

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ
ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TIBBİ PATOLOJİ KLİNİĞİ

EĞİTİM SORUMLUSU: Prof. Dr. NASUHI ENGİN AYDIN



İZMİR KATİP ÇELEBİ
ÜNİVERSİTESİ



İNFLAMATUVAR BAĞIRSAK HASTALIKLARINDA DOKU
TNF ALFA DÜZEYİNİN KLİNİK SEYİR VE TEDAVİYE YANIT
ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. AYŞE VATANSEVER ŞEKER
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Uzm. Dr. NEŞE EKİNCİ

İZMİR 2014

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim ve tezimin planlama, yapım ve değerlendirmesinde çok büyük emek ve katkıları olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tez danışmanım Uzm. Dr. Neşe Ekinci'ye,

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan sayın Prof. Dr. Fulya Çakalağaoğlu'na,

Uzmanlık eğitimimin son bir yılı süresince klinik çalışmalarına her zaman destek olan sayın Prof. Dr. Nasuhi Engin Aydın ve Prof. Dr. Fatma Hüsniye Dilek'e,

Uzmanlık eğitimim süresince tıbbi bilgi ve becerilerimi kazanmamda engin bilgi ve tecrübesiyle yanımda bulunan, her konuda yol gösteren, insani ve ahlaki yönleriyle de örnek aldığım değerli emekli hocam Doç. Dr. Rukiye Mine Tunakan Öztop'a,

Çalışmam süresince bilgi, tecrübe ve desteklerini benden esirgemeyen bölümümüz doktorları Doç. Dr. Arzu Avcı ve Doç. Dr. Ayşegül Akder Sarı'ya; hastanemiz Gastroenteroloji Kliniği doktorları Doç. Dr. Belkıs Ünsal ve Uzm. Dr. Cem Çekiç'e,

Eğitimime yaptıkları her türlü katkıdan dolayı bölümümüz tüm uzman doktorlarına, aynı çalışma ortamını paylaştığım ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma,

Tez aşamasında özellikle teknik konularda yardımlarını esirgemeyen başta Hülya Gören ve Ayhan Kancar olmak üzere tüm patoloji teknisyenlerine,

Tezimin gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen ve her zaman iyi niyetle desteğini gördüğüm Cemile Balibey'e ve bölümümüz sekreterlerine,

İstatistiksel değerlendirme aşamasında katkılarından dolayı Tolga Cevizci'ye,

Bugünlere gelmemi sağlayan sevgili anneme, babama ve hayatım boyunca hep yanımda olan sevgili kardeşime,

Ayrıca sonsuz sabrı ve özverisiyle, beni bu zorlu süreçte her zaman motive eden, her zaman yanımda olan eşim Mesut'a ve biricik oğlumuz Tuna'ya tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Önsöz	I
İçindekiler	II-III
Tablo Dizini	IV
Grafik Dizini	VI
Şekil Dizini	VII
Resim Dizini	VIII
Kısaltmalar	IX
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1-2
2.GENEL BİLGİLER	3-48
2.1. Epidemiyoloji	
2.2. Etiyoloji	
2.2.1. Genetik Faktörler	
2.2.2. Çevresel Faktörler	
2.3. Patogenez	
2.3.1. Epitel Hücreleri	
2.3.2. Doğal İmmün Yanıt	
2.3.3. Edinsel İmmün Yanıt	
2.4. Klinik	
2.4.1. Ülseratif Kolitte Klinik	
2.4.2. Crohn Hastalığında Klinik	
2.5. Tanı	
2.5.1. Laboratuvar Testleri	
2.5.2. Endoskopik Yöntemler	
2.5.3. Radyoloji	
2.5.4. Patoloji	
2.6. Tedavi	
2.6.1. Konvansiyonel Tedavi	
2.6.2. Biyolojik Tedavi	
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49-53
3.1. Olgu seçimi	
3.2. Doku Örnekleri	
3.3. Mikroskopik İnceleme	
3.4. İmmunohistokimyasal Yöntem ve TNF-alfa Eksprese Eden Hücrelerin Saptanması	
3.5. İmmunohistokimyasal Boyaların Değerlendirilmesi	
3.6. Hastaların Klinik Olarak Değerlendirilmesi	
3.7. İstatistiksel Analiz	
4. BULGULAR	54-82
4.1. Histopatolojik Bulgular	
4.2. Hasta Karakteristikleri ve Demografik Veriler	

4.3. İBH ve Kontrol Grubunda Mukozal TNF-alfa Düzeyleri ve Gruplar Arasında Karşılaştırma

4.4. Mukozal TNF-alfa Düzeyleri İle CD3 (+) T Lenfosit ve CD68 (+) Makrofaj Yoğunlukları Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

4.5. Mukozal TNF-alfa Düzeylerinin Klinik Parametrelere Etkisinin Değerlendirilmesi

4.6. Crohn Hastalarında Mukozal TNF-alfa Düzeylerine Göre Anti-TNF Ajanların Etkinliklerinin Karşılaştırılması

5. TARTIŞMA VE SONUÇ 83-92

6. ÖZET 93-94

7. SUMMARY 95-96

8. KAYNAKLAR 97-109

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Truelove-Witts sınıflaması

Tablo 2: ÜK Hastalık İndeksi

Tablo 3: CDAI

Tablo 4: ÜK hastalarının cinsiyet, anti-TNF tedavi şekli ve eşlik eden tedaviye göre dağılımı

Tablo 5: Crohn hastalarının cinsiyet, anti-TNF tedavi şekli ve eşlik eden tedaviye göre dağılımı

Tablo 6: ÜK ve CH arasındaki ortalama mTNF-alfa düzeyi ilişkisi

Tablo 7: ÜK ve kontrol grubu arasındaki ortalama mTNF-alfa düzeyi ilişkisi

Tablo 8: CH ve kontrol grubu arasındaki ortalama mTNF-alfa düzeyi ilişkisi

Tablo 9: ÜK hastalarında hastalık lokalizasyonuna göre mukozal TNF-alfa düzeyleri

Tablo10 A, B, C: Crohn hastalarında hastalık lokalizasyonuna göre mTNF-alfa düzeyleri

Tablo 11 A, B, C: CH hastalık davranış biçimine göre mTNF-alfa düzeyleri

Tablo 12: Crohn hastalarında perianal hastalık ile mTNF-alfa düzeyleri arasındaki ilişki

Tablo 13: ÜK, Crohn hastaları ve kontrol grubunda ortalama mukozal CD3 düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 14: ÜK, Crohn hastaları ve kontrol grubunda ortalama mukozal CD68 düzeylerinin karşılaştırılması

Tablo 15: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile hastaneye yatış gerekliliği arasındaki ilişki

Tablo 16: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile olumlu klinik parametreler arasındaki ilişki

Tablo 17: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile olumsuz klinik parametreler arasındaki ilişki

Tablo 18: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile fistül iyileşmesi arasındaki ilişki

Tablo 19: ÜK hastalarında mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyri olumlu etkileyen parametreler üzerindeki etkisi

Tablo 20: ÜK hastalarında mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyri olumsuz etkileyen parametreler üzerindeki etkisi

Tablo 21: CH'de ortalama mTNF-alfa düzeyinin hastane yatış gerekliliği ile olan ilişkisi

Tablo 22: CH'de ortalama mTNF-alfa düzeyinin olumlu klinik parametrelerle olan ilişkisi

Tablo 23: CH'de ortalama mTNF-alfa düzeyinin olumsuz klinik parametrelerle olan ilişkisi

Tablo 24: CH'de ortalama mTNF-alfa düzeyi ile fistül iyileşmesi arasındaki ilişki

Tablo 25: ÜK hastalarında ortalama mTNF-alfa düzeylerinin mukozal iyileşme üzerine olan etkisi

Tablo 26: ÜK hastalarında mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyri olumsuz etkileyen parametreler üzerindeki etkisi

Tablo 27: Düşük mukozal TNF-alfa düzeyli Crohn hastalarında anti-TNF ajanların etkinlikleri

Tablo 28: Yüksek mukozal TNF-alfa düzeyli Crohn hastalarında anti-TNF ajanların etkinlikleri

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1: Hastaların hastalık tipine göre dağılımı

Grafik 2: Hastaların cinsiyet dağılımı

Grafik 3: ÜK tutulum şekli dağılımı

Grafik 4: CH davranış biçimine göre dağılımı

Grafik 5: CH lokalizasyonuna göre dağılım

Grafik 6: ÜK ve Crohn hastalarının düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeylerine göre dağılımı

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: ÜK'de immünopatogenez

Şekil 2: CH'de immünopatogenez

Şekil 3: TNF'lerin biyolojisi, reseptör ilişkisi ve sinyal yolları

Şekil 4: Anti-TNF ilaçların yapısal özellikleri

Şekil 5: Crohn hastalarında remisyon idamesi olan ve olmayan hasta gruplarında mukozal TNF-alfa düzeylerine ait kutu grafiği

Şekil 6: Crohn hastalarında mukozal iyileşmesi olan ve olmayan hasta gruplarında mukozal TNF-alfa düzeylerine ait kutu grafiği

RESİM DİZİNİ

Resim 1: ÜK'de lamina propriada mikst inflamasyon, H&E X40

Resim 2: ÜK'de mikst inflamasyon ve arşitektürel distorsiyon, H&E X10

Resim 3: ÜK'de arşitektürel distorsiyon, H&E X20

Resim 4: ÜK'te kriptit, H&E X20

Resim 5: ÜK'de kript absesi, H&E X20

Resim 6: ÜK'de bazal plazmasitozis, H&E X4

Resim 7: ÜK'de bazal plazmasitosiz, H&E X40

Resim 8: CH'de aftöz ülser, H&E X40

Resim 9: CH'de granülom formasyonu, H&E X20

Resim 10: CH'de pilorik metaplazi, H&E X4

Resim 11: CH'de paneth hücre metaplazisi, H&E X10

Resim 12: ÜK'de lamina propriada sitoplazmik TNF-alfa (+) hücreler, TNF-alfa X40

Resim 13: CH'de lamina propriada sitoplazmik TNF-alfa (+) hücreler, TNF-alfa X40

Resim 14: Kontrol grubunda lamina propriada sitoplazmik TNF-alfa (+) hücreler, TNF-alfa X40

Resim 15: ÜK'de lamina propriada CD3 (+) T lenfositler, CD3 X40

Resim 16: CH'de lamina propriada CD3 (+) T lenfositler, CD3 X40

Resim 17: Kontrol grubunda lamina propriada CD3 (+) T lenfositler, CD3 X40

Resim 18: ÜK'de lamina propriada CD68 (+) histiyositler, CD68 X40

Resim 19: CH'de lamina propriada CD68 (+) histiyositler, CD68 X40

Resim 20: Kontrol grubunda lamina propriada CD68 (+) histiyositler, CD68 X40

KISALTMALAR

ANCA: Antinötrofil Sitoplazmik Antikor
Anti-CCP: Anti-Cyclic Citrullinated Peptide
Anti-TNF: Tümör Nekroz Faktör alfa antagonisti
AS: Ankilozan spondilit
ASCA: Antisaccaromyces serevicia antikor
BT: Bilgisayarlı tomografi
CDAI: Crohn's Disease Activity Index
CH: Crohn hastalığı
CRP: C reaktif protein
EMG: Elektromiyografi
H&E: Hematoksilen eozin
HTC: Hematokrit
IFN: İnterferon
IL: İnterlökin
İBH: İnflamatuvar bağırsak hastalığı
MR: Manyetik rezonans
NK: Natural killer
LT: Lenfotoksin
PPD: Purified protein derivative
R: Reseptör
RA: Romatoid artrit
S: Soluble
Th: T hepler
TLR: Toll like receptors
TNF: Tümör nekroz faktör
Treg: Regülatör T hücreleri
Tm: Transmembran
ÜK: Ülseratif kolit

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları; çeşitli hücrel ve hümoral immun cevap bozuklukları ile birlikte olan ülseratif kolit(ÜK) ve Crohn hastalığı(CH)dir (1). Tek etiyoloji tanımlanamamış olup; genetik olarak yatkın bireylerde, normal luminal flora veya çevresel tetikleyici ajan varlığında ortaya çıkan, aşırı agresif bağışıklık tepkisinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir (2, 3). Yapılan çok sayıda deneysel ve klinik çalışmaya rağmen patogenezleri tam olarak anlaşılamamakla birlikte; proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulması inflamatuvar bağırsak hastalıklarının patogenezindeki en temel mekanizmadır (1). Buna rağmen; klinik özellikler, histolojik bulgular ve immünite baskılayıcı ilaçların terapötik etkisi, bu hastalıkların patogenezinde ve progresyonunda immün sistem tutulumunu işaret etmektedir.

CH ve ÜK'de, etkilenmiş mukozada belirgin makrofaj infiltrasyonu izlenir. Son yıllarda, bağırsaktaki inflamatuvar yolağın başlatılması ve güçlendirilmesinde temel olan, makrofaj kökenli inflamatuvar sitokinler dikkat çekmektedir. Bu makrofajlar aktive olarak inflamatuvar sitokinler, serbest radikaller ve yıkıcı enzimler sentezleme yeteneği kazanır.

Aktive makrofajlar tarafından üretilen tümör nekroz faktör alfa (TNF-alfa), İBH patogenezini de içeren, çok sayıda etkiye sahip bir sitokindir. Bu etkiler arasında dokuda nötrofil birikimi, granülom oluşumu ve prokoagülan etkiler bulunur. TNF-alfa, ayrıca epitelyal hücreler için sitostatik olan, *tight junction* adı verilen bağlantılardaki geçirgenliği artırır; böylece interferon gamayla sinerjik etki göstererek bu epitelyal hücrelerin ölümüne yol açar.

Yapılan çalışmalarla, İBH hastalarının serum ve dışkılarında; kontrol gruplarına göre TNF-alfa düzeyinin artmış olduğu tesbit edilmiştir (4, 5). Ayrıca kontrol grubuna göre TNF-alfa sentezleyen lamina propria mononükleer hücrelerinde ve mukozal TNF-alfa düzeylerinde artış izlenmiştir (6). Yani TNF-alfa İBH hastalıklarının patogenezinde çok önemli role sahip bir sitokindir.

CH'nın doğal seyri inflamatuvar hastalıktan, stenoza ve fistülizan hastalık gibi daha komplike klinik durumlara doğru ilerleme ile karakterizedir. Hastalık aktivitesinin sonucu olan bu geri dönüşümsüz komplikasyonlar, tekrarlayan cerrahi tedavilere ve hayat kalitesinde bozulmalara neden olur. Bu komplikasyonların önlenmesi ancak hastalığın doğal seyrinin değiştirilmesi ile mümkündür. TNF-alfa antagonisti (anti-TNF) tedavileri ile CH'de aktivitenin hızlı ve uzun vadeli olarak baskılandığı, birçok vakada mukozal iyileşme olduğu ve fistüllerin kapandığı ortaya konmuştur. Daha sonraki yıllarda steroid tedaviye dirençli veya bağımlı orta-ciddi aktiviteli ÜK hastalarında da anti-TNF ajanların etkili olduğu gösterilmiştir. İBH tedavisinde bu ajanlardan infliksimab ve adalimumab kullanılmaktadır.

