çocuk grubunda 5 olgu Tip IIIc ve 2 olgu Tip IIIb destrüktif tip olarak tanımlandı. İEL artışı gösteren duodenum mukozaları Modifiye Marsh kriterlerine göre ÇH tanısı ile uyumlu olmayan morfolojik özelliklere sahip olgulardı. İEL artışı değerlendirirken 100 enterosite 20 lenfosit oranını normal olarak kabul ettik (101). Non-spesifik duodenit olguları ülser içermeyen, spesifik etyoloji saptanamayan, lamina propria kronik iltihabi hücrelerde artış gösteren biyopsilerdi.

3.3. İmmünohistokimya :

3.3.1. CD3, CD8 ve FAS saptanması

İmmünohistokimya için primer antikor olarak CD3 antikorunu (Neomarkers Ltd), CD8 antikorunu (Neomarkers Ltd) ve FAS antikorunu (Rabbit Pab, Labvision Ltd) kullanıldı. FAS antikorunu optimal dilüsyon olarak 1/100 oranında hazırlandı.

İmmünohistokimyasal inceleme için sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulandı. 4 µm kalınlığındaki kesitler adeziv lama alınıp 1 gece boyunca 37 °C'de etüvde bekletildi, ertesi gün 60 °C'de 20 dakika etüvde bekletildikten sonra iki defa 10'ar dakikalık sürelerde ksilenden ve iki defa 2'şer dakika alkollerden geçirilerek deparafinize edildi. Distile su ile yıkanan kesitler antijen açığa çıkarma aşaması için sitrat solusyonuna (pH=6) alınarak 23

10 dakika süreyle 98 °C'de PT modüle (Labvision,UK) alındı. Distile su ile yıkandıktan sonra otomatik sisteme (Labvision Autostainer 480) yerleştirildi. Otomatik sistemde önce PBS ile yıkanan preparatlara daha sonra endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %3 hidrojen peroksit 10 dakika süreyle uygulandı. PBS ile iki kez yıkanan preparatlara 5 dakika protein blok solüsyonu (Blocking Reagent-ultra v blok, Labvision) ile protein blokajı yapıldı. Sonra PBS ile iki kere yıkanan preparatlara primer antikor damlatılarak 60 dakika inkübe edildi. PBS ile iki kere yıkandıktan sonra 45 dakika biotin içeren sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-polyvalent, Labvision) ile inkübe edildi. Sonrasında PBS ile iki kere yıkanan preparatlara Strep-AB kompleksi (Streptavidin Peroxidase, Labvision) damlatılıp 45 dakika bekletildi. PBS ile iki kere yıkandıktan sonra Diaminobenzidin (DAB, Labvision) kromojen olarak kullanıldı ve preparatlara damlatıldıktan sonra 8 dakika bekletildi. Tekrar PBS ile iki kere yıkandıktan sonra Mayer's Hematoksilin (Merck Mayer's hemalum solution for microscopy) damlatılıp 5 dakika beklenecek şekilde karşıt boyama yapıldı. PBS ile iki defa yıkanan preparatlar otomatik sistemden çıkarılıp 5 dakika süreyle musluk suyu ile yıkandıktan sonra 1 defa alkole batırılıp çıkarıldı. Sonra kurutulup ksilene alındı. Daha sonra entelan (Merck) ile kapatıldı.

Pozitif kontrol olarak CD3 ve CD8 için reaktif lenfoid hiperplazi tanısı almış tonsil dokusuna ait uygun kesitler, FAS için ise ince barsak rezeksiyon materyalinden seçilen normal sınırlarda ince barsak dokusuna ait uygun kesitler kullanıldı.

3.3.2. FASL saptanması

İmmünohistokimya için primer antikor olarak FASL antikorunu (Neomarkers Ltd) kullanıldı. Pozitif kontrol olarak malign melanoma tanısı almış örnekten uygun kesitler kullanıldı. 4 µm kalınlığında kesitler adeziv lama alındı. Preparatlar 1 gece boyunca 37 °C'de etüvde bekletildi, ertesi gün 60 °C'de 20 dakika etüvde bekletildi, iki defa 10'ar dakikalık sürelerde ksilende tutuldu. Daha sonrasında iki defa 2'şer dakika alkollerde bekletilerek deparafinize edildi. Kesitler distile su ile yıkandı. Antijen açığa çıkarma aşaması için preparatlar sitrat solüsyonuna (pH=6) alınarak 23 dakika süreyle 98 °C'de PT modüle (Labvision,UK) alındı. Preparatlar modülden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Distile su ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %3 hidrojen peroksit 5 dakika süreyle uygulandı. Daha sonra distile su ile yıkanan preparatlar Sequenza Manuel boyama istasyonuna (Shandon Scientific Limited, Astmoor, UK) dizildi. Yıkama solüsyonu olarak fosfat tampon solüsyonu (Phosphate Buffered Saline) kullanıldı. İki kez yıkandıktan sonra 8 dakika protein blok solüsyonu (Blocking Reagent-Ultra v blok, Labvision) ile protein

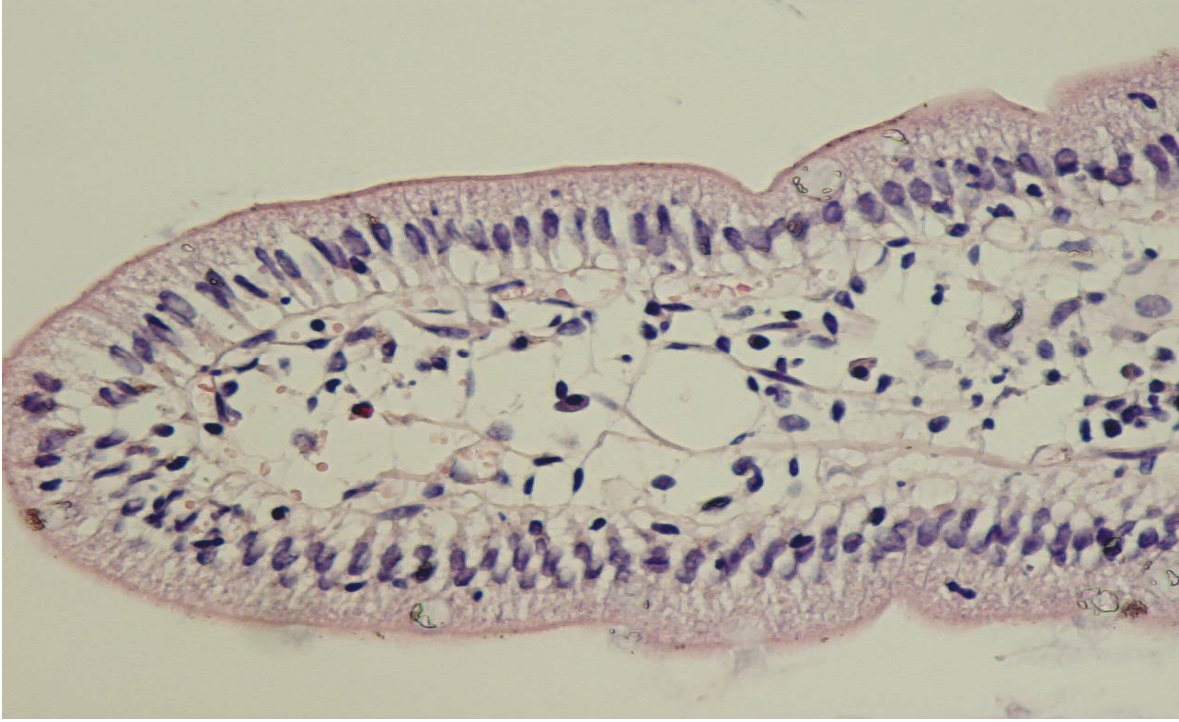
blokağı yapıldı. Sonra PBS ile 2 kere yıkandıktan sonra primer antikor damlatılarak oda ısısında 1 gece nemli ortamda inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün 2 kez PBS ile yıkanan preparatlar biotin içeren sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-polyvalent, Labvision) ile 45 dakika inkübe edildi. Sonrasında 2 kez PBS ile yıkandı. Strep-AB kompleksi (Streptavidin Peroxidase, Labvision) damlatılıp 45 dakika beklendi. Sonrasında 2 kez PBS ile yıkandı. Diaminobenzidin (DAB, Labvision) kromojen olarak kullanıldı ve damlattıktan sonra 10 dakika beklenildi. Sonrasında 2 kez PBS ile yıkandı. Mayer's Hematoksilin (Merck Mayer's hemalum solution for microscopy) damlatılıp 5 dakika beklenerek karşıt boyama yapıldı. 2 kez PBS ile yıkandıktan sonra 5 dakika süre ile musluk suyu ile yıkandı. Yıkanan preparatlar 1 defa alkole batırılıp çıkarıldı. Kuruduktan sonra ksilene alınan preparatlar entelan (Merck) ile kapatıldı.

3.3.3. CD3 ve CD8 immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

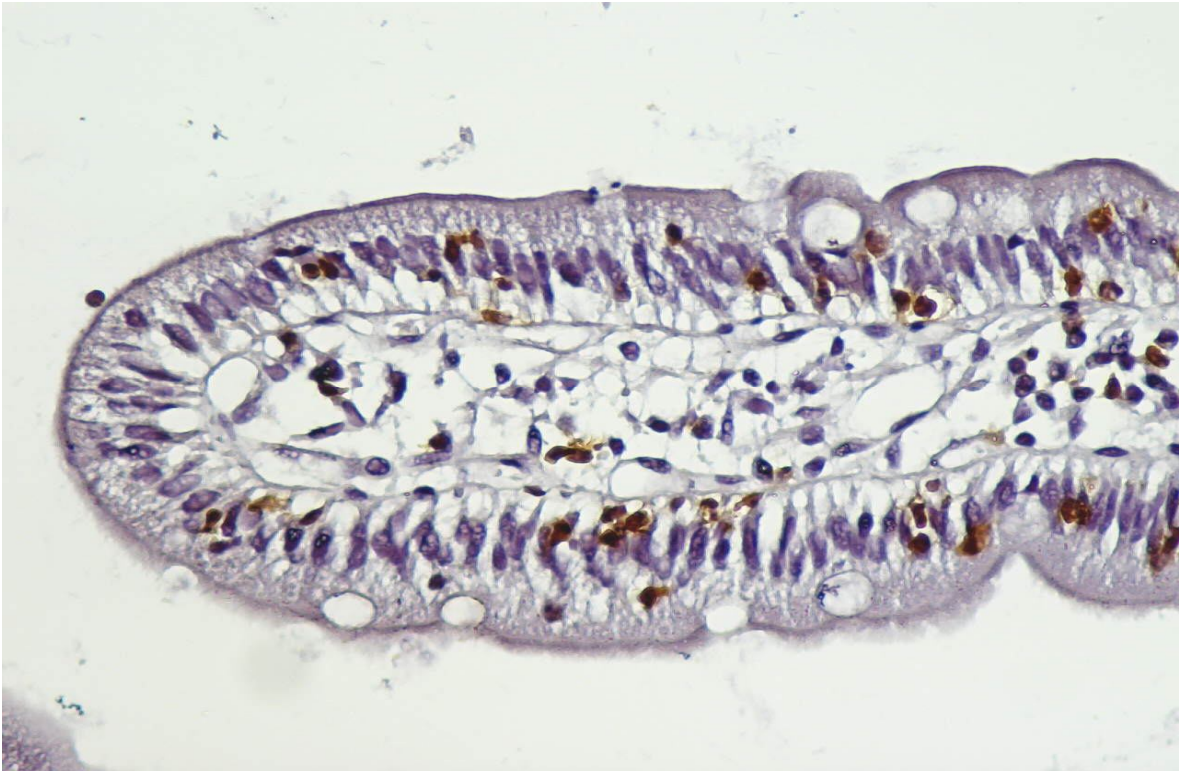
Her iki antikor için sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Yüzeyde ve kriptlerde 100 enterositte intraepitelyal lenfosit sayısı değerlendirilmiştir. Ayrıca yüzeyel ve derin lamina propriada 100 mononükleer hücrede pozitif boyanan hücreler sayılmıştır.

3.3.4. FAS ve FASL immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

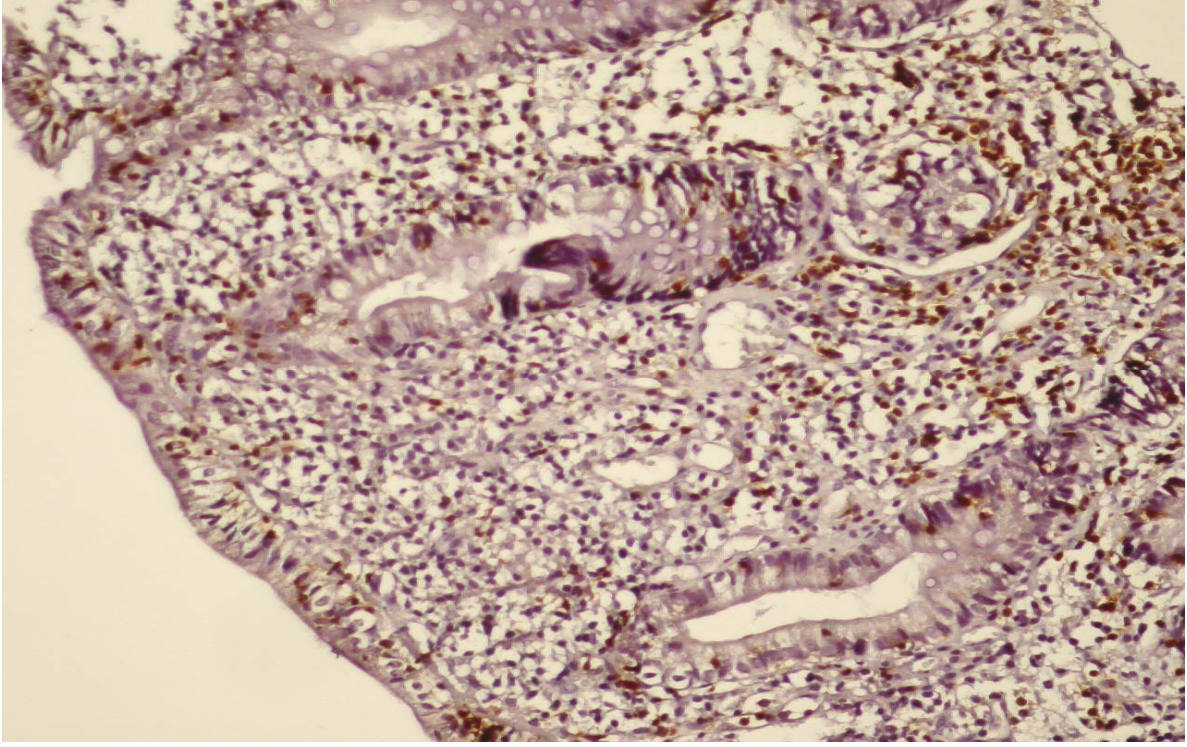
Her iki immün belirleyici ile sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi ve boyanmanın mikroskoptaki değerlendirilmesinde modifiye immünohistokimyasal skor (H-SCORE) kullanıldı. Bu skora yöntemi i boyanma yoğunluğu ve P_i bu yoğunluktaki boyanan hücrelerin sayısı olmak üzere $HS = \sum (P_i \times i / 100)$ olarak daha önce tariflenmiştir (112). H-SKOR kullanılarak tüm preparatlarda yüzey ve kriptlerdeki enterositlerde, yüzey ve kriptlerdeki intraepitelyal lenfositlerde ve lamina propriadaki mononükleer hücrelerde boyanma ayrı ayrı değerlendirildi.



