

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIĞINDA AKCİĞER  
TUTULUMUNUN DENEYSEL KOLİT MODELİNDE  
ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Bünyamin AYDIN**

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi  
tarafından “1666-TU-08” proje numarası ile desteklenmiştir.**

**ISPARTA - 2009**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmamda yoğun iş temposuna rağmen, sabrı, bitmeyen enerjisi, mütevaziliği ve disiplini ile bana her türlü desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr.Yıldıran SONGÜR ve tezimin başlangıç aşamasından bitiş aşamasına kadar büyük fedakarlıklar göstererek tezimin hazırlanmasında büyük emeği olan Doç. Dr. Necla Songür başta olmak üzere, Prof. Dr. M. Numan TAMER, Prof. Dr. Mehmet İŞLER, Prof. Dr. M. Tuğrul SEZER, Doç. Dr. M. Cem Koçkar, Doç. Dr. Ş. Ercan TUNÇ, Doç Dr. Gürsel ACARTÜRK, Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN, Doç. Dr. H. Şenol COŞKUN, Yrd. Doç. Dr. Güçhan ALANOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Z. Dilek AYDIN, Yrd. Doç. Dr. Banu Kale KÖROĞLU, Yrd. Doç. Dr. Altuğ ŞENOL'a, laboratuvar çalışmalarımda bana yol gösteren Doç. Dr. Recep SÜTCÜ ve Yrd. Doç. Dr. Metin ÇİRİŞ'e, laboratuvar çalışmamda emeği geçen değerli dostlarım Uzm. Dr. Atila ALTUNTAŞ ve Dr. Oğuzhan AKSU'ya, projemizi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine, hayatım boyunca kendisini, kendime örnek bir insan olarak gördüğüm abim Uzm. Dr. Osman AYDIN'a, çalışmalarım sırasında manevi desteği ile hep yanımda olan, hayatımın olmazsa olmazı, sevgili eşim ve hayat arkadaşım Dr. Fidan İNCEKARA AYDIN'a derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

**Dr. Bünyamin AYDIN**

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
KISALTMALAR .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
TABLolar DİZİNİ .....	vi
RESİMLER DİZİNİ .....	vii
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalığı .....	4
2.1.1. İnflamatuvar Barsak Hastalıklarının Patogenezi .....	4
2.1.1.1. Genetik Yatkınlık .....	7
2.1.1.2. Luminal Antijenler .....	7
2.1.1.3. Çevresel Faktörler .....	7
2.1.1.4. Mukozal İmmun Sistemin Aktivasyonu .....	8
2.1.1.5. Barsak Florası .....	8
2.1.2. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Klinik Özellikler .....	9
2.1.3. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Endoskopik Bulguları .....	12
2.1.4. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Histolojik Bulguları.....	14
2.1.5. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Tedavi .....	15
2.1.5.1. Aminosalisilatlar .....	17
2.1.5.2. İmmun Süpresif Ajanlar .....	17
2.1.5.2.1. Kortikosteroidler .....	17
2.1.5.2.2. Azotipürin ve 6-Merkaptopürin .....	17
2.1.5.2.3. Metotreksat .....	18
2.1.5.2.4. Siklosporin .....	18
2.1.5.3. Antibiyotikler .....	18
2.1.5.4. Biyolojik Ajanlar .....	19
2.1.5.4.1. İnfliksimab .....	19
2.1.5.4.2. Adalimumab.....	19
2.1.5.4.3. Sertolizumab .....	19
2.1.5.4.4. Fontalizumab .....	19
2.1.5.4.5. Diğerleri .....	19
2.1.6. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Komplikasyonları.....	20

2.1.7. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Ekstraintestinal Bulgular .....	20
2.1.8. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Akciğer Tutulumu .....	22
2.1.9. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Ekstraintestinal Bulguların Patogenezi .....	24
2.1.10. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Anjiogenezin Rolü.....	25
2.1.10.1. VEGF .....	26
2.2. Sitokinler.....	28
2.2.1. Tümör Nekrozis Faktör Alfa .....	29
2.3. TNBS Kolit Modeli .....	30
2.4. DSS Kolit Modeli .....	31
<b>3. MATERYAL VE METOD.....</b>	<b>32</b>
3.1. Deney Hayvanları .....	32
3.2. Kullanılan Malzeme ve Aletler.....	32
3.3. Kolit İndüksiyonu .....	32
3.3.1. TNBS Kolit İndüksiyonu.....	32
3.3.2. DSS Kolit İndüksiyonu .....	33
3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması.....	33
3.5. Makroskopik Kolit Değerlendirilmesi .....	34
3.6. Akciğerlerin Histolojik Değerlendirilmesi .....	35
3.7. Örneklerin Homojenizasyonu ve Deney için Hazırlanması .....	36
3.8. Dokularda Biyokimyasal Analizler .....	36
3.9. İstatistiksel Analiz.....	37
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>38</b>
4.1. Kolon Dokularının Makroskopik Olarak Skorlanması .....	38
4.2. Akciğer Dokularının Histolojik İncelenmesi .....	38
4.3. Biyokimyasal Analiz Sonucu Elde Edilen Veriler .....	41
4.3.1. Akciğer Dokusunda VEGF ve TNF- $\alpha$ Düzeyleri .....	41
4.3.2. Kolon Dokusunda VEGF ve TNF- $\alpha$ Düzeyleri.....	41
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>43</b>
<b>6. SONUÇ.....</b>	<b>49</b>
<b>7. ÖZET.....</b>	<b>50</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>51</b>
<b>9. KAYNAKLAR .....</b>	<b>52</b>

## KISALTMALAR

<b>İBH</b>	: İnflamatuvar barsak hastalığı
<b>ÜK</b>	: Ülseratif kolit
<b>CH</b>	: Crohn hastalığı
<b>GİS</b>	: Gastrointestinal Sistem
<b>SFT</b>	: Solunum Fonksiyon Testi
<b>HRCT</b>	: Yüksek rezolüsyonlu Bilgisayarlı Tomografi
<b>DSS</b>	: Dekstran Sulfat Sodyum
<b>TNBS</b>	: Trinitrobenzeno Sülfonik Asit
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
<b>VEGF</b>	: Vasküler Endotelial Growth Faktör
<b>pVEGF</b>	: Plazma Vasküler Endotelial Growth Faktör
<b>sVEGF</b>	: Serum Vasküler Endotelial Growth Faktör
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin 1-beta
<b>NSAİİ</b>	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
<b>Th</b>	: T helper
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon gama
<b>5-ASA</b>	: 5-amino salisilik asit
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nükleer Faktör Kappa-B
<b>H&amp;E</b>	: Hematoksilen ve eozin
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming Growth Faktor-beta
<b>ICAM</b>	: İntersellüler adezyon molekülü
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>NK</b>	: Natural Killer
<b>bFGF</b>	: Basic fibroblast Growth faktör

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları'nın patogenezi .....	6
Şekil 2. İBH tedavisinde Akut Hastalıkta Sıralı Tedavi .....	16

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. ÜK'de Truelove-Witts Kriterleri .....	10
Tablo 2. CH aktivite indeksi .....	11
Tablo 3. CH ve ÜK'in klinik ve diagnostik özellikleri .....	12
Tablo 4. ÜK ve CH'da kolonoskopik bulgular .....	13
Tablo 5. ÜK ve CH'nın endoskopik görünümündeki farklılıklar .....	14
Tablo 6. İBH'da histolojik bulgular .....	15
Tablo 7. İBH'nın akciğer dışı ekstraintestinal bulguları .....	21
Tablo 8. İBH'nın Akciğer Bulguları .....	23
Tablo 9. Kullanılan malzeme ve aletler .....	32
Tablo 10. Deney protokolü, günlere göre ilaç uygulamaları .....	34
Tablo 11. Makroskopik Kolit Değerlendirmesi (Wallace Skalası) .....	35
Tablo 12. Kolon dokularının gruplara göre makroskopik skorlaması .....	38
Tablo 13. TNBS-kontrol grubu ile TNBS-kolit grubunun alveoler hemoraji açısından karşılaştırılması .....	39
Tablo 14. DSS-kontrol grubu ile DSS-kolit grubunun alveoler hemoraji açısından karşılaştırılması .....	39
Tablo 15. Akciğer dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$ düzeyleri açısından, TNBS-kolit grubu ile TNBS-kontrol grubunun karşılaştırılması .....	41
Tablo 16. Akciğer dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$ düzeyleri açısından, DSS-kolit grubu ile DSS-kontrol grubunun karşılaştırılması .....	41
Tablo 17. Kolon dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$ düzeyleri açısından, TNBS-kolit grubu ile TNBS-kontrol grubunun karşılaştırılması .....	42
Tablo 18. Kolon dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$ düzeyleri açısından, DSS-kolit grubu ile DSS-kontrol grubunun karşılaştırılması .....	42

## RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubu normal alveol görünümü .....	40
Resim 2. Kolit grubu alveoler hemoraji görünümü .....	40



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH), günümüzde etyolojisi tam olarak aydınlatılmamış, gastrointestinal kanalın immün aktivasyon ve enflamasyonu ile karakterize kronik hastalıdır. Crohn hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK), İBH'nın iki önemli şeklidir. Daha az sıklıkta olanlar; mikroskobik kolitis, primer kollajenöz kolit ve lenfositik kolittir (1,2).

ÜK ve CH'ında asıl patoloji gastrointestinal sistemde (GİS) olmakla birlikte, bazı ekstraintestinal tutulumlar da görülebilmektedir. Bunlar arasında, cilt (eritema nodozum, pyoderma gangrenozum), göz (uveit, episklerit), karaciğer (perikolanjit, yağlı karaciğer), eklem (periferik ve aksiyal artropati) tutulumları sayılabilir (3). İlk kez 1976 yılında Kraft ve arkadaşları, İBH'da akciğer tutulumu olduğunu yayınlamışlardır (4). Bu yayını takiben, birçok olgu ve küçük çaplı serilerde inflamatuvar trakeal stenoz, panbronşiolit, intersitisyel pnömoni, Wegener granülomatosisi, alveolit, serozit, bronşit ya da bronşiektazi gibi İBH'da görülebilen farklı akciğer tutulumu paternleri bildirilmiştir (5-9). Yakın bir zamanda yapılan İBH'lı 36 hastanın alınmış olduğu bir çalışmada, hastaların 21'inde solunum fonksiyon testi (SFT) ve yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi (HRCT) anormalliklerinin saptanması, İBH'da asemptomatik ve semptomatik akciğer tutulumunun sanılanın aksine oldukça sık olduğunu göstermektedir (10).

Akciğer ve GİS'in embriyolojik olarak primitif guttan köken alması, teorik olarak, barsaktaki değişikliklerin akciğerlerde de oluşabileceğini düşündürmektedir. Diğer bir teori de, intestinal bariyerin İBH'da bozulmasıyla organizmaya daha fazla antijen ve bakteri girmesi, vücutta lokal ve sistemik inflamatuvar yanıtın artmasıdır (4). Ancak bu konudaki düşünceler, hipotezden öteye gidememektedir.

İBH'da akciğer tutulumu genellikle asemptomatiktir. En sık karşılaşılan semptomlar; öksürük, balgam ve nefes darlığıdır (10-11). İBH'da semptomsuz hastalarda saptanan SFT bozukluğunun, hastalığın aktivitesi ile paralel olduğu bildirilmiştir (12). Akciğer grafisi ve konvansiyonel bilgisayarlı tomografi görüntülemelerindeki bulgular, akciğer tutulumu için non-spesifiktir ve bu bulgular İBH'lı hastaların çoğunda normal olabilir (7,10). İBH'daki akciğer bulgularının

görüntülenmesi için, ekspiratuvar fazda HRCT gereklidir. Çünkü hava hapsini göstermek için bu yöntem ihtiyacı vardır (13-15). İBH'lı hastalarda görülen bu bulgular, genellikle görüntüleme yöntemleri ve SFT ile anlaşılabilir. Ancak fizyolojik ve radyolojik sonuçları gösterilmiş olmasına ve CH'da balgam hücre paterninin değiştiği gösterilerek, akciğer tutulumundaki inflamatuvar aktivite dolaylı olarak gösterilmiş olmasına rağmen, akciğerde oluşan patolojinin doku düzeyinde histopatolojik inceleme ile ortaya konabildiği bir çalışma yoktur (16). İBH'da akciğer tutulumunu histopatolojik olarak ortaya koyabilmek, pratik ve etik olmaması nedeniyle, klinik çalışmalarla mümkün değildir. Bu nedenle deneysel kolit modeline ihtiyaç vardır. Çalışmamız, deneysel kolit modelinde akciğer bulgularının makroskopik ve histopatolojik yöntemle araştırıldığı ilk çalışmadır.

Deneysel kolit modeli olarak literatürde 2 ana model vardır: 1. Trinitrobenzen Sulfonik Asit (TNBS) koliti, 2. Dekstran Sülfat Sodyum (DSS) koliti (17). İki ayrı kolit modeli kullanılmasının bazı avantajları vardır. Deneysel iki ayrı kolit modelinde benzer akciğer patolojileri saptanırsa, patolojinin primer sebebinin verilen ajandan çok oluşan kolit olduğu kanaatine varılacağı hipotezinden hareketle, çalışmamızın birinci aşamasında her iki kolit modelini de uygulayarak, akciğer dokusunda oluşabilecek olası patolojilerin makroskopik ve histopatolojik incelenmesini amaçladık.

Çalışmamızın 2. aşamasında ise, eğer akciğerde patoloji oluşursa, bunun temelinde yatan etyopatogenetik faktörlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, angiogenesis ve proinflamatuvar sitokinlerin araştırılması planlanmıştır. Çünkü İBH'lı hastalarda angiogenesis mediatörlerinin *upregule* olması, angiogenesisin İBH'nın başlangıcında ve tekrarlamasında etkili olduğunu ve inflamasyonla angiogenesis mekanizmaları arasındaki ilişkinin önemli olduğunu ortaya koymaktadır (18,19). İBH'daki angiogenesis belirteçleri arasında "*Vasküler Endotelial Growth Faktör*" (VEGF) en fazla tanımlanan faktördür. VEGF'nin hastalık aktivitesiyle paralel olduğu, insanlarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (18-21). VEGF ayrıca, alveoler hemorajisi olan sıçanlarda da yüksek oranda tespit edilmiştir (22). VEGF, İBH'nın aktivasyonu ile artmakta, steroid ve infliksimabla azalmaktadır (23-24).

İBH gelişimi süresince, inflamasyonlu barsak mukozasındaki makrofajlar ve lenfositler tarafından, başta *Tümör Nekrozis Faktör Alfa* (TNF- $\alpha$ ), *İnterlökin Beta* (IL-1 $\beta$ ) ve *İnterlökin-6* (IL-6) olmak üzere birçok proinflamatuvar sitokin üretilmekte ve bu proinflamatuvar sitokinler inflamatuvar cevabın devam ettirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar (25). Bu sitokinler içinde, TNF- $\alpha$ 'nın etkinliği geniş biçimde ortaya konmuş ve son yıllarda en güncel tedavilerden biri olan biyolojik tedavi yönteminin temelini oluşturmuştur. İnflame mukozadaki TNF- $\alpha$  üretiminin inhibisyonu ile hastalığın tedavisi mümkün olabilmektedir (26). Kolon inflamasyonunda önemli rol oynayan proinflamatuvar bir sitokinin, akciğerde oluşan muhtemel inflamatuvar süreçte de rol oynadığının gösterilmesi, barsak hastalığı sırasında oluşan akciğer patolojisinin etyopatogenezinin aydınlanmasına da yardımcı olacaktır. Bu nedenlerle, birinci bölümde akciğer ve barsaklardaki tutulumun makroskopik ve mikroskopik analizinin ardından, çalışmamızın ikinci bölümünde İBH oluşturulan hayvanlarda ve kontrol grubunda, olası akciğer tutulumunun etyopatogenezini araştırmak amacıyla, hem akciğer hem de barsak örneklerinde VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalığı

İBH; intestinal inflamasyon ve mukozal doku hasarıyla başlayan, bozulmuş immün cevapla ilerleyen, intestinal ve ekstraintestinal belirtilere sebep olan, sık görülen, kronik bir GİS hastalığıdır (1,2). İBH başlığı altında birbiriyle ilişkili, ancak farklı hastalıklar olarak tanımlanan ÜK ve CH yer almaktadır. Bu iki hastalık; klinik, endoskopik ve histolojik özellikleri ile birbirinden ayrılır. Ancak, bazı hastaların klinik tablosu bu iki hastalık arasında kalır ve indetermine kolit olarak adlandırılır(27).

CH, GİS'in tüm kısımlarını tutabilen, arada sağlam alanlar bırakan transmural inflamasyonla karakterizedir. ÜK ise kolon mukozasını ve submukozayı tutan, rektumdan proksimale doğru ilerleyen bir hastalıktır (27).

İBH; Birleşik Devletlerde yaklaşık iki milyon insanı etkilemektedir. CH için insidans 3.6-8.8/100.000 vaka iken, ÜK için 3-15/100.000 vakadır. Türkiye'de İBH Derneği Veri Tabanına göre, CH prevalansı 0.047, ÜK prevalansı 0.079 olarak bulunmuştur (28). ÜK'de hafif bir erkek baskınlığına karşılık, CH kadınlarda daha siktir. İBH her yaşdaki insanı etkileyebilir. İlk zirvesini 15 ile 40 yaşları arasında, ikinci zirvesini 60 yaşından sonra yapar. Hastalık tüm ırkları ve etnik grupları etkilemekle birlikte en sık görüldüğü bölgeler, Kuzey Amerika ve Avrupa'dır. ÜK, sigara içmeyenlerde içenlere göre daha sık görülmesine karşın, CH olanlarda, sigara içme sıklığı topluma göre daha yüksektir (29).