İBH tedavisinde son derece önemli yer tutan bu biyolojik ajanlar aynı zamanda immüniteyi baskılamalarına bağlı birçok yan etkiye de sahiptir. Bu nedenle hasta seçimi, yararlar ve olası yan etkiler düşünülerek dikkatli yapılmalı, tedaviye gastroenterolog takibi altında devam edilmelidir.

Tüm bu bilgilerin ışığında bu çalışmanın amacı; İBH'da tedavi öncesi mukozal TNF-alfa düzeylerinin anti-TNF tedaviye yanıt ve klinik seyir üzerine olan etkisinin araştırılması, ayrıca bu bulguların tedaviye aday hastaların seçiminde prediktif değeri olup olmadığı konusunda klinik çalışmalara yardımcı olabilmektir.

2. GENEL BİLGİLER

ÜK ve CH, inflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) olarak adlandırılan, gastrointestinal kanalın kronik inflamatuvar hastalıklarıdır. Etiyolojide çevresel faktörler, infeksiyöz ajanlar, genetik ve immün bozukluklar gösterilse de etyopatogenez kesin olarak bilinmemektedir (7). Genetik duyarlı kişilerde çeşitli çevresel faktörler ya da antijenlere abartılı immün yanıt ileri sürülmektedir (8).

2.1. EPİDEMİYOLOJİ

Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika insidans ve prevalansın en yüksek olduğu yerlerdir. Norveç'te yıllık insidans CH için 5.8/100000, ÜK için 12.8/100000 iken, bu oran Kanada'da 14.3/100000 ve 14.6/100000 olarak bildirilmiştir (9, 10). Türkiye için oranlar, İBH derneği veri tabanına göre ÜK için 4.1/100000 ve CH için 2.6/100000'dir (11). Her iki hastalık da çoğunlukla genç yaş grubunun hastalığıdır. En çok 20-29 yaşları arasında ortaya çıkarlar. İBH, 60-80 yaşları arasında ikinci bir pik yapar. Her iki cinsiyet için dağılım kabaca eşit oranlardadır (12). İBH, ekonomik durumu ve eğitim düzeyi yüksek kişilerde ve şehirde yaşayan insanlarda daha sık görülmektedir (13, 14).

2.2. ETİYOLOJİ

2.2.1. GENETİK FAKTÖRLER

İBH patogenezinde genetik faktörlerin önemli olduğunu gösteren bulgular mevcuttur. Hastaların birinci derece akrabalarında CH gelişme riskinin 35 kat, ÜK riskinin 15 kat arttığı ve monozigotik ikizlerde hastalık rastlanma oranının dizigotik ikizlere göre daha fazla olduğu belirtilmektedir (8, 15). Akrabalar arasında hastalığın tipi ve davranışı büyük oranda benzerlik gösterir (16). Crohn hastaları ile yapılan çalışmalarda 16. kromozomda genetik geçiş lokusu bulunmuştur. Buradaki sorumlu genin stoplazmik bir protein olan NOD2 veya CARD 15'i kodlayan gen olduğu saptanmıştır. NOD 2 mutasyonu için homozigotlarda CH riski 20 kat artmaktadır

fakat Crohn hastalarının sadece %20'sinde NOD2 mutasyonu saptanmıştır. Bu da CH'de başka genlerde de mutasyonlar olabileceğini göstermektedir (17). HLA DR2 ÜK'le, HLA DR1/DQw5 ve DRB30301 CH ile ilişkili görünmektedir. ÜK hastalarının %70'inde antinötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) pozitif saptanır. Crohn hastalarında bu oran %50'den azdır. ANCA'nın İBH patogenezindeki rolü bilinmemektedir (8, 15).

2.2.2. ÇEVRESEL FAKTÖRLER

2.2.2.1. SİGARA

Sigara içmeyenlerde ÜK gelişme riski içenlere göre daha fazladır. Sigarayı bırakmak ÜK'yi provake edebilir. Buna karşın CH sigara içenlerde daha çok görülür. Sigara içen Crohn hastalarında hastalık daha şiddetli seyrederek ve cerrahi sonrası nüks fazladır (18).

2.2.2.2. İLAÇLAR

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar ve antibiyotik kullanımı ÜK'te alevlenmeye neden olabilir. Oral kontraseptif kullanımı ile İBH arasındaki ilişki araştırılmış fakat güçlü bir bağ bulunamamıştır (19).

2.2.2.3. APPENDEKTOMİ

Çalışmalarda appendektominin ÜK'ten koruyucu olduğu gösterilmiştir. ÜK'te, lenfoid dokudan zengin olan appendikste B lenfositler, kolon hücre çatısında bulunan tropomiyosine karşı antikorlar geliştirir. Appendektomi bu durumu engeller (19).

2.2.2.4. DİYET

Diyet antijenlerinin İBH'nda rolü olduğunu düşündüren çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu hastalarda gıda antijenlerine karşı gelişmiş antikorlar bulunmuştur. Balık, kahve, margarin, rafine şeker ile ilişki araştırılmış ve rafine şeker ile özellikle CH arasında ilişki saptanmıştır (20).

2.2.2.5. HİJYEN

Hastalığın gelişmiş ülkelerde, kentte yaşayanlarda ve sosyoekonomik düzeyi yüksek kişilerde daha sık görülmesi hijyenin etyolojide rol oynadığını düşündürmektedir. Aşırı hijyen, hastalık için risk faktörü gibi görünmektedir.

2.2.2.6. MİKROORGANİZMALAR

M. tuberculosis, Lysteria monositogenes ve kızamık virüsü etken olarak öne sürülmüş fakat kanıtlanamamıştır.

2.2.2.7. PERİNATAL VE ÇOCUKLUK DÖNEMİ FAKTÖRLERİ

Anne sütü İBH'dan koruyucudur. CH'de bu etki daha belirgindir (20).

2.3. PATOGENEZ

2.3.1. EPİTEL HÜCRELERİ

Bağırsak epitel hücreleri, antijenleri immün sisteme ulaştırmayı engelleyen ilk hücresel basamaktır. Epitel hücreleri üzerinde salgısal İmmünglobulin A, glikoproteinler, fosfolipidlerin oluşturduğu örtü sayesinde mikroorganizmalar hücre membranlarına bağlanamaz ve mukoza kimyasal hasardan korunur (21). İnce bağırsaktaki özelleşmiş hücreler olan Paneth hücreleri, bakterilerin membranında lizise neden olan defansin grubu antimikrobiyal proteinleri sentez ederler (22). ÜK ve CH'de mukozada geçirgenlik artmıştır. Geçirgenlik artışı klinik bulgular ortaya çıkmadan önce de saptanabilir. Geçirgenliği artmış epitelden immün alana geçen antijenler inflamatuvar süreci başlatır (23).

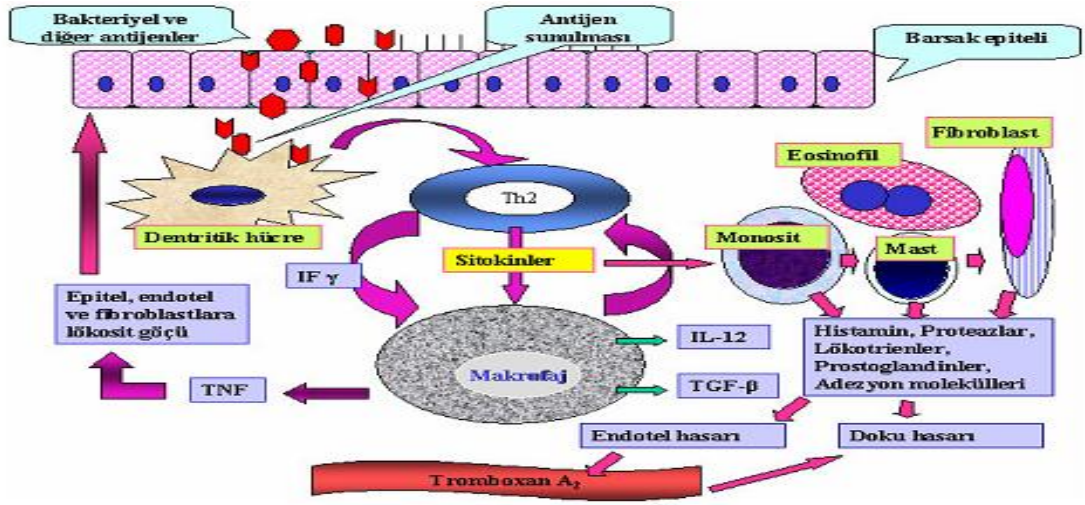
2.3.2. DOĞAL İMMÜN YANIT

Epitel hücreleri, natural killer (NK) hücreler, makrofajlar, fibroblastlar doğal immün yanıtta rol alır. Doğal immün yanıt antijen sunan hücreler olan dentritik hücreler ve makrofajlar tarafından hızla başlatılır (21). Gastrointestinal epitel hücrelerinde, dentritik hücrelerde ve lamina propriadaki immün hücrelerde eksprese olan ve toll like receptors (TLR) adı verilen reseptörler uyarıldıklarında doğal ve edinsel immün yanıtı uyarır. TLR uyarıldığında NFkB aktive olur ve inflamatuvar sitokin salınımı başlar (23, 24). İBH hastalarında, intestinal epitelde TLR9 artmıştır ve reseptör bakteri DNA'sı ile uyarıldığında nötrofiller için kemotaktik olan interlökin(IL)-8 salınımı olur (23). İntestinal epitel hücrelerinde var olan diğer reseptör ailesine NOD (Nucleotide-Binding Oligomerization Domain) adı verilir. NOD1 ve NOD2 reseptörleri, gram pozitif ve negatif bakterilere duyarlıdır. Crohn hastalarında CARD15 gen mutasyonu ile bu proteinler T helper 1 (Th1) yönünde inflamasyona neden olurlar (24, 25).

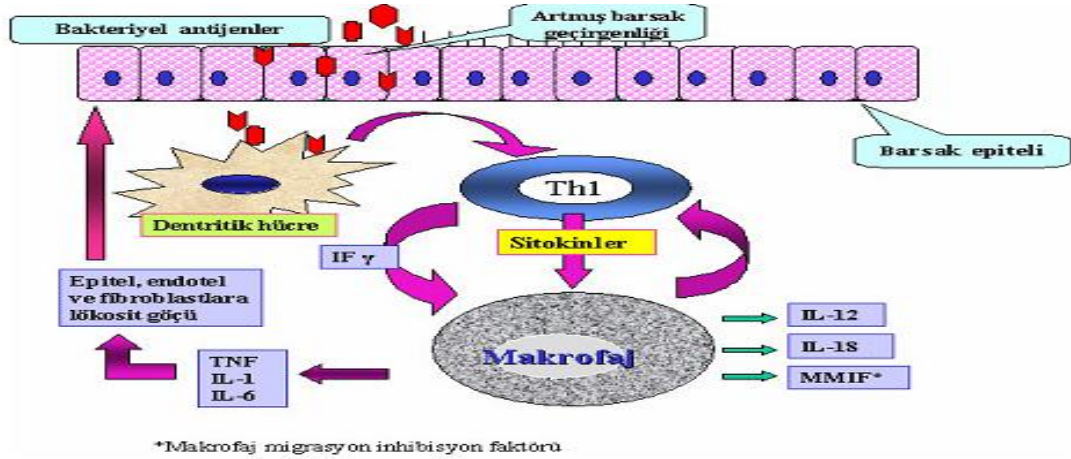
2.3.3. EDİNSEL İMMÜN YANIT

CD4 T hücreleri spesifik immün cevabı düzenler ve Th1 ve Th2 olmak üzere ikiye ayrılır. Th1 hücreleri hücre sel immün cevabı düzenler ve IL-2, interferon(IF) gama salgırlar. Th2 hücreleri ise humoral cevabı düzenler ve IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 ve TGF-beta salgırlar. CH'de mukozada Th1 lenfositler esas olarak birikirken ÜK'de Th2 hücreler baskındır (26, 27).

CH'da mukozal bariyerin bozulması ile antijenler epiteli geçer ve dendritik hücreler gibi antijen sunan hücreleri aktive ederler. Aktive antijen sunan hücreler, Th1 hücreleri aktifleştirir. Th1 hücrelerden salgılanan IF-gamma makrofajları uyararak inflamatuvar sitokinler olan Tümör nekroz faktör(TNF)-alfa, IL-1, IL-6 salgılatır. Uyarılan makrofaj, Th1 hücreleri uyaran sitokinleri salgılayarak inflamasyonun sürekliliğine neden olur. ÜK'te, T hücre cevabı Th2 baskındır. Kolonik rezeksiyondan elde edilen dokulardan izole edilen lamina propria mononükleer hücre profili, ÜK'li hastalarda Th2 sitokinler olan IL-13 ve IL-15'in arttığını göstermiştir. Özellikle NK ve T hücre aracılı immünite görülür (28).



Şekil 1: ÜK'de immünojenetik (29)



Şekil 2: CH'de immünojenetik (29)

Bir proinflamatuar sitokin olan IL-6'nın, her iki İBH tablosu için de patogeneizde merkezi rol oynadığına dair giderek artan kanıtlar vardır. CH'de IL-6 düzeyi ile inflamatuvar aktivite koreledir. Steroid ile remisyona sağlanmış Crohn hastalarında yüksek IL-6 düzeyleri relaps için belirleyicidir (30). ÜK'te de benzer sonuçlar vardır. ÜK'te inflamatuvar aktivite ile lokal IL-6 üretimi arasında pozitif korelasyon vardır (31). Her iki hastalıkta da serum IL-6 reseptörü düzeyleri, aktif hastalıkta inaktif hastalığa göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (32). IL-6, karaciğerden C reaktif protein(CRP) gibi akut faz reaktanlarının üretimini indükleyen ana sitokindir (33). Artmış mukozal geçirgenliğe bağlı olarak, intestinal bakteriyel

floranın antijenleri mukozal immün sistemi sürekli aktive eder. Makrofaj migrasyon inhibitör faktör aracılığıyla intestinal makrofajlar ve CD4+ T hücrelerden IL-6 ve IL-6 resptörü üretimi artar (34).

2.4. KLİNİK

2.4.1. ÜLSERATİF KOLİTTE KLİNİK

ÜK, remisyon ve nüksler ile seyreder. Hastalık rektum mukozasından başlayarak proksimal kolon mukozasına doğru, arada sağlam mukoza bırakmaksızın devam eder. Rektum tutulumu daima mevcuttur. Sadece rektum tutulumuna 'ülseratif proktit', splenik fleksura distalindeki mukozanın tutulumuna 'sol kolit', splenik fleksuranın daha proksimalinin tutulumuna 'yaygın kolit' ve hepatic fleksura proksimalinin de tutulumuna 'pankolit' adı verilir. Klinik olarak kanlı dışkılama, diyare, kilo kaybı ve karın ağrısı görülür (35). Semptomlar ve fizik muayene bulguları kolitin şiddeti ve tutulumu ile ilişkilidir. Şiddetli hastalıkta dehidratasyon ve ateş görülür. Kan kaybına bağlı halsizlik ve solukluk olur. Extraintestinal tutulumda iritis, üveit, eritema nodosum görülebilir. Klinik şiddetin belirlenmesi için Truelove-Witts kriterleri kullanılır (36).