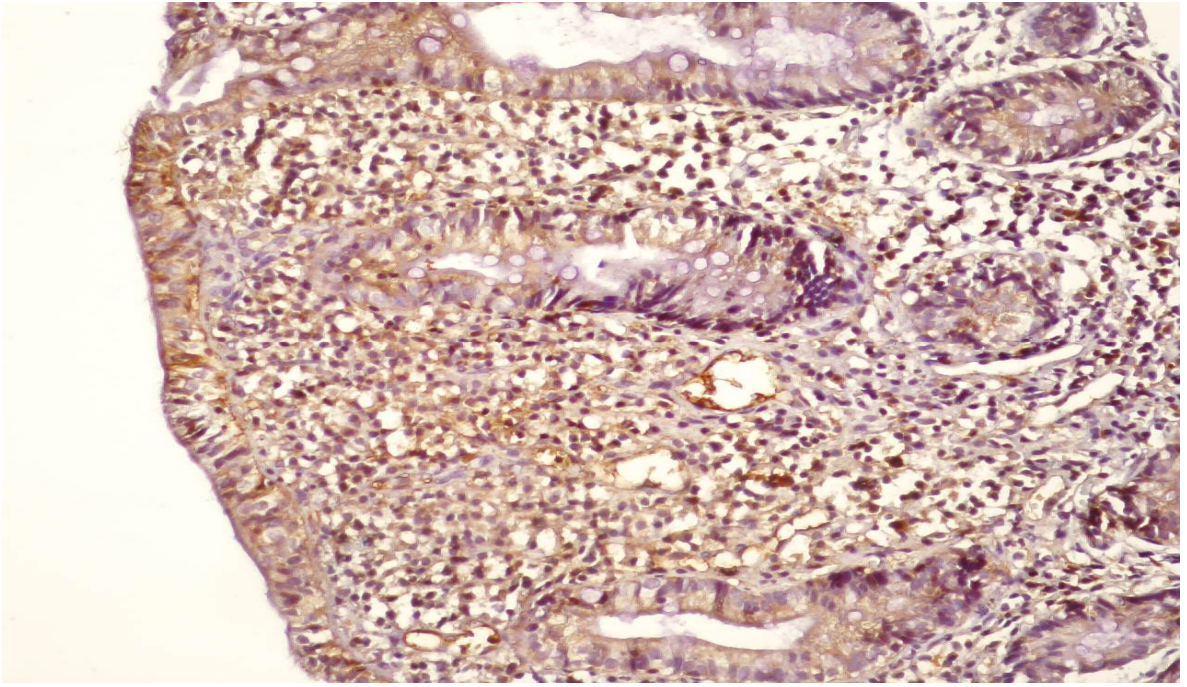
Resim 3.1: Villusda intraepitelyal lenfositler (H-Ex200)



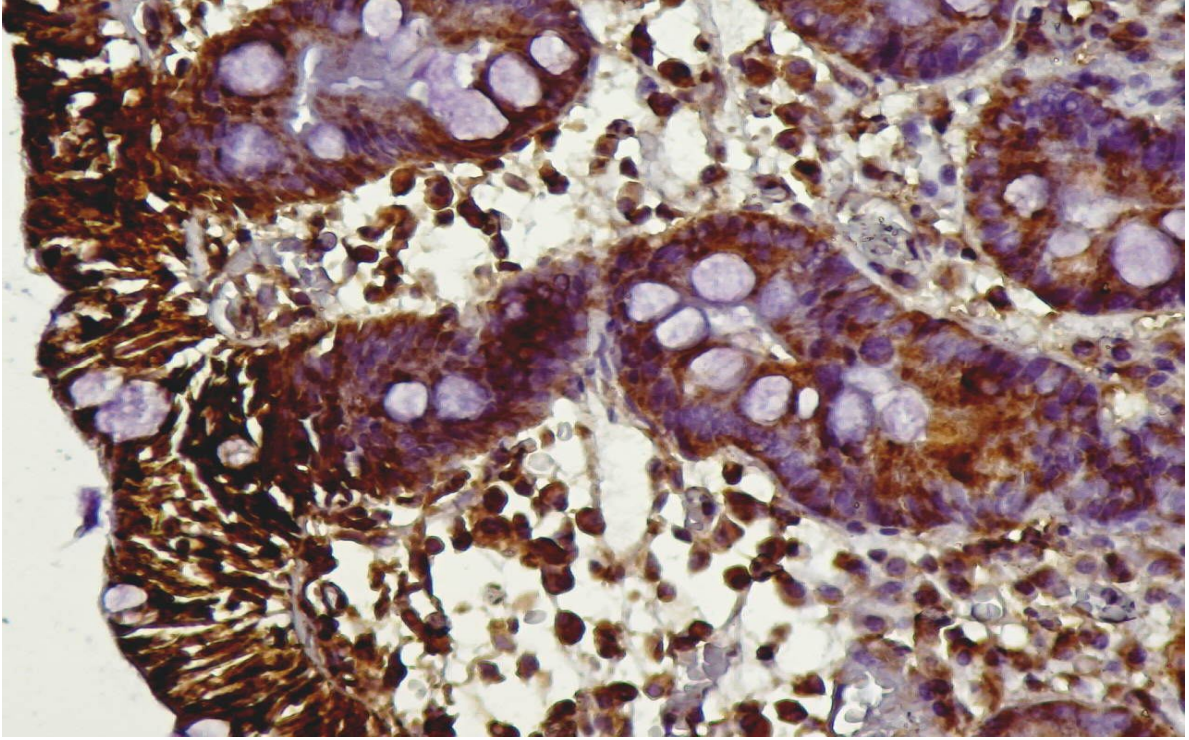
Resim 3.2: CD3 pozitif intraepitelyal T lenfositler (DABx200)



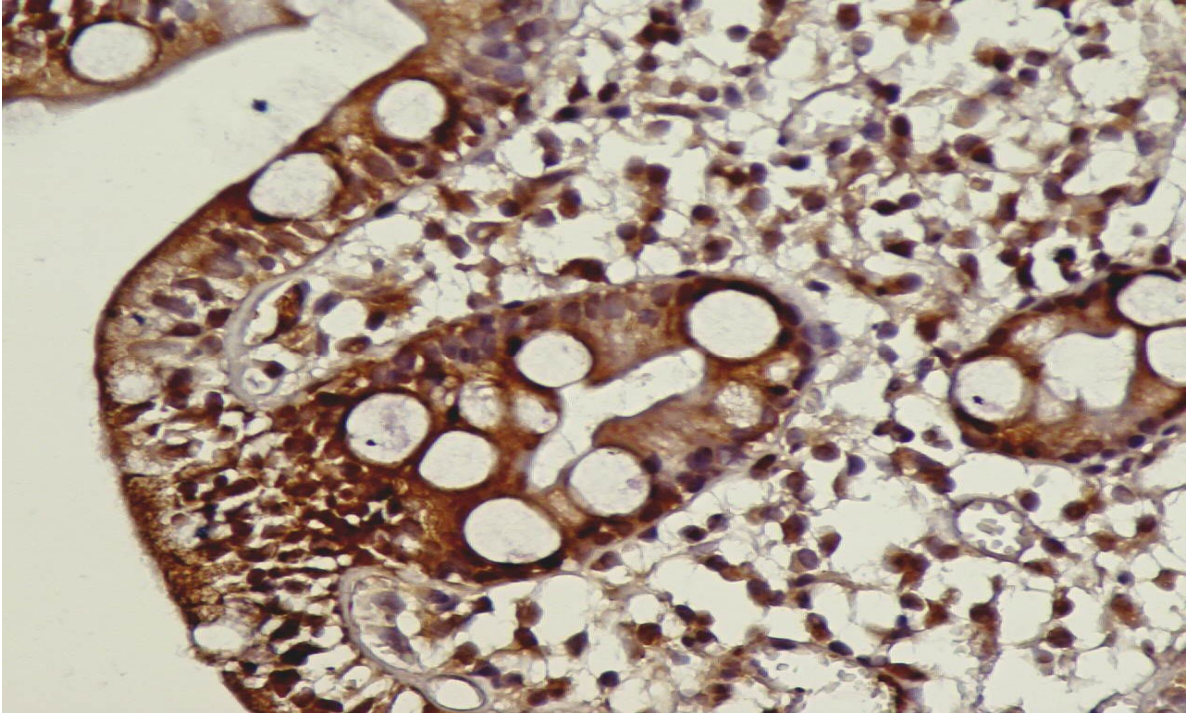
Resim 3.3: Çölyak hastalığında intraepitelyal ve lamina propriada CD3 pozitif T lenfositler (DABx200)



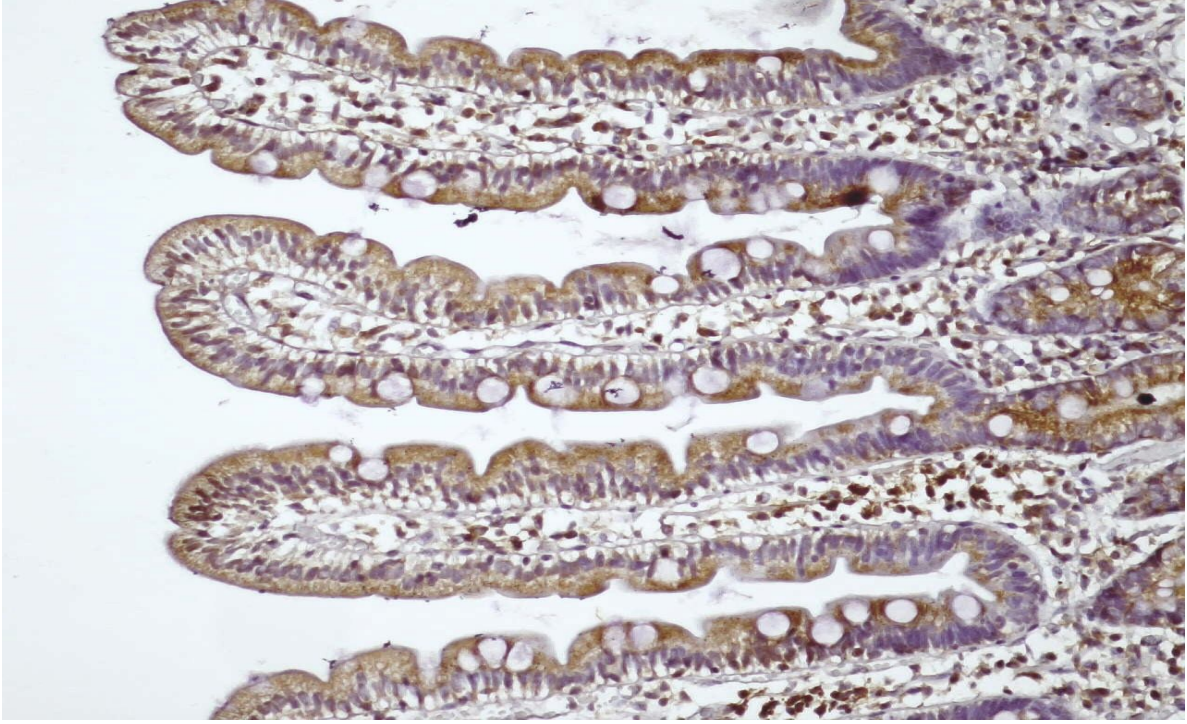
Resim 3.4: Çölyak hastalığında lamina propriada CD8 pozitif T lenfositler (DABx200)



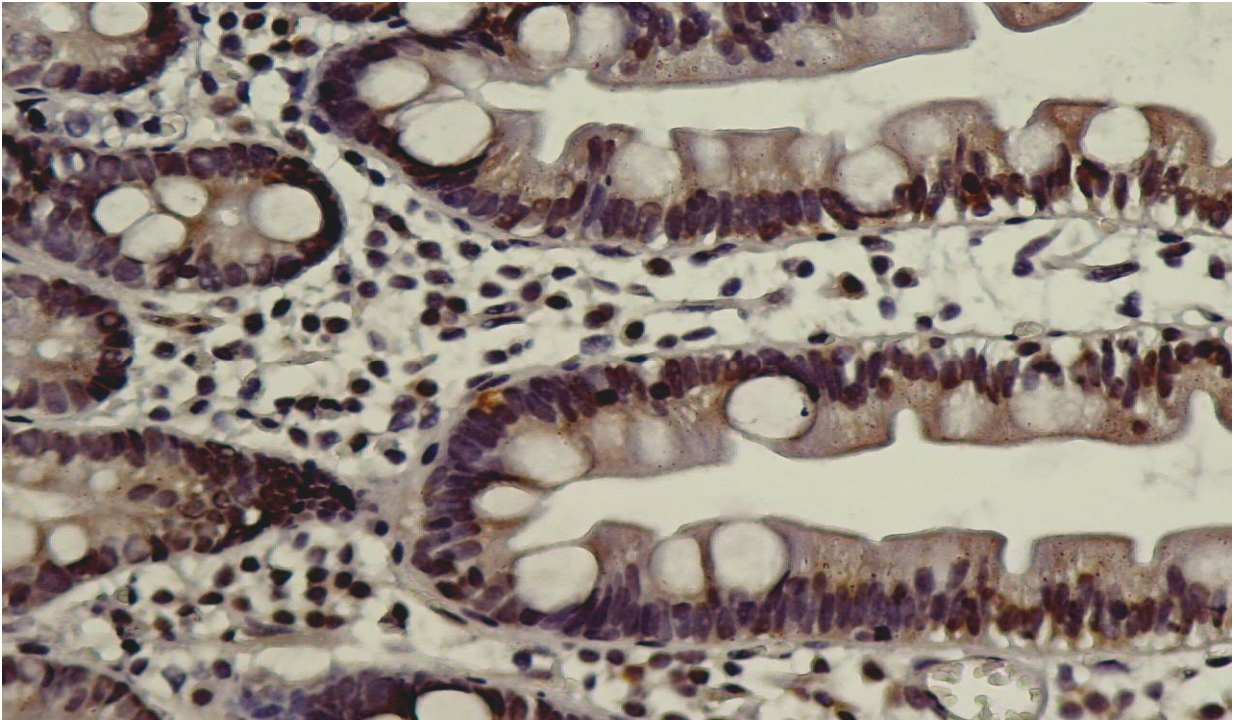
Resim 3.5: Çölyak hastalığında FAS ekspresyonu (DABx400)



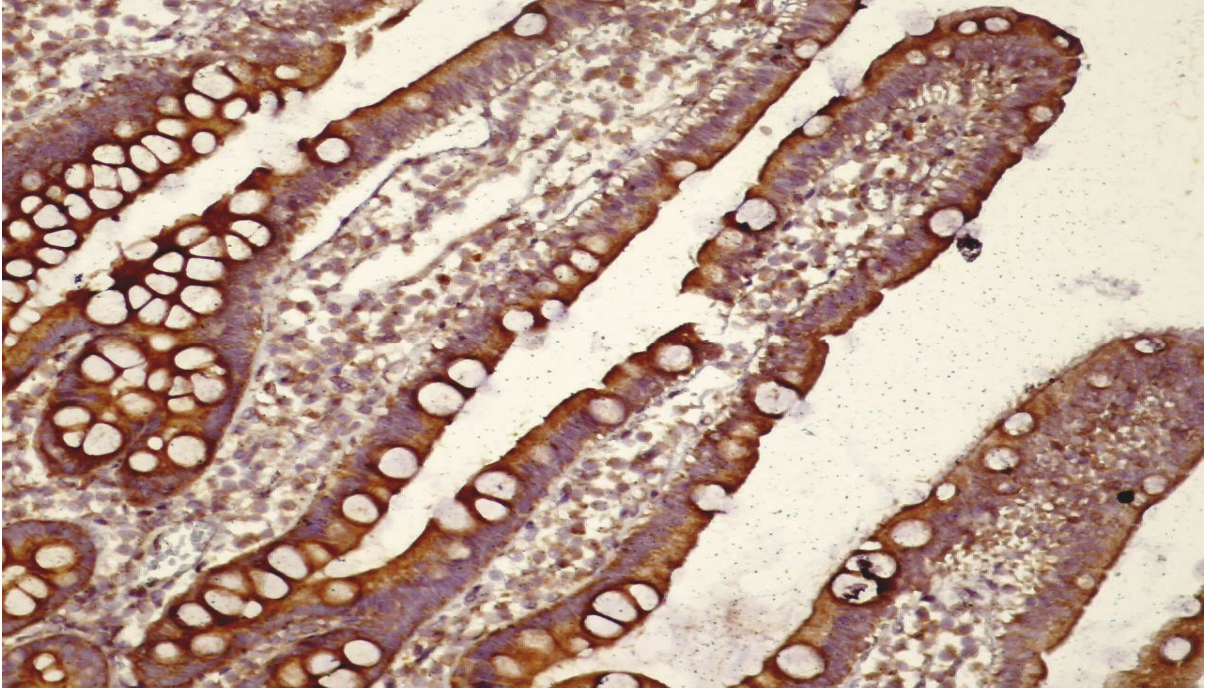
Resim 3.6: Çölyak hastalığında FASL ekspresyonu (DABx400)



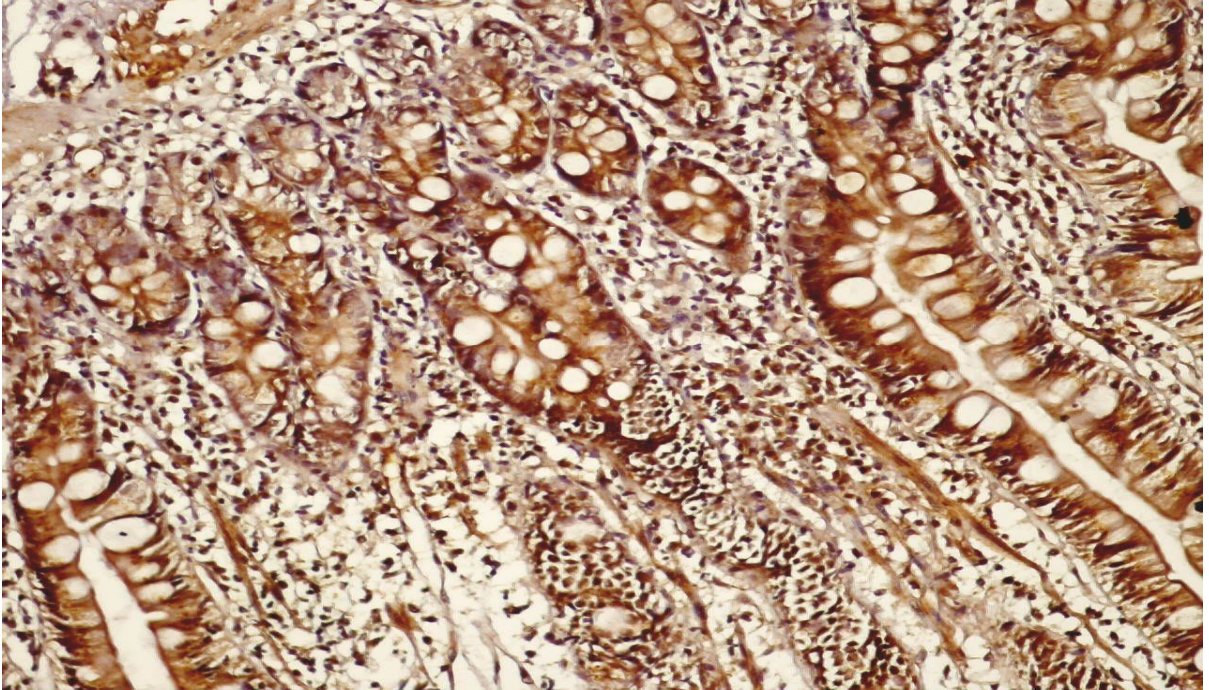
Resim 3.7: Normal duodenum mukozasında FAS ekspresyonu (DABx100)



Resim 3.8: Normal duodenum mukozasında FASL ekspresyonu (DABx400)



Resim 3.9: İntraepitelyal lenfosit artışı gösteren mukozada FAS ekspresyonu (DABx200)



Resim 3.10: İntraepitelyal lenfosit artışı gösteren mukozada FASL ekspresyonu (DABx200)

3.4. İstatistiksel İnceleme

SPSS 16.0 Windows istatistik programı kullanılarak yapıldı. Grupların 30'un altında öge içermesi ve verilerin dağılım özellikleri nedeniyle non-parametrik testler kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığı araştırmak için Kruskal-Wallis analizi uygulandı. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunan gruplar arasında farka neden olan grubu saptamak için Mann-Whitney U testi ile değerlendirme yapıldı. Korelasyonda Spearman's korelasyon testi kullanıldı. Tüm testlerde $p \leq 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3.5. Etik Kurul Kararı

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi etik kurul başkanlığının 03.06.2009 tarihli, 2009/106 numaralı kararıyla etik kurul onayı alındı.