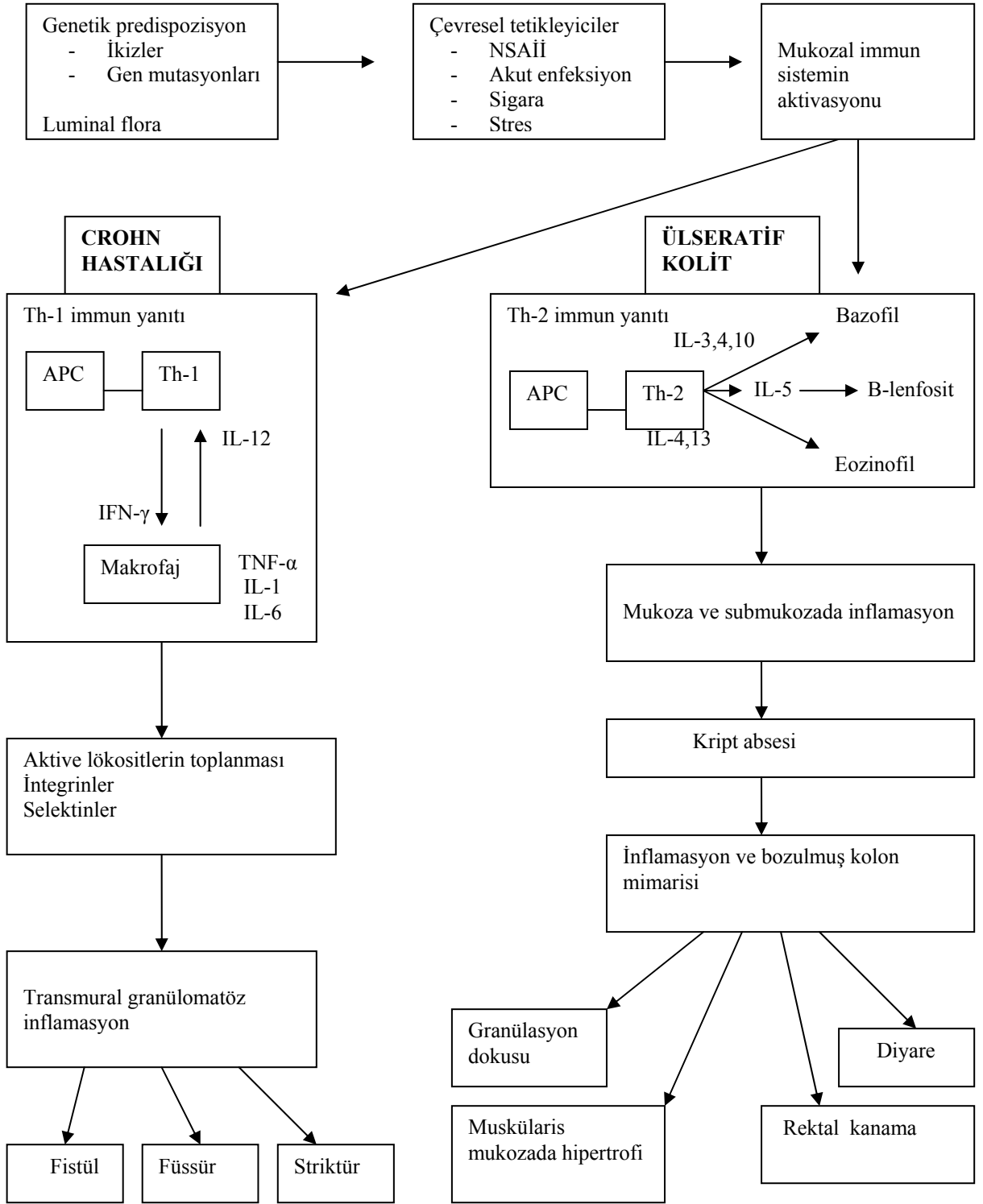
#### 2.1.1. İnflamatuvar Barsak Hastalıklarının Patogenezi

İBH'nın iki formu olan ÜK ve CH'nın nedenleri ve olası moleküler mekanizmalarına yönelik çalışmalar, son yıllardaki gastroenterolojik araştırmaların önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. Patogeneze yönelik sayısız klinik ve deneysel çalışmalara karşın, nedenler tam olarak aydınlatılamamışsa da İBH'nın; genetik, çevresel ve immünolojik nedenlerin ortaya çıkardığı, mukozal inflamasyonla sonlanan multifaktöriyel ve heterojen bir grup patoloji olduğu kabul edilmektedir (30). Genetik, çevresel ve diğer faktörler, mukozal immün cevapta devam eden bir

aktivasyona yol açarlar. En sık sorulan iki soru; mukozal immün sistem aktivasyonu intrinsik bir defekte mi bağlı, yoksa mukoza epitel bariyerindeki bozulmaya mı bağlı olduğu sorularıdır. Muhtemelen her ikisinin de bir arada olması gerekmektedir (31). Gastrointestinal mukozal bariyerin bütünlüğünün bozulmasından sonra, luminal antijenler mukozal immün sistemi aktive eder. Böylece doku hasarı ve İBH'nın klinik bulguları ortaya çıkar.

CH'da mukozada biriken lökositlerin çoğu, Th-1 CD4+ lenfositleridir. CD4+, T hücreleri, özgül immün cevabı düzenlerler. Bu hücreler, yardımcı T1 (Th-1) ve yardımcı T2 (Th-2) olarak iki gruba ayrılırlar. Th-1 hücreleri, hücresel bağışıklığı düzenler, IL-2 ve *İnterferon Gama* (IFN- $\gamma$ ) salgırlar. Th2 hücreleri ise, humoral cevabı düzenlerler ve IL4, IL5, IL6, IL10, IL13 ve *transforming growth faktör beta* (TGF- $\beta$ ) salgırlar (31).

ÜK'de Th-2 CD4+ lenfositler hakimdir. Ayrıca, Th1 ve Th2 hücreleri, anahtar sitokinler aracılığı ile birbirlerini de kontrol ederler. Th1'in salgıladığı IFN- $\gamma$ , Th2 gelişimini baskılar, Th2'nin salgıladığı IL-4, IL-10 ve IL-13, Th-1'e cevabı baskılar (31). İBH'nın patogenezi Şekil-1'de gösterilmiştir (30).



**Şekil 1.** İnflamatuvar Barsak Hastalıkları'nın patogenezi

### 2.1.1.1. Genetik Yatkınlık

İnsanlarda yapılan çalışmalarda, genetik faktörlerin İBH patogenezinde önemli olduğunu gösteren bulgular elde edilmiştir. Bunlar, ÜK ve CH'nin insidans ve prevalansının farklı toplumlarda farklı olması, İBH'lı hastaların birinci derecede akrabalarında normal populasyona göre CH riskinin 4-20 kat artmış olması, İBH'nın tek yumurta ikizlerinde çift yumurta ikizlerine göre daha fazla görülmesi, aynı aile içinde hastalığın tipinin ve yerinin benzerlik göstermesi şeklinde özetlenebilir (32). İBH'lı hastalarda, farklı kromozomlardaki çeşitli genler hastalıktan sorumlu tutulmuştur. Bunlardan en çok üzerinde durulan, CARD-15 (NOD2 olarak da bilinir) genidir (33). Bu gen, makrofajlarda ve panet hücrelerinde eksprese edilir. Bu genin varyant formu, bakterilerin peptidoglikan tabakasına karşı duyarlılığını azaltır. Böylece bakteriler konakta immun sistemin ilk basamağını *by-pass* eder ve mukozal immun sistemin uyarılmasına neden olur (30).

### 2.1.1.2. Luminal Antijenler

Hayvan deneyleri, İBH gelişimi için luminal floranın gerekli olduğunu göstermiştir. Genetik olarak yatkın hayvanlar, doğuştan itibaren mikroptan arındırılmış ortamda tutulduklarında immün sistem aktivasyonu ve kolit gelişmez. Aynı hayvanlar luminal flora edindiklerinde, immün sistemleri aktive olur ve kolit gelişir (34).

### 2.1.1.3. Çevresel Faktörler

Çevresel faktörler, İBH patogenezinde en az bilinen, hastalığın ortaya çıkması ve gelişimindeki rollerinin değerlendirilmesi en zor görünen faktör olup, en az hastalığın genetik alt yapısı kadar önemli olduğu düşünülmektedir (35). Bunun sonucunda luminal flora değişir veya mukozal bariyerde hasarlanma görülür. Antibiyotik ve diyet, luminal florada değişikliklere yol açabilir. Non-streoid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ve akut enfeksiyonlar, inflamasyona yol açarak mukozal geçirgenliği artırabilir (30). Erken appendektomi belli bir açıklaması olmamakla birlikte, ÜK insidansını azalttığı, CH insidansını ise artırdığı bildirilmiştir (36,37). Sigara, ÜK için koruyucu olabilirken, CH için bir risk faktörü olmaktadır.

Sigara içiminin, hücrel ve humoral immüneyi etkilediği, kolonik mukus üretimini artırdığı ve ayrıca kolonik motiliteyi de azalttığı gösterilmiştir. Özellikle daha önce sigara içerken sigarayı bırakanlarda, ilk 2 yılda ÜK riski artmaktadır (38,39). İn vivo çalışmalarda nikotinin, ÜK’de baskın olan Th-2 fonksiyonlarında azaltıcı etkisi olduğu, öte yandan CH’da baskın olan Th-1 hücrelerinde etkinliğinin olmadığı saptanmıştır (33). Çocukluk çağında pasif sigara içiciliği de tıpkı erişkinlerde sigara içiciliği gibi ÜK’e karşı korumakta, ancak CH’da bu durum ileride hastalığa yol açmaktadır (40). Çevresel faktörlerin tümü, luminal antijenlerin mukozal immun sistemi aktive etmesine neden olabilmektedir (30).

#### **2.1.1.4. Mukozal İmmun Sistemin Aktivasyonu**

Çevresel faktörler, mukozal immun sistemde kalıcı ve giderek artan bir aktivasyona neden olur. İBH’da ve deneysel kolitte; inflamatuvar proçes, nötrofil, monosit ve lenfosit gibi lökositlerin kolon mukozasına infiltrasyonu ile ortaya çıkar. Lökositler, serbest oksijen radikallerinin ana kaynağıdır (41).

İBH gelişimi süresince, inflamasyonlu barsak mukozasındaki makrofajlar ve lenfositler tarafından en başta, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 olmak üzere, birçok proinflamatuvar sitokin üretilmekte ve bu proinflamatuvar sitokinler, inflamatuvar cevabın devam ettirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar (25).

#### **2.1.1.5. Barsak Florası**

İBH’da, barsak florasının sağlıklı bireylerdekinden farklı olduğu gözlenmiştir. Matsuda ve arkadaşları, ÜK hastalarının barsak florasında *Bacteroides vulgatus*’un ek sık izole edilen ve konsantrasyonu en yüksek olan bakteri olduğunu ve bu hastaların serumlarında; *Bacillus vulgaris*, *Bacteroides fragilis* ve *Clostridium ramosum* aglutinin titrelerinin de kontrollerdekinden daha yüksek bulunduğunu saptamışlardır (42). Yazarlar, bu bulgularına dayanarak, spesifik antikor cevabının, ÜK patogeneğinde önemli rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bir başka çalışmada da, İBH olguları ve kontrol vakalarının, terminal ileum ve/veya kolonundan cerrahi rezeksiyonla alınan doku örneklerinde yapılan incelemelerde, İBH olgularının mukoza yüzeylerinde kontrollerdekinden daha fazla



bakteri saptanmıştır. Bu çalışmada, mukozanın bakteriyel invazyonu, ÜK'lı hastalardan alınan kolon örneklerinin %83,3'ünde, CH'larının ileumlarının %55,6'sında ve kolon örneklerinin %25'inde görülürken, kontrol grubundakilerin dokularında hiçbir bakteri gözlenmemiştir (43).

Borody ve ark.'nın ilginç çalışması ise, İBH'da bozulmuş barsak florasının restore edilmesinin önemini ortaya koymuştur. Yazarlar, ÜK'lı 6 hastaya, parazit ve bakteriyel patojen taşımadığı kanıtlanmış, sağlıklı kişilerin feçes süspansiyonlarını, retansiyon lavmanı şeklinde uyguladıklarında, tedavinin birinci haftasında, ÜK'nın bazı semptomlarının iyileştiğini, 4 ay sonra semptomların tam olarak düzeldiğini ve 1 ila 13 yıl izlenen bu hastalarda, herhangi bir geleneksel ilaç kullanmadan, ÜK'nın klinik, kolonoskopik veya histolojik bulgusunun saptanmadığını bildirmişlerdir (44).

### **2.1.2. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Klinik Özellikler**

ÜK, kadın ve erkekleri eşit sıklıkta etkileyen bir hastalıktır. Klinik olarak rektal kanama, diyare karın ağrısı ve kilo kaybı ile karakterizedir. Tenesmus hissi vardır. Hastalık, remisyon ve nüksler ile giden kronik bir seyir izler. ÜK, rektum mukozasından başlar ve proksimale doğru kalın barsağın değişik bölümlerini tutacak şekilde yayılır. Rektuma sınırlı hastalık "proktit", splenik flexuranın distalinde tutulum "sol taraflı kolit", splenik fleksuranın proksimaline uzanan tutulum "pankolit" olarak sınıflandırılır (45). ÜK'in klinik tipleri; kronik intermittan, kronik devamlı ve akut fulminan tip olmak üzere üçe ayrılır. *Truelove-Witts* kriterlerine göre, hastalığın klinik şiddeti hafif, orta ve ağır olmak üzere tanımlanmaktadır. (46). *Truelove-Witts* kriterleri tablo-1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** ÜK’de Truelove-Witts Kriterleri

<b>Hafif:</b>	Dışkılama; günde 4 kez veya daha az kanlı ya da kansız dışkılama Ateş; yok Taşikardi; yok Anemi; yok veya hafif derecede Sedimentasyon hızı;<30mm/saat
<b>Ağır:</b>	Dışkılama; günde 6 kez veya daha fazla kanlı ishal Ateş; ortalama akşam ısı >37.5 C ya da en az iki gün herhangi bir zamanda >37.7 C Taşikardi; dakikada 90 vurudan yüksek nabız sayısı Anemi; Hb<7.5 gr/dl ya da son zamanlarda transfüzyon gerektirecek ağırlıkta anemi Sedimentasyon hızı;>30mm/saat
<b>Orta:</b>	Ağır ve hafif hastalık kriterleri arasında bulgular içeren hastalar

CH’da klinik, hastalığın tutulum yerine göre farklılıklar gösterir. %40 hastada ileal ve ileokolonik tutulum, %30-40’ında ince barsak tutulumu, %20’sinde Crohn koliti, %10’unda yalnızca perianal hastalık görülmektedir. Klinik olarak inflamatuvar, strüktür yapan ve fistülizan tipleri görülmektedir. İleal hastalıkta, karın ağrısı ön plandadır. Ağrı, subakut intestinal obstrüksiyondan kaynaklanmaktadır. En sık görülen distal ileum ve sağ kolon tutulumunda, ağrıya genellikle; sulu, kansız ve mukussuz diyare eşlik eder. Yemek yemekle ağrı uyarılır. Hastaların çoğunda; lipid, protein, vitamin eksiklikleri ve malabsorbsiyona bağlı kilo kaybı görülmektedir. İnce barsak tutulumu olanlarda, internal fistüllere ve obstrüksiyona sık rastlanır. Nadir görülen mide ve duodenum tutulumu olan hastalarda, peptik ülser benzeri epigastrik ağrı şikayeti vardır. Duodenal, CH stenoz ve obstrüksiyona yol açarak yemeklerden sonra kusmaya neden olur (47). CH’da, hastalığın klinik şiddetini belirlemek için “CH aktivite indeksi” kullanılmaktadır (48). CH aktivite indeksi, tablo-2’de gösterilmiştir. ÜK ve CH’nın klinik ve diagnostik özellikleri de tablo-3’te gösterilmiştir (30).

**Tablo 2.** CH aktivite indeksi

<b>TOPLAM x FAKTÖR = SUBTOTAL</b>	
Sıvı ya da cıvık dışkılama sayısı (Son bir hafta)	x 2 =
Karın ağrısı veya kramp sıklığı (Son bir hafta)	x 5 =
Genel iyilik hali (Son bir hafta) 0 = Genellikle iyi, 1 = Orta, 3 = Çok kötü, 4 = aşırı derecede kötü	x 7 =
Barsak dışı belirtilerin sayısı A = Artrit, artralji B = İritis, üveitis C = Eritema nodozum, piyoderma gangrenozum, aftöz stomatit D = Anal fissür, fistül ya da apse E = Diğer fistül F = Son bir hafta içinde ateş > 37.8 C	x 20 =
Diyare için ilaç kullanımı 0 = Hayır, 1 = Evet	x 30 =
Abdominal kitle 0 = Yok, 2 = Şüpheli, 5 = Kesin	x 10 =
Hematokrit Erkek: (47-Hct) = Toplam Kadın: (42-Hct) = Toplam	x 6 =
<u>Standart ağırlık (kg)-gerçek vücut ağırlığı (kg) x 100</u> Standart ağırlık (kg)	x 1 =

Total < 150 = Remisyon

150-450: Orta şiddette hastalık

> 450: Ağır hastalık

**Tablo 3.** CH ve ÜK'in klinik ve diagnostik özellikleri

	<b>Crohn Hastalığı</b>	<b>Ülseratif Kolit</b>
<b>Semptom ve bulgular</b>		
Karın ağrısı	+++	+
Diyare	+++	+++
Rektal kanama	+	+++
Urgensi ve tenesmus	+	+++
Kilo kaybı	+++	+
Ateş	+++	+
<i>Malnütrisyon</i>	++	+
Abdominal kitle	+++	+
<b>Komplikasyonlar</b>		
Sitruktür	+++	+
Fistül	++++	0
Toksik megakolon	+	++
Perforasyon	++	+
Kanser	+	++

### **2.1.3. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Endoskopik Bulguları**

Fiberoptik cihazların gelişmesiyle, İBH'da endoskopik tanı oldukça önem kazanmıştır. Endoskopik işlemler; hastalığın aktivitesinin belirlenmesinde, kanama, striktür gelişip gelişmediğinin saptanmasında, ayrıca displazi veya malign değişikliklerin saptanmasında oldukça önemlidir. Endoskopide kolon ve terminal ileum mukozasının gözle görülmesi ve histopatolojik tetkik için biyopsi alabilme olanağı, tanının kesinleşmesinde avantaj sağlamaktadır. Eğer hastada akut şiddetli kolit, toksik megakolon, perforasyon veya peritonit şüphesi varsa, gelişebilecek komplikasyon nedeni ile kolonoskopi tercih edilmemelidir (49).