Tablo 1: Truelove-Witts sınıflaması

	Ağır	Orta	Hafif
Dışkılama	İshal gününde 8'den daha fazla kanlı dışkılama	4-8 kez	Günde 4'den daha az dışkılama, çok az miktarda kan içerebilir
Ateş	> 37,5°C		Yok
Tapkı ardı	Dakikada 90'den fazla nabız sayısı		yok
Anemi	Hb 7.5 gr/dL'den az		Hafif derecede
Sedimantasyon hızı	> 30 mm/saat		<30 mm/saat

Sınırlı hastalığı olanlarda Truelove-Witts yetersiz kalmaktadır. Ayrıca bu sınıflamada endoskopik bulgular yoktur. Bu kısıtlamalar 'ülseratif kolit hastalık aktivite indeksi' kullanılarak ortadan kaldırılabilir. Bu sınıflamada skor 0-12 arasındadır ve 0-2 puan remisyon, 10 üstü puan şiddetli hastalık olarak kabul edilir (36).

Tablo 2: ÜK Hastalık İndeksi

Skor	Kriter
Dışkı sayısı	0 Normal 1 Normale göre günde 1-2 dışkılama fazla 2 Normale göre günde 3-4 dışkılama fazla 3 Normale göre günde 5 ve daha fazla dışkılama
Rektal kanama	0 Yok 1 Çizgi tarzında kan 2 Belirgin kanlı 3 Bol kanlı
Mukozanın görünümü	0 Normal 1 Hafif friabl 2 Orta derecede friabl 3 Eksüdasyon, spontan kanama
Hekimin global değerlendirmesi	0 Normal 1 Hafif 2 Orta 3 Şiddetli

İlk ataktan sonra hastaların %40-65'i kronik intermittan hastalık formunda devam eder. Bu form relapslar ve remisyonlar ile seyreder. Hastaların %5-10'unda kronik devamlı hastalık izlenir. %10 hastada ise ilk atak kolektomi gerektirecek kadar şiddetlidir (37). Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, antibiyotikler, sigara içiminin bırakılması, araya giren enfeksiyonlar ve tedaviye uyumsuzluk relapslara neden olabilir (36).

Perforasyon, striktür, toksik megakolon, kanama ve malignite gelişimi ÜK'in lokal komplikasyonlarıdır (36).

2.4.2. CROHN HASTALIĞINDA KLİNİK

CH, tüm gastrointestinal sistemin(GİS) ve bağırsak dışı organların tutulumu ile karakterizedir. Yerleşim yerine göre ileoçekal, ince bağırsak, kalın bağırsak ve diğer tutulumlar olarak sınıflanır. Klinik davranışa göre ise inflamatuvar, fibrostenotik ve penetran hastalık olmak üzere 2 gruba ayrılır.

2.4.2.1. İLEOÇEKAL TUTULUM

İleoçekal bölge, %40 tutulum oranı ile başlangıçtaki en sık tutulum yeridir. Semptomlar ishal ve karın ağrısıdır. Akut apandisit taklit eden kliniği nedeni ile appendektomi sonrası tanı konulması nadir değildir. Fibrostenotik hastalıkta tekrarlayan ince bağırsak obstrüksiyonları gelişir (38). Sağ alt kadranda inflamatuvar kitle palpe edilebilir. Bu kitle, inflame bağırsak, mezenter ve büyümüş lenf nodlarına bağlıdır. Bu bölgenin ciddi inflamasyonu duvar kalınlaşmasına, mikroperforasyonlarla fissüre ve komşu bağırsak, cilt, mesane ya da mezenterdeki bir apse ile fistülizasyona neden olabilir (39).

2.4.2.2. İNCE BAĞIRSAK TUTULUMU

İnce bağırsağa sınırlı hastalık %20 oranında görülür. Sindirim ve emilim yüzeyinin kaybı malabsorpsiyon ve steatoreye neden olur. Hipoalbuminemi, hipokalsemi, nefrolitiasis, koagulopati gelişebilir (39). Osteopeni, B12 malabsorpsiyonuna bağlı megaloblastik anemi, niasin eksikliğine bağlı pellegra görülebilir (40, 41).

2.4.2.3. KOLON TUTULUMU

Kolon tutulum oranı %20-25'dir. İshal, kanlı dışkılama, karın ağrısı, ateş ve halsizlik görülür (39). Perianal hastalık ya da obstrüksiyonlar cerrahi gerektirir (38).

2.4.2.4 DİĞER TUTULUMLAR

Daha az oranda olmakla birlikte özofagus, mide, duodenum tutulabilir (42). Kolestatik karaciğer hastalığı, akut pankreatit, oral ülserler, episklerit, eritema nodosum gelişebilir (39).

CH'de klinik aktiviteyi belirlemek için Crohn's Disease Activity Index (CDAI) kullanılır. Değerin 150 altında olması sessiz hastalığı, 150 üstünde olması aktif hastalığı gösterir. Değerin 450 üzerinde olması ise şiddetli hastalık göstergesidir (43).

Tablo 3: CDAI (44)

1) Bir hafta içinde sıvı veya çok yumuşak dışkılama sayısı :

Bir haftada toplam sayı X 2

2) Yedi günlük karın ağrısı durumu:

(0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=şiddetli)

Son yedi günün ortalaması X 5

3) Yedi günlük genel iyilik durumu:

(0=iyi, 1=ortalamanın biraz altı, 2=kötü, 3=çok kötü, 4=berbat)

Son yedi günün ortalaması X 7

4) Crohn hastalığı ile ilgili aşağıdaki hastalık belirti veya semptomlardan

a-Artrit veya artralji

b-İrit veya üveit

c-Eritema nodosum, piyoderma gangrenosum, aftöz stomatit

d-Anal fissür, fistül veya perirektal abse

e-Diğer bağırsak ilişkili fistül

f-Geçen hafta içinde 37.8 C dereceyi geçen ateş yüksekliği

Hiçbiri yoksa 0 puan

Var olan her bir şık için 20 puan

5) Diyare için Lomotil ya da opiyat alımı

Hayır -0 puan, Evet-30 puan

6) Batında anormal kitle varlığı

(0=yok; 0.4=şüpheli; 1=var)

yok -0 puan, şüpheli-4 puan, var-10 puan

7) Hematokrit [(Normal ortalama HTC değeri –yeni HTC değeri) x 6]

Normal ortalamalar: Erkek için HTC= 47 Kadın için HTC= 42

Normal ortalama değer ve yeni değer bilinmiyorsa bu bölümü atla

8) $100 \times [(Standart - hastadaki \text{ ağırlık}) / Standart \text{ ağırlık}]$

Kilo değişimi CH ile ilgili değilse bu bölümü atla

2.5. TANI:

2.5.1. LABORATUVAR TESTLERİ

Dışkı direkt bakısında taze eritrositler ve lökositler saptanır. Rutin dışkı kültürü, Salmonella ve Shigella için kültür ve gerek duyulursa Clostridium difficile, Yersinia, Campylobacter için kültür yapılmalıdır. Lökositoz ve trombositoz aktif hastalıkta görülebilir. Bağırsaktan protein kaybına bağlı olarak akut dönemde albumin düzeyi düşük saptanabilir. ESH, ÜK'li hastalarda hastalık aktivitesi için değerli bir gösterge iken CH'de aktivite ile her zaman uyumlu olmayabilir. CRP, İBH'nda artan bir akut faz reaktandır. Tedaviye yanıt veren olgularda düzeyinde anlamlı azalma olur (45). CRP karaciğerden, IL-6, TNF-alfa ve IL-1 beta stimülasyonu ile üretilir. CRP, bakteriyel komponentler ve apoptozis sırasında üretilen nükleer materyal için opsonin görevi görür. Fekal kalprotektin, alfa-1 antitripsin ve laktoferrin fekal permeabilite belirteçleri olarak kullanılabilir (46).

IL-6, IL-2, TNF-alfa seviyeleri ile aktivasyon arasında ilişki bildirilmiştir. Özellikle ÜK'de p-ANCA ve CH'de 'Anti-Saccharomyces Cerevisiae' Antikoru(ASCA) pozitif saptanabilir (45).

2.5.2. ENDOSKOPİK YÖNTEMLER

Hastalığın tanısının kesinleştirilmesi, aktivite ve yaygınlığının belirlenmesi, kanama, striktür gibi komplikasyonların tanımlanması, displazi ve malignite gelişimini kontrol etmek için gereklidir (45).

2.5.3. RADYOLOJİ

Baryumlu ince bağırsak grafileri ve çift kontrast kolon grafisi, bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MR) görüntüleme, ultrasonografi, MR ve BT enterografi ve kapsül endoskopi İBH'nın tanı ve izleminde kullanılabilen radyolojik yöntemlerdir (47).

2.5.4. PATOLOJİ

2.5.4.1. MAKROSKOBİK BULGULAR

2.5.4.1.1. Crohn Hastalığı

Hastalığın makroskopik özellikleri evresini yansıtır ve şiddetli lezyonlar ileri evre, transmural hastalıkta görülür. Çoğunlukla ileri evre hastalıklarda rezeksiyon yapıldığından sadece ileri evre hastalıkların makroskopik patolojisi görülebilir.

2.5.4.1.1.1. Lezyon Dağılımı

CH klasik olarak sağ kolon ve ileumun distal 15-25 cm.lik kısmını tutar ama GİS'in herhangi bir alanı tutulmuş da olabilir. Yani ağız, özofagus, mide, duodenum, proksimal jejunum, ileum, kolon ve anüste hastalık görülebilir. Görülme sıklığı ileokolik bölgede %30-50, ince bağırsakta %25-50 ve üst gastrointestinal bölgede %5-30 şeklindedir. Kolona sınırlı hastalık görülme oranı %15-30'dur (48, 49). Terminal ileum %5 hastada tutulmamış olabilir. Tutulu ve sağlam alanlar arasındaki geçiş ince bağırsakta keskinken, kolonda bu özellik daha az belirgindir.

Makroskopik olarak kolonik CH; üç major paternde görülür: 1)diffüz (tamamının tutulumu), 2)striktür (daralma) oluşumu, 3)rektuma sınırlı hastalık. Bu paternlerin hiçbiri tek başına görülmeyeceği gibi diğer gastrointestinal lezyonlarla birlikte de görülebilir. Kolonda derin yapıları tutmayan mukozal hastalık, yamalı dağılımı dışında ÜK ile karışabilen inflamatuvar psödopolipoid mukozal patern oluşturabilir. %50 CH olgusunda rektum normal olabilir.

2.5.4.1.1.2. External Makroskopik Özellikler

Bağırsak dış yüzü hiperemik, kırmızı ve serozite neden olan serozal eksuda ile kaplı görünümündedir. Serozit alanları; kaba ve nodüler görünümündedir, bağırsak ansları arasında ve bağırsaklarla karın organları, pelvik organlar veya karın duvarı arasındaki yoğun fibröz yapışıklıklarla birliktedir. Antimezenterik serozal yüzeyi yağ doku çevreler ve bu görüntü "creeping fat" paternini oluşturur. Granülomların

makroskopik karşılığı olan miliyer serozal lezyonlar görülebilir. Bu miliyer lezyonlar; peritoneal karsinom implantları veya tüberkülozun karakteristik serozal tüberkülleri gibi çok sayıda, küçük, beyaz nodüler lezyonlar şeklinde görülür. Sıklıkla serozal lenfatikler boyunca yayılırlar. Başlangıçta bağırsak duvarı esnek olsa bile hafif kalınlaşmış görünümündedir. Hastalık ilerledikçe bağırsak fibrotik ve sert hale gelir. Sonuçta, sıklıkla distal ileum ileoçekal valv bölgesinde olmak üzere striktürler oluşur. Bu bölgede karsinomu taklit eden büyük inflamatuvar psödotümörler oluşabilir.

2.5.4.1.1.3. İnternal Makroskopik Özellikler

En erken, makroskopik olarak görülebilir mukozal değişiklik aftöz ülser oluşumudur. Bu ülserler genişleyip uzayarak görülebilir hemorajik bir rim oluşturur. Bazı hastalarda, bu ülserler hastalığın tek, baskın bulgusu olabilirken diğer hastalarda başka bir bağırsak alanındaki şiddetli değişikliklerle ilişkili olabilir. Normal mukozada görülen bu atlamalı ülserler, haftalar veya yıllar içerisinde gelişecek daha aşikar değişikliklerin öncüsüdür.

Bu küçük, yıldızsı aftöz ülserler daha sonra geniş tabanlı ülserleri oluşturmak üzere genişleyerek kesintili, kıvrımlı veya lineer ülserlere dönüşür. Bu evrede mukozada kırmızı ve kabarık görünümündedir. Ülserler longitudinal ve transvers olarak birleşir. Makroskopik olarak arada normal mukozanın bulunduğu, segmental veya yaygın, kıvrımlı ve longitudinal ülserlerin düzenlenim gösterdiği bir görünüm oluşur. Bu düzenlenim aynı zamanda kaldırım taşı görüntüsünü oluşturur. Lineer ülserlerin iyileşmesiyle geride tren rayı benzeri skar dokusu kalır. Transmural inflamasyon, longitudinal ülserlerin komşu organlar veya batin duvarına yayılımına sekonder fistül ve fissürler oluşumuna zemin hazırlar. Sonuçta yoğun yapışıklıklar oluşur. İlerlemiş hastalıkta, bağırsak kesit yüzünde tam kat inflamasyon, skar, submukoza, muskularis propria ve serozada fibrozis görülür. Arada normal bağırsak alanlarının bulunduğu bu yamalı görünüm, ÜK'te görülen kesintisiz inflamasyon ve rektal tutulumun tam tersi bir özelliktir. Uzun süreli hastalıkta mukozada atrofik görülebilir.

2.5.4.1.1.4. Abse, Fissür ve Fistüller

Fistül ve adhezyonlar, ince bağırsak tutulumu olan hastalara göre kolon tutulumu olan hastalarda daha az görülür. İnternal ve eksternal fistül oluşumu %60 kadar hastada görülür (50). Fistüller kendiliğinden oluşur ve daha önce opere edilip rezidü barsak hastalığı bulunan hastalarda daha sık görülür. Bu süreç lokalize kalırsa abse oluşur. Vajinal fistül rektal mukoza ve vajenin anatomik yakınlığından dolayı sık oluşur. Aynı zamanda perirektal abselerin yayılımıyla da oluşabilir. CH hastalarındaki intraabdominal abseler intraperitoneal veya daha az sıklıkla retroperitoneal olabilir. Erkek hastalarda retroperitoneal abseye yatkınlık daha fazladır (50).

Perforasyon hastaların %1.5'inde görülür çünkü inflamatuvar süreç yavaş ilerler ve inflame barsak ansları arasında duvar oluşturacak şekilde yapışıklıklar oluşur, böylece serbest perforasyon oluşması zorlaşır. İlaç kullanımı, birlikte görülen iskemi ve enfeksiyon durumlarında görülebilir. Ayrıca abselerin kendiliğinden peritoneal kavite içerisine serbest rüptürü de görülebilir.

2.5.4.1.1.5. Striktürler

CH ince bağırsak, kolon ve anorektumda striktürlerle karakterizedir. Bu striktürler parsiyel ve aralıklı tıkanmaya sebep olur. Striktürler ve fistüller kolonda baskın hastalıktan daha çok, ileit, ileokolit ve perianal hastalıkla birliktelik gösterir. Obstrüktif semptomların özellikleri etkilenen bağırsak segmentine bağlıdır. En şiddetli darlık ileoçekal valv tutulumunda görülür. Multipl striktürler de bulunabilir. Striktürler transmural inflamasyon, fibrozis, skar oluşumu ve fibromuskuler proliferasyonun sonucudur. Rektal striktürler CH'na özgü olmayıp diğer hastalıklarla birlikte de görülebilir.