BULGULAR

Yetişkin çalışma grubu 29 adet ÇH, 17 adet non-spesifik duodenit, 24 adet İEL artışı gösteren duodenum mukozası tanısı almış olgulardan oluşmuştur. 28 adet normal sınırlarda duodenum mukoza biyopsisi kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Yetişkin Çölyak hastalarının 21'i kadın (% 72.4) , 8'i (% 27.6) erkek idi. Yaş aralığı 17 ile 62 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 39.62 olarak saptandı. Yetişkin non-spesifik duodenit (NSD) olgularının 10'u (% 58.8) kadın, 7'si (% 41.2) erkek hastadan oluşmakta idi. Yaş aralığı 31 ile 75 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 52.24 olarak saptandı. Yetişkin İEL artışı gösteren duodenum mukozası hastalarının 15'i (% 62.5) kadın, 9'u (% 37.5) erkek idi. Yaş aralığı 17 ile 67 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 39.54 olarak saptandı. Yetişkin kontrol grubu (K) olgularının 20'si (% 71.4) kadın, 8'i (% 28.6) erkek hastadan oluşmakta idi. Yaş aralığı 31 ile 70 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 50.86 olarak saptandı.

Tablo 4.1 : Yetişkin olguların gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılım özellikleri

	n / %	Kadın/ Erkek	Yaş ortalaması±SD
K	28 / 28.6	20 / 8	50.86±11.08
ÇH	29 / 29.6	21 / 8	39.62±13.10
İELAG	24 / 24.5	15 / 9	39.54 ±13.44
NSD	17 / 17.3	10 / 7	52.24 ±11.60

Çocuk çalışma grubu 7 adet ÇH, 6 adet non-spesifik duodenit, 6 adet İEL artışı gösteren duodenum mukozası tanısı almış olgulardan oluşmuştur. 7 adet normal sınırlarda duodenum mukoza biyopsisi kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Çocuk Çölyak hastalarının 4'ü (% 57.1) kadın, 3'ü (% 42.9) erkek idi. Yaş aralığı 3 ile 14 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 10.43 olarak saptandı. Çocuk non-spesifik duodenit olgularının 5'i (% 83.3) kadın, 1'i (% 16.7) erkek hastadan oluşmakta idi. Yaş aralığı 10 ile 16 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 13.50 olarak saptandı. Çocuk İEL artışı gösteren duodenum mukozası hastalarının 4'ü (% 66.7) kadın, 2'si (% 33.3) erkek idi. Yaş aralığı 12 ile 16 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 14.83 olarak saptandı. Çocuk kontrol grubu olgularının 3'ü (% 42.9) kadın, 4'ü (% 57.1) erkek hastadan oluşmakta idi. Yaş aralığı 3 ile 16 arasında değişmekteydi. Ortalama yaş 11.86 olarak saptandı.

Tablo 4.2 : Çocuk olguların gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılım özellikleri

	n / %	Kadın/ Erkek	Yaş ortalaması±SD
K	7 / 26.9	3 / 4	11.86 ±4.67
ÇH	7 / 26.9	4 / 3	10.43±3.59
İELAG	6 / 23.1	4 / 2	14.83±1.47
NSD	6 / 23.1	5 / 1	13.50±2.42

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

İmmünohistokimyasal incelemede tüm gruplarda yüzeyde ve kriptlerde H.E. kesitlere göre CD3 ile daha fazla sayıda İEL saptandı. Bu sayının ÇH'nda belirgin yüksek olduğu, intraepitelyal lenfosit artışı gösteren grup (İELAG), non-spesifik duodenit ve kontrol grubunda giderek azaldığı izlendi.

YETİŞKİN GRUBA AİT BULGULAR

CD3 ve CD8 ekspresyonları:

Yüzey ve kriptlerde;

İELAG'de duodenit grubuna göre yüzey ve kriptlerde CD3 ile saptanan İEL sayısı daha fazlaydı ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Diğer tüm yetişkin grupları arasında ise anlamlı fark saptandı ($p<0.001$).

İELAG'de duodenit grubuna göre yüzey ve kriptlerde CD8 eksprese eden İEL sayısı daha fazla olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadı. Diğer tüm gruplar arasında ise fark anlamlıydı ($p\leq 0.001$).

Lamina propriada;

Yüzeyel lamina propriada CD3 eksprese eden mnh'ler en yüksek düzeylere Çölyak grubunda ulaşmaktaydı ve bu değerler diğer üç gruptan da fazlaydı ($p<0.001$). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak fark izlenmedi.

Yüzeyel lamina propriadaki mnh'lerin CD8 ekspresyonları ise ÇH'den kontrol grubu, duodenit ve İELAG'ye doğru giderek azalmaktaydı. İstatistiksel olarak ÇH ile kontrol grubu arasında ($p<0.001$), İELAG ile kontrol grubu arasında ($p=0.003$), duodenit ile kontrol grubu arasında ($p=0.028$) anlamlı fark izlendi. ÇH grubunun CD8 ekspresyon değerleri hem İELAG hem de duodenit grubundan daha fazlaydı ($p<0.001$).

Derin lamina propriadaki mnh'lerde en fazla CD3 ekspresyonu ÇH ve İELAG'de saptandı. Bu iki grubun değerleri birbirine çok yakındı. İELAG'de kontrol grubuna göre daha fazla ekspresyon saptandı (p=0.050). Diğer gruplar arasında fark izlenmedi.

Derin lamina propriadaki mnh'lerde CD8 eksprese eden hücre sayısı en fazla duodenit ve İELAG'de saptandı. İstatistiksel olarak bu iki grup arasında anlamlı fark izlenmedi. ÇH'de kontrol grubuna göre CD8 ekspresyonu daha fazlaydı (p=0.031).

Tablo 4.3 : Yetişkin olgularda CD3 pozitif hücre sayısı ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzeyel lamina propria	Derin lamina propria
K	11.21±4.85	2.39±1.34	22±6.36	45.89±11.45
ÇH	69±18.23	20.97±13.22	31.52±9.83	51.66±17.72
İELAG	25±5.26	8.17±4.17	19.96±5.87	51±9.42
NSD	22.82±4.17	7.06±3.50	19.65±5.02	47.06±8.66

Tablo 4.4 : Yetişkin olgularda CD8 pozitif hücre sayısı ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzeyel lamina propria	Derin lamina propria
K	8.36±3.56	1.79±0.78	12.54±5.14	15.36±4.13
ÇH	58.21±15.34	12.41±8.15	24.59±8.29	19.86±7.45
İELAG	19.96±5.31	5.71±3.34	8.50±3.50	23.12±5.42
NSD	17.35±4.55	5.12±2.17	9.35±2.69	24.65±6.08

FASL ekspresyonu:

Yüzey ve kript İEL'lerinde;

Yüzey ve kriptlerdeki İEL'lerin FASL ekspresyonlarının değerlendirmesinde en yüksek H-SKOR değerleri İELAG ve duodenit grubunda saptandı. İstatistiksel olarak bu iki grup arasında anlamlı fark izlenmedi. Kontrol grubunun HSKOR değerleri bu iki gruptan da belirgin olarak düşüktü (p<0.001). ÇH'de de kript İEL'lerinde ekspresyonlar İELAG (p=0.007) ve duodenit grubuna göre (p=0.014) anlamlı düzeyde azken yüzeyde böyle bir fark görülmedi. ÇH'de ise kontrol grubuna göre H-SKOR değerleri daha yüksekti (p<0.001).

Lamina propriada;

Lamina propriadaki mnh'lerin FASL H-SKOR'ları en yüksek değerlere İELAG'de ulaşmaktaydı. Duodenit grubunda FASL HSKOR'ları İELAG'den daha düşüktü ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ÇH'de kontrol grubuna göre H-SKOR değerleri daha yüksek ama istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Yüzey ve kript enterositlerinde;

Yüzey ve kript enterositlerinde en yüksek FASL HSKOR'ları İELAG'ye aitti. Bu değerler duodenit grubuna göre fazla gibi görünse de aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ancak her iki grupta da HSKOR'lar kontrol grubuna göre anlamlı şekilde fazlaydı ($p<0.001$). ÇH'de hem yüzey hem kript enterositlerine ait HSKOR'ların İELAG'ye oranla daha az olduğu ($p<0.001$) dikkati çekti. Benzer şekilde ÇH ile duodenit grubu arasında da hem yüzey enterositlerinde ($p=0.001$) hem kript enterositlerinde ($p<0.001$) anlamlı farklılık tespit edildi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise ÇH'de yüzey enterositlerinde daha yüksek HSKOR'lar saptanırken fark anlamlı değildi, kript enterositlerinde ise anlamlılığa yakın ($p=0.057$) yüksek değerler elde edildi.

Tablo 4.5 : Yetişkin olgularda FASL HSKOR ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzey enterosit	Kript enterosit	Lamina propria
K	104.14±69.44	98.75±71.21	137.07±76.09	110.29±77.14	101.68±67.12
ÇH	199.14±55.11	182.41±64.83	169.17±57.07	142.14±67.02	121.14±43.66
İELAG	216±48.62	225.21±46.49	235.33±33.99	234.67±38.57	203.08±46.43
NSD	207.24±59.06	225.76±42.75	221.65±38.81	219.12±39.30	188.71±38.20

FAS ekspresyonu:

Yüzey ve kript enterositlerinde;

Yüzey ve kript enterositlerinde en yüksek FAS HSKOR'ları ÇH'ye aitti. Bu grubu azalan sırayla, duodenit, İELAG ve kontrol grubu izlemekteydi. ÇH ile kontrol grubu arasında yüzey enterositlerinde anlamlı fark ($p<0.001$) izlenirken kript enterositlerinde fark anlamlılığa yakın bulundu ($p=0.065$). ÇH'de İELAG ve duodenit grubuna oranla yüzey enterositlerinde daha yüksek FAS HSKOR'ları ($p<0.001$) gözlenirken kript enterositlerinde anlamlı fark saptanmadı. Diğer gruplar arasında yüzey ve kript enterositlerinde FAS ekspresyonu anlamlı farklılık göstermemekteydi.

Yüzey ve kript İEL'lerinde;

Yüzey İEL'lerindeki FAS değerlerinin ÇH'de tüm yetişkin gruplarına göre belirgin yüksek olduğu izlendi ($p<0.001$). Duodenit grubunda yüzey İEL'lerindeki FAS ekspresyonu kontrol grubuna ($p=0.011$) ve İELAG'ye ($p=0.036$) göre anlamlı düzeyde yüksekti.

Kript İEL'lerindeki en yüksek FAS HSKOR'ları da yine ÇH'ye aitti ve tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazlaydı ($p<0.001$). İELAG ve duodenit grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmezken İELAG ile duodenit grubu arasında fark anlamlılığa yakın bulundu ($p=0.052$).

Lamina Propriada ;

Lamina propriadaki mnh'lerde FAS değerlerinin ÇH'de diğer gruplara göre yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 4.6 : Yetişkin olgularda FAS HSKOR ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzey enterosit	Kript enterosit	Lamina propria
K	65.07±45.05	100.86±39.67	142.86±57.36	194.57±54.64	89.89±52.88
ÇH	225.46±75.24	198.93±61.23	249.75±54.41	222.25±46.38	169.54±49.27
İELAG	65.25±41.64	81.25±47.33	153.67±51.34	195.88±58.57	83.29±38.12
NSD	99.41±50.01	114.47±56.07	173.18±51.37	212.65±38.89	95.12±31.09

Spearman'ın korelasyon testine göre ÇH'de yüzey ($r=0.925$ $p<0.001$) ve kriptlerdeki ($r=0.955$ $p<0.001$) İEL sayısı ile CD3 ve CD8 arasında pozitif ilişki saptandı. ÇH'de derin lamina propriadaki mnh'lerde CD3 ile CD8 arasında ($r=0.589$ $p<0.001$) pozitif ilişki bulundu, yüzeyel lamina propriada ilişki saptanmadı.

İELAG'de yüzey ($r=0.867$ $p<0.001$) ve kriptlerdeki ($r=0.918$ $p<0.001$) İEL sayısı ile CD3 ile CD8 arasında pozitif ilişki saptandı. Yüzeyel lamina propriadaki mnh sayısı ile CD3 ve CD8 arasında ($r=0.668$ $p<0.001$) pozitif ilişki bulunurken derin lamina propriada böyle bir ilişki saptanmadı.

Duodenit grubunda yüzey ($r=0.665$ $p=0.004$) ve kriptlerdeki ($r=0.538$ $p=0.026$) İEL sayısı ile CD3 ve CD8 arasında pozitif ilişki bulundu. CD3 ve CD8 arasında yüzeyel ($r=0.521$ $p=0.032$) ve derin ($r=0.484$ $p=0.049$) lamina propriadaki mnh sayısı arasında pozitif ilişki saptandı.

Kontrol grubunda yüzey ($r=0.922$ $p<0.001$) ve kriptlerdeki ($r=0.804$ $p<0.001$) İEL sayısıyla CD3 ve CD8 arasında pozitif ilişki bulundu. Yüzeyel lamina propriadaki mnh sayısıyla CD3 ve CD8 arasında ($r=0.531$ $p=0.004$) pozitif ilişki tespit edilirken, derin lamina propriada herhangi bir ilişki saptanmadı.

ÇOCUK GRUBUNA AİT BULGULAR

CD3 ve CD8 ekspresyonları:

Yüzey ve kriptlerde;

ÇH'de yüzey ($p=0.002$) ve kriptlerdeki ($p=0.001$) CD3 ile CD8 pozitif hücre sayısının kontrol grubundan fazla olduğu tespit edildi. Yine ÇH'de İELAG'ye oranla yüzeydeki CD3 ($p=0.004$) ve CD8 sayısının daha fazla olduğu saptanırken ($p=0.008$) kriptlerde anlamlı fark gözlenmedi. ÇH'de yüzeyde CD3 ve CD8 ile saptanan İEL sayısı duodenit grubundan da anlamlı düzeyde fazlayken ($p=0.003$) kriptlerde anlamlı bir fark saptanmadı. İELAG ile kontrol grubu karşılaştırıldığında da CD3 ($p=0.002$) ve CD8 pozitif hücre sayısının ($p=0.003$) hem yüzey hem de kript epitelinde daha fazla olduğu görüldü. Duodenit grubunda da kontrol grubuna oranla yüzeyde CD3 ($p=0.004$) ve CD8 ($p=0.005$) ile saptanan İEL sayısı daha fazlaydı. Kriptlerde de her iki immün belirteçle saptanan lenfosit sayısı arasında anlamlı fark vardı ($p=0.002$). İELAG ile duodenit grubu arasında yüzeydeki İEL sayısıyla CD3 ve CD8 pozitif hücre sayısı arasında anlamlı fark ($p=0.004$) izlenirken kriptlerde böyle bir fark saptanmadı.

Lamina propriada ;

Yüzeyel lamina propria mnh'lerindeki CD3 ekspresyon değerleri en yüksek düzeylere Çölyaklı çocuklarda çıkmaktaydı. Duodenit grubunda da kontrol grubuna göre ekspresyon daha fazla olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştı. En az ekspresyon İELAG'de saptandı. ÇH ile İELAG arasında ($p=0.010$) anlamlı ve İELAG ile duodenit grubu arasında anlamlılığa yakın fark ($p=0.053$) izlendi. İstatistiksel olarak diğer gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı.

Yüzeyel lamina propriada en fazla CD8 pozitifliği ÇH'ye aitti. Çölyaklı çocuklarda kontrol grubu ve İELAG'ye göre ($p=0.003$) ve duodenit grubuna oranla ($p=0.002$) CD8 ekspresyonları artış göstermekteydi.

Derin lamina propriada ise en fazla CD3 pozitifliği duodenit grubunda, en az pozitiflik de ÇH'de saptandı. ÇH ile duodenit grubu arasında ($p=0.010$) anlamlı fark izlendi. İELAG'de de kontrol grubuna ($p=0.038$) ve ÇH ($p=0.007$) grubuna göre ekspresyon daha fazla idi.

Derin lamina propriadaki mononükleer hücrelerde CD8 ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubuyla çölyak grubu arasında ($p=0.046$), İEL artışı gösteren grup arasında ($p=0.025$) ve duodenit grubu arasında ($p=0.021$) anlamlı fark saptanmıştı. Diğer gruplar arasında fark izlenmedi.