ÜK ve CH'da, endoskopik bulgular, her iki hastalıkta da benzerlik ve farklılıklar gösterir. ÜK'de, inflamasyon mukozadadır. Başlangıçta mukozal kan akımının artışı (hiperemi) ve hafif ödem görülür. Bu nedenle, ÜK'de en erken bulgu,

normal mukozal vasküler yapılarda silinmedir. Bu bulgunun radyolojik eş değeri yoktur. Bu yüzden erken dönem hastalarda, ilk tanıda endoskopi, daha değerlidir. Erken dönem endoskopik bulgulardan bir diğeri de, mukozanın irregüler ve ince granüler görüntüsüdür. Daha ileri ve şiddetli durumlarda, mukoza frajil ve kolay zedelenebilir durumdadır. Hastalık şiddeti ilerledikçe, mukozada ülserasyonlar belirlenir. ÜK’de, endoskopi hastalığın şiddetini değerlendirmede önemli yer tutmaktadır (50-52).

CH’nın yerleşimi göz önüne alındığında, kolonoskopi yapılan hastalarda, özellikle de kronik ÜK’li olgulardan, CH’nın ayırt edilmesi için mutlaka terminal ileumun endoskopik kontrolü gerekmektedir. CH’da mukozal lezyonlar yama tarzında, asimetrik ve heterojendir. Ülserler genelde etraf dokusu normal olan, aftöz karakterde olabildiği gibi, derin ve lineer tarzda ülserler de gözlenebilir. Arada sağlam mukozanın bulunması, hastalık için tipik bulgu olmasına karşın, biyopsi ile bu doğrulanmalıdır. Terminal ileum ve ilioçekal valv etrafında aftöz ülserlerin bulunması, hastalık için tipiktir (53). ÜK ve CH’nın endoskopik bulguları tablo-4’te, endoskopik bulgu farklılıkları da tablo-5’da gösterilmiştir.

**Tablo 4.** ÜK ve CH’da kolonoskopik bulgular

	<b>Ülseratif Kolit</b>	<b>Crohn Hastalığı</b>
<b>Erken dönem</b>	Ödem Sınırları belirsiz eritem Rektal tutulum	Aftöz Ülserler Sınırları belirgin eritem Rektal tutulum nadir Perianal hastalık
<b>Ara dönem</b>	Granülarite Dokunma ile kanama	Lineer ülserler Kaldırım taşı görünümü Lezyonlar arası normal mukoza
<b>Geç dönem</b>	Ayrı ayrı ülserler Pürülen eksüda Haustra kaybı	Dokunmakla kanama Birleşen ülserler Striktür Mukozal köprüleşme

**Tablo 5.** ÜK ve CH'nin endoskopik görünümündeki farklılıklar

<b>Mukozal Lezyonun Tipi</b>	<b>Ülseratif kolit</b>	<b>Crohn Hastalığı</b>
Eritem	+++	++
Vasküler patern kaybı	+++	+
Granüler yapı/frajilite	+++	+
Kaldırım taşı görünümü	-	++
Psödopolip	+++	++
Aftöz ülser	-	+++
Yüzeyel Ülser	+	++
Striktür	++	+++
Mukozal köprüleşme	++	++
<b>Lezyonların Yayılımı</b>		
Rektal tutulum	++++	++
Lezyonların devamlılığı	++++	+
Yamalı tarzı tutulum	-	+++
Lezyonlar arası sağlam mukoza	-	+++
İlioçekal valv ve ileumda lezyon	-	+++

#### **2.1.4. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Histolojik Bulguları**

ÜK'de, mukozada vasküler konjesyon, ödem, yüzey mukoza hücreleri, kript epiteli ve lamina propriada, inflamatuvar hücrelerin (lenfosit, plazmosit, polimorfonükleer hücre ve eozinofil) infiltrasyonu vardır. Epitelyum hasarı, yüzey epitel hücrelerinin kaybı, ülserasyonları yapar. Kriptlerde epitel ve goblet hücre kaybı, kript distorsiyonu ve rejenerasyonu ve kript abseleri görülür. İnflamasyonun tekrarlaması sonucu, hafif submukozal fibroz gelişebilir (54).

CH'da, lenfosit plazma hücreleri, histiosit, polimorfonükleer lökositler ve eozinofiller tüm barsak katlarını (Mukoza, submukoza, musküler ve seroza) infiltre etmişlerdir ve mezenterik lenf bezleri de tutulmuştur. Olguların %50'sinde, sınırları belirli, kazeifikasyon nekrozu olmayan, multinükleuslu dev hücreleri içeren granülomalar bulunur ve granülomalar hastalık için karakteristik bulgudur (54). ÜK ve CH' daki histolojik bulguların karşılaştırılması tablo-6'da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** İBH'da histolojik bulgular

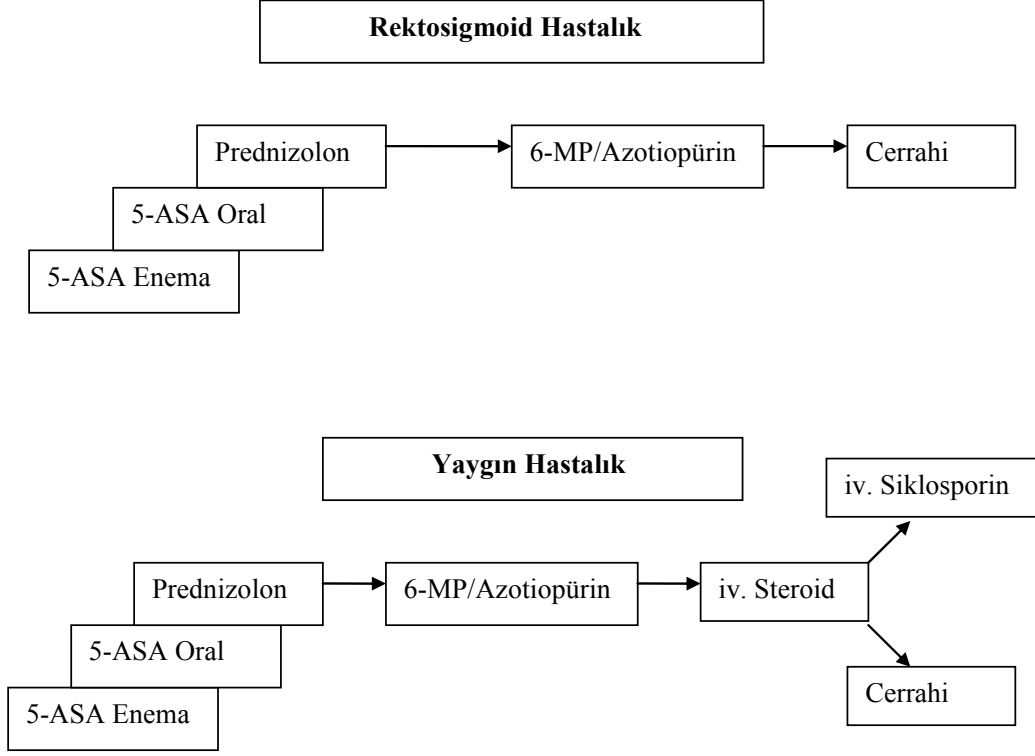
	<b>Crohn Hastalığı</b>	<b>Ülseratif Kolit</b>
Transmural İnflamasyon	+++	+
Submukozal İnflamasyon	+++	+
Submukozal kalınlaşma, fibrozis	+++	-
Mukozada Ülserasyon	+++	++
Kript absesi	seyrek, fokal	+++
Kript distorsiyonu	-	+++
Kript atrofisi	-	+++
Goblet hücrelerinde azalma	-	+++
Submukozal lenfoid foliküller	+++	-
Fokal granülomlar	++	-

### **2.1.5. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Tedavi**

İBH'nın tedavisinde 4 faktör göz önünde bulundurulmalıdır (55).

- 1- Hastalığın lokalizasyonu.
- 2- Hastalığın süresi.
- 3- Hastalığın aktivitesi.
- 4- Hastalığın hasta üzerindeki etkileri ve hastanın tedaviye uyumu.

Doğru tanı, etkili bir tedavinin temel taşıdır. Tedavinin başarılı olabilmesi için, ÜK ve CH'nın kesin ayırımının yapılmış olması gerekir. Tedavide amaç; semptomların kaybolması, mukozal iyileşme ile belirlenen remisyona ulaşılması, remisyona devamı ve rekürrensün önlenmesidir (56).



**Şekil 2.** İBH tedavisinde Akut Hastalıkta Sıralı Tedavi

Son yıllarda İBH'nın tedavisinde birçok gelişme kaydedilmiştir. İBH tedavisi bir piramit sisteminden oluşmaktadır. Hafif ya da orta şiddette koliti olan hastalarda, aminosalisilatlar ve hastalık alevlenmelerinde de sıklıkla kortikosteroidler kullanılmaktadır. İBH hastalarının büyük bir kısmının, çok yönlü bakıma ihtiyacı vardır. Çünkü hastalık, hayatın birçok yönünü etkilemektedir. Tedavi yaklaşımı; beslenme, psikososyal destek, barsak hastalığının kontrolü ve ekstraintestinal tutulumları içermelidir (25). İBH' da akut hastalıktaki genel tedavi yaklaşımı Şekil-2'de verilmiştir (57).



### **2.1.5.1. Aminosalisilatlar**

İBH'da, yıllardır remisyona induksiyonu ve idamesinde ilk seçenek aminosalisilatlar (ASA) olmuştur. Sülfasalazin, sülfapiridin ve 5-ASA'dan oluşur. Kolonda bakteriyel flora 5-ASA'yı açığa çıkarır. 5-ASA lokal olarak antiinflamatuvar etki gösterir (30). Prostaglandinlerin ve lökotrienlerin üretimini durdurur. Kemotaksisi inhibe eder. Oksijen radikallerinin açığa çıkmasını önler. NF-KB'yi inhibe eder. Sülfapiridin molekülü ise kolondan emilir. İlacın yan etkilerinin büyük bir kısmından, sülfapiridin sorumludur. Çoğu hastanın sülfasalazini tolere edememesi nedeniyle, mesalamine, olsalazin gibi yeni 5-ASA preparatları geliştirilmiştir. Distal tip ÜK'de rektal 5-ASA uygulaması remisyona sağlayabilir. Remisyona idamesinde ise, topikal 5-ASA plasebodan üstün ve en az oral 5-ASA kadar etkilidir (58,59).

### **2.1.5.2. İmmun Süpresif Ajanlar**

#### **2.1.5.2.1. Kortikosteroidler**

Kortikosteroidler, remisyona induksiyonu için yaygın kullanılan antiinflamatuvar ajanlardır. Ancak, remisyona idamesinde kullanılmazlar (46). Kortikosteroidler, intrasitoplazmik glukokortikoid reseptörüne bağlanarak, immün sistem üzerinde pek çok etki meydana getirirler. Lenfosit proliferasyonunu inhibe eder, nötrofil kemotaksisini inhibe eder, sitokinler, lökotrienler ve prostaglandinler gibi solübl inflamatuvar mediatörlerin üretimini azaltırlar (60). Orta şiddetli veya şiddetli ÜK tedavisinde, 20-60mg/gün dozda kullanılır, ancak dozun 60mg/gün'ün üzerine çıkarılmasının ek katkısı gösterilememiştir. Ciddi koliti olan ve oral tedaviye cevap alınamayanlarda, parenteral olarak uygulanabilirler (61). Aktif distal tip ÜK'da nonsistemik steroidlerin lavman şeklinde kullanımları da yararlıdır (62).

#### **2.1.5.2.2. Azotiopürin ve 6-Merkaptopürin**

İBH'nın idame tedavisinde, en sık kullanılan ilaç azotiopürindir. Azotiopürin, 6-Merkaptopürinin *prodrug* formudur, bunlar pürin analoglarıdır, nükleik asit sentezine katılarak antiproliferatif etki gösterirler. Son zamanlarda, apoptozisi de indükleyebildikleri gösterilmiştir (62). 6-Merkaptopürin, Tiopürin metiltransferaz

(TPMT) tarafından, 6-metilmerkaptopürine veya hipoksantin fosforiboziltransferaz ile 6-tioguanine çevrilir. İmmünsüpresif etkiden ve kemik iliği süpresyonundan 6-tioguanin sorumludur. Kortikosteroid ile sağlanan remisyona devam ettirilmesinde ve kortikosteroid dozajının azaltılmasında sıklıkla kullanılırlar. Ancak, etkisinin ortaya çıkması altı ayı bulabilir (30). Bir çalışmada azotiopürinin aktif metaboliti olan 6-Merkaptopürinin CH'da postoperatif rekürrensi azalttığı gösterilmiştir (63).

#### **2.1.5.2.3. Metotreksat**

Metotreksat, CH'da remisyona induksiyonu ve idamesinde etkili bulunmuştur (63,64). Metotreksat, bir folat analogudur. Dihidrofolat redüktaz enzimini, kompetitif ve reversibl olarak inhibe eder. DNA sentezini durdurur, proinflamatuvar sitokin üretimini azaltır, lenfositlerde apoptozise yol açar (65).

#### **2.1.5.2.4. Siklosporin**

Siklosporin, antiinflamatuvar etkileri olan lipofilik bir peptittir. IL-2 düzeyini azaltır. Böylece proliferasyonu inhibe eder. Th hücrelerinde aktivasyona neden olur (66). İntravenöz kortikosteroid tedavisine refrakter, ÜK hastalarında intravenöz, siklosporin hastaları kolektomiden kurtarabilir. Tacrolimus ve mikrofölat mafetil de ikinci sıra immünsüpresif tedavide kullanılabilir (67).

#### **2.1.5.3. Antibiyotikler**

Antibiyotikler, luminal florayı değiştirerek ve mukozal immün sistemin aktive olmasını önleyerek etkili olurlar. Metronidazol, perianal ve kolonik CH'nin aktivasyonunda etkilidir (68). CH'da, cerrahi rezeksiyon ve anastomoz sonrasında, üç ay boyunca metranidazol verilmesinin rekürrensi geciktirdiği gösterilmiştir (69).

Siprofloksasin'in 1gr/gün dozunda verilmesi, CH'da aktivite indeksini belirgin olarak azalttığı saptanmıştır (70). Siprofloksasinin konvansiyonel tedaviye refrakter ÜK hastalarında, remisyona induksiyonunda ve idamesinde etkili olabileceği bildirilmiştir (71).

#### **2.1.5.4. Biyolojik Ajanlar**

##### **2.1.5.4.1. İnfliksimab**

Şimerik (%75 fare, %25 insan), anti TNF- $\alpha$  monoklonal antikordur. TNF- $\alpha$  proinflamatuvar etkileriyle İBH patogenezinde çok önemli rol oynar. Refrakter ve fistülizan CH'da infliksimabın etkili olduğu gösterilmiştir (72). Bununla beraber, ÜK'lı hastalarda infliksimab ile farklı sonuçlar vardır. Yapılan randomize bir çalışmada, steroid tedavisine dirençli ÜK'de, infliksimabın yararı gösterilememiştir (73). Başka bir çalışmada ise, steroid ve/veya azotiopürin tedavisine refrakter veya intolerans gösteren hastalarda, infliksimabın etkili olduğu görülmüştür (74).

##### **2.1.5.4.2. Adalimumab**

Subkutan olarak kullanılan, insan TNF- $\alpha$ 'sına yüksek spesivite ve afinite ile bağlanan Ig-G1 tipinde monoklonal antikordur. CH'da, plaseboya göre daha yüksek remisyon oranları bildirilmiştir (75).

##### **2.1.5.4.3. Sertolizumab**

Monoklonal humanize, anti TNF- $\alpha$  antikordur. Fab kısmı, kimyasal olarak polietilen glikol ile bağlanmıştır. Sertolizumab, CH'nın remisyon induksiyonu ve idame tedavisinde denenmiştir ve plaseboya göre klinik cevap ve remisyon oranları belirgin olarak daha iyi bulunmuştur (76).

##### **2.1.5.4.4. Fontalizumab**

IF- $\alpha$ 'ya karşı geliştirilmiş monoklonal antikordur. IF- $\alpha$  proinflamatuvar aktivitesi yüksek bir sitokindir. Hayvan deneylerinde, kolit modellerinde ve CH'da mukozal düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Fontalizumab'ın, CH'da plasebo ile karşılaştırıldığında, cevap oranlarının daha yüksek olduğu görülmüştür (77).

##### **2.1.5.4.5. Diğerleri**

İBH tedavisinde denenmekte olan pek çok ajan vardır. Bunlar; alfa-4 integrine karşı antikolar (Natalizumab), aktive T hücrelerinde eksprese edilen T cell

reseptörlerinin CD3 zincirine karşı geliştirilen monoklonal antikor (Visilizumab), Anti IL-6 reseptör antikor, Anti IL-2 antikor ve Talidomid'dir (62).

### **2.1.6. İnflamatuvar Barsak Hastalığının Komplikasyonları**

İBH'nın seyrinde gelişen komplikasyonlar, lokal (gastrointestinal) veya sistemik olabilir. Yoğun kanama, toksik kolon dilatasyonu ve perforasyon, ciddi ÜK'in erken döneminde ve akut nüks sırasında olur. Darlık, sklerozan kolonjit ve kolorektal kanserler daha geç gelişir. Sistemik komplikasyonların prevalansı, CH'da 2-3 kat daha fazladır. Gastrointestinal komplikasyonlar, ÜK'de daha fazladır. ÜK'de daha sık görülen sistemik komplikasyonlar; eritema nodozum, sklerozan kolanjit, uveit, pulmoner ve kardiyak komplikasyonlardır. Kolelitiazis, genitoüriner sorunlar ve malnütrisyon CH'da daha siktir. Sklerozan kolanjit ve ÜK birlikteliği özellikle ilgi çekicidir (78).