2.5.4.1.1.6. Psödopolipler

Psödopoliplerin çoğu inflamatuvar özellikteyken diğerleri rezidü mukozal adalardan oluşur. Kolonda uzunluğu 5 cm'ye, genişliği 2 cm'ye ulaşan dev psödopolipler bulunabilir. Bu lezyonlar transvers kolon ve splenik fleksurada

bulunma eğilimindedir ama herhangi bir yerde bulunabilir. İri, lobüle desenli polipler yanı sıra, ince ve uzun filiform polipler de bulunabilir.

2.5.4.1.2. Ülseratif Kolit

ÜK hastaları, en az rektum ve sol kolonu tutan yaygın kronik kolit veya neoplastik değişiklikler oluştuğunda rezeksiyona giderler. Tariflenen makroskobik özellikler şiddetli hastalık ile karakterizedir.

Hastalık yayılımı ve tutulumu, hastalığın klinik olarak şiddetine göre değişir. Değişken, proksimal, kesintisiz yayılımla birlikte distal bağırsak her zaman tutulur. ÜK hastalarının; yaklaşık %45'inde proktosigmoidit, %20-62'sinde pankolit, %17-22'sinde dentat çizgiden splenik fleksuraya kadar olan sol kolit görülür.

2.5.4.1.2.1. Eksternal Özellikler

ÜK mukozaya ve submukozanın yüzeyel kısmına sınırlı kalan inflamatuvar reaksiyonla karakterize bir mukozal kolonik hastalıktır. Bu nedenle, bağırsak dış yüzü kanser veya toksik megakolon oluşmadığı sürece normal görünümündedir. Toksik megakolonda bağırsak masif olarak dilate ve bağırsak duvarı kağıt gibi ince görünümündedir. Peritoneal yüzeyde fibrinöz veya fibrinopürülan eksuda görülebilir. Muskularis propria liflerini ayıran yaygın ödem perforasyonu kolaylaştırır. Nadiren megakolon olmayan hastalarda perforasyon görülebilir.

2.5.4.1.2.2. Hastalık Yaygınlığının Belirlenmesi

Hastalık genellikle rektumu tutar ve tüm ardışık bağırsak segmentlerinde simetrik inflamatuvar yanıt oluşturacak şekilde, kesintisiz biçimde proksimale yayılır. Proksimal yayılımın uzunluğu değişkendir. ÜK; proktit, proktosigmoidit, sol proktokolit, subtotal proktokolit ve tüm bağırsak tutulumu (pankolit) şeklinde görülür. Hastalık ileoçekal valvde veya kolonun daha distal bölümünde keskin sınırlı olarak sonlanır. İnflamasyon yoğunluğundaki değişim, özellikle akut ÜK'te, kesintili veya atlamalı lezyon görünümü oluşturabilir. Steroid enema tedavisiyle oluşturulan mukozal iyileşme rektumun salim görünmesine neden olabilir. Yine de bu atlamalı ve korunmuş alanlarda mikroskobik olarak iyileşmiş kolit morfolojisi izlenebilir.

2.5.4.1.2.3. Ülserler

Aktif ülseratif kolitte; mukoza diffüz granüler, eritemli ve hemorajik görünüm kazanır. Ülserasyonlar mevcut olduğunda, aradaki sağlam mukoza granüler ve hemorajik görünür. Ülserler komşu sağlam mukozayı zayıflatarak, polipoid mukozal çıkıntılar ve inflamatuvar psödopolipler oluşturur. Mukopürülan eksudayla kaplı, geniş süperfisyel ülserasyon alanlarının varlığı, mukozanın kısmen veya tam olarak kaybına sebep olur. Ülserler, alttaki muskularis propriayı açık bırakacak şekilde yerleşir, sadece fulminan kolitte muskularis propria içine girer. Aynı zamanda divertikülozisi de bulunan ÜK hastalarında, mukozal hastalık, primer fistül görüntüsü ve CH'na benzer değişiklikler oluşturacak şekilde, divertikül içine de yayılım gösterir.

2.5.4.1.2.4 Kronik Kolit

Kronik, kesintisiz ÜK'te; mukoza, inflamatuvar poliplerin bulunduğu ya da bulunmadığı, hemorajik komponentten yoksun, granüler görünümündedir. Hastalık remisyona girdiğinde, mukoza normal görünümüne dönse de, eski aktif hastalığın mikroskopik bulguları, atrofik ve düzleşmiş veya değişken granülarite gösteren mukoza şeklinde devam edebilir. Bazen en çarpıcı makroskopik bulgu; haustral katlantıların kaybı sonucu oluşan ve kontrakte, katı ve kalınlaşmış bağırsak görüntüsü oluşturan, intestinal kısalmadır. Bu kısalma en sık distal kolon ve rektumda görülür.

2.5.4.1.2.5. Psödopolipler

Psödopolipler, kesikli mukozal inflamasyon ve rejenerasyon alanlarını temsil eder. Birçok kolit formuyla birlikte görülebilir ama en sık ÜK'te görülür. Hastalık şiddetiyle ilişkili olmayıp prekanseröz değildir. Dağılımları primer hastalığın yayılımına bağlıdır. Polipozis hem lokalize hem diffüz formları görülebilir. Tipik olarak 1.5 cm'den daha kısa boyuttadır. Mukozanın tam kat ülserasyonu ve canlı mukozal adaların bu ülserasyonlarla çevrelenmesi veya yoğunlaşmış granülasyon dokusunun epitelle kaplanması sonucu oluşur. Oluşan psödopolipler kalıcı olma eğilimindedir ve önceki kolit ataklarının göstergesidir. Kolonda rektumdan daha sık

bulunur, distal kalın bağırsakta hiç bulunmayabilir. Yüzeyi ülserle iki komşu polibin yaklaşmasıyla poliplerin füzyonu oluşur. Bu füzyon labirent benzeri görünüm ve mukozal köprüleşmeler oluşturur.

Psödopolilerin abartılı formunu ouşturan filiform polipozis, özellikle ÜK ve CH olmak üzere kronik inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla birlikte görülür. Orta derecede inflamasyon ve ödemle ilişkili, çok sayıda, solucan şekilli, sıkıca bir araya gelmiş, villiform kolonik poliplerle karakterizedir. Makroskobik olarak villöz adenomlara benzeyebilir. Kolonun herhangi bir alanında bulunabilir ve 2-3 cm uzunluğa ulaşabilir. Filiform polipoziste sıklıkla rektum korunur.

2.5.4.1.2.6. Toksik Megakolon

Bağırsak lümeninde belirgin dilatasyon ve bağırsak duvarında incelmeyle birlikte olan toksik megakolonun internal özellikleri eksternal özelliklerini yansıtır. Şiddetli yaygın mukozal ülserler tam mukozal soyulmaya yol açar. Derin ülserler muskularis propriayı açık bırakacak şekilde mukozayı penetre eder. Bu derin ülserler ince bir granülasyon dokusuyla kaplı olabilir.

2.5.4.1.2.7. İleal Hastalık

Terminal ileum total kolitlerin %5-20'sinde ve ileoçekal valvin 10-25 cm proksimalindeki segment olacak şekilde tutulmuştur. Makroskobik olarak ileal mukoza, aftöz ülserler ve kesintili, kıvrımlı ülserasyonlar gösteren CH'nın terminal ileitinin aksine, diffüz olarak anormal görünür. Hastalıklı ileum inflamasyon, erozyon, ülserasyon ve bazen darlık gösterir. Kolostomiye takiben oluşan inflamasyon ÜK'e bağlı değil, yapılan ileostomiye sekonderdir. Bu prestomal ileit adını alır. Bu hastalıkta ülserler, arada normal ve ödemli görünen mukoza bulunmak üzere, ileum ve jejunumda atlamalı şekilde görülür. Bu ülserler perforasyon, peritonit ve fistül gelişimine yol açabileceğinden fatal olabilir.

2.5.4.2. MİKROSKOBİK BULGULAR

2.5.4.2.1. Crohn Hastalığı

CH tanısını biyopsi ile koymak problem oluşturur çünkü sadece mukoza ve yüzeysel submukoza değerlendirilebilir. Ayrıca, granülom varlığı gibi birçok histolojik özellikler nisbeten nonspesifiktir. Biyopsideki değişikliklerin patern ve dağılımı, sıklıkla CH varlığının belirlenmesi ve/veya ayırıcı tanıdaki diğer hastalıkların dışlanması için yeterli olacak kadar karakteristiktir.

2.5.4.2.1.1. Epitelyal ve Mukozal Değişiklikler

CH'nin yamalı dağılım göstermesi; dokuların erken veya geç hastalık dönemine ait olması veya dokunun bağırsağın daha normal veya daha hastalıklı bölümünden alınmış olmasına bağlı olarak, epitelin farklı değişim aralığında bulgular göstermesiyle sonuçlanır. Epitel, tamamen normal, akut hasarlı veya rejeneratif görünümde olabilir. Uzun süreli CH'de kript ve villuslar belirgin arşitektürel distorsiyon gösterir. Distorsiyone glandüler arşitektür, glandüler düzensizlik ve dallanma alanları ile karakterizedir. Distorsiyone glandlar, ayrıca epitelyal hiperplazi, kript abseleri, epitelyal hücre dejenerasyonu ve ülserasyon gösterir. İnce bağırsakta villuslarda distorsiyon ve atrofi yanı sıra, özellikle ileumda pilorik metaplazi görülür. Özellikle sol kolonda, distorsiyone villus ve kriptlerin, pilorik metaplazi veya artmış paneth hücre alanlarının varlığı hastalığın kronik nitelikte olduğunun göstergesidir. Mukoza sıklıkla kaldırım taşı ve hafif polipoid görünümündedir ama yayılım ÜK'teki gibi değildir. Ülser kenarlarında rejeneratif değişiklikler izlenir, ama ülserden uzak mukoza, lamina proprianın bazal kısmındaki lenfoplazmositik infiltrat dışında normal görünümündedir. Goblet hücre azlığı ve reaktif epitelyal hücreler sadece şiddetli inflamasyon alanlarında görülür. Mukozal fibrozis alanları CH için prediktif olabilir.

2.5.4.2.1.2. Aftöz ve Diğer Ülserler

İki ayrı tip ülserasyon ince ve kalın bağırsağı etkiler. Bunlardan ilki aftöz ülser olup, inflamatuvar hücrelerin lamina propriayı diffüz olarak infiltre etmesinden önceki lezyondur. M hücrelerine antijen girişi, antijen duyarlı hücrelerin

proliferasyonuna ve granülom oluşumuna yol açar. Altta bulunan lenfoid nodül, dev hücreler ve granülomlar içerebilir. Lezyonun ilerlemesiyle, ilişkili olduğu lenfoid follikülü silerek yüzeysel olarak ülser olur. Ülser ağzından mukus, nötrofiller ve inflamatuvar debriler sızar ve bağırsak lümenine boşalır. Ülserler giderek genişler ve CH’de normalde görülen büyük ülserleri oluşturur.

İkinci ülser tipi, bağırsak uzun eksenine dik açılarla ortaya çıkan “knifelike” fissürlerdir. Bağırsak duvarı boyunca uzanırlar ve fistül oluşumunun temelini oluştururlar. Fissürler dallanır ve yapışıklık, fistül, abse ve periintestinal inflamatuvar psödötümör oluşturarak bağırsak duvarının derin katlarını içine alır.

Ülserlerin iyileşmesi; arşitektürel distorsiyon, pilorik metaplazi ve belirgin yoğun submukozal fibrozisle birlikte kalınlaşmış veya duplikasyona uğramış muskularis mukoza ile sonuçlanır. Sıklıkla muskularis mukozayı, submukoza veya muskularis propriadan ayırmak imkansızdır. Fibroblastlar ve myofibroblastlar, kronik inflamatuvar hücrelerle birlikte fibrozis alanlarında çoğalır. Fibrozis bağırsak duvarından komşu yapılara yayılır ve yağ lobüllerini tutarak değişken derecelerde yağ nekrozu oluşturabilir.

2.5.4.2.1.3. Mukozal Metaplazi

Özellikle ileumda kronik hastalığı olan hastalarda pilorik metaplazi gelişir. Kalın bağırsakta sıklıkla paneth hücre metaplazisi gelişir. İnce bağırsakta, normalde de bu lokalizasyonda bulunmalarına rağmen, paneth hücre sayısında artış görülür. Aberran pilorik bezler olarak da bilinen pilorik metaplazi hücreleri ülser ilişkili hücre ailesinin hücreleri olarak bilinir. Bu ayrı hücre ailesi, tipik olarak enterik ülserasyon alanlarında ortaya çıkar. Ayrıca tutulu mukoza alanlarından uzakta bulunan ödemli segmentlerdeki, tek ayrı ülserlerin yanında da bulunur.

Bu hücreler, onları Brunner glandlarından ayıran bir özellik olarak muskularis mukozadan daha derinde bulunmalarına rağmen, pilorik ve Brunner glandlarının birçok özelliğini paylaşır. Glandlar, nötral müsin granülleri içeren, şeffaf veya soluk boyanan kolumnar hücrelerle döşelidir. Nükleuslar oval veya yuvarlak olup hücrenin

bazalinde yerleşir. Bu glanduler yapılar pilorik veya Brunner glandlara göre daha gevşek arşitektürel paterndedir.

2.5.4.2.1.4. Lenfatik Dilatasyon (Lenfanjektazi)

CH'nın diğer dikkat çekici bulgusu, genellikle ödem ve lenfoid hiperplazi ile birlikte görülen, submukozal lenfatik dilatasyondur. Plazma hücreleri, eozinofiller ve nötrofiller dilate damarları infiltre edebilir. İleri evre hastalıkta fibröz doku ödemin yerini alır.

2.5.4.2.1.5. İnflamatuvar İnfiltratın Paterni

Erken morfolojik lezyonlar bağırsak duvarının tüm katlarında artmış plazma hücreleri, lenfositler, makrofajlar, mast hücreleri, eozinofiller ve nötrofilleri içerir. Mukozanın alt kısmında bazal lenfositik plazmositik infiltrat yer alır. Aktif hastalıkta, nötrofil ve monositlerin kan dolaşımından inflame mukozaya ve epitelden intestinal lümeneye sürekli göçü görülür. Nötrofiller, kriptit adı verilen lezyonu oluşturmak üzere intestinal epiteli infiltre eder. Granülositlerin kript lümeni içerisinde birikmesi kript absesi adını alır. Hastalığın evresine bağlı olarak, değişken ödem ve/veya fibrozis bulunur. İnflamatuvar infiltrat sıklıkla muskularis propria içine girdiği alanda, submukozal ve serozal lenfatikleri ve kan damarlarını da çevreler. Daha yoğun lenfoid agregatlar, lenfatiklerden uzak submukoza alanlarında da bulunur veya dağınık halde bağırsak duvarının tüm katlarında görülür.