Tablo 4.7 : Çocuk olgularda CD3 pozitif hücre sayısı ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzeyel lamina propria	Derin lamina propria
K	8.71±2.92	1.71±0.48	22.86±4.84	36.71±13.16
ÇH	55.29±11.33	15.29±8.36	32.43±10.19	34.29±7.67
İELAG	32±5.76	11±5.69	19±4.64	48.67±5.98
NSD	20.50±6.09	7.67±2.87	24.33±6.28	53.50±10.93

Tablo 4.8 : Çocuk olgularda CD8 pozitif hücre sayısı ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzeyel lamina propria	Derin lamina propria
K	6.43±2.57	1.29±0.48	11.71±4.53	12.57±6.70
ÇH	43.29±14.10	8.43±4.27	29.43±6.70	19.86±5.55
İELAG	27.33±5.64	7.83±6.30	9.33±2.73	21.33±4.84
NSD	14.17±4.44	5±2.53	7.83±2.40	24.17±6.58

FASL ekspresyonları:

Yüzey ve kriptlerde;

Yüzey ve kriptlerdeki İEL'lerdeki FASL ekspresyonlarında en yüksek değerler duodenit grubunda, en düşük değerler de kontrol grubunda saptandı. İstatistiksel olarak yüzeydeki FASL'nin kontrol grubunda Çölyak grubuna göre ($p=0.015$), İELAG'ye göre ($p=0.007$) ve duodenit grubuna göre ($p=0.010$) anlamlı düzeyde azalmış olduğu tespit edildi. Kriptlerdeki FASL de kontrol grubunda Çölyak grubuna ($p=0.035$), İELAG'ye ($p=0.010$) ve duodenit grubuna ($p=0.003$) göre azalmış değerlere sahipti. Yine ÇH ile İELAG ($p=0.027$) ve duodenit grubu ($p=0.003$) arasında anlamlı fark izlendi.

FASL ekspresyonu, yüzey enterositlerinde İELAG (p=0.032) ve duodenit grubunda (p=0.022) kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde fazlaydı. Ayrıca ÇH'de duodenit grubuna göre (p=0.026) anlamlı azalma izlendi. Kriptlerde de yüzey enterositlerine benzer şekilde İELAG (p=0.015) ve duodenit grubunda kontrol grubuna göre (p=0.010) anlamlı düzeyde artma tespit edildi. Çölyak grubunun FASL ekspresyonu da duodenit grubundan anlamlı düzeyde azdı (p=0.022).

Lamina propriada;

Lamina propriadaki FASL ekspresyonu en fazla duodenit en az da kontrol grubundaydı. İstatistiksel olarak kontrol grubuna oranla İELAG (p=0.022) ve duodenit grubunda (p=0.003) FASL ekspresyonunda anlamlı artış dikkati çekti. Yine duodenit grubunda ekspresyon ÇH'ndan da fazlaydı (p=0.010).

Tablo 4.9 : Çocuk olgularda FASL HSKOR ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzey enterosit	Kript enterosit	Lamina propria
K	117.29±71.43	116.14±80.04	137.71±59.54	131±65.17	112.57±55.87
ÇH	222.29±45.28	202.57±38.16	177.71±38.87	152.86±75.82	167.43±66.18
İELAG	245.17±43.73	247.50±32.78	231.83±42.29	228.17±27.27	208.83±55.54
NSD	250.67±27.52	261.83±18.26	229.33±34.47	244.33±27.80	247.33±16.53

FAS ekspresyonları:

Yüzey ve kript enterositlerinde;

Yüzeyde en yüksek değerler, Çölyak grubu, en düşük değerler kontrol grubunda saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ise Çölyak ile kontrol grubu (p=0.002), İELAG (p=0.003) ve duodenit grubu arasındaydı. (p=0.003)

Kriptlerde en yüksek değerler, yine Çölyak grubu, en düşük değerler yine kontrol grubunda saptandı. İEL artışı gösteren grup ve duodenit grubunun skorları benzer düzeydeydi. İstatistiksel olarak gruplar arasında fark izlenmedi.

Yüzey ve kript İEL'lerinde;

Yüzey ve kript İEL'lerinde FAS ekspresyonu en fazla ÇH'nda, en az da kontrol grubunda saptandı. İELAG'de duodenit grubuna göre daha fazla ekspresyon izlendiği halde fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. İstatistiksel olarak anlamlı düzeylere ulaşan

farklılıklar ; - ÇH ile kontrol grubu arasında yüzeyde (p=0.002) ve kriptlerde (p=0.003), - İELAG ile kontrol grubu arasında yüzeyde (p=0.026) ve kriptlerde (p=0,027), -ÇH ile İELAG arasında yüzeyde (p=0.003) ve kriptlerde (p=0.010), -ÇH ile duodenit grubu arasında yüzeyde (p=0.003) ve kriptlerde (p=0.007) şeklindeydi.

Lamina propriada;

Mononükleer hücrelerde de en fazla ekspresyon Çölyak, en düşük ekspresyon kontrol grubunda saptandı. İELAG’de duodenit grubuna göre skorlar daha yüksek olmakla birlikte fark anlamlı değildi. Kontrol grubu ile ÇH grubu (p=0.003) ve İELAG (p=0.003) arasında ; ÇH ile İELAG (p=0.046) ve duodenit grubu arasında (p=0.012) istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi.

Tablo 4.10 : Çocuk olgularda FAS HSKOR ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Yüzey İEL	Kript İEL	Yüzey enterosit	Kript enterosit	Lamina propria
K	65.86±42.40	85.29±47.13	138.43±19.22	192.86±56.52	71.71±27.38
ÇH	259.29±37.99	225.29±46.33	281.86±5.24	239.29±41.24	192.29±44.74
İELAG	130.17±30.56	144±31.62	187.83±51.98	203.50±56.69	141.67±19.78
NSD	85.83±52.19	102.83±55.31	174.83±51.35	218.50±53.68	110.83±44.97

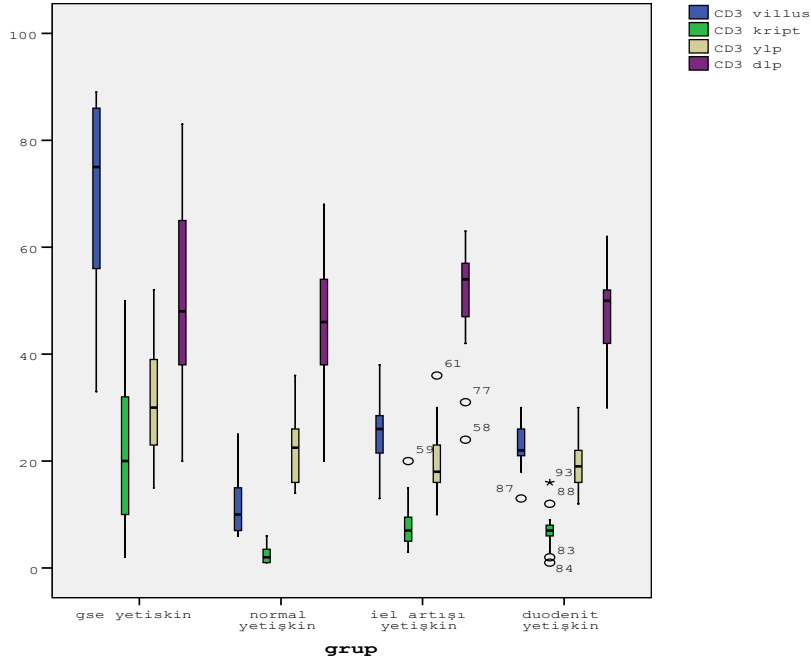
Spearman’ın korelasyon testi ile ÇH’de yüzey (r=0.889 p=0.007) ve kriptlerdeki (r=0.836 p=0.019) İEL sayısı ile CD3 ve CD8 arasında pozitif ilişki saptandı. Yüzeyel lamina propriadaki mononükleer hücrelerde CD3 ile CD8 arasında (r=-0.844 p=0.017) negatif ilişki bulundu, derin lamina propriada ilişki saptanmadı. Yüzeydeki İEL’lerdeki CD8 ekspresyonu ile FASL ekspresyonu arasında (r=0.778 p=0.039) pozitif ilişki saptanırken CD3 ile FASL arasında ilişki saptanmadı. Kript enterositlerindeki FASL ve FAS ekspresyonları arasında (r=-0.786 p=0.036) negatif ilişki saptandı.

İELAG’de yüzey (r=0.841 p=0.036) ve kriptlerdeki (r=0.955 p=0.003) İEL sayısı ile CD3 ve CD8 arasında pozitif ilişki saptandı. Derin lamina propriadaki mnh sayısı ile CD3 ve CD8 arasında (r=0.841 p=0.036) pozitif ilişki bulundu, yüzeyel lamina propriada ilişki saptanmadı.

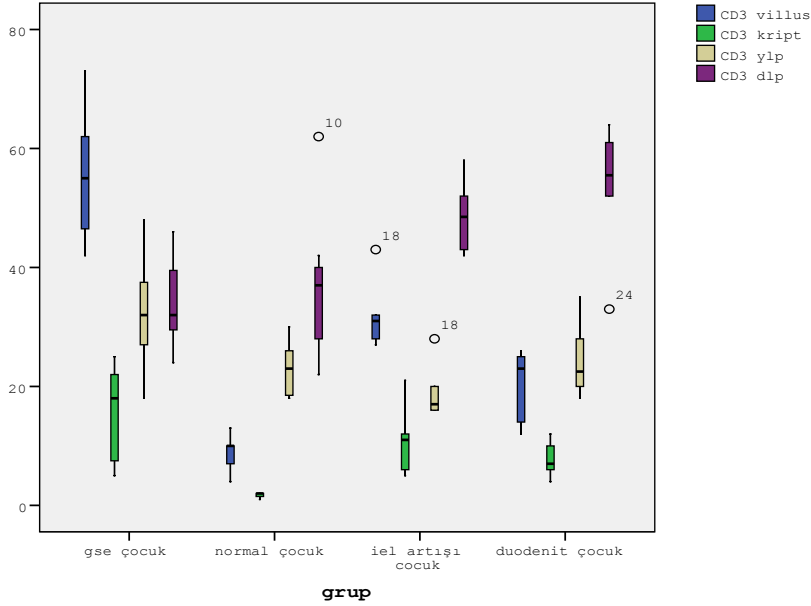
Duodenit grubunda kriptlerdeki ($r=0.955$ $p=0.003$) İEL sayısı ile CD3 ve CD8 arasında pozitif ilişki bulundu, yüzeyde ilişki izlenmedi. Kript İEL'lerinde CD3 ekspresyonu ile FAS ekspresyonları arasında ($r=-0.986$ $p<0.001$) ve CD8 ile FAS ekspresyonları arasında ($r=-0.941$ $p=0.005$) negatif ilişki bulundu. Yüzey enterositlerindeki FAS ekspresyonu ile FASL ekspresyonu arasında ($r=0.829$ $p=0.042$) pozitif ilişki saptandı.

Kontrol grubunda yüzeydeki ($r=0.924$ $p=0.003$) İEL sayısı ile CD3 ve CD8 arasında pozitif ilişki bulundu. Yüzeyel lamina propriadaki mononükleer hücre sayısı ile CD3 ile CD8 arasında ($r=0.826$ $p=0.022$) pozitif ilişki bulundu, derin lamina propriada ilişki saptanmadı.

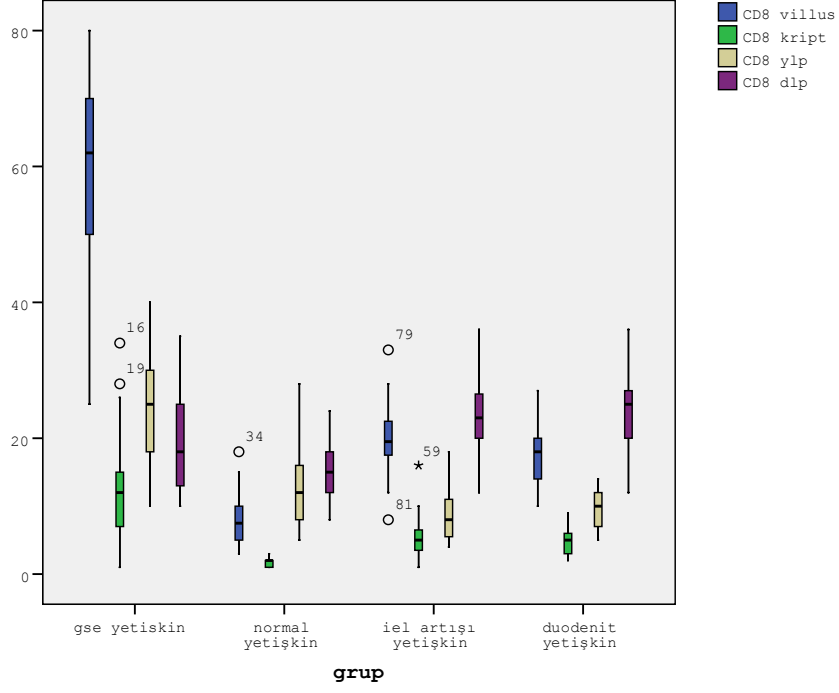
BOXPLOT GRAFİKLERİ



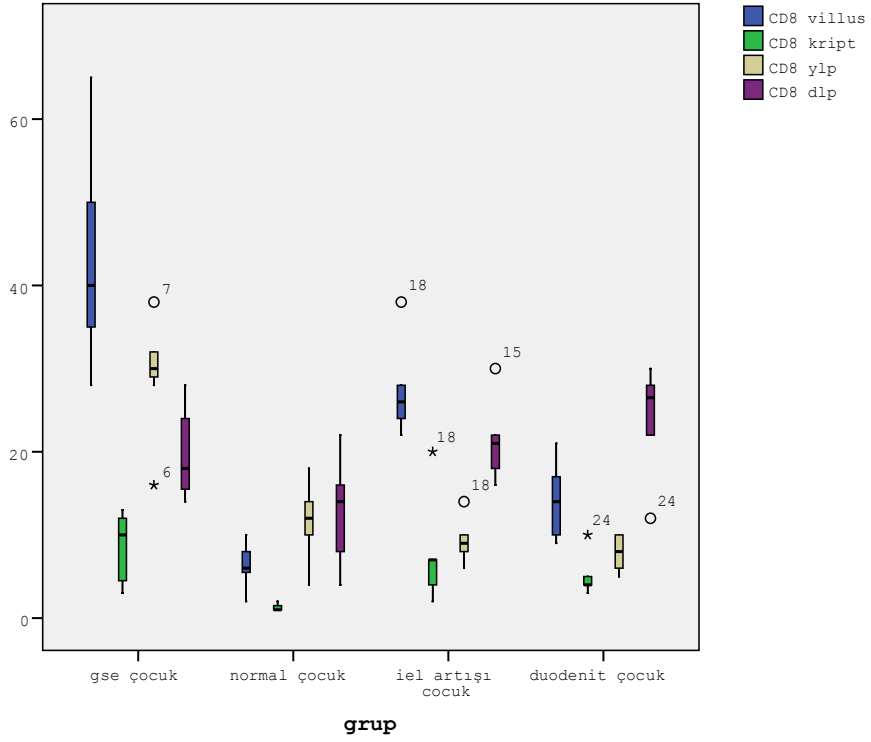
Şekil 4.1: Yetişkinlerde CD3 değerlerinin boxplot grafiği



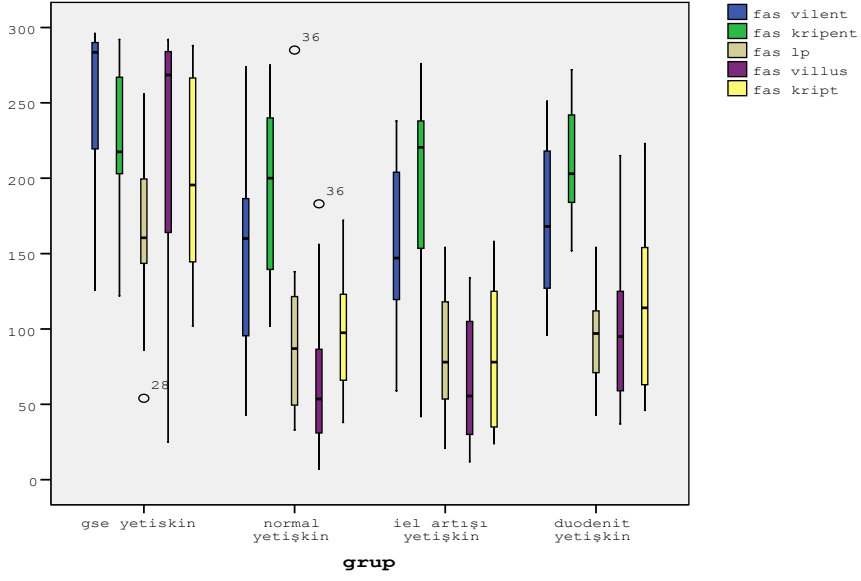
Şekil 4.2: Çocuklarda CD3 değerlerinin boxplot grafiği



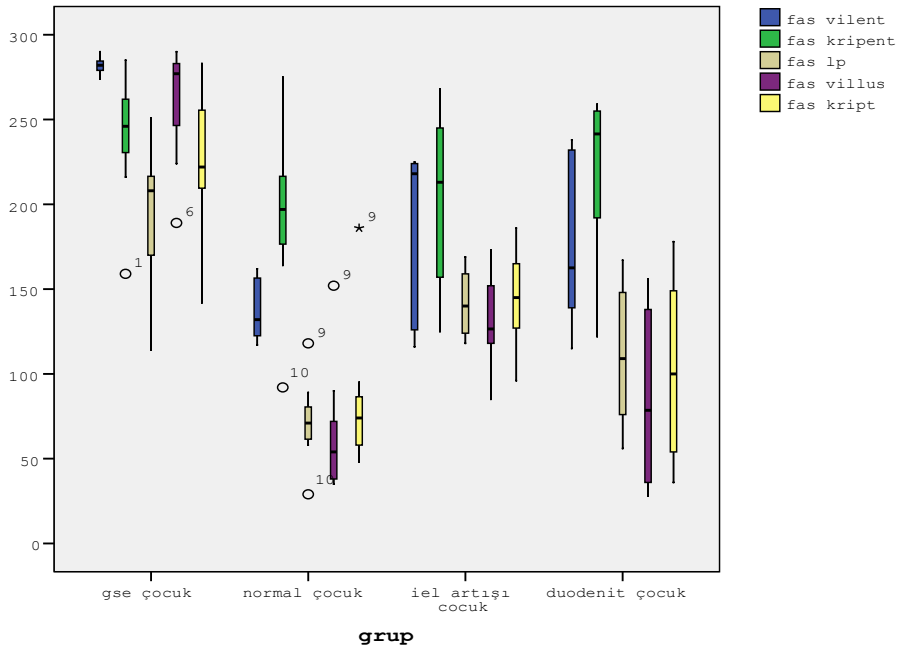
Şekil 4.3 : Yetişkinlerde CD8 ekspresyonlarının boxplot grafiği