### **2.1.7. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Ekstraintestinal Bulgular**

İBH'lı üç hastanın birinde, barsak dışı bulgunun ortaya çıkacağı tahmin edilmektedir. Bunlar arasında; cilt (eritema nodozum, pyoderma gangrenozum), göz (uveit, episklerit), karaciğer (perikolanjit, yağlı karaciğer), eklem (periferal ve aksiyal artropati) tutulumları sayılabilir (3-9). İBH'nın akciğer dışı ekstraintestinal bulguları Tablo-7'de gösterilmiştir (3-9).

**Tablo 7.** İBH'nın akciğer dışı ekstraintestinal bulguları

<b>Belirtiler</b>	<b>Sıklık</b>	<b>Açıklama</b>
Eritema nodozum	%10	Extremitelerde hiperemik subkutan nodüller
Piyoderma gangrenozum	<%5	Derin ülserasyon, steril püy
Episklerit	<%5	Silier damarların injeksiyonu, episkleral dokuların inflamasyonu
Anterior üveit	%3	Baş ağrısı, fotofobi, bulanık görme, ağrı, glokoma progresyon
Sklerozan kolanjit	%3	İntra ve ekstrahepatik safra kanallarında inflamasyon, fibrozis, strüktürler
Safra taşı	%30	İleal tululumla seyreden CH'da kolesterol taşları ve pignet taşlarının görülme sıklığı artar.
Böbrek taşı		Kalsiyum oksalat ve ürik asit taşlarının sıklığı artar.
Periferel artrit	%20	Diz, dirsek ve bilek eklemleri tutulumu Seronegatiftir.
Ankilozan spondilit	%5	HLA B27 ile ilişkilidir
Sakroileit	%20	HLA B27 ile ilişkilidir
Osteoporoz		Kısmen kortikosteroid kullanımı, kalsiyum ve D vitamini malabsorb-siyonu ile İle ilişkilidir.
Hiperkuagülite	%5	Faktör-5, Faktör-8, Fibrinojen, trombosit artışı ve Antitrombin-3 düzeyinde azalma ile ilişkilidir.
Otoimmün hastalıklar	>%6	Birçoğu İBH ile ilişkilidir.

### 2.1.8. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Akciğer Tutulumu

İBH'nda akciğer tutulumunun nadir olduğu sanılırdı. Ancak, son zamanlarda birçok olgu ve küçük çaplı serilerde, İBH'da görülebilen farklı akciğer tutulumu paternleri bildirilmiş olup, sanılanın aksine, İBH'da akciğer tutulumunun özellikle asemptomatik hastalarda, oldukça sık olduğu saptanmıştır (5-10). Akciğer ve GİS'in her ikisinin de embriyolojik olarak primitif guttan köken alması, teorik olarak aynı patogenetik değişikliklerin akciğerde de olmasını açıklamaktadır. Diğer bir teori de, intestinal bariyerin İBH'de bozulmuş olmasına bağlı olarak, vücuda daha fazla antijen ve bakteri girmesi, dolayısıyla vücutta lokal ve sistemik inflamasyon yanıtının artmasıdır (4).

İlk kez 1976 yılında, Kraft ve arkadaşları, İBH'da akciğer tutulumu olduğunu yayınlamışlardır (4). Bu yayını takiben, birçok olgu ve küçük çaplı serilerde, inflamatuvar trakeal stenoz, panbronşiolit, intersitisyel pnömoni, Wegener granülomatozisi, alveolit, serozit ve bronşit ya da bronşiektazi gibi İBH'da görülebilen farklı akciğer tutulumu paternleri bildirilmiştir (5-9). Storch ve arkadaşları tarafından yakın bir zamanda geniş bir olgu serisi yayınlanarak, İBH'da genelde ÜK hastalarında ve kadınlarda akciğer tutulumunun daha sık olduğu bildirilmiştir (79). İBH'da semptomsuz hastalarda saptanan SFT bozukluğunun, hastalığın aktivitesi ile korele olduğu da bildirilmiştir (14). Akciğer grafisi ve konvansiyonel bilgisayarlı tomografi görüntülemelerindeki bulgular, akciğer tutulumu için non-spesifiktir ve bu bulgular İBH'lı hastaların çoğunda normal olabilir (7,10). İBH'daki akciğer bulguları, genellikle asemptomatiktir ve görüntülenmesi için ekspiratuvar fazda HRCT gereklidir. Çünkü hava hapsini göstermek için bu yöntem ihtiyacı vardır (13-15). İBH'lı hastalarda görülen bu bulgular, genellikle görüntüleme yöntemleri ve SFT ile anlaşılabilir.

İBH'daki akciğer değişiklikleri 4 ana başlık altında incelenebilir (80-82):

1-Bronşial Hastalık: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kronik bronşit, bronşiektazi, bronşiolitis obliterans.

2-İnterstisyel Hastalık: Alveolitis, pnömonitis, interstisyel fibrozis, apikal pulmoner fibrozis, bronşiolitis obliterans, nodüler infiltrasyon, eozinofilik infiltrasyon, non-kazeöz granüloma

3- Vasküler Hastalık: Nekrotizan vaskülitis, granümatöz vaskülitis

4- Plöroperikardiyal Hastalık: Plevral ve perikardiyal effüzyon

İBH’da görülen akciğer bulguları tablo-8’de gösterilmiştir.

**Tablo 8.** İBH’nın Akciğer Bulguları

<p><b>Bronşial Hastalık:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Kronik obstrüktif akciğer hastalığı</li><li>- Kronik bronşit</li><li>- Bronşiektazi</li><li>- Bronşiolitis obliterans</li></ul>
<p><b>İnterstisyel Hastalık:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Alveolitis</li><li>- Pnömonitis</li><li>- İnterstisyel fibrozis</li><li>- Apikal pulmoner fibrozis</li><li>- Bronşiolitis obliterans</li><li>- Nodüler infiltrasyon</li><li>- Eozinofilik infiltrasyon</li><li>- Non-kazeöz granüloma</li></ul>
<p><b>Vasküler Hastalık:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Nekrotizan vaskülitis</li><li>- Granümatöz vaskülitis</li></ul>
<p><b>Plöroperikardiyal Hastalık:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Plevral ve perikardiyal effüzyon</li></ul>

### 2.1.9. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Ekstraintestinal Bulguların Patogenezi

İBH'nın barsak dışı bulgularının patogenezi iyi anlaşılamamıştır. Muhtemelen, immünolojik mekanizmalar, ekstraintestinal bulguların çoğundan sorumludur.

*Otoimmün tabanlı gelişim görüşü;* İBH gelişiminin altında yatan primer immünolojik bozukluk ve İBH'li hastalar arasında artmış otoimmün hastalık riskiyle desteklenmektedir (83). Alta yatan barsak hastalığındaki mukozanın, barsak dışı bölgelerdeki inflamatuvar olaylardaki ilişkili immün cevapları sağlayabileceğine inanılmaktadır. Otoimmün cevap gelişme olasılığı barsak mukozasında yabancı proteinler veya bakteriyel ürünlerin varlığıyla birlikte artar. Ekstraintestinal cevap oluşmasında, barsakta bakterilerin var olması gerekmektedir. Bakterilerden arınmış çevrelerde, intestinal ya da ekstraintestinal patolojiler gözlenmemiştir (84,85).

İBH'daki bugünkü otoimmünite kavramı bakteriyel proteinler ile konakçı antijenleri arasındaki paylaşılmış *epitoplara* odaklanır. ÜK'li hastalarda, bir hücre iskeletinin proteini olan insan *tropomyozin isoform 5'e* ve kolon epitelyal spesifik proteine karşı olan otoantikolar gösterilmiştir (86-88). Hücrel otoantijenik *epitopa* çapraz-reaktif olan mikrobik peptidler, otoimmün cevap başlatabilir. Kolonik epitelyal proteinle ve insan *tropomyozin isoform 5* ile ilişkili *epitoplar* gözdeki pigmentli siliar epitel ve kondrositler gibi bağırsak dışı bölgelerde ekspresse olur (89,90). Bu tip seçici reaktivite, ÜK'deki bağırsak dışı hastalıkların klinik bulgularına karşı gelmektedir (91). Seçici organlardaki değişik otoimmün olayları tetikleyen faktörler bilinmemektedir.

Yukarıda tanımlanan immünolojik olay, genetik faktörlerden etkilenmektedir. Barsak dışı bulgulardaki konkordans, ebeveyn-çocuk çiftlerinin %84'ünde ve kardeş çiftlerinin %70'inde gözlenmiştir (92). CH'da barsak dışı bulgular daha çok, HLA-A2, HLA-DR1 ve HLA-DQw5 olan hastalarda gözlenirken, ÜK'li hastalarda barsak dışı bulgular daha çok, HLA-DR103 fenotipindedir (93).



Sonuç olarak, pek çok barsak dışı hastalık İBH ile ilişkilendirilmiştir. Barsakta mevcut olan yabancı antijenlere karşı konakçı cevabında GİS'in rolü; barsak immün sisteminin sisteme karşı herhangi bir dış müdahaleye son derece açık hale gelmesine neden olur. Enterik immün cevabın bozulması, barsak dışındaki değişik organlarda patolojiye neden olur.

### **2.1.10. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Anjiogenezin Rolü**

Anjiogenez önceden var olan kan damarlarından, yeni kapiller kan damarlarının oluşması olarak tanımlanır (94). Embriyogenezis, yara iyileşmesi ve menstrüel siklusu oluşturan endometrial değişiklikler gibi çeşitli fizyolojik olayların gelişimi ile ilgili olan anjiogenez; kanser, iskemik kalp hastalığı, diyabetik retinopati ve kronik inflamatuvar hastalıklar gibi çeşitli patolojik durumlarda da önemli role sahiptir (94-97).

Kesin mekanizmaları tümüyle anlaşılmamış olsa da, patolojik anjiogenez basamakları kısaca şöyledir:

- Patolojik duruma maruz kalan dokudan anjiogenetik maddelerin üretimi ve salınımı. Anjiogenetik büyüme faktörleri içinde en önemlisi ve en çok üzerinde durulanı VEGF'dir (98).
- Anjiogenik büyüme faktörlerinin, var olan kan damarları endotel hücreleri üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanması,
- Aktive olmuş endotelyal hücrelerden, ekstrasellüler proteolizisi sağlayacak enzimlerin üretimi ve salınımı. Ekstrasellüler proteolizise pek çok enzim sistemi katılıyor olsa da, çoğunluğu iki enzim ailesinden birine aittir:
  1. Serin proteazlar
  2. Matriks Metallo Proteinaz (MMP)
- Bazal mebran ve ekstrasellüler matriksin yıkımı,

- Aktive olmuş endotel hücrelerinin, fibroblastlar, monositler, trombositler, mast hücreleri ve nötrofillerin salgıladığı kemotaktik maddelerin etkisi altında anjiogenezin gerekli olduğu sahaya göç etmesi
- Endotel hücrelerinin proliferasyonu ve vasküler lümen oluşturmak üzere diferansiasyonu,
- Yeni oluşan vasküler yapının, düz kas hücreleri ve perisitlerle desteklenmesi ve stabilize edilmesi (99).

Anjiogenezi başlattığı bilinen sitimuluslar; hipoksi, inflamasyon ve dokunun gerilmesi gibi faktörlerdir. İnflamasyonun birçok yoldan anjiogeneze yol açtığı düşünülmektedir (18). İlk olarak; inflamatuvar doku sıklıkla hipoksiktir ve hipoksi; VEGF, TNF- $\alpha$ , *basic fibroblast growth faktör-1* (bFGF), ve *Hypoksia-Inducible Faktör-1a* (HIF-1a) gibi faktörlerin upregülasyonu yolu ile anjiogenezi stimüle edebilir (100,101). İkinci olarak; ekstrasvaze olan plazma fibrinojeni anjiogenezi stimüle edebilir (102). Üçüncü olarak; makrofaj, lenfosit, mast hücresi ve fibroblast gibi inflamatuvar hücreler ve bunların üretmiş olduğu anjiogenik faktörler anjiogenezi stimüle edebilir (100). Son olarak; artmış kan akımının kendisi endotel üzerinde gerilim oluşturarak, anjiogenezi stimüle edebilir (103,104).

Kronik inflamasyon; proliferasyon, migrasyon ve inflamatuvar hücrelerin toplanması ile karakterize olup, sağlıklı dokunun belirgin hasarı ile sonuçlanır. Kronik inflamasyon ve anjiogenez birbirleri ile ilişkilidir (105). İBH, inflamasyon, ülserasyon ve intestinal mukozanın rejenerasyonunu içerdiği için anjiogenez İBH patolojisinin bir parçası olarak düşünülür (106).

#### **2.1.10.1. VEGF**

VEGF; arterler, venler ve lenfatiklerden köken alan mikrovasküler ve makrovasküler epitelyal hücreler için, potent bir mitojendir. Fakat diğer hücre tipleri için, sürekli ve yoğun bir mitojenik aktivitesi yoktur (107). İBH'daki anjiogenezis markırları arasında VEGF, en fazla tanımlanan faktördür. Bir çok çalışmada sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, İBH'da VEGF seviyelerinin artmış olduğu gösterilmiştir (19,20,24). Griga ve arkadaşları, aktif CH ve ÜK'li hastaların, sağlıklı

kontrol grupları ve hastalığın aktif olmadığı dönemlerle karşılaştırıldığında, hastalığın aktif olduğu dönemde, hem ÜK, hem de CH'da belirgin bir şekilde artmış VEGF seviyeleri saptamışlar (20). Yine, VEGF'nin hastalığın aktive olması ile arttığı, steroid ve infliksimab tedavisi ile azaldığı bildirilmiştir (23,24). Buna karşın, yapılan iki çalışmada, VEGF düzeylerinin İBH'da artmadığı, hatta düştüğü bildirilmiştir. Bu çalışmalardan birisinde; 50 ÜK, 44 CH ve 23 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alınmış, İBH'nın hem aktivasyon hem de remisyon dönemlerinde serum VEGF seviyeleri, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İBH'lı grupta, serum VEGF seviyeleri düşük olarak saptanmıştır (108). Yapılan diğer çalışmada ise; 145 CH, 73 ÜK ve 115 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alınmış, serum VEGF seviyelerinin İBH'lı grupta sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuş ve bunun, hastalığın remisyon veya aktivasyonu ile ilişkisiz olduğu bildirilmiştir (109). VEGF ayrıca, alveoler hemorajisi olan sıçanlarda da yüksek oranda tesbit edilmiştir(22).

Patolojik durumlarda tüm dokular VEGF üretebilir. Normal dokularda ise aktive makrofajlar, keratinositler, renal glomerüller ve mezengial hücreler, embriyonik fibroblastlar gibi birçok hücrede, VEGF ekspresyonu gösterilmiştir (98).

VEGF, VEGF-A olarak da isimlendirilebilmektedir. 38-46 kDa ağırlığında, bazik yapıda, heparine bağlanma özelliği olan homodimerik bir glikoproteindir. VEGF'nin 121, 145, 165, 189 ve 206 aminoasitten oluşan beş izoformu tanımlanmıştır; 165 aminoasitten oluşan VEGF 165 majör izoformudur. Bu izoformların aktif formları, disülfid bağlarıyla bağlı homodimerler şeklindedir. VEGF 121 heparine bağlanmayan tek izoformudur. Anjiogenez oluşturmada en etkili isoformları, VEGF 121 ve VEGF 165 dir (107).

VEGF, biyolojik aktivitesini temel olarak 3 reseptörü ile gerçekleştirir:

1. VEGFR-1: Flt-1 (*fms-like tyrosine kinase-1*)
2. VEGFR-2: KDR/Flk-1 (*Kinase Domain Region/fetal liver kinase-1*)
3. VEGFR-3: Flt-4 (*fms-like tyrosine kinase-4*)

Tirozin kinaz yapısında olan bu reseptörlerden VEGFR-1 ve VEGFR-2 endotel hücrelerinde bulunurken, VEGFR-3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır. Ayrıca VEGFR-1, trofoblast hücreleri, monositler ve renal mesangial hücrelerde; VEGFR-2 hematopoetik kök hücreler, megakaryositler ve retinal progenitör hücrelerde eksprese edilmektedir (107,110,111). VEGF, bu reseptörlere bağlandığı zaman, sinyal kaskadını başlatarak, vasküler endotel hücrelerinin büyümesini ve proliferasyonunu başlatmış olur. Tüm bunların sonucunda, hedef hücrede gen transkripsiyonu etkilenir.

## 2.2. Sitokinler

Sitokinler, nonspesifik immün sistemin temel haberleşmesini sağlayan, protein veya glikoprotein yapıda maddelerdir. Hücre büyümesini ve değişimini, doku tamirini ve yeniden yapılanmasını, immün cevabın düzenlenmesini, hücreler arasında kimyasal haberleşmeyi sağlarlar. Doğal immünitede sitokinler, mononükleer fagositler ve doğal öldürücü hücreler (*natural killer*, NK) tarafından üretilirler. Kazanılmış immünitede ise, T hücreleri tarafından üretilirler. TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 doğal immün, cevapta en önemli sitokinlerdir. Bu sitokinler tek başlarına immün cevabın düzenlenmesinde rol oynamazlar; fakat yardımcı T hücre yanıtına neden olarak, edinsel immünite gelişmesine ve yayılmasına neden olurlar (112).