Mukozal ve submukozal mast hücre hiperplazisi ve degranülasyonu hem ÜK hem CH için sabit bir özelliktir. Mukozal mast hücreleri; P maddesi içeren sinirlerle ve kapiller damarlarla, kan damarlarıyla, Schwann hücreleriyle, sinir lifleriyle, miyofibroblastlarla ve kollajen lifleriyle direkt ilişki kurulmasını sağlar. Mast hücreleri ayrıca epitelyal hücreler boyunca bulunarak sinirler ve immün sistem arasında ilişki kurulmasını sağlar. Mast hücre kaynaklı inflamatuvar mediatörler, diğer inflamatuvar mediatörlere göre CH patofizyolojisinde daha etkilidir (51).

Dendritik hücreler granülom ve fissürlerin yakınında bulunur. Lamina propriadaki makrofaj sayısı artar. Ülser veya fissürlerin tabanında, mukozal

defektlerden bağırsak duvarı içine giren mikrobiyal ajanlar ve diyet maddelerini tutuyor olabilecek şekilde, band benzeri zon oluştururlar. Makrofaj agregatları nonkazeifiye granülomların oluşumuna neden olur.

2.5.4.2.1.6. Lenfoid Agregatlar

Germinal merkez de içerebilen lenfoid agregatlar, genellikle mukozal-submukozal bileşkede bulunur. Granülom yokluğunda CH tanısı koymada yardımcı yapılardır. Hem CH hem ÜK'te bulunabilirler yine de, lenfoid agregatlar submukozada veya daha derinde bulunuyorsa ve sağlam mukoza varlığında, submukozal ödem ve fibrozisle birlikte görülüyorsa, tanı ÜK'ten çok CH lehinedir. Ayrıca CH'de serozal yağ dokuda da görülürler. Terminal ileumdaki lenfoid doku, multipl lenfoid polipleri oluşturacak şekilde hiperplastik hale gelebilir.

2.5.4.2.1.7. Granülomlar

Yoğun sarkoid benzeri granülomlar CH tanısı için olmazsa olmazdır ve bulduklarında CH'nı ÜK'ten ayırmada güvenilir bir histopatolojik kriterdir. Buna rağmen granülomlar diğer farklı durumlarda da görülebilirler. Bu nedenle patologlar biyopsi materyalinde granülom tanısı koyarken dikkatli olmalıdırlar. Rüptüre kriptlerden açığa çıkan, lamina propria içerisindeki müsün, müsün granülomu oluşumunu uyarır. Bu müsün granülomları matür makrofajlar ve yabancı cisim tipi dev hücreler içerir. Dev hücrelerin baskın olmasıyla, perfore kriptlerle ilişkileriyle ve müsün boyaları pozitifliğiyle tanınırlar. Bu granülomlar CH için spesifik değildir ve ÜK de dahil, epitel hücre kaybı ve kript yıkımıyla sonuçlanan herhangi bir durumda görülebilirler.

Granülomlar; kolektomi spesmenlerinde %50-87, kolonoskopik biyopsilerde %15-36, bölgesel lenf nodlarında %20-38 oranında bulunurlar (8, 52, 53). Bazen granülomlar oldukça küçük olabilir (mikrogranülom). Mikrogranülomlar, sadece birkaç histiyositten oluşur ve kolayca gözden kaçabilir. İleumdaki granülom sayısı kolondan daha azdır. İleumdan rektuma doğru sayıları giderek artar (54). Ayrıca granülomlar çeşitli diğer dokularda ve lenf nodu, pankreas, mezenter, periton, karaciğer, akciğer, böbrek, kemik, eklem ve iskelet kasını içeren organlarda da ortaya

çıkır. Granülomların varlığı hastalık aktivitesini belirlemediği gibi operasyon sonrası rekürrens oranını da etkilemez.

Granülomlar; Langerhans tipi dev hücrelerin eşlik ettiği veya etmediği, küçük, lokalize, iyi oluşturulmuş, gevşek veya daha sıkı, sıklıkla lenfositler tarafından çevrelenmiş epitelooid histiyosit agregatlarından oluşur. Nodal granülomlar merkezlerinde T lenfosit ve dendritik hücreler bulundurur. Eski lezyonlar değişen derecede hyalinizasyon ve fibrozis gösterir. Kesin olarak nekroz veya süpürasyon odağı bulunduran veya rüptüre kript kenarına sınırlı granülomlar, CH için spesifik değildir. Ayrıca içinde mikroorganizma bulunan granülomlar, sekonder bir patojeni temsil eder.

2.5.4.2.1.8. Vasküler Lezyonlar

Bazı araştırmacılara göre CH, altta yatan vasküler bir hastalığın sonucudur. Ortaya çıkan değişiklikler primer olarak dejeneratif veya inflamatuvar özelliktedir. Hastaların yaklaşık %5'inde oblitere endarterit, kronik flebit ve diğer vasküler lezyonlar bulunur. Obliteratif değişiklikler; intimal proliferasyon, subintimal fibrozis, medial hipertrofi, medial fibrozis ve adventisyal fibrozisi içerir. Dejeneratif arterial lezyonlar, internal elastik laminanın duplikasyonu ile birlikte medial hipertrofiye bağlı olarak lümeni daraltır. Venöz lezyonlar; damar duvarında fibröz, elastik ve muskuler doku hiperplazisine bağlı kalınlaşmayla birlikte düzensiz vasküler sklerozla karakterizedir. İnflamatuvar lezyonlar; obliteratif vaskülopatiyle ilişkili, perivasküler inflamasyon ve kronik inflamatuvar ve/veya granümatöz hücre infiltrasyonundan oluşur. Lenfositler ve plazma hücreleri; internal elastik liflerin kesintiye uğramasına sebep olacak şekilde, küçük arter ve arteriollerin bir veya daha fazla katını infiltre eder. Tromboz alanları nadirdir. CH'de görülen vasküler değişiklikler gastrointestinal sistemi tutan primer sistemik bir vaskülitte ayırt edilmelidir. CH bulunan bir hastada primer vaskülit de varsa hastalığın ekstraintestinal bulguları sıklıkla belirgindir.

2.5.4.2.1.9. Nöral Değişiklikler

CH'de otonom sinir pleksusları hipertrofik görülür. Büyük, anormal, düzensiz, füziform sinir lifleri ve sinir kökleri; mukoza, submukoza ve muskularis propria boyunca bulunur. Bu bulgular sıklıkla artmış sayıda ganglion hücrelerini bulundurur. Sinir lifleri artmış miktarda vazoaktif intestinal peptid(VIP) ve P maddesi içerir (55). MHC sınıf 1 antijenlerini eksprese ederler ve böylece anormal sinirler mast hücreleri, lenfositler ve plazma hücreleriyle infiltre edilmiş olur. Bu sinirler yaygın aksonal ve dendritik şişme ve dejenerasyon gösterir.

2.5.4.2.1.10. Darlıklar

Darlık oluşumu, özellikle ince bağırsakta CH ile karakterizedir. Bu darlıklar bağırsak duvarında fibroblast proliferasyonu ve artmış kollajen depolanmasından kaynaklanır. Fibrozis lenfatikler ve vasküler mesafelere uzanır, ayrıca seroza ve perikolonik dokuları da tutar. Sklerozan lenfanjit, proliferatif endoflebit ve endarterit; birçok inflamatuvar ve fibrotik sürecin en son sonucudur. Bazı CH hastalarında, darlık alanlarında belirgin polipoid lezyonlar gelişir. Bunlar; damar, sinir ve kas doku proliferasyonu bulundurur ve bazen nöromuskuler hamartom adını alır. Makroskopik olarak normal mukozayı kaplayan sesil polip kümeleri görülebilir. Bu lezyonlar hamartom olarak tanımlansa da, daha çok onarıcı lezyonları temsil ederler.

2.5.4.2.1.11. Psödopolipler

CH'de birkaç farklı tip polipoid lezyon görülür. Biri sadece inflamatuvar ve rejeneratif dokuları bulundurur. Bu parmak benzeri polipler ince ve kalın bağırsakta görülür. Granülasyon dokusu ve değişken derecede inflamasyon içerir ve bazen rejeneratif yüzey epiteli ile kaplıdır. Bazı psödopolipler endoskopik olarak çıkarılabilir. Diğer polipler mukoza, muskularis mukoza, ödemli submukoza, submukozal fibrozis ve düz kas hiperplazisi içerir. Bunlar rezidü mukozal adaları temsil eder.

Histolojik olarak dev psödopolipler, dallanma ve balpeteği paterni oluşturacak şekilde birleşmeyi içeren komplike süreçlerden oluşur. İntramukozal

hemoraji ve fibrozis içeren inflame mukoza bulundururlar. Lamina propria ve yüzey epiteli; plazma hücreleri, eozinofiller, lenfositler ve nötrofillerle yoğun bir şekilde infiltridir. Bu bulgular kript absesi oluşturabilir ve granülomlar da bulunabilir. Erozyonlar, granülasyon dokusu ve pilorik gland metaplazisi de görülebilir. Lamina propria; muskularis mukoza kökenli küçük kan damarları, gevşek fibröz dokular ve düz kas lifleri içerir.

2.5.4.2.1.12. Deplase Epitel

CH bulunan rezeksiyon spesmenlerinde deplase epitelle sık karşılaşılır. Bu antite, ince bağırsakta veya kolonda yerleşmesine bağlı olarak enteritis sistika profunda veya kolitis sistika profunda olarak adlandırılır. Deplase epitel; CH'de sık görülen mukozal ülserasyonu veya mukozal mikrodivertikül oluşumunu takiben submukoza, muskularis propria ve seroza içerisine epitel implantasyonunun sonucudur. Bir ülserin rejenerasyonunu takiben oluşan mukozal tamir, submukoza içerisinde bağımsız epitelyum bırakır. Bu daha sonra sağlam mukoza ile kaplanır. Deplase epitel fissür ve fistül traktlarının epitelizasyonunun da sonucudur. Sıklıkla bol müsin birikimi içerecek şekilde kistik dilatasyona uğrayabilirler.

Makroskobik olarak bağırsak duvarı kalınlaşmış görünür. Bağırsak kesit yüzünde çok sayıda kistik submukozal boşluklar görünür. Müsinöz içerikleri nedeniyle oldukça belirgin ve parlak görünümündedir. Bu lezyonların üzerindeki mukoza genellikle aktif veya iyileşmiş CH histolojik bulguları görülür. Bu lezyonlar; çok sayıda goblet hücresi, enterositler ve paneth hücreleri içeren, normal lamina propria tarafından desteklenen kübik veya kolumnar epitelle döşelidir. Bazen özellikle, glandları lamina propria çevrelemiyorsa veya benign epitel, sınırlı epitelyal eleman içeren geniş müsinöz kistlerle sonuçlanacak şekilde aşırı miktarda müsin içeriyorsa, deplase epitelin invaziv müsinöz karsinomu mu temsil ettiği veya sadece deplase epitelinden mi oluştuğunu belirlemek zor olabilir. Bu durumda maligniteyi dışlayacak bulgular; desmoplazi yokluğu, çevreleyen lamina propria bulunması ve deplase glandlarda sitolojik atipi yokluğudur. Ayrıca, dikkatli örnekleme ve yüzey epitelinin değerlendirilmesi, bu tanısal ikilemin çözülmesine yardımcı olacaktır. Eğer yüzey epiteli displastikse invaziv lezyon olasılığı artar.

2.5.4.2.1.13. Serozal ve Mezenterik Değişiklikler

Subseroza; subserozal yağ doku hiperplazisi, ödem, fibrozis, akut ve kronik inflamasyon ve granülom oluşumu sonucunda önemli ölçüde kalınlaşır. Nodüler lenfoid agregatlar sıktır ve makroskobik olarak serozal miliyer granülomlara benzer. Seroza fibrinöz presipite veya fibrinopürülan eksuda ile kaplı olabilir. Mezenterik değişiklikler serozada görülenlere paraleldir. Drene eden lenf nodları sıklıkla genişlemiştir ve lipogranülomlar içerir.

2.5.4.2.1.14. Yüzeysel Crohn Hastalığı

Yüzeysel CH'nın mikroskobik özellikleri klasik CH'nın özellikleri olan aftöz ülserler, fissürler, muskularis mukoza ve submukozadaki nodüler lenfoid agregatlar ve granülomlarla ilişkili sinirlerde hipertrofidir. Crohn tipi inflamatuvar değişiklikler mukoza ve submukozaya sınırlıdır. Mikroskobik olarak transmural inflamasyon yoktur veya minimaldir ve submukoza boyunca fissür bulunmaz. Nadiren subserozada lenfoid nodüller bulunur.

Uzun ve kısa segment yüzeysel CH bulunan hastalarda sulu ishal görülür. Az sayıda hastada obstrüktif semptomlar ve darlık bulguları görülür ve bu hastalar bağırsağın başka bir alanında transmural CH bulundurmaktadır. Yüzeysel CH'nın makroskobik görünümü, klasik CH'na göre daha yaygın ve daha nodüler kaldırım taşı görünümü içerir. Bağırsak duvarı kalın ve katı değil, ince ve esnek olma eğilimindedir.

2.5.4.2.2. Ülseratif Kolit

Histolojik görünüm hastalığın klinik evresine göre değişir, ÜK üç evrede sınıflanır: Aktif kolit, Remisyona giden kolit, Remisyonda kolit. ÜK karakteristik olarak mukozal ve submukozal hastalıktır.

2.5.4.2.2.1. Aktif Kolutin Özellikleri

Kriptit, Kript Abseleri ve Ülserler: Aktif ÜK'deki mukoza yoğun inflamatuvar hücre infiltratı, kript abseleri, müsin azalması ve yüzey ülserasyonu ile karakterizedir. ÜK'te akut aktivitenin ayırıcı özelliği, lamina propriayı ve kript

epitelini infiltre eden nötrofillerin varlığıdır. Kronik aktif kolit terimi, zemindeki kronik değişiklikler üzerine eklenmiş akut aktivite varlığını işaret eder. Aktif kolitin erken bir özelliği, kript absesi ve kript ülseri gelişimine neden olan kriptittir. CH'deki gibi kriptit nötrofillerin kript epiteli içerisine göçünü yansıtır. Nötrofillerin kript lümeni içinde birikmesi kript absesi adını alır. Kript abseleri izole olabileceği gibi, yoğun mononükleer hücre infiltrasyonu zemininde de bulunabilir. Kript ülserleri inflamasyona bağlı kript yıkım alanlarını temsil eder. Kriptin rüptüre olmasıyla lüminal içerik ve mukus, bazen rüptür çevresinde histiyosit birikimine sebep olacak şekilde çevredeki lamina propriaya dökülür. Bu histiyositik birikimler CH tanısını düşündürebilir ancak CH için karakteristik olan yoğun granülom özelliklerini taşımazlar. Primer olarak lamina propria değil epitel kaynaklı akut inflamasyon varlığı ve kronik hasarla ilişkili değişikliklerin varlığı ÜK'i akut kendini sınırlayan kolitten ayırmada yardımcıdır.

Kript abseleri; CH ve akut kendini sınırlayan kolit dahil birçok hastalıkla ilişkili akut inflamasyonda görülür. Belirgin ve neredeyse tüm kriptleri tutan kript abseleri, CH'den daha çok ÜK'i düşündürür. Aksine, tamamen tutulmamış kriptlerden oluşan izole kript abseleri CH için sıktır. Kript abseleri; şiddetli hastalıkta görülen ülserasyon gelişiminde önemli bir rol oynar. Ülserler submukoza içine yayılım gösterebilir. Şiddetli kolit hariç bu ülserler makroskopik olarak küçük ve yüzeysel kalma eğilimindedir. Şiddetli kolitte muskularis propria yayılır ama sadece toksik megakolon durumunda derin muskularis propria ve seroza içine girer.