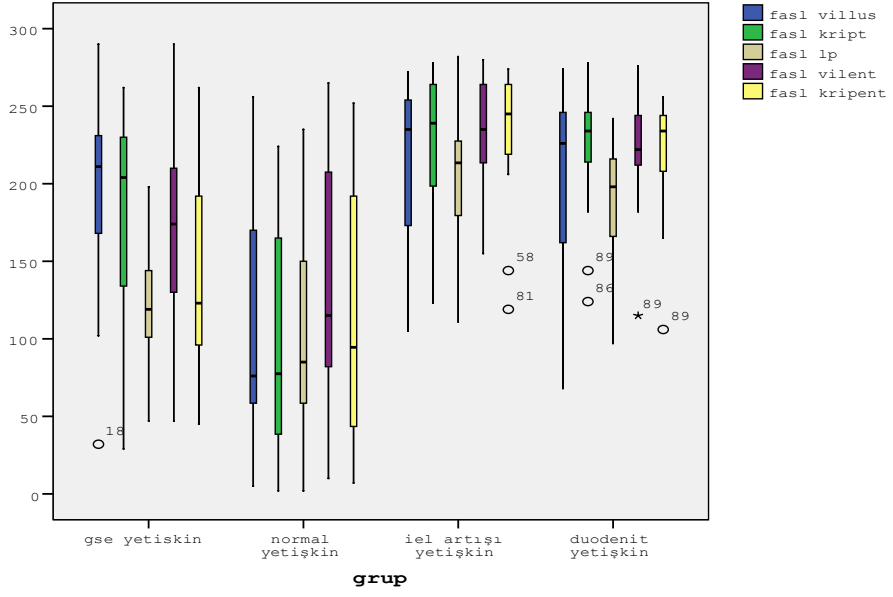
Şekil 4.4 : Çocuklarda CD8 ekspresyonlarının boxplot grafiği



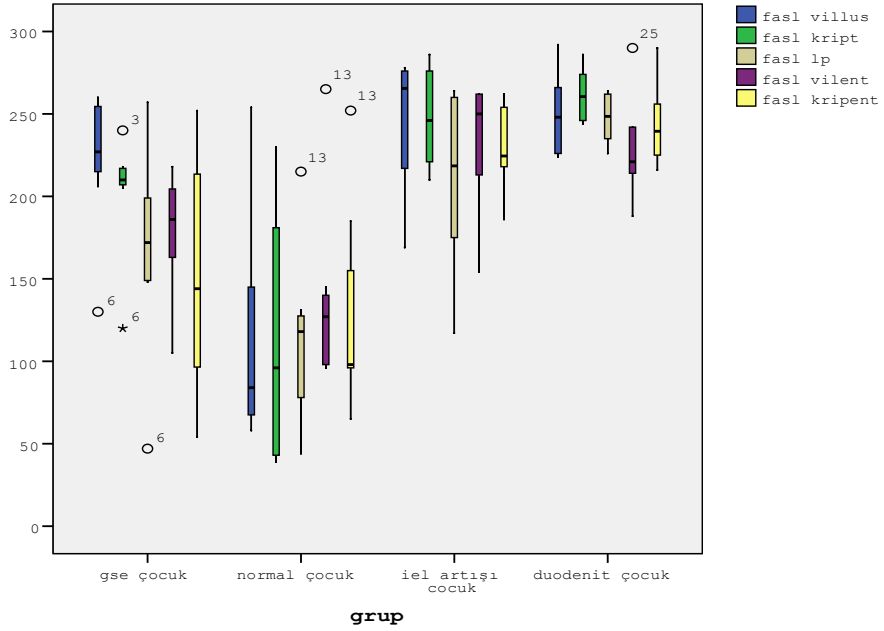
Şekil 4.5: Yetişkinlerde FAS ekspresyonlarının boxplot grafiği



Şekil 4.6: Çocuklarda FAS ekspresyonlarının boxplot grafiği



Şekil 4.7: Yetişkinlerde FASL ekspresyonlarının boxplot grafiği



Şekil 4.8: Çocuklarda FASL ekspresyonlarının boxplot grafiği

TARTIŞMA

Çölyak Hastalığı (Gluten sensitif enteropati) genetik olarak duyarlı kişilerde dietle gluten alımının neden olduğu ince barsağın kronik malabsorbsiyon hastalığıdır (68). Geçmişte nadir görüldüğü düşünülürken son yıllarda yapılan çalışmalar toplumun yaklaşık %1'ini etkilediğini göstermektedir (36,113-115). Bu yüksek prevalansa rağmen tanıda gecikme süresi ortalama 13 yıl olarak bildirilmektedir. Tanı konmuş ve konamamış hasta oranı 1/8 olarak tahmin edilmektedir (2). Tedavi edilmediği takdirde lenfoma ve ince barsak adenokarsinomaları gibi hayatı tehdit eden komplikasyonlarla ilişkili olabileceğinden (3) erken tanı ve tedavi hayat kurtarıcı olabilir.

Tedavi görmemiş ÇH'de klasik histoloji gastrointestinal sistemde İEL sayısında artış ve buna eşlik eden lamina propriada lenfosit ve plazma hücre artışı ile absorbtif villus kaybı ve kript hiperplazisidir (116). Erken lezyon epitel ve lamina propriaya lenfosit infiltrasyonunu içermektedir. Latent Çölyak Hastalığına sahip bazı hastalar normal ince barsak mukozasına sahip olabilir; glutene duyarlı bu hastalarda ince barsak villöz atrofisi ve kript hiperplazisi daha sonra gelişebilir (117).

ÇH çevresel faktörler, genetik yatkınlık ve immünolojik faktörlerin etkileşimi ile sonuçlanan kompleks etyopatogeneze sahiptir (5,44). Mukozal atrofi gelişimine neden olan mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmış değildir ancak matriks metalloproteinazlar ile yeniden yapılanma ve aşırı apoptotik enterosit kaybı olası en etkili mekanizmalardır (12,118). FAS-FASL sistemi apoptozisi indükleyen en önemli yollardan biridir (119). Literatürde yetişkin ve çocuk ÇH'de FAS-FASL sisteminin apoptotik süreçte yer aldığını destekleyen çalışmalar mevcuttur (11,23,24,120). Ancak ÇH, non-spesifik duodenit ve İEL artışı gösteren duodenum mukozalarında FAS-FASL ekspresyonlarının birlikte değerlendirildiği çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, etyolojisi saptanamayan intraepitelyal lenfosit artışı gösteren duodenum mukozaları ve non-spesifik duodenit olgularında ÇH'den ayırmda FAS ve FASL ekspresyonlarının önemi araştırılmıştır.

İEL'ler normal fizyolojik koşullarda da ince barsak mukozasında saptanabilir (121). İEL'lerin immün koruma, epitelin devamlılığı ve oral toleransı sağlama gibi görevleri olduğu düşünülmektedir (122). İEL'lerin büyük çoğunluğu T hücre tipindedir ve barsak boyunca sıklıkları değişmekle birlikte en fazla ince barsağın üst kısmında bulunurlar (123,124). İnsan ince barsak İEL'lerinde CD8+ $\alpha\beta$ T hücre subtipi baskındır (125). Bazen lenfositler granülosit benzeri düzensiz nükleer sınıra sahip olabilir, bazen de epitelial hücre nükleusu ile karıştırılabilirler. Bu nedenle İEL'lerin değerlendirmesinde CD3 immünohistokimyasının yardımcı olacağını öne süren yayınlar bulunmaktadır (126,127). Çalışmamızda da İELAG'de

H-E kesitlerdeki değerlendirmede Marsh sınıflandırmasına alınmayan iki hastanın CD3 boyalı kesitleri incelendiğinde Marsh Tip 0 ve Tip 1 grubuna girmesi yazarların bu önerisini destekler nitelikteydi. Özellikle şüphe duyulan, İEL sayısının sınırdaki olduğu olgularda tanının atlanmaması için CD3 immünohistokimyasal incelemesinin rutin kullanımının uygun olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızdaki tüm gruplarda İEL'lerin büyük kısmını CD3 eksprese eden lenfositler oluşturmaktaydı. Oberhuber ve ark. da benzer şekilde Çölyakta, giardiaziste ve normal duodenum mukozalarında İEL'lerin büyük çoğunluğunun CD3 pozitif olduklarını göstermişlerdir (128). Tüm gruplarımızda yüzey enterositlerindeki CD3 pozitif İEL sayısı kriptlere göre daha fazlaydı. Çölyak Hastaları ve normal bireylerde benzer sonuçlar literatürde jejunum mukozasında (129) ve duodenum mukozasında (130) gösterilmiştir. Biz de ÇH'den İELAG, non-spesifik duodenit ve kontrol grubuna doğru gidildikçe yüzey ve kriptlerdeki CD3 pozitif hücre sayısının azaldığını saptadık. CD8 pozitif hücre sayısı da CD3 ile paralel sonuçlar verdi. Bulgularımız Selby (131) ve Verkasalo ve ark.nın (129) jejunum mukozalarında yaptıkları çalışmayla uyumlu olarak hem normal hem de ÇH'de İEL'lerde baskın subtipin CD8 pozitif hücreler olduğunu göstermiştir. Yine helicobakter pylori olsun olmasın gastritli hastaların duodenum mukozalarında saptanan İEL'lerin büyük kısmının CD3 ve CD8 pozitif olduğu saptanmıştır (132). Çalışmamızda yetişkinlerde tüm gruplarda yüzey ve kript enterositlerindeki İEL'lerde CD3 ve CD8 ekspresyonları arasında pozitif ilişki vardı. Çocuklarda da non-spesifik duodenit olgularında yüzeydeki İEL'ler ve kontrol grubunda kriptlerdeki İEL'ler dışında pozitif ilişki saptadık. Çocuklardaki bu sonuca denek sayısının az olmasının neden olduğunu düşündük. Bulgularımızla paralel Hasan ve ark. da non-spesifik duodenit olgularında İEL sayısının kontrol grubuna göre artmış olduğunu saptamışlardır (133).

Çalışmamızda yüzeyel ve derin lamina propria mnh.lerindeki CD3 ve CD8 ekspresyonları da değerlendirilmiştir. Hem yetişkin hem de çocukların tüm gruplarında lamina proprianın derinindeki CD3 pozitif hücre sayısının yüzeyel alanlara göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu duruma yüzeyel lamina propriada plazma hücrelerinin yoğunlaşmasının neden olabileceği düşünülmüştür. CD8 ekspresyonu ise tüm gruplardan farklı olarak ve bu fark da belirgin yüksek olacak şekilde hem çocuk hem de yetişkinlerde ÇH'de yüzeyel lamina propriada derinden daha fazlaydı. Her iki grubun Çölyak hastalarında saptadığımız bu bulgu sitolitik aktivitenin hastalığın patogenezinde yer aldığını ve mukozal hasarda önemli rolü olduğunu düşündürmüştür.

Çalışmamızda, yetişkin ve çocuk kontrol grubunun yüzeyel ve derin mukozal mnh.lerdeki CD8 ekspresyonları benzer iken İELAG ve duodenit gruplarında derin lamina

propriada ekspresyon belirgin derecede yüksekti. İELAG ve duodenit gruplarında CD3 pozitif hücrelerin de derin lamina propriada yüzeye göre daha fazla sayıda olması inflamatuvar süreçlerde normal mukozalara göre T hücrelerinin derin lamina propriada yoğunlaştığını göstermektedir.

FAS, apoptozisi indükleyen TNFR ailesinin bir üyesidir (134). Çok çeşitli doku ve organda eksprese edilir (135). İnce barsak ve kolonda kript-villus ekseni boyunca epitel hücrelerinin bazolateral yüzeylerinde bulunur. İn vitro bir çalışmada kolon kript epitelinin agonist FAS antikoru ile inkübe edildiğinde apoptozise gittiği gösterilmiştir. Ancak normal gastrointestinal sistemde bu fonksiyonel FAS ekspresyonunun biyolojik önemi henüz açıklığa kavuşmamıştır (136).

Çalışmamızda yetişkin ve çocukların tüm gruplarında enterositlerde FAS ekspresyonu saptadık. Ehrman ve ark. çocuklarda Çölyak, potansiyel Çölyak ve kontrol grubundan oluşan çalışmalarında tüm gruplarda FAS ekspresyonu saptamışlardır (120). Benzer şekilde Ciccocioppo ve ark. da yetişkinlerde aktif ÇH, tedavi olmuş ÇH ve kontrol gruplarının tümünde FAS ekspresyonunu göstermişlerdir (23). Aynı araştırmacılar, hücre izolasyon yöntemi ile yaptıkları bir diğer çalışmada aktif ÇH'de enterositlerde FAS ekspresyonunun tedavi olmuş hasta ve kontrol grubuna göre belirgin derecede fazla olduğunu göstermişlerdir (11). Maiuri ve ark. ise frozen kesitlerde yaptıkları çalışmalarında enterositlerdeki yüksek FAS ekspresyonunun villöz atrofi ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (24). Ciccocioppo ve ark. normal duodenum biyopsilerinde FAS ekspresyonunun birkaç enterositle sınırlı kaldığını ancak ÇH'de mukozada hem yüzey hem de kriptlerde yaygın FAS ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir (25). Biz de çalışmamızda hem çocuk hem de yetişkin gruplarında ÇH'de kontrol grubuna göre yüzey ve kript enterositlerinde FAS ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha yüksek olduğunu bulduk. Bu da bize FAS aracılı hücre ölümünün neden olduğu enterosit kaybının çölyakta gelişen villöz atrofide rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Ehrman ve ark. tüm çocuk gruplarında kript enterositlerinde yüzeye göre FAS ekspresyonunun daha fazla olduğunu bulmuşlardır (120). Benzer şekilde Ciccocioppo ve ark. yetişkinlerde tüm gruplarda FAS ekspresyonunun kript enterositlerinde yüzeydekilerden daha fazla olduğunu göstermişlerdir (23). Ancak bu araştırmacıların kullandığı materyal ve metodlar bizimkinden farklılık göstermektedir. Çalışmamızda ÇH'de yüzey enterositlerinde kriptlere göre FAS ekspresyonu daha fazla iken diğer tüm gruplarda kript enterositlerinde yüzeye göre daha yüksek değerler bulduk. ÇH'de saptadığımız bu fark başka çalışmalarla da desteklendiği takdirde ÇH tanısında yardımcı bir belirleyici olarak kullanılabilir.

Ehrmann ve ark. çocuk jejunum biyopsilerinde FAS pozitif enterositlerin aktif ÇH'de potansiyel ÇH'ye ve kontrol grubuna göre, FAS pozitif mukozal lenfosit yüzdesinin de aktif ÇH'de potansiyel ÇH grubuna göre belirgin düşük olduğunu bulmuşlardır (120). Ehrmann ve ark.nın çalışmasında saptanan bu bulgular hem konuyla ilgili diğer literatürlerle hem de bizim verilerimizle ters düşmektedir. Di Sabatino ve ark. periferik kan lenfositlerinde tedavi görmemiş ÇH'de tedavi gören hastalar ve kontrol grubuna göre FAS ekspresyonunun belirgin yüksek olduğunu göstermişlerdir (137). Çalışmamızda mukozal lenfositler ile yüzey ve kript İEL'lerinde saptadığımız FAS ekspresyon skorları ÇH'de kontrol grubuna göre anlamlı olacak şekilde yüksekti. Mukozal ve intraepitelyal lenfositlerde saptadığımız bu yüksek FAS ekspresyonlarının ÇH'de görülen hem mukozal hem de periferik lenfosit aktivasyonunun kontrolünü sağlayan bir regülasyon mekanizması olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda yetişkin ve çocuk kontrol grubundaki İEL'lerde FAS ve FASL ekspresyonları saptanmıştır. Bu ekspresyonların fonksiyonel önemleri bilinmemektedir. Hongo ve ark. insan kolon dokusundan izole ettikleri İEL'lerin neredeyse tümünde güçlü FAS ekspresyonu, büyük kısmında da FASL ekspresyonu, periferik kan mononükleer lenfositlerin ise küçük bir kısmında FAS ekspresyonu ve çok düşük FASL ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir. Bu ekspresyonların periferik kan mononükleer hücrelerin aksine İEL'lerde apoptozis gelişiminde etkin olduğunu saptayarak FAS-FASL ekspresyonunun sürekli olarak mikroorganizmalar ve besin içeriklerinin kompleks karışımı gibi yoğun antijenik uyarıya maruz kalan barsakta lenfosit hemostazisi ve immün yanıtın düzenlenmesinde fonksiyonel etkisi olabileceğini düşünmüşlerdir (138).