Sitokinler, etki mekanizmasına göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak adlandırılır. Proinflamatuvar sitokinler, inflamasyonun başlangıcında salınırlar. İmmün cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler. İnsan, immün cevabında temel proinflamatuvar sitokinler TNF- $\alpha$  ve IL-1'dir. Bunlara yardımcı sitokinler ise, IL-6 ve IL-8'dir. Antiinflamatuvar sitokinler ise, inflamasyonun daha sonraki evrelerinde salınırlar. Bunlar; IL-4, IL-10, IL-11, IL-13'dür (112,113).

İBH gelişimi süresince, inflamasyonlu barsak mukozasındaki makrofajlar ve lenfositler tarafından en başta TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 olmak üzere, birçok proinflamatuvar sitokin üretilmekte ve bu proinflamatuvar sitokinler inflamatuvar cevabın devam ettirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar (25).

### 2.2.1. Tümör Nekrozis Faktör Alfa

TNF geninin, 6. kromozom üzerinde *major histocompatibility complex* (MHC) gen lokusunun içinde HLA class I ve II arasında yer aldığı gösterilmiştir. Benzer biyolojik özelliklerde iki formu saptanmıştır. TNF- $\alpha$  (kaşektin) özellikle makrofajlardan, TNF-Beta (lenfotoksin) ise özellikle lenfositlerden üretilmektedir(114).

TNF- $\alpha$ , İBH patogenezinde mukozal immün yanıtta önemli rol oynayan proinflamatuvar bir sitokindir. Doku travması veya enfeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar yanıt, proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- $\alpha$ , konakçı yanıtının oluşmasında en etkili mediatörlerden biridir (115). Etkisini IL-6'yı arttırarak gösterir. TNF- $\alpha$  sentezinin kaynağı monositler, makrofajlar, T hücreleri, polimorfonükleer lökositler (PMNL), NK hücreleri ve endotelial hücrelerdir. İBH gelişimi süresince, inflamasyonlu barsak mukozasındaki makrofajlar ve lenfositler tarafından en başta TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 olmak üzere birçok proinflamatuvar sitokin üretilmekte ve bu proinflamatuvar sitokinler inflamatuvar cevabın devam ettirilmesinde önemli rol oynamaktadırlar (25). Bu sitokinler içinde TNF- $\alpha$ 'nın etkinliği, geniş biçimde ortaya konmuş ve son yıllarda en güncel tedavilerden biri olan biyolojik tedavi yönteminin temelini oluşturmuştur. İnflame mukozadaki TNF- $\alpha$  üretiminin inhibisyonu (infliksimab: TNF- $\alpha$  antikoru) ile hastalığın tedavisi mümkün olabilmektedir (26). Doku travmasında veya enfeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar yanıt, proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- $\alpha$ , konakçı yanıtının oluşmasında en etkili mediatörlerden biridir (72).

TNF- $\alpha$ , gram negatif bakterilere konak yanıtının temel mediatörüdür. Yüksek konsantrasyonlu lipopolisakkarit (LPS)'e bağlı doku hasarında, dissemine intravasküler koagulopati (DİK)'de ve septik şokta temel mediatördür. TNF- $\alpha$ 'nın temel kaynağı, LPS'nin uyardığı mononükleer fagositlerdir. Ayrıca bu protein, antijen ile uyarılmış T hücreleri, aktive edilen NK hücreleri ve aktive edilmiş mast hücreleri tarafından da salgılanır. İnflamasyonun patogenezinde ilk suçlanan, sitokindir (116).

Biyolojik aktivasyonunu TNF- $\alpha$ -RI ve TNF- $\alpha$ -RII reseptörlerine bağlanarak gösterir. Biyolojik etkileri vasküler endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörü oluşturmaya yol açarak, endotel yüzeyine lökosit adezyonuna neden olur. Mononükleer fagositlerde ve diğer hücrelerden sitokin üretimini uyarır, virüslere karşı koruyucu etki gösterir, virustan etkilenen hücrelerin immün yanıtla parçalanmasını bozar. Bunu nitrik oksit sentetaz enziminin aktivitesinin arttırılmasıyla yapar. Ciddi metabolik bozukluk yaparak glukoz tüketimine ve karaciğerden glukoz üretiminde yetmezliğe neden olur (117).

### 2.3. TNBS Kolit Modeli

İBH etyopatogenezini araştırmak ve yeni anti-inflamatuvar stratejileri geliştirmek amacıyla en sık kullanılan kolit modeli, TNBS ile oluşturulan modeldir. TNBS etanol çözeltisi içinde verilir. Çünkü etanol epitel tabakasını yararak alttaki lamina proprianın bakteriyel komponentlere maruz kalmasını sağlar. Burada kolonik hasar, bariyer kırıcı (*barrier-breaker*) etanol ve hapten karışımının intrarektal verilmesi ile oluşturulur. Uygulamada kolit oluşturmak için TNBS'nin (%30 etanolün 0,25 ml'sinde 5-30 mg TNBS olacak şekilde) intrarektal verilmesi gereklidir. TNBS ile oluşturulan kolit modeli genel olarak CH'nı yansıtır. Çünkü oluşan mukozal inflamasyon proinflamatuvar, sitokinlerin üretimine cevap olarak ortaya çıkan Th-1 cevabının aracılılığıyla sağlanır. Doz bağımlı kronik ülserasyon ve inflamasyona neden olur. TNBS'nin 30 mg dozunda uygulanması, ülserasyon indüksiyonuna ve en az 8 hafta sürecek barsak duvar kalınlaşmasına yol açar. Sitolojik olarak inflamatuvar yanıt, mukozal ve submukozal PMNL'yi, makrofajları, lenfositleri, bağ doku mast hücrelerini ve fibroblastları içerir. Yapılan çalışmalarda inflamasyon indüksiyonundan 3 hafta sonra öldürülen ratların %57'sinde granülomlar, langhans tipi dev hücreler, segmentel ülserasyon ve inflamasyon olduğu bildirilmiştir (118-121). Öte yandan, TNBS bir hapten olması nedeniyle, epikutanöz uygulanması ve arkasından hayvanın intratrakeal TNBS'ye maruziyetiyle pulmoner fibrozis olduğu bildirilmiştir (122). Ancak aynı ajanın intrarektal verilmesiyle akciğerde benzer bir etkinin oluştuğuna ilişkin veri yoktur.

#### **2.4. DSS Kolit Modeli**

Normal içme suyuna %3-5 oranında DSS konarak, hayvanların bir hafta süreyle içme suyu olarak bu solüsyonu kullanmaları sonucunda yaklaşık üçüncü günde akut kolit geliştiği fare, hamster ve sıçanlarda tanımlanmış ve bu deney modeli pek çok çalışmada kullanılmıştır (22-24). DSS %5, oral yoldan verildiğinde sadece akut değil kronik kolit de oluşturur (123). %3-5'lik DSS'nin 5-7 gün boyunca verilmesi arkasından, suyun verilmesi kolon epitelinde komplet kript deplesyonu ile giden ciddi hasar ve nisbeten yavaş rejenerasyonu ile sonuçlanır. Patolojik skorlama genellikle, en ciddi etkilenen bölüm olan kolonun distal segmentinden yapılır (124). DSS'nin, akciğer üzerine toksik bir etkisi bildirilmemiştir. Aksine, pulmoner kapiller basınç değişikliklerini önlediği bildirilmiş, son yıllarda açık kalp cerrahisindeki akciğer hasarını önlemek amacıyla kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır(125,126).

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi, Biyokimya ve Patoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı ve çalışmamız etik kurul kurallarına uygun olarak yapıldı.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada; 18 haftalık, 200-250 gr ağırlığında 24 adet erkek Wistar-albino rat kullanıldı. Hayvanlar deney süresince standart nem, ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık) ve ısı koşullarında (23<sup>0</sup>C) bulunduruldu ve standard rat yemi ile beslendi. Kaprofajiyi önlemek için, kafes içine tel altlıklar yerleştirildi.

#### 3.2. Kullanılan Malzeme ve Aletler

Kullanılan malzeme ve aletler tablo-9'da gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Kullanılan malzeme ve aletler

1	Soğutmalı santrifüj	(Eppendorf MR 5415, Almanya)
2	Derin dondurucu	(Facis, Fransa)
3	Hassas terazi	(Scaltec, İsviçre)
4	Vorteks (karıştırıcı)	(Nüve NM 100, Türkiye)
5	Otomatik pipetler	(Gilson, Fransa), (Eppendorf MR 5415, Almanya)
6	UV spektrofotometre	(Shimadzu UV 1601, Japonya)
7	Homojenizatör	(Ultra Turrax T25, Almanya)
8	Sonifikatör	(Bandelin Sonoplus, Almanya)

#### 3.3. Kolit İndüksiyonu

##### 3.3.1. TNBS Kolit İndüksiyonu

Morris ve ark.'nın tarif ettikleri şekilde oluşturulmuştur. Kısaca işlem şöyledir:



24 saattir aç olan ratlara, intraperitoneal ketamin (80 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) anestezisi altında, eksternal çapı 2 mm olan poliüretan beslenme tüpü, anüslerinden sokularak, ucu anal verge'den 8 cm proksimalde olacak şekilde ilerletildi. Akut koliti uyarmak için 15 mg TNBS, 0.25 ml %50 etanol'de çözüldürüldü ve kanülden kolon içine instile edildi. Daha sonra, 0.5 ml hava enjekte edilerek, TNBS-etanol solüsyonunun kanülden tamamen temizlenmesi sağlandı. İnstilasyondan sonra, kolon içindeki instillatın dışarı kaçmasını engellemek için hayvanlar birkaç dakika baş aşağı tutuldu (121).

### **3.3.2. DSS Kolit İndüksiyonu**

Normal içme suyuna %3-5 oranında DSS konarak, hayvanların bir hafta süreyle içme suyu olarak bu solüsyonu kullanmaları sonucunda deneysel kolit modeli oluşturuldu (124).

### **3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması**

Çalışmaya 24 adet erkek wistar albino sıçan alınarak, 4 gruba randomize edildi ve her grup 6 hayvandan oluştu. Bir grupta DSS koliti, diğer grupta TNBS koliti oluşturularak her iki grup için de ayrı ayrı kontrol grupları oluşturuldu. Deney protokolü tablo-10 da özetlenmiştir.

Grup 1 (TNBS Kontrol):

- 7 gün, günde iki kez orogastrik skimmilk verildi.
- 8. gün orogastrik skimmilk verildikten 1 saat sonra intra-rektal 0,25 mL SF uygulandı.
- Daha sonra 7 gün boyunca günde iki kez orogastrik skimmilk verildi.

Grup 2 (TNBS Kolit)

- 7 gün, günde iki kez orogastrik skimmilk verildi.
- 8. gün orogastrik skimmilk verildikten 1 saat sonra TNBS verilerek kolit oluşturuldu.

- Daha sonra 7 gün boyunca günde iki kez orogastrik skimmilk verildi.
- 14. gün aşırı eter anestezisi ile öldürülerek ve her hayvanın kolonunun 10 cm distal bölümü ile akciğerleri çıkarıldı.

*Grup 3 (DSS Kontrol):*

- 1-14. günler, günde iki kez orogastrik skimmilk verildi.
- Sürekli normal içme suyu aldılar.

*Grup 4 (DSS Kolit):*

- 1-14. günler, günde iki kez orogastrik skimmilk verildi.
- 8-14. günler DSS’li içme suyu aldılar.
- 14. gün aşırı eter anestezisi ile öldürülerek ve her hayvanın kolonunun 10 cm distal bölümü ile akciğerleri çıkarıldı.

**Tablo 10.** Deney protokolü, günlere göre ilaç uygulamaları

<b>GRUPLAR</b>	<b>1-7. Günler</b>	<b>8.Gün</b>	<b>8-14. Günler</b>	<b>14.Gün</b>
<b>1.Grup</b> (TNBS-Kontrol)	Orogastrik skimmilk	SF (i.r.)	Orogastrik skimmilk	EKSİTUS
<b>2.Grup</b> (TNBS-Kolit)	Orogastrik skimmilk	Kolit indüksiyonu	Orogastrik skimmilk	EKSİTUS
<b>3.Grup</b> (DSS-Kontrol)	orogastrik skimmilk Çeşme suyu	orogastrik skimmilk Çeşme suyu	Orogastrik skimmilk Çeşme suyu	EKSİTUS
<b>4.Grup</b> (DSS-Kolit)	orogastrik skimmilk Çeşme suyu	orogastrik skimmilk DSS li içme suyu	Orogastrik skimmilk DSS li içme suyu	EKSİTUS

### **3.5. Makroskopik Kolit Değerlendirilmesi**

Kolit değerlendirilmesi, hayvana uygulanan tedavilerden habersiz bir gözlemci tarafından, kör olarak yapıldı. Her hayvanın kolonunun 10 cm’lik distal bölümü çıkarıldı ve longitudinal olarak kesildi. SF ile hafifçe yıkanarak feçes artıkları uzaklaştırıldı. Makroskopik inflamasyon skorları, kolonun klinik

görünümüne göre, *Wallace Skalası*'na göre skorlandı (127). *Wallace Skalası* tablo-11'de gösterilmiştir.

**Tablo 11.** Makroskobik Kolit Değerlendirmesi (Wallace Skalası)

<b>Özellik</b>	<b>Skor</b>
<b><i>Ülserasyon</i></b>	
Normal görünüm	0
Fokal hiperemi var, ülser yok	1
Ülserasyon var; hiperemi veya barsak duvarı kalınlaşması yok	2
Ülserasyon var; birlikte bir yerde inflamasyon var	3
2 veya daha fazla yerde ülserasyon/inflamasyon var	4
Kolon eksenini boyunca 1-2cm arasında uzunlukta ülser var	5
Ülser uzunluğu; 2-3cm arasında	6
Ülser uzunluğu; 3-4cm arasında	7
Ülser uzunluğu; 4-5cm arasında	8
Ülser uzunluğu; 5-6cm arasında	9
Ülser uzunluğu; 6-7cm arasında	10
<b><i>Adezyon</i></b>	
Adezyon yok	0
Minör adezyonlar (diğer dokulardan kolayca ayrılabilen)	1
Şiddetli adezyonlar	2
<b><i>Diyare</i></b> (lümendeki feçes gözlenerek)	
Yok	0
Var	1
<b><i>Maksimal barsak duvarı kalınlığı</i></b> (her 1mm yukarıdaki skora eklenecek)	...mm

### 3.6. Akciğerlerin Histolojik Değerlendirilmesi

Sakrifiye edilen ratlardan alınan akciğer örnekleri, %10'luk formaldehit kullanılarak fikse edildi. Parafin bloklar oluşturuldu. Oluşturulan parafin bloklardan

5 µm kalınlığında kesitler alınarak, lam üzerinde preparatlar hazırlandı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar, hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopunda (x100, x200 ve x400 büyütmede) değerlendirme yapılarak lezyonlar incelendi (128).

Akciğer değerlendirilmesi, hayvana uygulanan tedavilerden habersiz, bağımsız bir patolog tarafından, kör olarak yapıldı.

### **3.7. Örneklerin Homojenizasyonu ve Deney için Hazırlanması**

Kolon dokularının homojenizasyonunda ve biyokimyasal çalışmalarda pH: 7.4 olan 0.05 M PBS kullanıldı.

Homojenizasyon işlemi başlangıcında, kolon dokularının yaş ağırlıkları tartıldı. Dokuların soğukluğu muhafaza edilerek cam tüpe kondu. Dokuların üzerine ağırlığının 10 katı olacak şekilde tampon ilave edilerek, miktarları kaydedildi. Plastik kaplar içine buz dolduruldu ve cam tüpteki dokular, plastik kapların içerisine yerleştirilerek, 16000 devir/dakika hızda homojenize edildi. Daha sonra buz dolu plastik kaplar içinde, 30 saniye sonifikasyon yapıldı. Homojenizatlar, ısı arttırılmadan, 5000 devir/dakika hızında 10 dakika süreyle santrifüj edilerek, süpernatantları eppendorf tüplerine kondu. Tüpler numaralandırıldı. Dokuların yaş ağırlıkları ve eklenen tampon miktarı kaydedildi (129).

### **3.8. Dokularda Biyokimyasal Analizler**

Biyokimyasal analizler, Süleyman Demirel Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı.

Kolon ve akciğer dokuları tartıldı ve buz banyosu içinde %0,05 sodyum azid içeren 100 mmol/L fosfat tamponu ile (pH:7,4) homojenize edildi (1:10, wt/vol; Ultra Turrax T25; IKA-Labortechnik, Staufen, Germany). Homojenizatlar, 30 saniye sonifike edilip (Bandelin, Berlin, and Germany), 5000 G 10 dakika santrifüje edildi. Üretici firmanın verdiği bilgilere dayanarak, süpernatant VEGF ve TNF-α konsantrasyonları enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kitleri ile belirlendi (BIOSOURCE, Invitrogen Immunoassay kit, California, USA).

VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri pikogram olarak ifade edildi. Total protein düzeyleri, *Lowry* metodu ile belirlendi (130).

### **3.9. İstatistiksel Analiz**

Araştırmadan elde edilen veriler, SPSS for Windows (15.0 for windows) paket programı kullanılarak, veri tabanı oluşturuldu. Veriler, tanımlayıcı istatistik ile özetlendi. Tüm verilerin dağılımı eşit olmadığından, “Mann Withney U” testi kullanıldı. Sonuçlar  $\pm$  standart sapma olarak verildi ve  $p < 0.05$  olan değerler istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kolon Dokularının Makroskopik Olarak Skorlanması

- Kolonun makroskopik skorlaması TNBS-Kolit grubunda, TNBS-Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldi ( $p=0.002$ ).
- Yine kolonun makroskopik skorlaması DSS-Kolit grubunda, DSS-Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldi ( $p=0.002$ ).
- Deney gruplarının patolojik incelemesi, sonucu elde edilen makroskopik skorlar Tablo-12’de gösterilmektedir.