Ayrıca mikroskopik bulgular; goblet hücrelerinde müsin azalması, epitelyal hücre nekrozu ve rejenerasyonu, azalmış goblet hücre sayısı, Paneth hücre metaplazisi ve nötrofiller, plazma hücreleri, diğer akut ve kronik inflamatuvar hücrelerle lamina proprianın yoğun infiltrasyonunu içerir. Şiddetli atağın zirvesinde goblet hücreleri tamamen ortadan kalkar. Mukozal kayıp nedeniyle, epitel aktif olarak rejenerer olur ve kriptlerdeki hücrelerin proliferatif bölümü hücre kaybını kompanze etmek için sayıca artar. Aktif hastalık döneminde proliferatif bölümün genişlemesi Ki-67 immün boyanması ve akım sitometrik analiz ile gösterilmektedir.

İnflamatuvar ve Stromal Değişiklikler: Lenfoid doku hiperplazisiyle birlikte lenfositler ve plazma hücrelerinin bazalde birikimi (bazal lenfoplazmasitozis adını alır), hastalık sürecinin erken immünolojik sürecini temsil eder. Kronik inflamatuvar hücreler yüzeyel mukozayı da infiltre edebilir. Baskın olarak rektal hastalığı bulunan bir grup hastada çok sayıda IgE taşıyan plazma hücresi bulunur. Dendritik hücreler; mukozal yüzeyin altında band benzeri infiltrat oluşturarak ve lenfoid folliküllerin yanında bulunurlar. Hiperplastik mukozal folliküller özellikle rektumda oldukça belirgindir. İnflamasyon yüzeyel olmakla birlikte bazen submukozaya yayılım gösterir. Lamina propria lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşan yoğun infiltrat içerir. Mast hücreleri ve plazma hücreleri sayıca artar ve doku histamin düzeyi yükselir (56). Mast hücreleri ve eozinofillerin aktif inflamasyon alanına degranüle olması, bunlardan salınan inflamatuvar mediatörlerin, hastalığın patofizyolojisinde payı olduğunu düşündürmektedir (56). Mast hücreleri, inflamasyon ve nekrozun yayılımını artıran ve kolaylaştıran, heparin ve proteolitik enzimleri de salgılar. İnflamasyonun yoğunluğu arttıkça mukoza, yaygın yüzeyel olarak ülser hale gelir. Mukozal sınırlar düzensiz ve pü, kan ve dökülmüş hücrelerle kaplı görülür. Özellikle şiddetli hastalıkta intramukozal kanamayla birlikte, mukozal kapiller konjesyon ve vasküler ektazi sıktır. Vasküler değişiklikler, değişen derecede epitelyal nekroz ve rejenerasyon ile ilişkilidir.

Nöral Değişiklikler: Sinirler hafif hiperplazi gösterebilir ama hiçbir zaman CH'deki kadar yaygın değildir. CH'nın aksine ÜK'te P maddesi ve VIP içeren sinirlerde kayıp görülür. Şiddetli inflamasyon alanlarında sayıları azalır(bazen tamamen kaybolur) (57, 58). VIP kaybı inflamasyonun derecesiyle koreledir.

2.5.4.2.2.2. İyileşmekte Olan Kolit Bulguları

Aktif hastalık, kendiliğinden veya tedaviye yanıt olarak geriler. Vasküler dilatasyon, aktif inflamasyon ve kript abselerinde azalma görülür. İyileşme fazı süresince epitelyum aktif olarak rejenere olur, epitelyal devamlılık yeniden sağlanır, inflamatuvar infiltrat ve abseler geriler, epitelyal müsin içeriği eski haline döner. Epitelyal rejenerasyon kriptlerin tabanından ve ülserlerin kenarından başlar. Hücreler rejenere oldukça, bol geniş sitoplazmalı sinsityal benzeri düzenlenim sergilerler. İlk

önce yassı görünümde olup genel olarak, önce kübik daha sonra kolumnar şekilli olmak üzere, uzunlukları artar. Bu fazlar süresince epitel müsinden yoksundur. Epitel matürleştikçe ve inflamasyon azaldıkça kolumnar epitel tekrar müsün üretmeye başlar. Kriptler dallanmış görünüm kazanır.

İnflamasyon azaldıkça lenfositler ve plazma hücreleri sayıca azalmaya ve daha fokal bulunma eğiliminde olmaya başlarlar. Bu fazda değişken sayıda akut ve kronik inflamatuvar hücreler, Paneth hücreleri ve endokrin hücreler de bulunur. Bazı hastalarda endokrin hücre hiperplazisi görülür. Mukozal inflamasyon lamina propriadaki artmış lenfositik ve plazma hücre içeriğiyle ve nadiren kript abseleriyle sınırlıdır. Mukozal lenfoid follüküller özellikle distalde sayıca artar. Kronik inflamasyonun gerilemesi biyopsi örneklerinde CH benzeri yamalı infiltrata neden olur.

Aktif hastalığın sakinleşmesi haftalar ve aylar alır. Eğer iyileşme tam ve başlangıçtaki hasar minimsel tam arşitektürel yeniden yapılanma oluşur. Daha sık olarak, önceki aktif hastalığın bulgularını temsil eden, kalıcı arşitektürel anormallikler devam eder. Belirgin kript dallanması, yüzeyde villiform transformasyon ve epitelyal hücrelerde nükleer değişikliklerle birlikte kalıcı mukus azlığı, displaziyle karışıklığa yol açabilir. Erken rejeneratif özellikler, epitelyal hücre sayısı henüz artmamışken displaziden ayrılabilir. Bu durumda proliferasyon belirteçlerinin kullanılması lezyonların ayrılmasında yardımcı olabilir.

2.5.4.2.2.3. Fulminan Kolit Özellikleri

Fulminan koliti olan hastalarda genellikle pankolit bulunur. Mikroskopik değerlendirmede; mukozal erozyon, yüksek vasküler granülasyon dokusu, yoğun histiyosit, plazma hücresi, lenfosit ve nötrofil infiltrasyonu ve belirgin submukozal ödem görülür. İnflamasyon; değişen derecelerde kas dejenerasyonu ve nekrozla birlikte, muskularis proprianın sirküler ve longitudinal tabakalarına yayılır. Sıklıkla tek tek kas lifleri kısalmış ve yuvarlaklaşmış görünür. Myenterik pleksus; yaygın mukozal ülserasyona komşu alanlarda, bozulmuş ve ödemli olabilir. Bağırsak duvarında, CH'de görülen fibrozis ve belirgin lenfositik agregatlar görülmez.

Submukozada belirgin lenfoid folliküller görülebilir ama ülserasyon alanlarından uzakta bulunmazlar.

2.5.4.2.2.4. İnaktif ve Kronik İyileşmiş Kolitin Özellikleri

Aktif kolitle karakterize; yüzeysel ülserasyon, mukozada ve yüzeysel submukozada diffüz akut ve kronik inflamasyon, goblet hücre azalması ve telanjyektaziyi içeren değişiklikler, hastalığın iyileşme veya sessiz fazında kaybolur. Sessiz hastalıkta mukoza, aktif hastalıkta oluşan hasar sonucu ortaya çıkan arşitektürel değişikliklerle beraber, yaygın olarak atrofiktir. Mukozal atrofi; dallanmayla birlikte kript paralelliğinin kaybı veya bir alana düşen kript sayısında şiddetli azalma sonucu oluşur. Kriptler karakteristik olarak kısalmış, kriptlerin tabanı arasındaki boşluk ve muskularis mukozanın lüminal yüzeyi genişlemiştir. Atrofi çok şiddetli olabilir, sadece birkaç kısa kriptle birlikte yüzeyde tek katlı kolumnar epitel bulundurulur. İyileşme periyodlarının takip ettiği tekrarlayan ülserasyon atakları nedeniyle, bezler submukoza içerisine gömülmüş haldedir. Submukoza içerisine bu epitelyal herniasyon, muskularis mukozanın sürekli kasılmalarının sonucu olabilir. Bu değişiklik hastaların %40'ında görülür. Muskularis mukoza, önceki ülserasyon ve muskuler rejenerasyona bağlı olarak kalınlaşır ve aşınır. Hepatik fleksura distalinde Paneth hücre metaplazisi, pilorik metaplazi ve endokrin hücre metaplazisi uzun kolit öyküsüne işaret eder.

Atrofik mukoza; bazen lenfosit ve plazma hücrelerinin fokal birikimiyle ilişkili olan artmış inflamatuvar hücre infiltratı sergiler. Uzun süren sessiz ÜK'te; fibroblast kökenli, bizar, multinükleer stromal dev hücreler kolonik mukozal biyopsi örneklerinde görülebilir (59).

2.5.4.2.2.5. İleit

Backwash ileit, çekumda görülene benzer akut ve kronik inflamasyon gösterir. Kript abseleri bulunabilir. Histolojik olarak, CH'de görülen derin, fissürleşen ülserlerin aksine, ülserasyon yüzeyledir. Karakteristik olarak atlamalı lezyonlar yoktur ve tüm kesintisiz tutulu olmayan segmentler inflamatuvar süreçten etkilenmemiştir.

2.5.4.2.2.6. Darlıklar

Kronik ÜK'teki benign darlıkların sıklığı konusunda uyuşmazlık mevcuttur. ÜK ilişkili darlıklar; fibrozisten daha çok, kas hipertrofinin ve muskularis mukoza ve muskularis propriadaki kalınlaşmanın sonucunda gelişir. Hipertrofik kas, intestinal hipomotiliteyle sonuçlanacak şekilde, spastik veya kasılı durumda kalır. Ek olarak, motilite anormalliklerine yol açan; kasta kısılma, kasılma ve haustral katlantıların kaybını içeren sekonder değişiklikler de görülür. ÜK'te görülen diğer darlıklar iskemik kökenlidir. İskemik darlıklar yaygın fibrozis gösterir ve mukoza ve submukozanın yerini yoğun skatrize granülasyon dokusu alır.

2.5.4.2.2.7. Psödopolipler

İnflamatuvar psödopolipler tipik olarak normal veya en azından displazi göstermeyen kolonik epitelle döşelidir. Psödopoliplerin histolojik özellikleri, geniş tabanlı ülserlerle ayrılmış rezidü mukozal adalar bulunup bulunmamasına göre değişir. Bu durumda bağırsak duvarının tüm normal yapıları görülür. Diğer durumlarda; mukozanın, lamina propriayı genişleten belirgin mononükleer hücre infiltratıyla lokalize genişlemesi ve mukozanın, polipoid olarak yükseldiği görülür. Bu durumda; mukoza, rejenerere glandlardan oluşan ekzofitik, aşırı derecede dallanmış filiform poliplerle birlikte rejenerasyon gösterir. Son olarak polipler, gastrointestinal lümeneye uzanan, polipoid granülasyon dokusu topluluğundan da oluşabilir.

2.5.4.2.2.8. Toksik Megakolon

Toksik megakolon gelişen hastalarda en belirgin histolojik özellik, akut inflamasyona bağlı olarak tutulu mukozanın kaybı ve submukozanın ödem nedeniyle belirgin genişlemesidir. Derin ülserasyonlar bulunup perforasyona yol açabilir.

2.6. TEDAVİ

2.6.1. KONVANSİYONEL TEDAVİ

2.6.1.1. KORTİKOSTEROİDLER

Kortikosteroid tedavisinin inflamatuvar barsak hastalıklarındaki klinik olarak önemli etkileri; UC için 1950 ve 1960 yıllarında, CD için 1970 ve 1980 yıllarında kanıtlanmıştır. Genel olarak, kortikosteroidler nükleer faktör(NF)- κ B aktivasyonunu baskılar. NF- κ B; doğal ve edinsel immünitadaki inflamatuvar yanıtlara aracılık eden, primer transkripsiyon faktörüdür. Bu nedenle NF- κ B'nin baskılanması; interlökin 1(IL1A), tümör nekroz faktör alfa(TNF α), interferon gama(IFNG), intersellüler adhezyon molekül 1(ICAM1) gibi, immünitenin anahtar düzenleyici genlerinin inhibisyonuyla sonuçlanır (60, 61). Yine de yapılan klinik çalışmalara göre, kortikosteroidlerin mukozal iyileşmeyi sağlaması olası görülmemektedir (62).

Aktif inflamatuvar barsak hastalığında; kortikosteroidler ilk basamak tedaviyi oluşturmaktadır, ama hasta ve klinisyen bu ilaçların önemli kısa ve uzun dönem yan etkilerinden haberdar olmalıdır. Fırsatçı enfeksiyonlar, steroidin indüklediği psikoz, steroid bağımlı diyabet ve osteoporoz en sık görülen yan etkilerdir ve bu ilaçların uzun dönem kullanımını engellemektedir (63, 64).

2.6.1.2. TİYOPÜRİNLER

Tiyopürinler; aynı zamanda immünomodülatörler olarak adlandırılır, tiyoguanin türevidir ve pürin antimetaboliti olarak etki ederler (65). 6 tiyoguanin nükleotidlerinin metabolizasyonunu takiben DNA/RNA proteinlerinin de katılması sonucu immunsupresyon oluşur. Böylece; Rac1 ve Vav-Rac1 sinyal yollarının baskılanmasıyla oluşan, T hücre apoptozu indüklenir. Bu baskılanma aynı zamanda NF- κ B aktivasyonunu da etkiler ve proinflamatuvar sitokin sekresyonu azalır (66, 67). Steroidlerin aksine, azatiyopürinin etkisinin ortaya çıkması aylar sürer fakat, mukozal iyileşme indüklenir ve korunur (62). Maalesef, hastaların %20'sinde yan etkiler görülür. Lenfoproliferatif hastalık(non-Hodgkin lenfoma) gelişme riski tedavi almamış hastalara göre 4-5 kat artmıştır ve biyolojik ajanlarla kombinasyonlarında

risk daha da artar. Diğer yan etkileri kemik iliği baskılanması ve karaciğer toksisitesidir, ama ateş ve bulantı, kusma gibi gastrointestinal semptomları içeren erken hipersensitivite reaksiyonları da görülebilir (68, 69, 70).

2.6.1.3. METOTREKSAT

İBH olan hastaların üçte biri tiyopürinleri tolere edemez, %10'u ise yanıtıdır (71). Gelenek olarak hastaların tümü biyolojik ajanlardan önce metotreksat gibi alternatif immünomodülatörlerle tedavi edilir. Yine de metotreksat, biyolojik ajanlara ve tiyopürinlere göre daha değerlidir(etkisi, mukozal iyileşme oranı ve yan etki profiline bakılarak) (62, 72).

Metotreksat bir antimetabolittir ve folik asit metabolizmasını inhibe ederek etki eder. Özellikle DNA ve RNA sentezi sırasında etki gösterir ve böylece hızlı bölünen hücreleri(gastrointestinal ve oral mukoza ve efektör T hücreleri) etkiler. Muhtemel diğer etki mekanizmaları; pürin metabolizmasındaki enzimlerin inhibisyonu, T hücre aktivasyonunun inhibisyonu, T hücreler yoluyla intersellüler adhezyon molekülü ekspresyonunun baskılanması ve hedef hücrelerdeki IL-1R reseptörüne IL-1β bağlanmasının blokajıdır (73). Bu yolaklar, aynı zamanda, en sık görülen yan etkiler olan kemik iliği baskılanması ve karaciğer toksisitesini de açıklar (74).