Çalışmamızda çocuk ve yetişkinlerde İEL artışı gösteren duodenum mukozalarında ve non-spesifik duodenit gruplarında kontrol grubuna göre yüzey ve kript enterositlerinde FAS ekspresyonunun daha yüksek olduğunu saptadık. Ancak istatistiksel olarak bu fark anlamlı değildi. ÇH'ye göre ise her iki grupta da ekspresyon daha düşüktü. Bu fark istatistiksel olarak yüzey enterositlerinde hem yetişkinlerde ($p<0.001$) hem de çocuklarda ($p=0.003$) anlamlıydı. Literatürlerde bu bulguları destekleyen gastrointestinal sistemde ÇH dışında GVHH (139,140), İBH (inflamatuvar barsak hastalığı) (27,28), Helikobakter pylori enfeksiyonu (29-31) gibi FAS-FASL yolağının patogeneizde rol aldığı inflamatuvar değişiklikler bildirilmektedir. GVHH'nin gastrointestinal sistem hastalıklarında önemi vardır çünkü intestinal epitel bu hastalıkta hasarın başlıca hedefidir (18). T hücre aktivasyonu ÇH'de olduğu gibi GVHH ve idyopatik inflamatuvar barsak hastalığı gibi barsağın diğer inflamatuvar hastalıklarının patogenezinde ana basamaktır. İnflamatuvar yanıtın oluşumunda aktive T

hücreleri hem düzenleyici hem de efektör mekanizma olarak katılır. Efektör mekanizma mikroorganizmalara karşı savunmada önemli olmakla birlikte belirgin doku hasarının oluşumuna da neden olur. Mukozal düzleşme ve enterosit apoptozisi ince barsak inflamatuvar hastalıklarında T hücre aracılı doku hasarının başlıca işareti olarak kabul edilmektedir. Bu anlamda Merger ve meslektaşları in vivo çalıştıkları fare deneylerinde anti-CD3 antikoru ile ince barsakta mukozal hasar oluşturarak T hücre aktivasyonunun villöz düzleşme ve enterosit apoptozisine neden olabileceğini göstermişlerdir. Daha sonra T hücre aktivasyonunun indüklediği doku hasarının oluşumuna perforin başta olmak üzere TNF-alfa ve FAS'ın da katıldığı çok sayıda yolağın kombine etkisinin aracılık ettiğini düşünmüşlerdir (26). Benzer şekilde Braun ve ark. (141) farelerde deneysel olarak oluşturdukları GVHD'de perforin ve FAS yollarının doku hasarı oluşumunda rolü olduğunu göstermişlerdir. Wasem ve meslektaşları da donör T hücrelerinde FASL birikimi ve aktivasyon sonucunda salınan FASL öncül formlarının hastalığın patogeneze katıldığını göstermişlerdir (139).

Ueyama ve ark. ülseratif kolit ve Crohn hastalığında frozen kesitlerde kolon dokusunun hem normal hem de ülseratif kolitli alanlarda diffüz FAS ekspresyonu olduğunu göstermişlerdir. İnflamatuvar hücrelerin de zayıf immünoreaktivite gösterdiğini saptamışlardır. Crohn hastalığında ve inaktif ülseratif kolitte de epitelde FAS ekspresyonunun olduğunu göstermişler ancak data belirtmemişlerdir (27). Iwamoto ve ark. ülseratif kolitte normal kolon mukozasına göre epitel ve lamina propriadaki hücrelerde FAS ve FASL ekspresyon artışı saptamışlar ve bu hücrelerin çoğunun TUNEL pozitif olduğunu göstererek ülseratif kolitte FAS-FASL etkileşiminin apoptozisin mediatörü olduğunu düşünmüşlerdir (28).

Gastrointestinal sistemde FAS/FASL apoptotik yolağın rolü olduğu düşünülen patolojilerden biri de Helikobakter pylori enfeksiyonudur. Gargala ve ark. fonksiyonel dispepsi hastalarının duodenum mukozalarında yaptıkları çalışmada FAS eksprese eden İEL sayısının helikobakter pylori pozitif hastalarda, negatif hastalara ve kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğunu göstermişlerdir (142). Mide antrum ve korpus mukozasında da helikobakter pylori ilişkili gastritlerde FAS/FASL ekspresyon artışının olduğunu ve bunun apoptozis ile ilişkisini gösteren yetişkin ve çocuk çalışmaları mevcuttur (29-31).

GVHH, barsağın inflamatuvar hastalıkları ve helikobakter pylori enfeksiyonu gibi gastrointestinal sistemin inflamatuvar süreçlerinde görüldüğü gibi biz de çalışmamızda İELAG ve nonspesifik duodenit olgularında normal mukozalara göre FAS ekspresyonunun arttığını gördük. Bu nedenle FAS-FASL ekspresyonunun yalnızca ÇH patogenezinde etkin bir mekanizma olmadığını ancak çok yüksek FAS ekspresyonunun ÇH ile ilişkili olabileceğini düşündük.

FASL TNF ailesinden bir tip II integral membran proteinidir (143). FASL'nin FAS'ın hücre dışı alanına bağlanması reseptörün trimerizasyonunu sağlayarak apoptotik süreci başlatır. Daha önceki yıllarda FASL ekspresyonunun aktive T ve doğal öldürücü (NK, natural killer) hücrelerle sınırlı olduğu düşünülmekteyken son yıllarda yapılan çalışmalarda akciğer, karaciğer ve böbrek gibi farklı insan hücre ve dokularında da eksprese olduğu bildirilmektedir (15-17). Ancak kullanılmakta olan FASL antikollarının spesivite ve sensitivite konusunda kuşku vardır (144). Bu nedenle bazı araştırmacılar birden fazla farklı FASL antikolları kullanarak sonucun güvenilirliğini desteklemeyi uygun görmüşlerdir (145,146).

Melgar ve meslektaşları normal jejunum mukozalarında villus ve kriptlerdeki İEL'lerde ve lamina propriadaki hücrelerde FASL ekspresyonunu ve T lenfositlerin sitotoksik aktivitelerinin ortaya çıkmasında FAS-FASL yolağının rolü olduğunu göstermişlerdir. Normal jejunum mukozasında T hücrelerin diğer T hücreler tarafından FAS-FASL yolağı aracılığıyla öldürülmesinin dietteki antijenlere karşı lokal toleransın sağlanmasında, ekstratimik T hücre maturasyonu gösteren hücrelerin ortadan kaldırılmasında ve virüs ile enfekte hücrelerin temizlenmesinde rolü olabileceğini öne sürmüşlerdir (147). Bu çalışma bize normal dokularda saptadığımız FASL ekspresyonlarının fonksiyonel önemi olabileceğini ve bunun araştırılması gerektiğini düşündürmüştür.

Daha önce yazarlar mide mukozasında FASL ekspresyonunun başlıca *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ile ilişkili olduğunu bildirdikleri halde (148,149) Kotlowska-Kmiec ve ark. son yıllarda yaptıkları çalışmada *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun eşlik etmediği mide mukozasındaki inflamatuvar değişikliklerin de FASL ekspresyon artışına neden olabileceğini göstermişlerdir (31). Bu bulgu çalışmamızda etyolojisi net olarak bilinmeyen inflamatuvar değişikliklerde saptanan FASL ekspresyon artışını desteklemektedir.

ÇH'de FASL ekspresyon artışını gösteren çalışmalar mevcuttur (11,24,25). Ciccocioppo ve ark. aktif ÇH'de neredeyse tüm İEL'lerin FASL pozitif olduğunu, bu değerlerin tedavi görmüş ÇH'ye ve kontrol grubuna göre belirgin derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir (11). Maiuri ve ark. da tedavi almamış ÇH'de İEL'lerde FASL ekspresyonunun villöz atrofi gösteren olgular ile normal villöz morfolojiye sahip olgularda benzer olduğunu, tedavi almış ÇH ile kontrol grubunun ise hemen hemen negatif olduğunu saptamışlardır (24). Ciccocioppo ve ark. da duodenum mukozalarında FASL eksprese eden İEL'lerin ve lamina propria mnh.lerinin ÇH'de kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğunu bulmuşlardır (25). Biz de çalışmamızda yetişkin ve çocuk grubunda ÇH'de yüzey ve kriptlerdeki İEL'lerde FASL ekspresyonunun kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptadık. Bu fark istatistiksel olarak da hem yetişkinlerde hem de çocuklarda yüzeyde ve

kriptlerde anlamlıydı. Ehrmann ve ark. ise çocuklarda yaptıkları çalışmada aktif ÇH, potansiyel ÇH ve kontrol grubunda FASL eksprese eden İEL sayısının çok düşük olduğunu ve gruplar arasında fark olmadığını göstermişlerdir. FASL eksprese eden mukozal lenfositlerin oranının ise aktif ÇH (%80) ve potansiyel ÇH'de (%60) kontrol grubuna (%28.6) göre belirgin yüksek olduğunu saptamışlardır (120). Biz de çalışmamızda çocuk ve yetişkin ÇH'de kontrol grubuna göre mukozal lenfositlerde FASL ekspresyonunun daha yüksek olduğunu saptadık ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ciccocioppo ve ark. çalışmalarında FASL pozitif lamina propria mononükleer hücrelerinin tedavi almamış ÇH'de kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğunu, tedavi sonrası ciddi düşüş olmakla birlikte normale dönmediğini saptamışlardır (23).

Ehrmann ve ark. tüm gruplarda FASL pozitif enterosit oranının villusların üst yarısında %80'in üzerinde olduğunu saptamışlardır. Kriptlerde ise aktif ÇH'de (%84) ve potansiyel ÇH'de (%86.7) kontrol grubuna (%76.2) göre daha yüksek oranda FASL pozitif enterosit olduğunu göstermişlerdir (120). Biz de çalışmamızda çocuk ve yetişkinlerde yüzey enterositlerindeki FASL skorlarının kript enterositlerine göre daha yüksek olduğunu saptadık. Çocuk ve yetişkin ÇH'de yüzey ve kript enterositlerindeki FASL skorları kontrol grubuna göre de yüksekti. İELAG ve non-spesifik duodenit gruplarında çocuk ve yetişkinlerde yüzey ve kriptlerdeki İEL'lerde, lamina propriadaki mononükleer hücrelerde, yüzey ve kript enterositlerindeki FASL ekspresyonları birbirine benzerdi ve bu değerler ÇH ve kontrol grubuna göre yüksekti. İstatistiksel olarak da iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Hem çocuk hem de yetişkinlerde İEL artışı gösteren duodenum mukozaları ve non-spesifik duodenit grupları ile kontrol grubu arasında bu parametreler için istatistiksel olarak anlamlı fark tespit ettik.

Çalışmamızda İELAG ve nonspesifik duodenit olgularında ÇH'den daha yüksek saptadığımız FASL ekspresyonlarının önemini bilmiyoruz. FAS-FASL apoptotik yolağın hem enterosit apoptozisinde hem de T lenfositlerin apoptotik ölümünde rolü olduğundan etyolojisini bilmediğimiz İELAG ve non-spesifik duodenit gruplarında aşırı FASL ekspresyonu saptanmasının FASL'nin inflamatuvar değişikliklere daha duyarlı olduğunun göstergesi olabileceğini ve belki de inflamasyon alanında çoğalan lenfositlerin temizlenmesinin bu inflamatuvar süreçlerde ÇH'ye göre daha güçlü şekilde başararak ÇH'de gelişebilen komplikasyonlara (refractory ÇH) neden olan lenfositlerin klonal çoğalmalarının engellendiğini düşünmekteyiz. Ancak hastalıklı dokularda FAS ve FASL eksprese eden hücrelerin gösterilmesi FAS aracılı hücre ölümünün olaya karıştığını göstermek için yeterli değildir. Tüm FAS eksprese eden hücreler FAS aracılı hücre ölümüne duyarlı değildir.

Tanımlanmış çok sayıda apoptozisden koruyucu mekanizma vardır. IAP (Apoptozis protein inhibitörü), FLIP (FLICE-inhibitör protein) ve decoy reseptörleri çeşitli mekanizmalarla FAS aracılı hücre ölümünü baskırlar. Bu yüzden FAS aracılı apoptozisi değerlendirirken anti-FAS monoklonal antikoru veya cross-linked sFASL kullanımı yoluyla FAS pozitif hücrelerin ölüme duyarlı olup olmadığını göstermenin daha uygun olacağı bildirilmektedir. Benzer şekilde hücre membranında FASL varlığı FASL ekspresyonunun mutlaka FAS-duyarlı hedef hücrelerin ölümüne aracılık etme yeteneğine sahip olduğu anlamına gelmez. Doku tipine bağlı olarak bazı dokularda membran FASL metalloproteazlar tarafından hızlıca çözünebilir ve potansiyel olarak daha az sitotoksik forma parçalanabilir (18). Bu nedenle bu olgularda enterositlerde saptadığımız yüksek FASL ekspresyonlarına karşı mukozal hasar oluşumunu engelleyecek inhibitör mekanizmaların devreye girerek apoptozis regülasyonunu sağlayabileceklerini düşündük.

Tüm gruplardaki FAS-FASL ekspresyonlarının fonksiyonel önemlerini belirlemek için apoptozis değerlendiren bir yöntemin çalışmaya dahil edilmesinin yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Lenfosit subtiplerinin FAS ve FASL ekspresyonları ile korelasyonunu değerlendiren çalışmalardan farklı sonuçlar elde edilmiştir. Literatürde duodenum biyopsilerinde bu konu ile ilgili çalışmaya rastlamadık. Ancak Kotlowska-Kmiec ve meslektaşları Helikobakter pylori gastritlerinde mide mukozasında yaptıkları çalışmada yalnızca CD4 ve FAS ekspresyonları arasında pozitif ilişki saptamışlar CD3, CD8 ve CD20 ile FAS ve FASL ekspresyonları arasında ilişki saptayamamışlardır (31). Ibuki ve meslektaşları viral hepatitlerde portal inflamasyon, interfaz hepatiti ve fokal nekroz alanlarında CD8 pozitif T hücreleri ile FASL pozitif hücreler arasında pozitif ilişki saptamışlardır (150). Di Sabatino ve ark. ise çölyaklı hastaların periferik kanlarında hem CD4 hem de CD8 pozitif hücrelerin FASL ekspresyon ettiğini, FAS ekspresyonunun ise CD8 pozitif hücrelerde kontrole göre belirgin yüksek olduğunu göstermişlerdir (137). Çalışmamızda çocuk çölyak grubunda yüzeydeki İEL'lerdeki CD8 ekspresyonu ile FASL ekspresyonu arasında saptadığımız pozitif ilişki, FAS- FASL yolağında CD8 pozitif lenfositlerin rolü olduğunu destekler nitelikteydi.

ÇH'de yapılan çalışmalarda FAS-FASL ekspresyonları arasında korelasyon değerlendirmesinden ziyade apoptozis değerlendiren yöntemlerle bu hücrelerin etkileşimi incelenmiştir (23-25). FAS ve FASL ekspresyon eden hücrelerin bir kısmının bu apoptotik süreçte kaybolacağını dikkate alırsak korelasyon değerlendirmesinin güç olduğunu düşünmekteyiz.

İELAG ve non-spesifik duodenit grupları arasında çocuklarda yüzeydeki CD3 ve CD8 pozitif İEL sayısı arasında, yetişkinlerde ise yüzeydeki İEL'lerde FAS ekspresyonları dışında istatistiksel olarak anlamlı fark gösteren bir bulgu saptayamadık. Dolayısıyla ince barsaktaki inflamatuvar süreçlerde FAS-FASL ekspresyonlarının normale göre artış gösterdiğini ve bu patolojilerin birbirinden ayırımında FAS-FASL ekspresyonlarının yararı olmayacağını düşündük.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Çalışmamızda tüm gruplarda yüzey ve kript enterositlerinde CD3 ile saptadığımız İEL sayısı H-E kesitlere göre daha fazlaydı. Literatürlerde de CD3 immünohistokimyasal değerlendirmenin İEL sayısını saptamada yardımcı olacağı belirtilmektedir. Ayrıca İELAG'de yetişkin ve çocuklarda birer hastada H.E. kesitlerde normal sınırlarda değerlendirdiğimiz İEL sayısını CD3 ile değerlendirdiğimizde bu hastaların Marsh Tip 0 ve Tip 1 grubuna girdiğini saptadık. Bu hastaların tanısının atlanmaması için özellikle şüphe duyulan durumlarda İEL sayısının saptanmasında CD3'ün rutin kullanımının faydalı olacağını düşünmekteyiz.
- Tüm gruplarda İEL'lerin büyük kısmını CD3 eksprese eden lenfositler oluşturmaktaydı. Yine tüm gruplarda CD3 ile saptadığımız yüzeydeki İEL sayısı kriptlere göre daha fazlaydı. ÇH'den İELAG, non-spesifik duodenit ve kontrol grubuna doğru yüzey ve kriptlerde azalan sayıda CD3 pozitif hücre saptadık. CD8 pozitif hücre sayısı da CD3 ile paralel sonuçlar verdi. Bulgularımız literatürlerle uyumlu olarak hem normal mukozalarda hem de ÇH'de İEL'lerde baskın subtipin CD8 pozitif hücreler olduğunu göstermiştir.
- Yetişkinlerde tüm gruplarda yüzey ve kript enterositlerindeki İEL'lerde CD3 ve CD8 ekspresyonları arasında pozitif ilişki vardı. Çocuklarda ise non-spesifik duodenit olgularında yüzeydeki İEL'lerde ve kontrol grubunda kriptlerdeki İEL'ler dışında pozitif ilişki saptadık. Çocuklardaki bu sonuca denek sayısının az olmasının neden olabileceğini düşündük.
- Non-spesifik duodenit olgularında CD3 ile saptadığımız İEL sayısının kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu saptadık. Literatürlerde de bunu destekleyen bulgular mevcuttur.
- Tüm gruplarda derin lamina propriada CD3 eksprese eden mononükleer hücre sayısının yüzeyel lamina propriaya göre daha fazla olduğunu saptadık. Buna plazma hücrelerinin yüzeyel lamina propriada daha fazla bulunmasının neden olabileceğini düşündük.
- Hem yetişkin hem de çocuk grubunda ÇH'de CD8 eksprese eden hücrelerin yüzeyel lamina propriada derinden daha fazla olduğunu diğer gruplarda ise derinde daha fazla ekspresyon olduğunu saptadık. ÇH'de sitotoksik T lenfositlerin yüzeyel lamina propriada daha yoğun bulunmasının sitolitik aktivitenin hastalığın patogenezinde yer alabileceğini ve mukozal hasarda rolü olabileceğini düşündürmüştür.