**Tablo 12.** Kolon dokularının gruplara göre makroskopik skorlaması

<b>Gruplar</b>	<b>Makroskopik skor Median (min-max)</b>
<b>TNBS-Kontrol (n=6)</b>	0.0 (0-0)
<b>TNBS-Kolit (n=6)</b>	3.8 (2-5)
<b>DSS-Kontrol (n=6)</b>	0.0 (0-0)
<b>DSS-Kolit (n=6)</b>	1 (1-1)

Veriler ortalama (minimum-maksimum) olarak verilmiştir.

### 4.2. Akciğer Dokularının Histolojik İncelenmesi

- TNBS-kolit grubunda alveoler hemoraji, TNBS-kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseldi ( $p=0.015$ ) (Tablo-13).

**Tablo 13.** TNBS-kontrol grubu ile TNBS-kolit grubunun alveoler hemoraji açısından karşılaştırılması

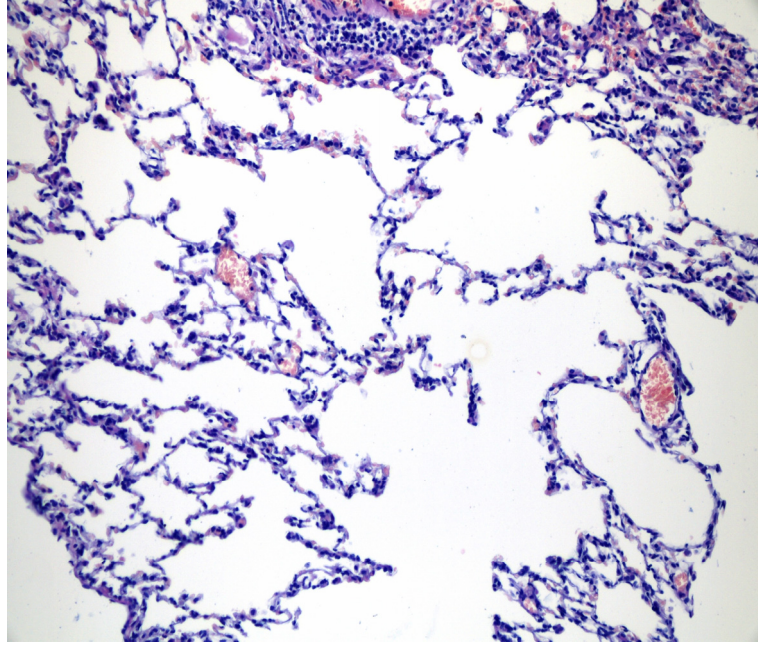
<b>Gruplar</b>	<b>Alveoler Hemorajisi Olmayan Hayvan sayısı</b>	<b>Alveoler Hemorajisi Olan Hayvan sayısı</b>
<b>TNBS-Kontrol (n=6)</b>	6	0
<b>TNBS-Kolit (n=6)</b>	1	5
<b>Toplam (n=12)</b>	7	5

- DSS-kolit grubunda alveoler hemoraji, DSS-kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksekti ( $p=0.015$ ) (Tablo-14).

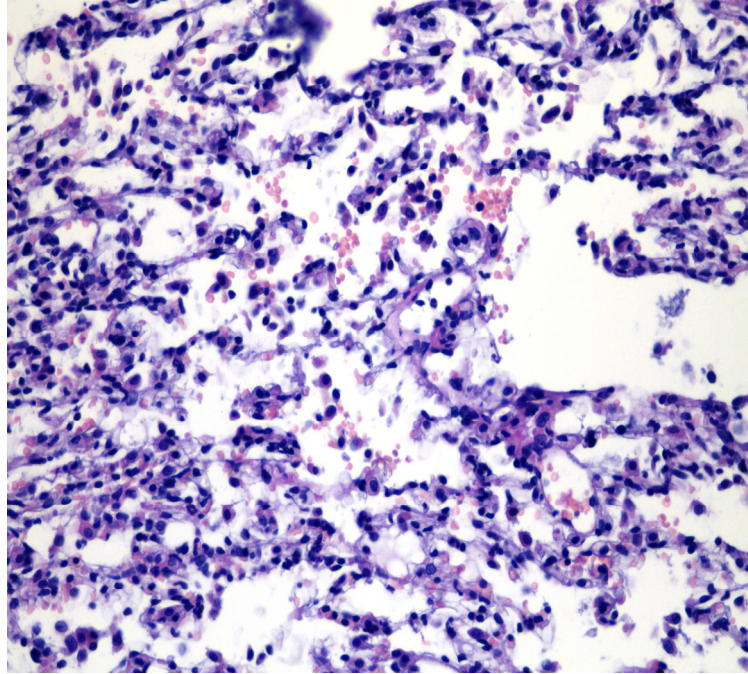
**Tablo 14.** DSS-kontrol grubu ile DSS-kolit grubunun alveoler hemoraji açısından karşılaştırılması

<b>Gruplar</b>	<b>Alveoler Hemorajisi Olmayan Hayvan sayısı</b>	<b>Alveoler Hemorajisi Olan Hayvan sayısı</b>
<b>DSS-Kontrol (n=6)</b>	6	0
<b>DSS-Kolit (n=6)</b>	1	5
<b>Toplam (n=12)</b>	7	5

- Resim-1’de, kontrol grubundan alveoler hemorajisi olmayan bir rat akciğeri resim-2’de ise, kolit grubundan alveoler hemorajili bir rat akciğeri gösterilmiştir.



**Resim 1.** Kontrol grubu normal alveol görünümü



**Resim 2.** Kolit grubu alveoler hemoraji görünümü



### 4.3. Biyokimyasal Analiz Sonucu Elde Edilen Veriler

#### 4.3.1. Akciğer Dokusunda VEGF ve TNF- $\alpha$ Düzeyleri

- Akciğer dokusunda VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri, TNBS-kolit grubunda TNBS-kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti (sırasıyla  $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ) (Tablo- 15).

**Tablo 15.** Akciğer dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri açısından, TNBS-kolit grubu ile TNBS-kontrol grubunun karşılaştırılması

	Kolit grubu (n=6)	Kontrol Grubu (n=6)	p
VEGF (pg/mgprotein)	39.8 $\pm$ 3.0	22.5 $\pm$ 4.6	0.002
TNF- $\alpha$ (pg/mgprotein)	36.3 $\pm$ 4.6	20.6 $\pm$ 5.4	0.002

- Akciğer dokusunda VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri, DSS-kolit grubunda DSS kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti (sırasıyla  $p=0.004$  ve  $p=0.002$ ) (Tablo 16).

**Tablo 16.** Akciğer dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri açısından, DSS-kolit grubu ile DSS-kontrol grubunun karşılaştırılması

	Kolit Grubu (n=6)	Kontrol grubu (n=6)	p
VEGF (pg/mgprotein)	29.8 $\pm$ 11.2	17.9 $\pm$ 2.8	0.004
TNF- $\alpha$ (pg/mgprotein)	44.3 $\pm$ 8.7	22.7 $\pm$ 3.9	0.002

#### 4.3.2. Kolon Dokusunda VEGF ve TNF- $\alpha$ Düzeyleri

- Kolon dokusunda TNF- $\alpha$  düzeyi, TNBS-kolit grubunda TNBS-kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksekti ( $p=0.009$ ).
- Kolon dokusunda VEGF düzeyinde ise; TNBS-kolit ve TNBS-kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p=0.589$ ) (Tablo 17).

**Tablo 17.** Kolon dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri açısından, TNBS-kolit grubu ile TNBS-kontrol grubunun karşılaştırılması

	Kolit grubu (n=6)	Kontrol Grubu (n=6)	P
VEGF (pg/mgprotein)	36.8 $\pm$ 1.0	37.9 $\pm$ 12.6	0.589
TNF- $\alpha$ (pg/mgprotein)	47.1 $\pm$ 23.8	19.3 $\pm$ 9.0	0.009

- Kolon dokusunda TNF- $\alpha$  düzeyi, DSS-kolit grubunda DSS-kontrol grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükseldi (p=0.04).

- Kolon dokusunda VEGF düzeyinde ise; DSS-kolit grubunda DSS-kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p=1.0) (Tablo 18).

**Tablo 18.** Kolon dokusunun VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri açısından, DSS-kolit grubu ile DSS-kontrol grubunun karşılaştırılması

	Kolit Grubu (n=6)	Kontrol grubu (n=6)	P
VEGF (pg/mgprotein)	33.0 $\pm$ 12.4	29 $\pm$ 5.7	1.0
TNF- $\alpha$ (pg/mgprotein)	64.2 $\pm$ 19.0	28.2 $\pm$ 10.8	0.04

## 5. TARTIŞMA

İBH oluşturduğumuz hayvanlarda, kolonun makroskopik skorlaması anlamlı bir şekilde yüksekti ve akciğer dokularının histopatolojik incelenmesinde yaygın alveolar hemoraji saptandı. Akciğerde oluşan histopatolojik değişikliğe, VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde de istatistiksel olarak anlamlı artış eşlik etmekteydi. Sonuçlarımız, İBH ile ilişkili akciğer tutulumunun etyopatogenezinde proinflamatuvar sitokinlere (TNF- $\alpha$ ) bağlı gelişen inflamatuvar cevabın ve/veya anjiogenezis markırı VEGF'ye bağlı olarak, alveolar epitelyal permeabilite artışının rol oynamış olabileceğini göstermektedir.

Son zamanlarda yapılan klinik çalışmalar, İBH ile ilişkili akciğer tutulumunun tahmin edilenden daha sık görülebildiğini göstermekle birlikte, gerek İBH etyopatogenezini ve gerekse İBH'nın akciğer tutulumu ile ilgili bilgilerimiz oldukça kısıtlıdır (4,10,79). İBH tanısı ile izlenen bir grup hastada, solunum yakınmaları olmasa da SFT'lerinde, bronkoalveoler lavaj ya da indüklenmiş balgam örneklerinde, latent akciğer tutulumu tanımlanmıştır (16,131). Klinik çalışmalarda, İBH'lı hastalarda olası akciğer tutulumunun histopatolojik olarak gösterilmesi için invaziv metotlara ihtiyaç duyulması, bu konudaki bilgilerimizin yetersiz kalmasına sebep olmaktadır. İBH'lı hastalarda, sonuçlarını; solunum semptomları, SFT bozukluğu, radyolojik bozukluk olarak gördüğümüz akciğer patolojisini, doku düzeyinde tesbit edebilmek mümkün değildir. İBH ve akciğer ilişkisini ortaya koyabilmek amacıyla, deneysel kolit modeli kullanmayı amaçladık. Çalışmamız, İBH'da akciğer tutulumunu histopatolojik olarak ortaya koyan ilk çalışmadır. İBH'nın fizyopatolojisi ile ilgili çalışmalarda kullanılmak üzere geliştirilen kolit modellerinden TNBS ve DSS kolit modelleri, uluslararası literatürde en sık kullanılan modellerdir (118-120). TNBS ile oluşturulan kolit modeli, genel olarak CH'nı yansıtır. Çünkü oluşan mukozal inflamasyon proinflamatuvar sitokinlerin üretimine, cevap olarak ortaya çıkan Th1 cevabının aracılığıyla sağlanır (118). TNBS koliti, genellikle TNBS'nin intrarektal uygulanması ile oluşturulur. Öte yandan, TNBS bir hapten olması nedeniyle, epikutanöz uygulanmasını takiben hayvanın intratrakeal TNBS'ye maruziyetiyle pulmoner fibrozis olduğu bildirilen bir çalışma vardır (122). Akciğer fibrozisinin, TNBS'nin intratrakeal yoldan doğrudan akciğere

verilmesiyle, akciğer fibrozisinin oluşması dışında, diğer yollarla verildiğinde, aynı etkinin oluştuğunu gösteren bir bulgu yoktur. Çalışmamızda TNBS, hayvanlara intrarektal yoldan verilmiştir. TNBS'nin koliti uyarmasıyla birlikte akciğerde de muhtemel etkisi olabileceği akla gelmekteyse de, mevcut bilgiler ışığında intrarektal TNBS'nin akciğeri etkileme ihtimalinin çok düşük olduğu düşünülmüştür. Ancak, sonuçların sağlıklı olması açısından, TNBS kolitli gruba ek olarak, hem kontrol grubu oluşturulmuş, hem de bir diğer deneysel kolit modeli olan DSS koliti modeli de, çalışmamıza dahil edilmiştir. DSS'nin akciğer üzerine toksik bir etkisi bildirilmemiştir. Aksine, intravenöz olarak dextran sülfatın verilmesi ile pulmoner kapiller, basınç değişikliklerini önlediği bildirilmiş olup, son yıllarda açık kalp cerrahisindeki akciğer hasarını önlemek amacıyla da dextran sülfat intravenöz olarak kliniklerde kullanılmaktadır (125,126).

Çalışmamızda, her iki kolit modelinde (TNBS ve DSS) benzer akciğer patolojilerinin oluşması durumunda, patolojinin primer sebebinin verilen ajandan çok, oluşan kolit ile ilişkili olacağı hipotezinden hareket ederek, TNBS ve DSS koliti gibi 2 ayrı kolit modelinde akciğer değişikliklerini değerlendirerek, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık. TNBS ve DSS kolit modellerindeki akciğerler histopatolojik olarak incelendiğinde, her iki kolit grubunda da alveoler hemoraji kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek oranda saptandı (TNBS kolit grubu ile TNBS kontrol grubu arasında  $p:0.015$ , DSS kolit grubu ile DSS kontrol grubu arasında  $p:0.015$ ). Akciğerde VEGF seviyeleri de hem TNBS hem de DSS kolit grubunda kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde yüksekti (sırasıyla,  $p:0.002$ ,  $p:0.004$ ). Yapılan bir çalışmada, VEGF ekspresyonu artırılmış transgenik farelerin akciğerleri histopatolojik olarak incelenmiş ve çalışmamız sonuçlarına benzer biçimde, kontrol grubunda olmayan alveoler hemoraji, hemosideroz ve inflamasyon bulguları saptanmıştır. VEGF ekspresyonu artırılmış transgenik farelerin %50'si, iki hafta içerisinde ölmüştür. Ölüm oranının yüksek olmasının, VEGF artışına bağlı alveoler hemoraji, respiratuar distres sendromu ve alveol içine gros kanamadan kaynaklandığı düşünülmüştür (22). Çünkü iki hafta içerisinde ölen, VEGF ekspresyonu artırılmış transgenik hayvanlarda, pulmoner hemoraji ve tek tük hemosiderin yüklü makrofajlar gözlemlenirken, daha uzun dönem yaşayan VEGF ekspresyonu artırılmış transgenik hayvanlarda ise, pulmoner hemosideroz ve

amfizem saptanmıştır. Bunun muhtemelen VEGF'ye bağlı vasküler permeabilite artışına ve alveoler hemorajiye bağlı olabileceği düşünülmüştür (22). Çalışmamızda kolit gruplarında alveolar hemorajinin histopatolojik olarak gösterilmesi ve buna VEGF artışının eşlik etmesi, İBH'da akciğer patolojisinin tetiğinin çekilmesi ya da bu patolojinin oluşumunun herhangi bir aşamasında, VEGF artışına bağlı alveolar permeabilite artışı ve sonucunda alveolar hemoraji patolojisinin geliştiğini düşündürmektedir. Nitekim, solunum yakınmaları olmayan aktif ve inaktif 31 ÜK'li hastada, akciğer tutulumunun Tc-99m DTPA sintigrafisi ile araştırıldığı bir çalışmada, çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak, aktif ÜK'i olan hastalarda, alveoler permeabilitenin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı gösterilmiş ve pulmoner epitelyal permeabilite artışının akciğer tutulumunun en erken bulgusu olabileceği öne sürülmüştür (132).

VEGF ekspresyonundaki artış, diğer solunum sistemi hastalıkları ile de ilişkili olabilir. Bronşitli hastaların indüklenmiş balgam örneklerinde VEGF artışı gösterilmiştir (133). Yine astım hastalarında saptanan solunum yollarındaki vaskülarite artışı, VEGF seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur (134).

VEGF'nin, vasküler permeabilite artışına, NO ve prostasiklin sentezini artırarak yol açtığı gösterilmiştir (135). Çalışmamızda saptanan alveolar hemorajiye, VEGF artışı sonucu ortaya çıkan NO ve prostasiklinin yol açtığı vasküler permeabilite artışı neden olmuş olabilir. Oluşturduğumuz kolitin uzun dönemli olması halinde, pulmoner hemosideroz ve amfizem oluşumu beklenebilir (22). Fibrozis gelişimi kronik, uzun bir dönemi gerektirdiğinden, VEGF artışı, akut dönemde alveoler hemorajiye, kronik dönemde ise, fibroze yol açıyor olabilir. Muhtemelen, çalışmamızda kolit modellerinde ortaya çıkan alveolar hemoraji, akciğer tutulumunun akut devrede ortaya çıkan ilk bulgusudur. Kronik dönemde gelişebilecek olası akciğer patolojileri için, bir haftadan daha uzun süreli kronik kolit modellerinde, akciğerlerin histopatolojik olarak incelemesi gerekmektedir. Çalışmamızda, barsaklarda oluşturulan kolite alveoler hemoraji ve VEGF artışının eşlik etmesi, alveoler hemoraji patolojisinde, VEGF artışının rastlantısal olmadığını göstermektedir. Uzun süreli VEGF artışının da pulmoner hemosideroz ve fibrozis oluşturduğu göz önünde tutulduğunda, klinik olarak saptanan akciğer tutulumlarının

patogenezinin açıklanmasında çalışmamızın sonuçlarının önemli katkısı olacağını düşünmekteyiz.