2.6.2. BİYOLOJİK TEDAVİ

2.6.2.1. ANTİ-TNF-ALFA İNHİBİSYON TEDAVİSİ

2.6.2.1.1. Anti-TNF Ajanlar Hakkında Genel Bilgiler

1990'lı yılların başında Romatoid Artrit (RA) patogeneğinde TNF-alfa ve IL-1 üzerinde en fazla durulan iki anahtar sitokin olarak öne çıkmıştır. Bu dönemde transgenik fare modellerinde yüksek konsantrasyonlarda ki TNF-alfanın klinik ve histopatolojik olarak RA'ya benzer şekilde artrit oluşturabileceği saptanmıştır (75). 1993 yılında ilk pilot çalışmada monoklonal anti-TNF antikoru cA2 geliştirilmiş,

daha sonra bu molekül infliksimab adıyla tedavi şemalarında yerini almıştır (76). Günlük pratikte kullanılan 3 anti-TNF ilacın yanında halen çalışmaları devam eden golimumab ve certolizumab ile birlikte 5 anti-TNF ilaç geliştirilmiştir.

Günümüzde infliksimab ve adalimumab benzer etki şemasıyla birlikte RA yanında ankilozan spondilit (AS), psöriasis, psöriatik artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıklarında oldukça etkiliyken etanercept granülomatöz hastalıklardan, CH, Wegener Granülomatosis ve Sarkoidoz hastalıklarında etkisizliğiyle diğer anti-TNF ilaçlardan ayrılmaktadır.

2.6.2.1.2. TNF ve Lenfotoksin (LT) Biyolojisi

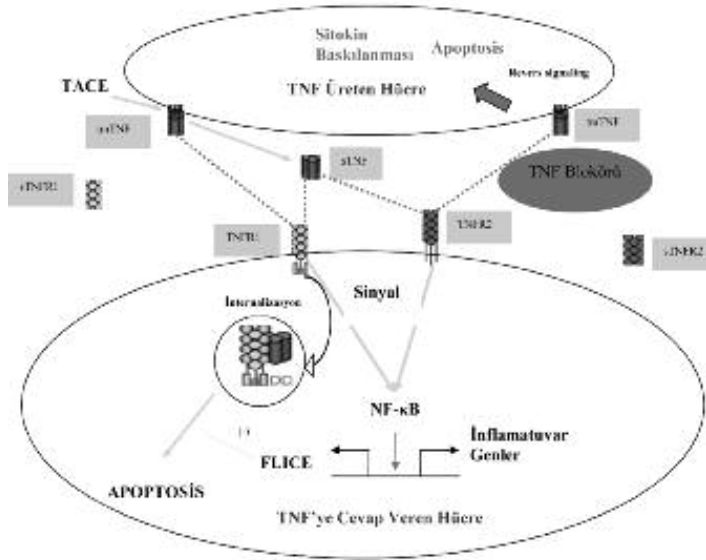
TNF ve LT'nin biyolojisi oldukça karmaşıktır. TNF ve LT'in immün sistemdeki en önemli rolü lenfoid organların, lenfoid mikroçevrenin ve germinal merkezlerin gelişmesi ve bu yapının devamı üzerinedir. TNF ve LT aynı zamanda bazı bakteriyel enfeksiyonlara karşı defans oluşturulmasında görevli moleküllerdir (77). Feldmann tarafından TNF vücudun “yangın alarmı” olarak adlandırılmıştır. TNF düşük konsantrasyonda enfeksiyonlara karşı konak defans mekanizmalarının birikmesini sağlamaktadır. Öte yandan TNF yüksek konsantrasyonlarda inflamasyon ve organ zedelenmesinden sorumlu tutulmaktadır (78). Örneğin sepsis ve septik şokta kısa sürede oldukça yüksek miktarda TNF salgınır. Hastalık durumunda TNF; IL-1, IL-17 ve diğer sitokinlerle birlikte pro-inflamatuvar sitokin olarak görev yapmaktadır. Basitleştirilmiş bir görüş olarak ifade etmek gerekirse etkilenmiş doku ve organlarda doğal ve edinilmiş immunitenin cevabı olarak TNF salgınır. Sonuçta TNF birçok patolojik olayda doğrudan ve dolaylı olarak rol alır (78).

TNF ilk önce hücre yüzeyine bağlı öncül form olan transmembran (tm) TNF olarak salgınır (Şekil 3) (79). TNF alfa dönüştürücü enzim [TNF alfa converting enzyme (TACE)] tarafından enzimatik olarak çözümlenir (soluble) (sTNF) forma dönüştürülür ve bu şekilde hücreden salgınır (79). Vücudumuzda bir çok hücre tarafından TNF üretilir. TNF'nin başlıca kaynağı makrofajlar ve T lenfositleri olmak üzere mast hücreleri, granülositler, NK hücreleri, fibroblastlar, nöronlar, keratonisitler ve düz kas hücreleridir (79). sTNF ve tmTNF'nin ikisi de biyolojik olarak aktiftir (79).

sTNF ve tmTNF'nin reseptör aracılı etkisi, etki ettiği hücrenin metabolik durumuna bağlı olarak NF- κ B aktivasyonu veya apoptosiz indüklenmesi olarak sonuçlanmaktadır. İlginç olarak tmTNF'nin TNF reseptörleri veya TNF antagonisti ilaçlarla bağlanması "sinyalin tersine dönmesiyle" (reverse signaling) birlikte hücre aktivasyonu, sitokin baskılanması veya apoptosizden birisiyle sonuçlanan etkileri oluşturmaktadır (80). Bu durumun fonksiyonel önemi halen tam olarak anlaşılamamıştır.

Şekil 3: TNF'lerin biyolojisi, reseptör ilişkisi ve sinyal yolları (79)

(TACE: TNF alfa dönüştürücü enzim, sTNF: soluble TNF, tmTNF: transmembran TNF, TNFR: TNF reseptörü, FLICE: FADD-benzeri IL-1 β -converting enzim.)



TNF'nin üretimi tahmin edileceği üzere çok sıkı denetim altında tutulmaktadır. TNF'nin en önemli kaynakları arasında yer alan makrofajlar; bakteriler, virusler, immunkompleksler, diğer sitokinler (IL-1, IL-17, IFN- γ gibi), komplemanlar, tümör hücreleri, radyasyon, iskemi/reperfüzyon hasarı ve travmaya bağlı olarak TNF salınımı gerçekleşir (79). Uyarıyla karşılaştıktan sonra 30 dakika içerisinde TNF salınır ancak asıl olarak TNF'nin salınımı post-transkripsiyonel olarak düzenlenir (79). TNF salınması kendisinin de etkilediği sitokinler tarafından

pozitif (IL-1, IFN- γ , IL-2) ve negatif (IL-10, prostoglandinler) geri beslemelerle denetlenmektedir.

Birçok farklı hücre yüzeyinde bulunan, glikoprotein yapıda olan ve sitokinlerin biyolojik fonksiyonlarını göstermesinde etkin olan iki farklı TNF reseptörü(R) vardır. Bunlardan TNFR1; p55 ve CD120a, TNFR2 ise p75 veya CD120b olarak adlandırılır (81). TNFR1 eritrosit dışında neredeyse tüm hücre yüzeyinde bulunurken TNFR2 indüklenebilir reseptörlerdendir, endotel hücresi ve hematopoetik hücre yüzeylerinde bulunmaktadır. sTNF ve tmTNF her iki TNF reseptörüyle de etkileşim içerisine girebilir. Ancak sTNF TNFR1, tmTNF ise TNFR2'ye bağlanma eğilimindedir (81). sTNF TNFR2'ye bağlanırsa bu reseptörden hızlıca ayrılma ve TNFR1'e bağlanmaya yatkındır (ligand passing) (82). Gerçekte sTNF-tmTNF ve reseptör ilişkisi fare modellerinde ayrıntılı incelenmiştir ve insanda in vivo oluşan değişiklikler net değildir.

Hücre yüzeyinde bulunan TNF reseptörleri sTNF ile bağlandığında hücre içerisine sinyallerin ulaşmasını sağlar. TNF reseptörlerinin sitoplazmik parçasıyla bir adaptör protein ilişki içindedir. TNFR1'in sitoplazmik parçası bir death domain içermektedir böylece iki farklı yolak oluşmaktadır. Birinci yolak; bir çok inflamatuvar genin düzenlenmesinde kritik önemi olan NF- κ B'in aktivasyonu ile sonuçlanırken diğer farklı yolak aktive olursa caspase3 ve caspase 8 aracılı apoptos gerçekleşir.

Apoptotik yolak normalde FADD-benzeri IL-1 β -converting enzim tarafından baskılanır ve NF- κ B yolağı aktiftir. Ancak patojen mikroorganizmalarla hücre infekte olursa apoptotik yolak daha ağır basar (79). LT'ler, TNF superfamily üyesi olmasına karşın TNF'den bazı moleküler ve biyolojik özellikleri açısından farklılık göstermektedir (83). TNF'ler eskiden TNF- α ve TNF- β olarak ikiye ayrılmaktaydı. Şimdilerde TNF- β yerine LT α 3 terimi kullanılmaktadır.

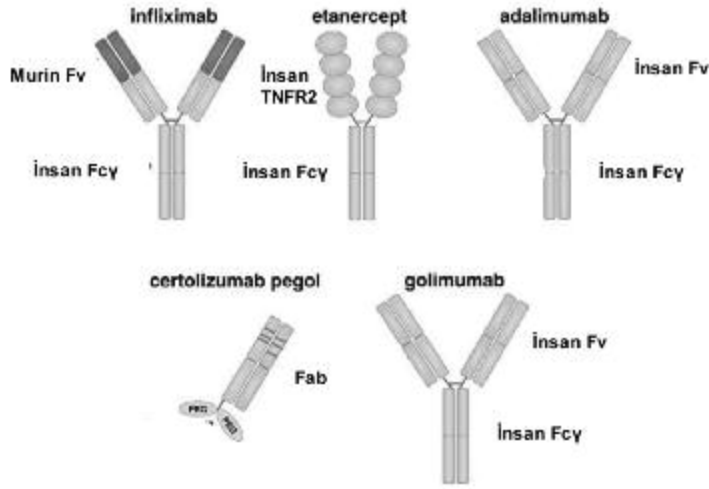
LT'lerin; LT α 3, LT α 2 β 1 ve LT α 1 β 2 olmak üzere üç formu vardır. LT α 3 yapısal olarak sTNF ile büyük benzerlik göstermektedir ve biyolojik aktivitesini

TNFR1 ve TNFR2'ye bağlanarak göstermektedir (83). $LT\alpha_3$ 'un TNFR1/2'ye affinitesi TNF ile benzerlik göstermektedir ancak TNF'nin aksine $LT\alpha_3$ TNFR2'den kolaylıkla ayrılamaz (84). $LT\alpha\beta$ yapısal olarak $LT\alpha_2\beta_1$ ve $LT\alpha_1\beta_2$ 'den oluşur ve $LT\alpha_3$ 'den farklılık gösterir (84). $LT\alpha_2\beta_1$, TNFR1 ve TNFR2'ye de bağlanabilir.

2.6.2.1.3. TNF Antagonistlerinin Yapı ve Özellikleri

İnfliksımab, adalimumab ve golimumabın yapısı “bivalent IgG monoklonal antikorken” certolizumab “monovalent Fab antikorken” parçasına bağlı polietilenglikol (PEG) molekülden oluşmaktadır (Şekil 4) (79). IgG antikorken iki ağır (H) ve iki hafif (L) polipeptit zincirinden oluşmaktadır. Monoklonal antikorkenlerin antijen bağlayan kısımları anti-TNF ilaçlar arasında farklılık göstermektedir. İnfliksımab şimerik bir moleküldür ve %25 fare aminoasiti, %75 insan aminoasitini içermektedir (79). Adalimumab ve golimumab ise tamamen insan aminoasitini içeren monoklonal antikorkenlerdir (79). Antikorkenlerin Fc kısımlarının bilinen özellikleri komplemanı fikse etmesi ve Fc reseptörü aracılı biyolojik aktivitelerdir. İnfliksımab, adalimumab ve golimumab'ın Fc kısımları bu fonksiyonu yerine getirirken certolizumabda Fab kısmı varken Fc kısmı olmaması nedeniyle Fc'nin biyolojik aktivitesini yerine getirmez. Etanerceptin yapısı diğer anti-TNF ilaçlardan farklıdır. Etanerceptin Fc kısmı adalimumab ve infliksımab' da olduğu gibi insan IgG1 molekülünün Fc kısmından oluşmaktadır. Ancak etanercept'de diğerlerinden farklı olarak Fc kısmı TNFR2'nin hücre dışı parçası füzyon proteini olarak eklenmiştir (79). Anti-TNF ilaçların plazma yarı ömürleri Fc kısımlarının endotel üzerindeki neonatal Fc reseptöre (FcRn) bağlanma süresiyle yakından ilişkilidir. Etanercept ile infliksımab ve adalimumabın Fc kısımları benzer olmakla birlikte etanerceptte bulunan TNFR füzyon proteininin Fc'nin konformasyonunu değiştirerek ilacın yarı ömrünü kısalttığı düşünülmektedir (85).

Şekil 4: Anti-TNF ilaçların yapısal özellikleri (79)



Anti-TNF ilaçların bağlandıkları ligandlar açısından bazı farklılıkları vardır. İnfliksimab ve etanercept sTNF'nin farklı epitoplarına bağlanmaktadır. Şöyleki infliksimab sTNF'nin hem monomer hem de trimer formuna bağlanabilmektedir. Etanercept ise sTNF'nin sadece trimer formuna bağlanabilir. Bu bağlanma şekli infliksimabın etanercepte göre neden 1.5-3 kat daha fazla TNF bağladığını açıklamaktadır. Anti-TNF'ler arasındaki bir fark da bağladıkları sTNF sayısında görülmektedir. İnfliksimab ve adalimumab iki farklı sTNF trimerini aynı anda bağlayıp multimerik kompleks oluşturabilirken, etanercept bir sTNF trimere bağlanarak küçük kompleksler oluşturmaktadır (86). Etanerceptin diğer anti-TNF ilaçlardan önemli bir farkı da TNF molekülü dışında TNF ailesi üyesi olan LT'yi de bağlayabilmesidir. Etanercept özellikle $LT\alpha3$ 'ü bağlamaktadır. Etanercept aynı zamanda LT'nin membran ilişkili formu olan $LT\alpha2\beta1$ 'i de bağlayabilmektedir.