- Tüm gruplarda yüzey ve kript enterositlerinde FAS ekspresyonu saptadık. FAS ekspresyonu en yüksek ÇH'de, en düşük ise kontrol grubundaydı. Bu fark yetişkin ve çocukta yüzey enterositlerinde istatistiksel olarak anlamlı, yetişkinlerde kript enterositlerinde anlamlılığa yakındı. ÇH'de İELAG ve non-spesifik duodenit gruplarına göre de yüzey enterositlerinde FAS ekspresyonu anlamlı derecede yüksekti.
- Lamina propriadaki hücrelerde de en yüksek FAS ekspresyonlarını çocuk ve yetişkinler ÇH'de saptadık. İstatistiksel olarak ÇH ile tüm gruplar arasında fark anlamlıydı. Çocuk grubunda ayrıca İELAG'de kontrol grubuna göre anlamlı ekspresyon artışı saptadık.
- Yüzey ve kriptlerdeki İEL'lerde de en yüksek FAS ekspresyonları hem çocuk hem de yetişkin gruplarında yine ÇH'de idi. ÇH ile tüm gruplar arasında her iki alanda da istatistiksel olarak anlamlı fark saptadık. Yetişkinlerde non-spesifik duodenit grubunda yüzeydeki İEL'lerde FAS ekspresyonu İELAG ve kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksekti. Çocuklarda ise İELAG'de kontrol grubuna göre anlamlı ekspresyon artışı vardı. Bu bulgular FAS ekspresyon artışının ince barsakta diğer inflamatuvar süreçlerde de görülebileceğini ancak çok yüksek FAS ekspresyonunun ÇH lehine yorumlanabileceğini düşündürmüştür.
- Yüzey ve kript enterositlerindeki FASL ekspresyonlarının en yüksek değeri çocuk ve yetişkinlerde İELAG ve duodenit grubundaydı. İki grup arasında anlamlı fark saptamadık ancak kontrol grubu ile fark anlamlıydı. Yetişkinlerde her iki grup ile ÇH arasında, çocuklarda ise duodenit grubu ile ÇH arasında anlamlı fark vardı. ÇH'de kontrol grubuna göre her iki alanda da ekspresyonlar daha fazla idi.
- Hem çocuk hem de yetişkinlerde İEL'lerde de FASL ekspresyonu en yüksek İELAG ve duodenit grubundaydı. İki grup arasında yine istatistiksel olarak fark yoktu ancak kontrol grubuyla fark anlamlıydı. Ayrıca kriptlerdeki İEL'lerde ÇH'ye göre anlamlı düzeyde ekspresyonlar yüksekti. ÇH'de de kontrol grubuna göre ekspresyonlar daha fazla idi.
- Lamina propriadaki hücrelerde yine FASL ekspresyonunu hem çocuk hem de yetişkinlerde en fazla İELAG ve duodenit grubunda saptadık. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu fakat kontrol grubu ile fark anlamlıydı. Yetişkinlerde her iki grup ile ÇH arasında, çocuklarda ise duodenit grubu ile ÇH arasında fark anlamlı düzeydeydi. ÇH'de kontrol grubuna göre ekspresyonlar daha fazla idi ancak fark anlamlı değildi. FASL antikollarının spesivite ve sensitivite

hakkında kuşku bulunduğundan bu bulguların farklı çalışmalarla yenilenmesinin ve teyit edilmesinin gerektiğini düşünmekteyiz. Ancak bu bulgular eşliğinde değerlendirdiğimizde İELAG ve duodenit olgularındaki ekspresyon fazlalığının T lenfositlerin aşırı çoğalmasının önlenmesi için bir feed-back mekanizma olabileceği düşünülebilir.

- Yetişkin ÇH'de FAS ve FASL ekspresyonları arasında ilişki saptayamadık. Çocuklarda ise kript enterositlerinde negatif ilişki vardı. FAS ve FASL'nin birlikte ekspresyonlarının değerlendirilmesinin ve apoptotik süreçteki önemlerini belirlemek için apoptoz değerlendiren bir yöntemle araştırmanın daha yararlı olacağını düşünmekteyiz.
- İELAG ve non-spesifik duodenit grupları arasında çocuklarda yüzeydeki CD3 ve CD8 pozitif İEL sayısı arasında, yetişkinlerde ise yüzeydeki İEL'lerde FAS ekspresyonu ortalama HSKOR değerleri dışında istatistiksel olarak anlamlı fark gösteren bulgu saptayamadık. Dolayısıyla ince barsaktaki inflamatuvar süreçlerde FAS-FASL ekspresyonlarının normale göre artış gösterdiğini ve bu patolojilerin birbirinden ayırımında FAS-FASL ekspresyonlarının yararı olmayacağını düşündük.

KAYNAKLAR

- 1- Cecilia M, Fenoglio-Preiser. The Nonneoplastic Small Intestine In:Gastrointestinal Pathology: An Atlas and Text, Lippincott Williams and Wilkins 4th ed, 2008,p275-470.
- 2- van Heel DA, West J. Recent Advances In Coeliac Disease, Gut 2006;55:1037-1046.
- 3- Freeman HJ. Lymphoproliferative and intestinal malignancies in 214 patients with biopsy-defined celiac disease, J Clin Gastroenterol. 2004;38(5):429-34.
- 4- Robert ME. Gluten sensitive enteropathy and other causes of small intestinal lymphocytosis, Semin Diagn Pathol. 2005;22(4):284-94.
- 5- Briani C, Samaroo D, Alaeidini A. Celiac disease: from gluten to autoimmunity, Autoimmun Rev. 2008;7(8):644-50.
- 6- Sollid LM, Markussen G, Ek J, Gjerde H, Vartdal F, Thorsby E. Evidence for a primary association of celiac disease to a particular HLA-DQ alpha/beta heterodimer, J Exp Med. 1989;169(1):345-50.
- 7- Barker JM, Liu E. Celiac disease: pathophysiology, clinical manifestations, and associated autoimmune conditions, Adv Pediatr. 2008;55:349-65.
- 8- Londei M, Maiuri L. Gliadin as stimulator adaptive and innate immune responses in celiac disease, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004;39.
- 9- Herr I, Debatin KM. Cellular stress response and apoptosis in cancer therapy, Blood. 2001;98(9):2603-14.
- 10- Watson AJ. Necrosis and apoptosis in the gastrointestinal tract, Gut. 1995;37(2):165-7.
- 11- Ciccocippo R, Di Sabatino A, Parroni R, D'alò S, Pistoia MA, Doglioni C, Cifone MG, Corazza GR. Cytolytic mechanisms of intraepithelial lymphocytes in coeliac disease (CoD), Clin Exp Immunol. 2000;120(2):235-40.
- 12- Moss SF, Attia L, Scholes JV, Walters JR, Holt PR. Increased small intestinal apoptosis in coeliac disease, Gut. 1996;39(6):811-7.
- 13- Kayagaki N, Kawasaki A, Ebata T, Ohmoto H, Ikeda S, Inoue S, Yoshino K, Okumura K, Yagita H. Metalloproteinase-mediated Release of Human Fas Ligand, J Exp Med. 1995;182(6):1777-83.
- 14- Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm, Science. 2002;296(5573):1635-6.
- 15- Gale PR, Hofmann WJ, Walczak H, Schaller H, Otto G, Stremmel W, Krammer PH, Runkel L. Involvement of the CD95(APO-1/Fas) receptor and ligand in liver damage, J Exp Med. 1995;182(5):1223-30.

- 16- Suda T, Nagata S. Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis, *J Exp Med.* 1994;179(3):873-9.
- 17- Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular Cloning and Expression of the Fas Ligand, a Novel Member of the Tumor Necrosis Factor Family, *Cell.* 1993;75(6):1169-78.
- 18- Pinkoski MJ, Brunner T, Green DR, Lin T. Fas and Fas ligand in gut and liver, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;278(3):G354-66
- 19- Boirivant M, Pica R, DeMaria R, Testi R, Pallone F, Strober W. Stimulated human lamina propria T cells manifest enhanced Fas-mediated apoptosis, *J Clin Invest.* 1996;98(11):2616-22.
- 20- De Maria R, Boirivant M, Cifone MG, Roncaioli P, Hahne M, Tschopp J, Pallone F, Santoni A, Testi R. Functional expression of Fas and Fas ligand on human gut lamina propria T lymphocytes. A potential role for the acidic sphingomyelinase pathway in normal immunoregulation, *J Clin Invest.* 1996;97(2):316-22.
- 21- Guy-Grand D, DiSanto JP, Henchoz P, Malassis-Séris M, Vassalli P. Small bowel enteropathy: role of intraepithelial lymphocytes and of cytokines (IL-12, IFN-gamma, TNF) in the induction of epithelial cell death and renewal, *Eur J Immunol.* 1998;28(2):730-44.
- 22- Lin T, Brunner T, Tietz B, Madsen J, Bonfoco E, Reaves M, Huflejt M, Green DR. Fas ligand-mediated killing by intestinal intraepithelial lymphocytes. Participation in intestinal graft-versus-host disease, *J Clin Invest.* 1998;101(3):570-7.
- 23- Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Parroni R, Muzi P, D'Alò S, Ventura T, Pistoia MA, Cifone MG, Corazza GR. Increased enterocyte apoptosis and Fas-Fas ligand system in celiac disease, *Am J Clin Pathol.* 2001;115(4):494-503.
- 24- Maiuri L, Ciacci C, Raia V, Vacca L, Ricciardelli I, Raimondi F, Auricchio S, Quarantino S, Londei M. FAS engagement drives apoptosis of enterocytes of coeliac patients, *Gut.* 2001;48(3):418-24.
- 25- Ciccocioppo R, D'Alo S, Di Sabatino A, Parroni R, Rossi M, Doglioni C, Cifone MG, Corazza GR. Mechanisms of villous atrophy in autoimmune enteropathy and coeliac disease, *Clin Exp Immunol.* 2002;128(1):88-93.
- 26- Merger M, Viney JL, Borojevic R, Steele-Norwood D, Zhou P, Clark DA, Riddell R, Maric R, Podack ER, Croitoru K. Defining the roles of perforin, Fas/FasL, and tumour necrosis factor alpha in T cell induced mucosal damage in the mouse intestine, *Gut.* 2002;51(2):155-63.

- 27- Ueyama H, Kiyohara T, Sawada N, et al. High Fas ligand expression on lymphocytes in lesions of ulcerative colitis, *Gut*. 1998;43(1):48-55.
- 28- Iwamoto M, Koji T, Makiyama K, Kobayashi N, Nakane PK. Apoptosis of crypt epithelial cells in ulcerative colitis, *J Pathol*. 1996;180(2):152-9.
- 29- Ishihara S, Fukuda R, Kawashima K, et al. T cell-mediated cytotoxicity via Fas/Fas ligand signaling in *Helicobacter pylori*-infected gastric corpus, *Helicobacter*. 2001;6(4):283-93
- 30- Rudi J, Kuck D, Strand S, von Herbay A, Mariani SM, Krammer PH, Galle PR, Stremmel W. Involvement of the CD95(APO-1/Fas) receptor and ligand system in *Helicobacter pylori*-induced gastric epithelial apoptosis, *J Clin Invest*. 1998;102(8):1506-14.
- 31- Kotlowska-Kmiec A, Bakowska A, Szarszewski A, et al. *Helicobacter pylori* increases expression of proapoptotic markers Fas and FasL on CD4 lymphocytes in children, *Acta Biochim Pol*. 2009;56(3):433-8.
- 32- Gramlich TL, Petras RE. Small Intestine In: *Histology for Pathologists*, Mills SE Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia 3rd ed, 2007, p603-626.
- 33- Day DW, Jass JR, Price AB, Shepherd NA, Sloan JM, Talbot IC, Warren BF, Williams GT, Small Intestine In: *Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology*, Blackwell Science 4th ed, 2003, p237-404.
- 34- Rosai J. Gastrointestinal Tract, Small Bowel. In: *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*, Mosby, 9 th ed. 2004: p712-756.
- 35- Paveley WF. From Aretaeus to Crosby: a history of coeliac disease, *BMJ*. 1988;297(6664):1646-9
- 36- Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study, *Arch Intern Med*. 2003;163(3):286-92.
- 37- Maki M, Mustalahti K, Kokonen J, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland, *N Engl J Med*. 2003;348(25):2517-24.
- 38- Mahmud FH, Murray JA, Kudva YC, et al. Celiac disease in type 1 diabetes mellitus in a North American community: prevalence, serologic screening, and clinical features, *Mayo Clin Proc*. 2005;80(11):1429-34.
- 39- Valentino R, Savastano S, Tommaselli AP, Dorato M, Scarpitta MT, Gigante M, Micillo M, Paparo F, Petrone E, Lombardi G, Troncone R. Prevalence of coeliac disease in patients with thyroid autoimmunity, *Horm Res*. 1999;51(3):124-7.

- 40- Almeida PL, Gandolfi L, Modelli IC, Martins Rde C, Almeida RC, Pratesi R. Prevalence of celiac disease among first degree relatives of Brazilian celiac patients, *Arq Gastroenterol*. 2008;45(1):69-72.
- 41- Bonamico M, Pasquino AM, Mariani P, Danesi HM, Culasso F, Mazzanti L, Petri A, Bona G. Prevalence and clinical picture of celiac disease in Turner syndrome, *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(12):5495-8.
- 42- Hansson T, Dahlbom I, Rogberg S, Nyberg BI, Dahlström J, Annerén G, Klareskog L, Dannaeus A. Antitissue transglutaminase and antithyroid autoantibodies in children with Down syndrome and celiac disease, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40(2):170-4.
- 43- Ciclitira PJ, Johnson MW, Dewar DH, Ellis HJ. The pathogenesis of coeliac disease, *Mol Aspects Med*. 2005;26(6):421-58.
- 44- Kagnoff MF. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease, *J Clin Invest*. 2007;117(1):41-9.
- 45- Dewar DH, Amato M, Ellis HJ, Pollock EL, Gonzalez-Cinca N, Wieser H, Ciclitira PJ. The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to patients with coeliac disease, *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006;18(5):483-91.
- 46- Ciclitira PJ, Ellis HJ. Investigation of cereal toxicity in coeliac disease, *Postgrad Med J*. 1987;63(743):767-75.
- 47- McGough N, Cummings JH. Coeliac disease: a diverse clinical syndrome caused by intolerance of wheat, barley and rye, *Proc Nutr Soc*. 2005;64(4):434-50.
- 48- Sturgess RP, Ellis HJ, Ciclitira PJ. Cereal chemistry, molecular biology, and toxicity in coeliac disease, *Gut*. 1991;32(9):1055-60.
- 49- Tahtam AS, Marsh MN, Wieser H, Shewry PR. Conformational studies of peptides corresponding to the coeliac-activating regions of wheat alpha-gliadin, *Biochem J*. 1990;270(2):313-8.
- 50- Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue, *Science*. 2002;297(5590):2275-9.
- 51- Qiao SW, Bergseng E, Molberg Ø, Xia J, Fleckenstein B, Khosla C, Sollid LM. Antigen Presentation to Celiac Lesion-Derived T Cells of a 33-Mer Gliadin Peptide Naturally Formed by Gastrointestinal Digestion, *J Immunol*. 2004;173(3):1757-62.
- 52- Arentz-Hansen H, Körner R, Molberg O, et al. The intestinal T cell response to alpha-gliadin in adult celiac disease is focused on a single deamidated glutamine targeted by tissue transglutaminase, *J Exp Med*. 2000;191(4):603-12.

- 53- Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Corazza GR. The immune recognition of gluten in coeliac disease, *Clin Exp Immunol*. 2005;140(3):408-16.
- 54- Kagnoff MF, Paterson YJ, Kumar PJ, Kasarda DD, Carbone FR, Unsworth DJ, Austin RK. Evidence for the role of a human intestinal adenovirus in the pathogenesis of coeliac disease, *Gut*. 1987;28(8):995-1001.
- 55- Houlston RS, Ford D. Genetics of coeliac disease, *QJM*. 1996;89(10):737-43.
- 56- Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, et al. The first large population based twin study of coeliac disease, *Gut*. 2002;50(5):624-8.
- 57- Korman AJ, Boss JM, Spies T, Sorrentino R, Okada K, Strominger JL. Genetic complexity and expression of human class II histocompatibility antigens, *Immunol Rev*. 1985;85:45-86.
- 58- Kagnoff MF. Understanding the molecular basis of coeliac disease, *Gut*. 1990;31(5):497-9.
- 59- Volk BA, Brenner DA, Kagnoff MF. Analysis of RNA transcripts for HLA class II genes in human small intestinal biopsies, *Gut*. 1989;30(9):1220-4.
- 60- Marley NJ, Macartney JC, Ciclitira PJ. HLA-DR, DP and DQ expression in the small intestine of patients with coeliac disease, *Clin Exp Immunol*. 1987;70(2):386-93.
- 61- Kagnoff MF, Harwood JI, Bugawan TL, Erlich HA. Structural analysis of the HLA-DR, -DQ, and -DP alleles on the celiac disease-associated HLA-DR3 (DRw17) haplotype, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(16):6274-8.
- 62- Kutlu T, Brousse N, Rambaud C, Le Deist F, Schmitz J, Cerf-Bensussan N. Numbers of T cell receptor (TCR) alpha beta+ but not of TcR gamma delta+ intraepithelial lymphocytes correlate with the grade of villous atrophy in coeliac patients on a long term normal diet, *Gut*. 1993;34(2):208-14.
- 63- Groh V, Steinle A, Bauer S, Spies T. Recognition of stress-induced MHC molecules by intestinal epithelial gammadelta T cells, *Science*. 1998;279(5357):1737-40.
- 64- Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A, Goldblum SE. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease, *Lancet*. 2000;355(9214):1518-9.
- 65- Sollid LM. Molecular basis of celiac disease, *Annu Rev Immunol*. 2000;18:53-81.
- 66- Koning F, Schuppan D, Cerf-Bensussan N, Sollid LM. Pathomechanisms in celiac disease, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2005;19(3):373-87.
- 67- Green PH, Jabri B. Coeliac disease, *Lancet*. 2003;362(9381):383-91.