İBH'lı hastalarda, hastalığın aktif dönemlerinde serumda ve kolon dokularında VEGF düzeylerinin arttığı çeşitli çalışmalar ile gösterilmiş (19,20,24) olmakla birlikte, çalışmamızda kolit modellerinin kolon dokularında ölçülen VEGF düzeyleri kontrol gruplarından farklı değildi. Literatürü incelediğimizde, çalışmamız ile uyumlu olarak 2 çalışmada, VEGF seviyelerinin İBH'da artmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmalardan birinde 145 CH, 73 ÜK hastası ve 115 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alınmış. Hastaların serum VEGF (sVEGF) düzeyleri remisyon ve aktivasyon dönemlerine göre kontrol grupları ile karşılaştırılmış ve ÜK hastalarında remisyon ve aktivasyon dönemlerinde ölçülen sVEGF düzeylerinin sağlıklı kontrol gruplarından farklı olmadığı gösterilmiştir (109). Yapılan diğer çalışmada ise; 50 ÜK, 44 CH ve 23 sağlıklı kontrol grubunda plazma ve serum VEGF düzeyleri değerlendirilmiştir. Plazma VEGF (pVEGF) seviyelerinin aktif ve remisyondaki CH'larında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük olduğu gösterilmiş olmakla birlikte, ÜK hastalarında gösterilen düşük pVEGF düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış. pVEGF düzeylerinin sVEGF düzeyleri ile karşılaştırılmasında ise sVEGF seviyelerinin, pVEGF seviyelerinden 6 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (108).

İnsan serumundaki VEGF'nin başlıca kaynağı trombositlerdir ve İBH'lı hastalarda trombositlerin arttığı gösterilmiştir (136-138). sVEGF seviyeleri intestinal mukozadan ziyade trombosit kaynaklı VEGF düzeylerini yansıtır. sVEGF düzeylerinin İBH'lı hastalarda azalmış olması, trombosit sayısındaki azalmadan ya da trombosit fonksiyon bozukluğundan kaynaklanabilir. İBH hastalarının çoğunda, trombosit sayısı arttığı gözönünde tutulursa, İBH'lı hastalarda, trombosit sayısı yerine, ortalama trombosit volümünün değerlendirilmesinin daha uygun bir parametre olarak kullanılması önerilmiştir. Küçük trombositlerin yaygınlığının düşük VEGF aktivasyonunun bir göstergesi olabileceği öne sürülmüştür (138). Nitekim, yapılan çalışmalarda, aktive trombositlerin daha büyük yapıda olduğu saptanmıştır (139,140). pVEGF doku içindeki VEGF düzeylerini yansıtmaktadır. pVEGF seviyelerinin İBH'lı hastalarda azalmış olması; İBH patogenezinde önemli rolü

olduğu düşünölen angionezis teorisi ile tezat teşkil etmektedir. Remisyondaki İBH'lı hastalarda bile pVEGF'nin azalmış olması, VEGF sentez bozukluğunun olabileceğini akla getirmektedir (20). Deneysel kolit modellerimizde ölçölen VEGF, doku kaynaklı VEGF olup, pVEGF'dir. Hem TNBS hem de DSS kolit grupları, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında; TNBS kolit grubunda pVEGF: 36.8±1.0 (pg/mgprotein), TNBS kontrol grubunda pVEGF: 37.9±12.6 (pg/mgprotein), DSS kolit grubunda pVEGF: 33.0±12.4 (pg/mgprotein), DSS kontrol grubunda pVEGF: 29±5.7 (pg/mgprotein) idi. Her iki kolit modeli kontrol modeli ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (sırasıyla, p:0.589, p:1.0). Çalışmamızda, hem TNBS hem de DSS kolit grubunun akciğer dokularında pVEGF düzeylerinde artış gösterilmesine rağmen, kolon dokularında ölçölen pVEGF düzeylerinin normal olarak saptanması, iki farklı mekanizma ile açıklanabilir; 1) DSS ve TNBS kolitine duyarlı ratların kolon dokusundaki gen ekspresyonunu karşılaştıran çalışmalarda, TNBS kolitinde 21, DSS kolit modelinde ise 387 gen ekspresyonunda farklılıklar gösterilmiştir (141). Bu farklılık sebebiyle, kullanılan ratların cinsine göre inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında genetik farklılıklar olabilir. 2) Deneysel kolit modellerinde, kolonda ortaya çıkan kolit modelinin etyopatogenezinde, VEGF'in rol oynamadığı düşünölebilir.

İBH'da hastalığın seyri sırasında, makrofajlardan salgılanan TNF- $\alpha$ , önemli bir proinflamatuvar sitokindir ve İBH'da önemli bir rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (25,115). TNF- $\alpha$ 'nın inflamasyonun sürdürölmesi dışında, direkt ve indirekt olarak anjiogenezisi de tetikleyebildiği bilinmektedir (18). Çalışmamızda akciğer ve kolon dokularında ölçölen TNF- $\alpha$  düzeylerinin her iki kolit modelinde de kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olması (TNBS grubunda p: 0.002, DSS grubunda p: 0.002), artan TNF- $\alpha$ 'nın kolon inflamasyonunda ve akciğer patolojisinin oluşumunda etkili olabileceğini düşöndürmektedir.

TNF- $\alpha$ , İBH patogenezinde mukozal immün yanıtta önemli rol oynayan proinflamatuvar bir sitokindir (115). Önceki çalışmalara benzer biçimde, çalışmamızda da artmış TNF- $\alpha$  düzeylerinin gösterilmiş olması, İBH patogenezinde TNF- $\alpha$ 'nın önemli bir rol oynadığını desteklemektedir. Gerek TNBS, gerekse DSS kolit gruplarının akciğer ve kolon dokuları kendi kontrol grupları ile

karşılaştırıldığında, kolit gruplarında, TNF- $\alpha$  düzeyleri anlamlı olarak yükselmişti. TNF- $\alpha$ 'nın hem kolon hem de akciğer dokusunda artması, kolitli sıçanlarda oluşan akciğer patolojisinin zamanlaması ve senkronluğu hakkında bize bilgi vermektedir. Sonuçlarımız, kolit oluşturulan sıçanların akciğer dokularında artmış TNF- $\alpha$  ve VEGF ile ilişkili alveoler hemorajinin, kolon dokularında ortaya çıkan inflamasyonla eş zamanlı olarak başlamış olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde, İBH ile ilgili deneysel kolit modellerinde akciğer dokularında TNF- $\alpha$  ve VEGF gibi inflamatuvar sitokinlerin rolünü araştıran bir çalışma bulunmaması nedeniyle, çalışmamızın akciğer patolojisi ve kolit ilişkisinin zamanlamasıyla ilgili ilk çalışma olduğu söylenebilir.

İBH, aktivasyon ve remisyonlarla seyreden, kronik, inflamatuvar bir hastalıktır. Çalışmamızın yalnızca 7 gün boyunca oluşturulan kolit modeli üzerine yapılmış olması önemli eksikliklerinden birisidir. Bizim saptamış olduğumuz bulguların daha uzun süreli kronik kolit modelinde de çalışılması, sonuçlarımızı tamamlayıcı olacaktır. Akut ve kronik kolit dönemlerinde, akciğer dokularında saptanan histopatolojik bulgular ile inflamasyonda rol oynayan inflamatuvar sitokinler farklılık gösterebilir. Özellikle akut dönemde muhtemelen TNF- $\alpha$  ile ilişkili angiogenesis ve VEGF artışına bağlı olarak gözlemlediğimiz alveoler hemoraji ile başlayan sürecin, kronik kolit döneminde alveoler hemosiderozis ve fibrozis gelişimi ile devam edip etmediğinin araştırılması gerekmektedir.



## 6. SONUÇ

Çalışmamızda, İBH'da kolit ile doğrudan ilişkili olarak akciğerde anlamlı ve ciddi histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklerin meydana geldiği gösterilmiştir. Gerek TNBS, gerek DSS ile oluşturulan İBH modellerinde, akciğerlerin histopatolojik incelemesi sonucunda, alveoler hemoraji olduğu gözlenmiştir. Akciğer tutulumu, muhtemelen kolondaki inflamasyon ile eş zamanlı olarak başlamaktadır. Her iki organda meydana gelen patolojilerde, TNF- $\alpha$ , inflamasyonda ve/veya direkt ve indirekt mekanizmalar ile anjiogenezisde önemli bir rol oynamaktadır. Alveoler hemorajiye akciğerde VEGF artışının eşlik etmesi, alveolar permeabilite artışının indüklediği alveolar hemoraji ile başlayan, pulmoner hemosiderozis ve fibrozise kadar gidebilecek bir patolojik sürecin söz konusu olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda, İBH'lı hayvanlarda, akciğer patolojisinin histopatolojik olarak gösterilmesinin, İBH'da ekstraintestinal tutulumların araştırılması ile ilgili çalışmalar için, araştırmacılara yeni bir yaklaşım sağlayacağını düşünmekteyiz.

## 7. ÖZET

### İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIĞINDA AKCİĞER TUTULUMUNUN DENEYSEL KOLİT MODELİNDE ARAŞTIRILMASI

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH), doku hasarı ve proinflamatuvar mediatörlerin salınımı ile karakterize inflamatuvar bir hastalıktır ve barsak dışı çeşitli organ tutulumları gösterebilmektedir. Yapılan klinik çalışmalarda, İBH'lı hastaların %1-26'sında asemptomatik/semptomatik akciğer tutulumu saptanmıştır. Bununla birlikte İBH'lı hastalarda akciğer tutulumunun histopatogenezi ile ilgili bilgilerimiz son derece sınırlıdır. Çalışmamızda İBH'da akciğer tutulumunu doku düzeyinde gösterebilmek ve muhtemel etyolojik faktörleri ortaya koymak amacıyla, deneysel kolit modelinde akciğer tutulumunun histopatolojik olarak incelenmesi ve doku *vasküler endotelial growth faktör* (VEGF) ve *Tümör nekrozis faktör alfa* (TNF- $\alpha$ ) düzeylerinin araştırılması planlanmıştır.

Çalışmaya 24 tane *Wistar albino* sıçan alındı ve 4 gruba ayrıldı; 2 ayrı grupta Dekstran sülfat sodyum (DSS) ve Trinitrobenzen sulfonik asid (TNBS) ile akut kolit oluşturuldu, diğer 2 grup ise her bir kolit modeli için kontrol grubu olarak alındı. Sıçanların kolonları ve akciğerleri çıkarılarak, her iki dokunun makroskopik (kolonda *Wallace* skorlaması esas alınarak) ve akciğerlerin histopatolojik incelemesi yapıldı. Akciğer dokusundaki VEGF ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonları ELISA yöntemiyle ölçüldü.

Her iki kolit grubunda da makroskopik kolit skoru kontrol gruplarından anlamlı derecede yüksekti ( $p=0.002$  ve  $p=0.002$ ). TNBS ve DSS kolit oluşturulan grupların akciğer dokularının histopatolojik incelemesinde yaygın alveolar hemoraji görüldü. Kontrol gruplarının akciğer dokularının histopatolojik incelemesi normaldi ( $p=0.015$  ve  $p=0.015$ ). Akciğer dokusundaki VEGF ( $p= 0.002$  ve  $p=0.004$ ) ve TNF- $\alpha$  ( $p= 0.002$  ve  $p=0.002$ ) düzeyleri kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yükselmişti. Kolon dokusunda TNF- $\alpha$  düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ( $p=0.002$ ).

Sonuç: İBH oluşturulan sıçanların akciğerlerinde, kontrol grubundan farklı olarak alveolar hemoraji olduğu gözlenmiştir. İBH'lı sıçanların akciğer dokularında aynı zamanda VEGF ve TNF- $\alpha$  düzeyleri de artmaktadır. Bu bulgular, İBH'nın sistemik tutulumunda TNF- $\alpha$ 'nın bir proinflamatuvar sitokin olarak önemli bir rol oynadığını, alveolar hemorajiye akciğerde VEGF artışının eşlik etmesi nedeniyle, alveolar permeabilite artışının indüklediği alveolar hemoraji ile başlayan, pulmoner hemosiderozis ve fibrozise kadar gidebilecek bir patolojik sürecin söz konusu olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İnflamatuvar barsak hastalığı, akciğer tutulumu, deneysel kolit.

## 8. SUMMARY

### INVESTIGATION OF LUNG INVOLVEMENT OF INFLAMMATORY

#### BOWEL DISEASE IN EXPERIMENTAL COLITIS MODEL

Inflammatory bowel disease (IBD) is characterized by tissue damage and proinflammatory mediator secretion and may show various organ involvements apart from bowel. In the clinical studies, it was found out that %1-26 of IBD patients had asymptomatic/symptomatic lung involvement. However, our knowledge on histopathogenesis of lung involvement in IBD patients is limited. In this study it is aimed to investigate histopathological features of lung involvement in experimental colitis model, and the tissue levels of vascular *endothelial growth factor* (VEGF), *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) to show lung involvement histologically, and possible etiological factors, .

The study included 24 Wistar albino rats which were classified as four groups; in the first two groups, acute colitis was induced with Dextran sulfate sodium (DSS) and Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS). The second two groups were taken as control groups for each colitis type. After extraction of colons and lungs of rats, both tissues were analysed macroscopically (by using Wallace score index for colon), and the lungs were examined histopathologically. The VEGF and TNF- $\alpha$  concentrations in the lung tissue were measured by ELISA method.

In both colitis groups macroscopic colitis scores were significantly higher than the control groups ( $p=0.002$  and  $p=0.002$ ). The histopathological examination of the lung tissues of TNBS and DSS colitis groups showed a widespread pulmonary hemorrhage. The histopathological features of lung tissues was normal in the control group ( $p=0.015$  and  $p=0.015$ ). VEGF ( $p=0.002$  and  $p=0.004$ ) and TNF- $\alpha$  ( $p=0.002$  and  $p=0.002$ ) levels in lung tissue were significantly increased in the control groups compared to those of the colitis groups. TNF- $\alpha$  level in colon tissue was found to be higher than that of the control group ( $p=0.002$ ).

**Conclusion:** In the lungs of rats with IBH, the features of alveolar hemorrhage are observed in contrast to control group. This histological feature is associated with an increase in the levels of VEGF and TNF- $\alpha$  in the lung tissues. Based on these findings, it is considered that TNF- $\alpha$  plays an important role in systemic involvements of IBD as a proinflammatory cytokine; and since VEGF increase in the lung accompanies alveolar hemorrhage, there is a pathological process which starts with alveolar hemorrhage induced by alveolar permeability increase and can result in pulmonary hemosiderosis and fibrosis.

**Keywords:** Inflammatory bowel disease, lung involvement, experimental colitis.

## 9. KAYNAKLAR

- 1- Jewell DP. Ulcerative colitis, Sleisenger and Fordtrans Gastrointestinal and Liver Disease. WB Saunders Company 2002; 103:2039-2067.
- 2- Sands BE, Crohn Disease. Sleisenger and Fordtrans Gastrointestinal and Liver Disease. WB Saunders Company 2002; 103:2005-2038.
- 3- Su CG, Judge TA, Lichtenstein GR, Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. Gastroenterol Clin North Am 2002; 31:307-27.
- 4- Kraft SC, Earle RH, Rossler M, et al. Unexplained bronchopulmonary disease with pulmonary bowel disease. Arc Intern Med 1976; 136:454-459.
- 5- Camus P, Piard F, Ashcroft T, et al. The lung in inflammatory bowel disease. Medicine (Baltimore) 1993; 72:151-83.
- 6- Higenbottam T, Cochrane GM, Clark TJH, et al. Bronchial disease in ülcerative colitis. Thorax 1980; 35:581-585.
- 7- Garg K, Lynch DA, Newell JD. Inflammatory airways disease in ulcerative colitis: CT and high resolution CT features. J Thorac Imaging 1993; 8:159-163.
- 8- Butland RJA, Cole P, Citron KM, et al. Chronic bronchial suppuration and inflammatory bowel disease. Q J Med 1981; 50:63-75.
- 9- Kinnear W, Higenbottam T. Pulmonary manifestations of inflammatory bowel disease. Intern Med Spec 1983; 199:825-829.
- 10- Songür N, Songür Y, Tüzün M, et al. Pulmonary function tests and high-resolution CT in the detection of pulmonary involvement in inflammatory bowel disease. J Clin Gastroenterol 2003; 37:292-8.
- 11- Mahadeva R, Walsh G, Flower CDR, et al. Clinical and radiological characteristics of lung disease in inflammatory bowel disease. Eur Respir J 2000; 15:41-48.
- 12- Marvisi M, Borello PD, Brianti M, et al. Changes in the carbon monoxide diffusing capacity of the lung in ulcerative colitis. Eur Respir J 2000; 16:965-8.
- 13- Arakawa H, Webb WR, McCowin M, et al. Inhomogeneous lung attenuation at thin section CT: diagnostic value of expiratory scans. Radiology 1998; 206:89-94.
- 14- Stern EJ, Swensen SJ, Hartman TE, Frank MS. CT mosaic pattern of lung attenuation: distinguishing different causes. AJR. 1995; 165:813-816.
- 15- Remy-jardin M, Remy J, Giraud F, et al. Computed tomography (CT) assessment of ground-glass opacity: semiology and significance. J Thorac Imag 1993; 8:249-264.
- 16- Fireman Zvi, Osipov A, Kivity S, et al. The use of induced sputum in the assessment of pulmonary involvement in Crohn's disease. Am J Gastroenterol 2000; 95:730-4.

- 17- Kawada M, Arihiro A, Mizoguchi E. Insights from advances in research chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13:5581-5593.
- 18- Koutroubakis IE, Tsiolakidou G, Karmiris K, Kouroumalis EA. Role of angiogenesis in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12:515-23.
- 19- Kanazawa S, Tsunoda T, Onuma E, et al. VEGF, basic-FGF, and TGF-beta in Crohn's disease and ulcerative colitis: a novel mechanism of cronic intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:822-828.
- 20- Griga T, Tromm A, Spranger J, May B. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33:504-8.
- 21- Griga T, Voigt E, Geretzer B, et al. Increased production of vascular endothelial growth factor by intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 1999; 46:920-923.
- 22- Le Cras TD, Spitzmiller RE, Albertine KH, et al. VEGF causes pulmonary hemorrhage, hemosiderosis, and air space enlargement in neonatal mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287:134-142.
- 23- Beddy D, Watson RW, Fitzpatrick JM, et al. Increased vascular endothelial growth factor production in fibroblasts isolated from strictures in patients with Crohn's disease. *Br J Surg* 2004; 91:72-77.
- 24- Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Benazzato L, et al. Infliximab downregulates basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in Crohn's disease patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19:1019-1024.
- 25- Podolsky DK. Inflammatory bowel Disease. *N Engl J Med* 2002; 347:417-29.
- 26- Sandborn WJ, Targan SR. Biologic therapy of inflammatory boweldisease. *Gastroenterology* 2002; 122:1592-608.
- 27- Stenson WF, In Goldman L, Ausiello D, Inflammatory bowel disease. *Cecil textbook of medicine* 2004; 861-868.
- 28- Dağlı Ü. İnflamatuvar Barsak Hastalıklarının Epidemiyolojisi. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Derneği el kitabı 2006; 3-10.
- 29- Loftus EV, Sandborn WJ. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31:1-20.
- 30- Martins NB, Peppercorn MA. Inflammatory Bowel Disease. *Am J Manag Care* 2004; 10:544-552.
- 31- Yücesoy M. Etiology and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1:4-9.