- 68- Parnell ND, Ciclitira PJ. Review article: coeliac disease and its management, *Aliment Pharmacol Ther.* 1999;13(1):1-13.
- 69- Feighery C. Fortnightly review: coeliac disease, *BMJ.* 1999;319(7204):236-9.
- 70- Rodrigo L. Celiac disease, *World J Gastroenterol.* 2006;12(41):6585-93.
- 71- Abdulkarim AS, Murray JA. Review article: The diagnosis of coeliac disease, *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;17(8):987-95.
- 72- Hershko C, Patz J. Ironing out the mechanism of anemia in celiac disease, *Haematologica.* 2008;93(12):1761-5.
- 73- Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA. Hematologic manifestations of celiac disease, *Blood.* 2007;109(2):412-21.
- 74- Kosnai I, Kuitunen P, Siimes MA. Iron deficiency in children with coeliac disease on treatment with gluten-free diet. Role of intestinal blood loss, *Arch Dis Child.* 1979;54(5):375-8.
- 75- Fine KD. The prevalence of occult gastrointestinal bleeding in celiac sprue, *N Engl J Med.* 1996;334(18):1163-7.
- 76- Bergamaschi G, Markopoulos K, Albertini R, Di Sabatino A, Biagi F, Ciccocioppo R, Arbustini E, Corazza GR. Anemia of chronic disease and defective erythropoietin production in patients with celiac disease, *Haematologica.* 2008;93(12):1785-91.
- 77- Harper JW, Holleran SF, Ramakrishnan R, Bhagat G, Green PH. Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology, *Am J Hematol.* 2007;82(11):996-1000.
- 78- Jones S, D'Souza C, Haboubi NY. Patterns of clinical presentations of adult coeliac disease in a rural setting, *Nutr J.* 2006;5:24.
- 79- Cannings-John R, Butler CC, Prout H, Owen D, Williams D, Hood K, Crimmins R, Swift G. A case-control study of presentations in general practice before diagnosis of coeliac disease, *Br J Gen Pract.* 2007;57(541):636-42.
- 80- Hin H, Bird G, Fisher P, Mahy N, Jewell D. Coeliac disease in primary care: case finding study, *BMJ.* 1999;318(7177):164-7.
- 81- Goddard AF, McIntyre AS, Scott BB. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. British Society of Gastroenterology, *Gut.* 2000;47(6):872.
- 82- Hourigan CS. The molecular basis of coeliac disease, *Clin Exp Med.* 2006;6(2):53-9
- 83- Freeman HJ. Adult celiac disease in the elderly, *World J Gastroenterol.* 2008;14(45):6911-4.
- 84- Lagerqvist C, Ivarsson A, Juto P, Persson LA, Hernell O. Screening for adult coeliac disease - which serological marker(s) to use?, *J Intern Med.* 2001;250(3):241-8.

- 85- Dickson BC, Streutker CJ, Chetty R. Coeliac disease: an update for pathologists, *J Clin Pathol.* 2006;59(10):1008-16.
- 86- Gillett HR, Freeman HJ. Serological testing in screening for adult celiac disease, *Can J Gastroenterol.* 1999;13(3):265-9.
- 87- James MW, Scott BB. Endomysial antibody in the diagnosis and management of coeliac disease, *Postgrad Med J.* 2000;76(898):466-8.
- 88- Ladinser B, Rossipal E, Pittschieler K. Endomysium antibodies in coeliac disease: an improved method, *Gut.* 1994;35(6):776-8.
- 89- Corrao G, Corazza GR, Andreani ML, Torchio P, Valentini RA, Galatola G, Quaglino D, Gasbarrini G, di Orio F. Serological screening of coeliac disease: choosing the optimal procedure according to various prevalence values, *Gut.* 1994;35(6):771-5.
- 90- Weiss B, Bujanover Y, Avidan B, Fradkin A, Weintraub I, Shainberg B. Positive tissue transglutaminase antibodies with negative endomysial antibodies: low rate of celiac disease, *Isr Med Assoc J.* 2004;6(1):9-12.
- 91- Rittmeyer C, Rhoads JM. IgA deficiency causes false-negative endomysial antibody results in celiac disease, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1996;23(4):504-6.
- 92- Baudon JJ, Johanet C, Absalon YB, Morgant G, Cabrol S, Mougnot JF. Diagnosing celiac disease: a comparison of human tissue transglutaminase antibodies with antigliadin and antiendomysium antibodies, *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2004;158(6):584-8.
- 93- Spada C, Riccioni ME, Urgesi R, Costamagna G. Capsule endoscopy in celiac disease, *World J Gastroenterol.* 2008;14(26):4146-51.
- 94- Freeman HJ. Pearls and pitfalls in the diagnosis of adult celiac disease, *Can J Gastroenterol.* 2008;22(3):273-80.
- 95- Pais WP, Duerksen DR, Pettigrew NM, Bernstein CN. How many duodenal biopsy specimens are required to make a diagnosis of celiac disease?, *Gastrointest Endosc.* 2008;67(7):1082-7.
- 96- Bonamico M, Thanasi E, Mariani P, Nenna R, Luparia RP, Barbera C, Morra I, Lerro P, Guariso G, De Giacomo C, Scotta S, Pontone S, Carpino F, Magliocca FM. Duodenal bulb biopsies in celiac disease: a multicenter study, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47(5):618-22.
- 97- Di Sabatino A, Corazza GR. Coeliac disease, *Lancet.* 2009;373(9673):1480-93.
- 98- Ensari A, Marsh MN, Loft DE, Morgan S, Moriarty K. Morphometric analysis of intestinal mucosa. V. Quantitative histological and immunocytochemical studies of rectal mucosae in gluten sensitivity, *Gut.* 1993;34(9):1225-9.

- 99- Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'), *Gastroenterology*. 1992;102(1):330-54.
- 100- Lionetti P. The enteropathy of celiac disease, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;34 Suppl 1:S18-21.
- 101- Goldstein NS, Underhill J. Morphologic features suggestive of gluten sensitivity in architecturally normal duodenal biopsy specimens, *Am J Clin Pathol*. 2001;116(1):63-71.
- 102- Järvinen TT, Collin P, Rasmussen M, Kyrönpalo S, Mäki M, Partanen J, Reunala T, Kaukinen K. Villous tip intraepithelial lymphocytes as markers of early-stage coeliac disease, *Scand J Gastroenterol*. 2004;39(5):428-33.
- 103- Mino M, Lauwers GY. Role of lymphocytic immunophenotyping in the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy with preserved villous architecture, *Am J Surg Pathol*. 2003;27(9):1237-42.
- 104- Holmes GK, Prior P, Lane MR, Pope D, Allan RN. Malignancy in coeliac disease--effect of a gluten free diet, *Gut*. 1989;30(3):333-8.
- 105- Nachman F, Mauriño E, Vázquez H, Sfoggia C, Gonzalez A, Gonzalez V, Plancer del Campo M, Smecuol E, Niveloni S, Sugai E, Mazure R, Cabanne A, Bai JC. Quality of life in celiac disease patients: prospective analysis on the importance of clinical severity at diagnosis and the impact of treatment, *Dig Liver Dis*. 2009;41(1):15-25.
- 106- Ho-Yen C, Chang F, van der Walt J, Mitchell T, Ciclitira P. Recent advances in refractory coeliac disease: a review, *Histopathology*. 2009;54(7):783-95.
- 107- Herr I, Debatin KM. Cellular stress response and apoptosis in cancer therapy, *Blood*. 2001;98(9):2603-14.
- 108- Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway, *Science*. 2002;296(5573):1634-5.
- 109- Sheikh MS, Fornace AJ Jr. Death and decoy receptors and p53-mediated apoptosis, *Leukemia*. 2000;14(8):1509-13.
- 110- Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor, *EMBO J*. 1995;14(22):5579-88.
- 111- Rossi D, Gaidano G. Messengers of cell death: apoptotic signaling in health and disease, *Haematologica*. 2003;88(2):212-8.

- 112- McCarty KS, Szabo E, Flowers JL, et al. Use of a monoclonal anti-estrogen receptor antibody in the immunohistochemical evaluation of human tumors, *Cancer Res.* 1986;46:4244-48.
- 113- West J, Logan RF, Hill PG, Lloyd A, Lewis S, Hubbard R, Reader R, Holmes GK, Khaw KT. Seroprevalence, correlates, and characteristics of undetected coeliac disease in England, *Gut.* 2003;52(7):960-5.
- 114- Sanders DS, Patel D, Stephenson TJ, Ward AM, McCloskey EV, Hadjivassiliou M, Lobo AJ. A primary care cross-sectional study of undiagnosed adult coeliac disease, *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003;15(4):407-13.
- 115- Johnston SD, Watson RG, McMillan SA, Sloan J, Love AH. Prevalence of coeliac disease in Northern Ireland, *Lancet.* 1997;350(9088):1370.
- 116- Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue, *N Engl J Med.* 2002;346(3):180-8.
- 117- Mäki M, Holm K, Koskimies S, Hällström O, Visakorpi JK. Normal small bowel biopsy followed by coeliac disease, *Arch Dis Child.* 1990;65(10):1137-41.
- 118- Salmela MT, MacDonald TT, Black D, Irvine B, Zhuma T, Saarialho-Kere U, Pender SL. Upregulation of matrix metalloproteinases in a model of T cell mediated tissue injury in the gut: analysis by gene array and in situ hybridisation, *Gut.* 2002;51(4):540-7.
- 119- Nagata S. Apoptosis by death factor. *Cell.* 1997 Feb 7;88(3):355-65.
- 120- Ehrmann J Jr, Kolek A, Kod'ousek R, Zapletalová J, Lísová S, Murray PG, Drábek J, Kolár Z. Immunohistochemical study of the apoptotic mechanisms in the intestinal mucosa during children's coeliac disease, *Virchows Arch.* 2003;442(5):453-61.
- 121- Ferguson A. Intraepithelial lymphocytes of the small intestine, *Gut.* 1977;18(11):921-37.
- 122- Hayday A, Theodoridis E, Ramsburg E, Shires J. Intraepithelial lymphocytes: exploring the Third Way in immunology, *Nat Immunol.* 2001;2(11):997-1003.
- 123- Arató A, Hacsek G, Savilahti E. Immunohistochemical findings in the jejunal mucosa of patients with coeliac disease, *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1998;228:3-10.
- 124- Cerf-Bensussan N, Guy-Grand D, Griscelli C. Intraepithelial lymphocytes of human gut: isolation, characterisation and study of natural killer activity, *Gut.* 1985;26(1):81-8.
- 125- Jabri B, Ebert E. Human CD8⁺ intraepithelial lymphocytes: a unique model to study the regulation of effector cytotoxic T lymphocytes in tissue, *Immunol Rev.* 2007;215:202-14.

- 126- Biagi F, Luinetti O, Campanella J, Klersy C, Zambelli C, Villanacci V, Lanzini A, Corazza GR. Intraepithelial lymphocytes in the villous tip: do they indicate potential coeliac disease?, *J Clin Pathol.* 2004;57(8):835-9.
- 127- Mino M, Lauwers GY. Role of lymphocytic immunophenotyping in the diagnosis of gluten-sensitive enteropathy with preserved villous architecture, *Am J Surg Pathol.* 2003;27(9):1237-42.
- 128- Oberhuber G, Vogelsang H, Stolte M, Muthenthaler S, Kummer JA, Radaszkiewicz. Evidence that intestinal intraepithelial lymphocytes are activated cytotoxic T cells in celiac disease but not in giardiasis, *Am J Pathol.* 1996;148(5):1351-7.
- 129- Verkasalo MA, Arató A, Savilahti E, Tainio VM. Effect of diet and age on jejunal and circulating lymphocyte subsets in children with coeliac disease: persistence of CD4-8-intraepithelial T cells through treatment, *Gut.* 1990;31(4):422-5.
- 130- Jenkins D, Goodall A, Scott BB. T-lymphocyte populations in normal and coeliac small intestinal mucosa defined by monoclonal antibodies, *Gut.* 1986;27(11):1330-7.
- 131- Selby WS, Janossy G, Bofill M, Jewell DP. Lymphocyte subpopulations in the human small intestine. The findings in normal mucosa and in the mucosa of patients with adult coeliac disease, *Clin Exp Immunol.* 1983;52(1):219-28.
- 132- Memeo L, Jhang J, Hibshoosh H, Green PH, Rotterdam H, Bhagat G. Duodenal intraepithelial lymphocytosis with normal villous architecture: common occurrence in *H. pylori* gastritis, *Mod Pathol.* 2005;18(8):1134-44.
- 133- Hasan M, Hay F, Sircus W, Ferguson A. Nature of the inflammatory cell infiltrate in duodenitis, *J Clin Pathol.* 1983;36(3):280-8.
- 134- Oehm A, Behrmann I, Falk W, Pawlita M, Maier G, Klas C, Li-Weber M, Richards S, Dhein J, Trauth BC, et al. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Sequence identity with the Fas antigen, *J Biol Chem.* 1992;267(15):10709-15.
- 135- Leithäuser F, Dhein J, Mechttersheimer G, Koretz K, Brüderlein S, Henne C, Schmidt A, Debatin KM, Krammer PH, Möller P. Constitutive and induced expression of APO-1, a new member of the nerve growth factor/tumor necrosis factor receptor superfamily, in normal and neoplastic cells, *Lab Invest.* 1993;69(4):415-29.
- 136- Sträter J, Möller P. Expression and function of death receptors and their natural ligands in the intestine, *Ann N Y Acad Sci.* 2000;915:162-70.

- 137- Di Sabatino A, D'Alò S, Millimaggi D, Ciccocioppo R, Parroni R, Sciarra G, Cifone MG, Corazza GR. Apoptosis and peripheral blood lymphocyte depletion in coeliac disease, *Immunology*. 2001;103(4):435-40.
- 138- Hongo T, Morimoto Y, Iwagaki H, Kobashi K, Yoshii M, Urushihara N, Hizuta A, Tanaka N. Functional expression of Fas and Fas ligand on human colonic intraepithelial T lymphocytes, *J Int Med Res*. 2000;28(3):132-42.
- 139- Wasem C, Frutschi C, Arnold D, Vallan C, Lin T, Green DR, Mueller C, Brunner T. Accumulation and activation-induced release of preformed Fas (CD95) ligand during the pathogenesis of experimental graft-versus-host disease, *J Immunol*. 2001;167(5):2936-41.
- 140- Sakai T, Kimura Y, Inagaki-Ohara K, Kusugami K, Lynch DH, Yoshikai Y. Fas-mediated cytotoxicity by intestinal intraepithelial lymphocytes during acute graft-versus-host disease in mice, *Gastroenterology*. 1997;113(1):168-74.
- 141- Braun MY, Lowin B, French L, Acha-Orbea H, Tschopp J. Cytotoxic T cells deficient in both functional fas ligand and perforin show residual cytolytic activity yet lose their capacity to induce lethal acute graft-versus-host disease, *J Exp Med*. 1996;183(2):657-61.
- 142- Gargala G, Leclaire S, François A, Jacquot S, Déchelotte P, Ballet JJ, Favennec L, Ducrotté P. Duodenal intraepithelial T lymphocytes in patients with functional dyspepsia, *World J Gastroenterol*. 2007;13(16):2333-8.
- 143- Timmer T, de Vries EG, de Jong S. Fas receptor-mediated apoptosis: a clinical application?, *J Pathol*. 2002;196(2):125-34.
- 144- Sträter J, Möller P. CD95 (Fas/APO-1)/CD95L in the gastrointestinal tract: fictions and facts, *Virchows Arch*. 2003;442(3):218-25.
- 145- Bennett MW, O'Connell J, Houston A, Kelly J, O'Sullivan GC, Collins JK, Shanahan F. Fas ligand upregulation is an early event in colonic carcinogenesis, *J Clin Pathol*. 2001;54(8):598-604.
- 146- Giordano C, Stassi G, De Maria R, Todaro M, Richiusa P, Papoff G, Ruberti G, Bagnasco M, Testi R, Galluzzo A. Potential involvement of Fas and its ligand in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis, *Science*. 1997;275(5302):960-3.
- 147- Melgar S, Bas A, Hammarström S, Hammarström M. Human small intestinal mucosa harbours a small population of cytolytically active CD8⁺ alpha T lymphocytes, *Immunology*. 2002;106(4):476-85.
- 148- Souza HS, Neves MS, Elia CC, Tortori CJ, Dines I, Martinusso CA, Madi K, Andrade L, Castelo-Branco MT. Distinct patterns of mucosal apoptosis in H pylori-

associated gastric ulcer are associated with altered FasL and perforin cytotoxic pathways, *World J Gastroenterol.* 2006;12(38):6133-41.

149- Ishihara S, Fukuda R, Kawashima K, Moriyama N, Suetsugu H, Ishimura N, Kazumori H, Kaji T, Sato H, Okuyama T, Rumi KM, Adachi K, Watanabe M, Kinoshita Y. T cell-mediated cytotoxicity via Fas/Fas ligand signaling in *Helicobacter pylori*-infected gastric corpus, *Helicobacter.* 2001;6(4):283-93.

150- Ibuki N, Yamamoto K, Yabushita K, Okano N, Okamoto R, Shimada N, Hakoda T, Mizuno M, Higashi T, Tsuji T. In situ expression of Granzyme B and Fas-ligand in the liver of viral hepatitis, *Liver.* 2002;22(3):198-204.