- 32- Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, et al. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins: A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1998; 29:990-6.
- 33- Ardizzone S, Bianchi Porro G. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *J Intern Med* 2002; 252:475-96.
- 34- Sellon RK, Tonkonogy S, et al. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun* 1998; 66:5224-5231.
- 35- Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: Etiology and pathogenesis, *Gastroenterology* 1998; 115:182-205.
- 36- Anderson RE, Olaison G, Tysk C, Ekborn A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2001; 344:808-14.
- 37- Kaplan GG, Jackson T, Sands BE, Frisch M, Anderson RE, Korzenik J. The risk of developing Crohn's disease after an appendectomy. *Am J Gastroenterol* 2008; 103:2925-2931.
- 38- Lindberg E, Tysk C, Anderson K, Jarnerot G. Smoking and inflammatory bowel disease. *Gut* 1988; 29:352-7.
- 39- Matri S, Karoui S, Filali A. Tobacco and inflammatory bowel disease. *Tunis Med* 2000; 78:693-8.
- 40- Sandler RS, Sandler DP, McDonnell CW, Wurzelmann CI. Child exposure to environmental tobacco exposure smoke and the risk of ulcerative colitis. *Am J Epidemiol* 1992; 135:603-8.
- 41- Martin AR, Villegas I, La Casa C. The cyclo-oxygenase-2 inhibitor, rofecoxib, attenuates mucosal damage due to colitis induced by trinitrobenzene sulphonic acid in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 48:281-91.
- 42- Matsuda H, Fujiyama Y, Andoh A, Ushijima T, Kajinami T, Bamba T. Characterization of antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15:61-8.
- 43- Kleessen B, Kroesen AJ, Buhr HJ, Blaut M. Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37:1034-41.
- 44- Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37:42-7.
- 45- Satsangi J, Silverberg MS, et al. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* 2006; 55:749-753.
- 46- Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis. Final report in therapeutic trial. *Br Med J* 1955; 2:1041-48.

- 47- Farmer RG, Whelan G, Fazio VW. Long-term follow-up of patients with Crohn's disease: Relationship between clinical pattern and prognosis. *Gastroenterology* 1985; 88:1818-25.
- 48- Gasche C, Scholmerich J, Byrnskov J, et al. A simple classification of Crohn's disease; report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology Vienna 1998. *Inflam Bowel Dis* 2000; 6:8-15.
- 49- Çavuşoğlu H. İnflamatuvar Barsak hastalığı. In: Temel İç Hastalıkları, Iliçin G, Unal S, Biberoglu K, Akalın S, Süleymanlar G. Ankara Güneş Kitabevi Ltd Şti. 1996; 1005-17.
- 50- Scotinotis I, Rubesin SE, Ginsberg GG, Imaging Modalities in Inflammatory Bowel Disease *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28:391-421.
- 51- Brambs HJ, Haunstein KH, Nöldge G. Inflammataory Bowel Diseases: Radiographical Diagnostics. Falk Foundation 1998; 1-61.
- 52- Marteau P. "Inflammatory Bowel Disease". *Endoscopy* 2000; 32:131-7.
- 53- Konduk B, Hulagu S, et al. Diagnosis of İnflammatary Bowel Disease. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1:16-53.
- 54- Uzunismail H. Hamuryudan V, Sonsuz A, Yazıcı H. İnflamatuvar Barsak Hastalığı İBH. *Cerrahpaşa İç hastalıkları, İstanbul Medikal Yayıncılık* 2005; 819-827.
- 55- Bockus HL, Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE. *Gastroenterology*. Philadelphia: WB Saunders Company 1995.
- 56- Telatar H, Şimşek H. *Gastroenteroloji*. Ank. Hekimler Yayın Birliği 1993.
- 57- Tremaine WJ, Bayless TM, Hanauer SB. Advanced Therapy of Inflammatory Bowel Disease 2000; 115-117.
- 58- Cohen RD, Woseth DM, Thisted RA, Hanauer SB. A metaanalysis and overview of the literature on treatment options for left-sided ulcerative colitis and ulcerative proctitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:1263-1276.
- 59- Marshall JK, Irvine EJ. Putting rectal 5-aminosalicylic acid in its place: the role in distal ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:1628-1636.
- 60- Katz JA. Treatment of inflammatory bowel disease with corticosteroids. *Gastroenterol Clin North Am* 2004; 33: 171-189.
- 61- Baron JH, Connell AM, Kanaghinis TG, Lennard-Jones JE, Jones AF. Out-patient treatment of ulcerative colitis. Comparison between three doses of oral prednisone. *Br Med J* 1962; 2:441-443.
- 62- Patricia L Kozuch, Stephen B Hanauer. Treatment of inflammatory bowel disease: A review of medical therapy. *World J Gastroenterol* 2008;14:354-377.
- 63- Sandborn WJ. A review of immune modifier therapy for inflammatory bowel disease: azathioprine, 6-mercaptopurine, cyclosporine, and methotrexate. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:423-433.

- 64- Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, et al. North American Crohn's Study Group Investigators. Comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2000; 342:1627-1632.
- 65- Pierik M, Rutgeerts P, Vlietinck R, Vermeire S. Pharmacogenetics in Inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12:3657-3667.
- 66- Jani N, Regueiro MD. Medical therapy for ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31:147-166.
- 67- Cohen RD, Stein R, Hanauer SB. Intravenous cyclosporine in ulcerative colitis: a five-year experience. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1587-1592.
- 68- Sutherland L, Singleton J, Sessions J, Hanauer S, Krawitt E, Rankin G, et al. Double-blind placebo-controlled trial of metronidazole in Crohn's disease. *Gut* 1991; 32:1071-1075.
- 69- Rutgeerts P, Hiele M, Geboes K, Peeters M, Penninckx F, Aerts R, et al. Controlled trial of metronidazole treatment for prevention of Crohn's recurrence after ileal resection. *Gastroenterology* 1995; 108:1617-1621.
- 70- Arnold GL, Beaves MR, Pryjdun VO, Mook WJ. Preliminary study of ciprofloxacin in active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8:10-15.
- 71- Turunen UM, Farkkila MA, Hakala K, Seppala K, Sivonen A, Ogren M, et al. Long-term treatment of ulcerative colitis with ciprofloxacin: a prospective, double-blind, placebo-controlled study. *Gastroenterology* 1998; 115:1072-8.
- 72- Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D' Haens G, Carbonez A, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003; 348:601-608.
- 73- Probert CS, Hearing SD, Schreiber S, Kühbacher T, Ghosh S, Arnott ID, et al. Infliximab in moderately severe glucocorticoid resistant ulcerative colitis: a randomised controlled trial. *Gut* 2003; 52:998-1002.
- 74- Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, Reinisch W, Olson A, Johanns J, et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2005; 353:2462-2476.
- 75- Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R, Hanauer SB, Panaccione R, et al. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology* 2007; 132:52-65.
- 76- Marshall JK. Review: azathioprine, infliximab, certolizumab, and adalimumab are effective for maintaining remission in Crohn's disease. *Evid Based Med* 2008; 13:115.
- 77- Hommes DW, Mikhajlova TL, Stoinov S, Stimac D, Vucelic B, Lonovics J, et al. Fontolizumab, a humanised anti-interferon gamma antibody, demonstrates safety and clinical activity in patients with moderate to severe Crohn's disease. *Gut* 2006; 55:1131-1137.



- 78- Sezgin O. Clinical Features of Inflammatory Bowel Diseases. *Türkiye klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1:10-15.
- 79- Storch I, Sachar D, Katz S. Pulmonary manifestations of Inflammatory Bowel Disease. *Inf Bowel dis* 2003; 9: 104-15.
- 80- Balestra DJ, Belestra ST, Wasson JH. Ulcerative colitis and steroid responsive, diffuse interstitial lung disease. *JAMA* 1988; 260:62-4.
- 81- McKee AL, Pajapaksa A, Kalish PE. Severe interstitial pulmonary fibrosis in patient with chronic ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1983; 78:86-9.
- 82- Patwardhan RV, Heipern J, Brewster AC, et al. Pleuropericarditis: An extraintestinal complication of inflammatory bowel disease. *Ach Intern med* 1983; 143:94-96.
- 83- Snook JA, De Silva HJ, Jewell DP. The association of autoimmune disorders with inflammatory bowel disease. *QJM* 1989; 72:835-40.
- 84- Rath HC, Herfarth HH, Ikeda JS, et al. Normal luminal bacteria, especially *Bacteroides* species, mediate chronic colitis, gastritis, and arthritis in HLA-B27/human beta2 microglobulin transgenic rats. *J Clin Invest* 1996; 98:945-53.
- 85- Sartor RB. Review article: How relevant to human inflammatory bowel disease are current animal models of intestinal inflammation. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11:89-96.
- 86- Biancone L, Mandal A, Yang H, et al. Production of immunoglobulin G and G1 antibodies to cytoskeletal protein by lamina propria cells in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1995; 109:3-12.
- 87- Das KM, Sakamaki S, Vecchi M, et al. The production and characterization of monoclonal antibodies to a human colonic antigen associated with ulcerative colitis: Cellular localization of the antigen. by using the monoclonal antibody. *J Immunol* 1987;139:77-84.
- 88- Geng X, Biancone L, Dai HH, et al. Tropomyosin isoforms in intestinal mucosa: production of autoantibodies to tropomyosin isoforms in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1998; 114:912-22.
- 89- Bhagat S, Das KM. A shared and unique peptide in the human colon, eye and joint detected by a monoclonal antibody. *Gastroenterology* 1994; 107:103-8.
- 90- Das KM, Vecchi M, Sakamaki S. A shared and unique epitope(s) on human colon, skin, and biliary epithelium detected by a monoclonal antibody. *Gastroenterology* 1990; 98:464-9.
- 91- Das KM. Relationship of extraintestinal involvements in inflammatory bowel disease: New insights into autoimmune pathogenesis. *Dig Dis Sci* 1999; 44:1-13.
- 92- Satsangi J, Grootcholten C, Holt H, et al. Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. *Gut* 1996; 38:738-41.

- 93- Roustomoustakaki M, Satsangi J, Welsh K, et al. Genetic markers may predict disease behavior in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1997; 112:1845-53.
- 94- Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997; 386:671-674.
- 95- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995; 1:27-31.
- 96- Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; 9: 653-660.
- 97- Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438:932-936.
- 98- Minchenko A, Bauer T, Salceda S, Caro J. Hypoxic stimulation of vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo. *Lab Invest* 1994; 71:374-379.
- 99- Simons M. Angiogenesis: where do we stand now? *Circulation* 2005; 111:1556-1566.
- 100- Qu Z, Liebler JM, Powers MR, et al. Mast cells are a major source of basic fibroblast growth factor in chronic inflammation and cutaneous hemangioma. *Am J Pathol* 1995; 147:564-573.
- 101- Taylor PC, Sivakumar B. Hypoxia and angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2005; 17:293-298.
- 102- Hatton MW, Southward SM, Legault KJ, et al. Fibrinogen catabolism within the procoagulant VX-2 tumor of rabbit lung in vivo: effluxing fibrin(ogen) fragments contain antiangiogenic activity. *J Lab Clin Med* 2004; 143:241-254.
- 103- Cullen JP, Sayeed S, Sawai RS, et al. Pulsatile flow-induced angiogenesis: role of G(i) subunits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1610-1616.
- 104- Schaper W, Scholz D. Factors regulating arteriogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1143-1151.
- 105- Jackson JR, Seed MP, Kircher CH, et al. The codependence of angiogenesis and chronic inflammation. *FASEB J* 1997; 11:457-465.
- 106- Hatoum OA, Binion DG, Gutterman DD. Paradox of simultaneous intestinal ischaemia and hyperaemia in inflammatory bowel disease. *Eur J Clin Invest* 2005; 35:599-609.
- 107- Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18:4-25.
- 108- Kapsoritakis A, Sfiridaki A, Maltezos E, et al. Vascular endothelial growth factor in inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis* 2003; 18:418-422.
- 109- Magro F, Araujo F, Pereira P, et al. Soluble selectins, sICAM, SVCAM, and angiogenic proteins in different activity groups of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2004; 49:1265-1274.
- 110- Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular Endothelial growth Factor (VEGF) and its receptors. *The FASEB Journal* 1999; 13:10-22.

- 111- Kliche S, Waltenberger J. VEGF receptor signal and endothelial function. *JMBF Life* 2001; 52:61-66.
- 112- Oberhalzer A, Oberhalzer C, Moldower LL. Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med* 2000; 28:3-12.
- 113- Akhorfy KM, Kellum JA, Matzke GR. Unintended immunomodulation. Part II. Effects of pharmacological agents on cytokine activity. *Shock* 2000; 13:346-60.
- 114- Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, Koller BH, Geraghty DE, Orr HT, Strominger JL, Spies T: Linkage map of the human histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:8535-8539.
- 115- Sandborn WJ, Hanauer SB. Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results and safety. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5:119-133.
- 116- Beutler B, Caroni A. More than a tumor necrosis factor. *N. Engl. J. Med* 1987; 316:379-85.
- 117- Groir BP. Mediators of septic shock. New approaches for interrupting the endogenous inflammatory cascade. *Crit Care Med* 1998; 21:780-6.
- 118- Anje A, Te Velde, Marleen I. Verstege and Daniel W. Hommes, MD. Critical Appraisal of the Current Practice in Murine TNBS-induced Colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12:995-999.
- 119- Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:521-533.
- 120- Pizarro TT, Arseneau KO, Bamias G, et al. Mouse models for the study of Crohn's disease. *Trends Mol Med* 2003; 9:218-222.
- 121- Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96:795-803.
- 122- Zhang-Hoover J, Sutton A, Van Rooijen N, Stein-Streilein J. A critical role for alveolar macrophages in elicitation of pulmonary immune fibrosis. *Immunology* 2000; 101:501-511.
- 123- Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 1990; 98:694-702.
- 124- Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993; 69:238-249.
- 125- Komai H, Naito Y, Okamura Y. Dextran sulfate as a leukocyte-endothelium adhesion molecule inhibitor of lung injury in pediatric open-heart surgery. *Perfusion* 2005; 20:77-82.

- 126- Hocking D, Ferro TJ, Johnson A. Dextran sulfate and heparin sulfate inhibit platelet-activating factor-induced pulmonary edema. *J Appl Physiol* 1992; 72:179-85.
- 127- Lamine F, Eutamène H, Fioramonti J, Buéno L, Théodorou V. Colonic responses to *Lactobacillus farciminis* treatment in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis in rats. *Scand J Gastroenterol* 2004; 39:1250-8.
- 128- Obermeier F, Kojouharoff G, Hans W, Schölmerich J, Gross V, Falk W. Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ )- and tumour necrosis factor (TNF)-induced nitric oxide as toxic effector molecule in chronic dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Clin Exp Immunol* 1999; 116:238-245.
- 129- Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkiler. Mimoza Yayınları, Konya. 1995; 1-132.
- 130- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.
- 131- Bewing B, Manske I, Bottcher H, et al. Crohn's disease mimicking sarcoidosis in bronchoalveolar lavage. *Respiration* 1999; 66:467-9.
- 132- Gursoy S, Guven K, Kula M, Canoz O, Yurci A, et al. Subclinical alveolar involvement in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11:372-5.
- 133- Kanazawa H, Asai K, Hirita K, Yoshikawa J. Possible effects of vascular endothelial growth factors in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Med* 2003; 114:354-358.
- 134- Hoshino M, Nakamura Y, Hamid QA. Gene expression of vascular endothelial growth factor and its receptors and angiogenesis in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107:1034-1038.
- 135- Zachary I. VEGF signaling: integration and multi-tasking in endothelial cell biology. *Biochem Soc Trans* 2003; 31:1171-1177.
- 136- Gunsilius E, Petzer A, Stockhammer G, Nussbaumer W, Schumacher P, Clausen J, Gastl G. Thrombocytes are the major source for soluble vascular endothelial growth factor in peripheral blood. *Oncology* 2000; 58:169-174.
- 137- Verheul HM, Hoekman K, Luykx-de Bakker S, Eekman CA, Folman CC, Broxterman HJ, Pinedo HM. Platelet: transporter of vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res* 1997; 2:187-2190.
- 138- Kapsoritakis AN, Koukourakis MI, Sfiridaki A, Potamianos SP, Kosmadaki MG, Koutroubakis LE, Kouroumalis EA. Mean platelet volume: a useful marker of inflammatory bowel disease 2001; 96:776-81.
- 139- Martin JF, Bath PM, Burr ML. Influence of platelet size on outcome after myocardial infarction. *Lancet* 1991; 338:1409-1411.
- 140- Pizzulli L, Yang A, Martin JF, Luderitz B. Changes in platelet size and count in unstable angina compared to stable angina or non-cardiac chest pain. *Eur Heart J* 1998; 19:80-84.

141- Te Velde AA, Kort F, Sterrenburg E, Pronk I, Ten Kate FJ, Hommes DW, Van Deventer SJ. Comparative analysis of colonic gene expression of three experimental colitis models mimicking inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 325 - 330.