Anti-TNF ilaçların farmakokinetikleri açısından da farklar vardır. İdeal bir anti-TNF ilacın kan ve dokuda TNF'yi nötralize ederken konakçı defansını etkileyecek düzeyde TNF blokajı yapmaması gerekir. Etanercept ve adalimumabta uygulanan subkutan dozlarla birlikte ilaç düzeyleri kısmen sabit düzeylerde tutulabilirken intravenöz uygulanan infliksimabta bu durum farklılık göstermektedir. İnfliksimab uygulamasını takiben kan düzeyi, etanercept veya adalimumabın kandaki sabit düzeyine göre 13-40 kat daha yüksek konsantrasyonlara ulaşmaktadır (87). Bir

RA hastasına 3 mg/kg dozunda 8 haftada bir infliksimab verildiğinde pik ilaç konsantrasyonu ortalama ilaç konsantrasyonundan 50 kat fazla olabilmektedir (88).

İnsanda antikor antijen kompleksleri oluştuğunda retikuloendotelial sistemde özellikle dalak ve karaciğerde ortamdan uzaklaştırılır. Bu durum TNF antagonisti ilaçlar verildiğinde de aynen geçerlidir. Bir anti-TNF ilaç verildiğinde TNF'nin kandaki konsantrasyonunda artış gözlenir. Charles ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada RA hastaların başlangıçtaki serum TNF düzeyleri 15pg/mL iken 1 mg/kg infliksimab'dan 7 gün sonra 35 pg/mL'ye, 10mg/kg infliksimabdan 7 gün sonra ise 105 pg/mL'ye çıktığı gösterilmiştir (89). Bu bulgu anti-TNF ilaçların TNF taşıyıcı özellikleri olduğunu ortaya koyması açısından ilginçtir. Anti-TNF ilaçların TNF kompleksini temizleme süreleri açısından farklar vardır. Etanercept kullanan hastalarda TNF kompleksinin kandan uzaklaştırılması haftaları bulurken adalimumab ve infliksimabda bu temizlik hızlı şekilde gerçekleşmektedir. Etanerceptin TNF'yi bir yerden diğer yere taşıma etkisi (TNF-carrier effect) diğer anti-TNF'lere göre daha belirgin olduğu ve bu sayede TNF'nin inflamasyon alanından bir başka bölgeye taşındığı düşünülmektedir. Bu durumun klinik önemi net değildir.

Monoklonal antikorlardan oluşan ilaçları kullanırken akılda tutulması gerekli olan bir nokta da immunojenitesidir. Çünkü ilaçlara karşı gelişen antikorlar hem ilacın etkinliğini azaltmakta hem de olası ciddi yan etki riskini arttırmaktadır. Gerçekten de ilaca karşı antikor gelişmiş hastalarda ilacın etkinliğinde zaman içerisinde ortaya çıkan düşüş klinik çalışmalarda gösterilmiştir (90). CH ve RA'da monoterapi olarak uygulanan infliksimabda immunojenisite gelişme olasılığı en yüksektir. İnfliksimab kullanan Crohn hastalarında 1-5. infüzyonda antikorlar %45-61 hastada saptanırken RA hastalarında doza bağımlı olarak antikor sıklığı azalır. 1 mg/kg infliksimab alan hastada %53 antikor gelişirken, 3 mg/kg alan hastada %21 ve 10 mg/kg alan hastada %7 sıklıkla antikor gelişir. Adalimumab kullanan hastalarda bu oran %5 ve etanercept kullanan RA hastalarında %2, psöriasis hastalarında %0'dır. Her üç ilacın da metotreksat ile birlikte kullanılması ilaca karşı antikor gelişimini belirgin olarak azaltmaktadır (90).

2.6.2.1.4. Anti-TNF İlaçların Etki Mekanizmaları

Başta infliksimab ve etanercept olmak üzere anti-TNF ilaçların etki mekanizmaları üzerinde derinlemesine incelemeler yapılmış olmakla birlikte halen bazı etki mekanizmaları net değildir. Genel olarak etki mekanizmaları iki aşamada incelenebilir. Birincisi TNFR blokajı aracılı, ikincisi ise tmTNF ilişkili mekanizmadır.

sTNF ve tmTNF'nin ikisinin de hastalık patogenezinde ve inflamasyonda etkili olması nedeniyle ideal bir anti-TNF ilaç her iki formu da bloke etmelidir. Tüm anti-TNF ilaçlar sTNF'yi bloke ederler. Bazı çalışmalarda etanerceptin infliksimab ve adalimumaba göre sTNF'yi hafifçe daha iyi bloke ettiği gösterilmiştir. Bu etki daha çok ortamda bulunan sTNF konsantrasyonuyla ilgili gibi görünmektedir (91). İnflamasyon varlığında ortamda bulunan yüksek konsantrasyondaki sTNF'yi her üç anti-TNF de eşit oranda bloke ederken, sTNF konsantrasyonu düşük olduğunda etanercept 20 kat daha etkili görülmektedir.

Etanercept, diğer anti-TNF ilaçlar arasında, $LT\alpha_3$ ve $LT\alpha_2\beta_1$ 'i bloke etmesiyle ayrıcalıklıdır. $LT\alpha_3$ biyolojik aktivitesini TNFR1 ve TNFR2 üzerinden yürütmektedir. Etanerceptin $LT\alpha_3$ ve sTNF'yi bloke etme gücü aynıdır. Bu nedenle ortamda etanerceptin bloke edeceğinin üzerinde $LT\alpha_3$ varlığında bazı TNF'leri bloke edemeyeceğine dair bir görüş de vardır (79). Anolik ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada RA hastalarında etanerceptin periferik kanda hafıza B hücre sayısını azaltırken adalimumabın bu etkisinin olmadığı gösterilmiştir (92). Bu etkinin $LT\alpha$ blokajına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Anti-TNF ilaçlar tmTNF üzerine dual etki göstermesi açısından ilginçtir. Anti-TNF ilaçlar tmTNF blokajıyla TNFR1/2'yi antagonize ederken revers signaling mekanizmasıyla apoptosis, hücre uyarılması veya baskılanması gerçekleşir (93). Tüm anti-TNF ilaçlar tmTNF'ye bağlanmakla birlikte revers signaling mekanizmasıyla sitokin baskılama güçlerinin in vitro çalışmalarda farklı olduğu gösterilmiştir. In vitro çalışmalarda LPS ile indüklenmiş TNF'yi infliksimab ve adalimumabın tam,

etanerceptin ise kısmen bloke ettiği saptanmıştır (94). Apoptosis veya programlı hücre ölümü fizyolojik bir olaydır ve hücre döngüsü, immun tolerans ve patojenlere karşı immunolojik düzenleme için gereklidir. Bir hücrenin aktive mi olacağı apoptosise mi gideceği metabolik durumuna ve mikroçevreye bağlıdır. Örneğin sTNF genelde TNFR1 aracılığıyla NF-κB üzerinden hücreyi uyarırken viral enfeksiyon nedeniyle yapısı değişmiş bir hücrede sTNF apoptosisi indükleyebilir (84). Crohn hastasının infliksimab tedavisinden 24 saat sonra lamina propriasındaki apoptotik hücrelerin incelendiği bir çalışmada apoptotik hücrelerin 4 kat arttığı bulunmuştur (95). Benzer bulgular RA sinovyumunda, psöriasis deri lezyonlarında da gösterilmiştir ve erken zamanda ortaya çıkan bu etkiden anti-TNF ilaçların doğrudan etkisine ve revers signaling'e bağlı apoptosisin indüklenmesine bağlı olduğu düşünülmüştür. In vitro çalışmalarda infliksimab ve adalimumabın apoptosisi indüklemesi benzer oranlarda saptanmışken etanercept ile ilgili çalışmalar farklılık göstermektedir. Bazı çalışmalarda apoptosisi indüklerken bazılarında etki etmediği saptanmıştır (96, 97). Bazı otoriteler infliksimabın hem sTNF hem de tmTNF'ye bağlanırken, etanerceptin asıl olarak sTNF'ye bağlandığını böylece caspase aracılı apoptosisi indükleyemediğini vurgulamaktadır. Diğer bir görüşe göre her iki ilaç da tmTNF'ye bağlanmakta ancak infliximabın daha yüksek afiniteli bağlandığını desteklemektedir. İnfliksimabın bu sayede membran aracılı apoptosisi indüklediği düşünülmektedir (96, 97).

Yapılan bir çok çalışma TNF'nin sitokin kaskadında en üstte yer aldığını göstermektedir. İnfliksimab tedavisinden sonra RA sinovyumunda IL-6, IL-8, GM-CSF, MCP-1, IL-1β, VEGF, TNF gibi sitokinlerin konsantrasyonları azalmıştır. RA, psöriasis ve Crohn hastalarında hücresel infiltrasyonda da belirgin azalma gösterilmiştir. Benzer sonuçlar adalimumab ve etanercept ile de saptanmıştır.

Anti-TNF ilaçların Fc kısımları, Fc reseptörüne bağlanarak fagositoz, antikor aracılı hücresel sitotoksosite, degranulasyon ve sitokin salınımına neden olabilmektedir. Etanercept kısa yarı ömrüyle Fc reseptörüne diğer anti-TNF ilaçlara göre daha az afinitede bağlanmaktadır. Bu durumda etanerceptin vücuttan temizlenmesini hızlandırmaktadır. TNF aracılı sitotoksitede önemli bir mekanizma da kompleman aracılı sitotoksitedir. Yapılan bir çalışmada hiç bir ilacın C1q'yu

bağlamadığı ancak TNF-inflksimab kompleksi ve TNF-adalimumab kompleksinin C1q'yu bağlarken etanerceptin bu bağlamayı yapamadığı gösterilmiştir (98). Daha önce bahsedildiği gibi bu, inflksimab ve adalimumabın etanercepte göre daha büyük kompleks oluşturmasıyla açıklanmaktadır. Bu durumun klinik önemi net değildir.

T lenfositlerin bir alt tipi olan CD4+ CD25+ hücelere regulator T hücreleri (Treg) denir ve immun cevabın düzenlenmesinde ve otoaktivitenin baskılanmasında önemli hücrelerdir. İnflksimab tedavisiyle birlikte Treg düzeyinin arttığı gösterilmiştir (99). Benzer şekilde RA hastalarında adalimumab tedavisiyle birlikte periferik kanda Treg düzeyi artmaktadır (100). Anti-TNF alan hastalarda romatoid faktör ve anti-CCP(Anti- Cyclic Citrullinated Peptide) düzeyi azalırken bazı hastalarda paradoksal olarak ANA, ds-DNA ve anti kardiyolipin gibi otoantikorlar gelişmektedir. Bu durum inflksimab tedavisi alanlarda etanercept ve adalimumab alanlara göre daha sık görülmektedir (101). İnflksimab tedavisine bağlı lupus benzeri tablonun, anti-TNF ilaçlara bağlı uygunsuz apoptosise bağlı ortaya çıkan otoantikorlara bağlı olduğu düşünülmektedir. İnfiliximab kullanan hastalarda bu durumun daha sık olması farmakokinetik özelliğine bağlı olarak tmTNF'lerin infüzyondan kısa süre sonra ortaya çıkan yüksek serum konsantrasyonu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. İnflksimab ile etanercept arasındaki farkın bir nedeni de LT'lerin timik tolerans, Treg ve T hücre bağımlı otoantikor oluşurması üzerindeki düzenleyici etkisinden geliyor olabilir. İnflksimab kullanan RA hastalarında pnömokok aşısına karşı hümmoral immun cevabın korunduğu saptanmıştır ve bu durumun T hücre aracılı B hücre antikor oluşumunda bozulma olmadığını göstermektedir (102). Öte yandan etanercept kullanan RA ve AS hastalarında pnömokok cevabı tam olarak oluşmazken (102) psöriatik artritte bu durum gözlenmez (103). Adalimumab kullanan RA hastalarında ise influenza ve pnömokok aşılarının koruyucu antikor titrelerinin bozulmadığı gösterilmiştir (104).

2.6.2.1.5. Anti-TNF İlaçlar ve Granülom Formasyonları

TNF hücre içi mikroorganizmaların elimine edilmesinde kritik önemi olan bir moleküldür. TNF makrofajlardan ve T hücrelerinden kemokin salınımıyla enfeksiyon alanına immün hücrelerin gelmesini kolaylaştırır. TNF aynı zamanda makrofajların

fagositoz kapasitesini artırır. Daha önce bahsedildiği gibi TNF, TNFR2 taşıyan hücrelerde apoptosisi kolaylaştırır böylece aşırı immün cevabın eliminasyonuna katkıda bulunur. Sonuçta TNF granülom oluşumunda önemli bir moleküldür. İnfliksımab hem granümatöz hastalıklara etkisiyle (CH ve sarkoidoz gibi) hem de tüberküloz riskinde belirgin artışa neden olmasıyla etanerceptten ayrılmaktadır. Bu iki ilacın ayrı etki mekanizmalarının olmasını açıklayacak bazı hipotezler öne sürülmüştür (105).

Birinci mekanizma hedef hücre ölümünün indüksiyonundaki farklılıklardır. İnfliksımab, monosit ve lenfositlerdeki tmTNF'yi etkileyerek kompleman aktivasyonu ve antikor bağımlı sitotoksositeye neden olur. Bu sayede granülom içerisindeki makrofajlar lizise uğrar ve yaygın tüberküloz gelişebilir. Mikobakterial antijenlere özgün hafıza T hücreleri, infliksımab tedavisine bağlı apoptosiz ile ortadan kaldırılıyor olabilir. Etanercept ile bu şekilde tetiklenen apoptosiz henüz gösterilememiştir.

İkinci mekanizma TNF sinyalinin inhibisyonundaki farklılıklardır. İnfliksımab hem TNFR1 hem de TNFR2'yi belirgin şekilde baskımlarken etanercept TNFR2 üzerinde etkilidir. Fare deneylerinde tmTNF üzerinden giden TNFR2 sinyalinin yeterli residüel koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca otoimmün hastalıklarda murine modellerinde TNFR1'in doku hasarından TNFR2'nin ise immün sistemi düzenleyici fonksiyonlardan sorumlu olduğu saptanmıştır.

Üçüncü mekanizma ise TNF blokajındaki biyoaktivitenin farklılığından kaynaklanmaktadır. İnfliksımab TNF'ye çok hızlı şekilde ve geri dönüşümsüz olarak bağlanır. Etanercept ise farklı bağlanma kinetiği nedeniyle (on-off binding kinetics) bağlanmadan 10 dakika sonra sTNF'nin %50'sinden ve tmTNF'nin %90'ından ayrılır. Böylece infliksımab TNF'yi tamamen nötralize ederken daha önce bahsedildiği gibi etanercept TNF'yi üretildiği yerden daha düşük konsantrasyondaki bölgelere taşır (TNF carrier effect). Bu durum belki de infliksımabın granülom formasyonunu bozarken etanerceptin neden daha az bozduğunu da açıklayabilir.

2.6.2.2. İNFLAMATUVAR BAĞIRSAK HASTALIKLARINDA TNF-ALFA ANTAGONİSTLERİ İLE TEDAVİ

2.6.2.2.1. Crohn Hastalığında anti-TNF Tedavi

Komplikasyonsuz bir Crohn hastasında genellikle remisyonun sağlanması için ilk tercih edilen ilaçlar kortikosteroidlerdir. Ne yazık ki, çok az sayıda hastada idame tedavi verilmeden remisyon kalıcı olabilir. Bu nedenle hastalığın tutulum şekli veya yerine göre değişmekle birlikte, oral 5-aminosalisilat (5-ASA) ve/ve ya immünomodülatuar ilaçlar (azathioprin/AZA, 6-merkaptopürin/6-MP, metotreksat/MTX) ile idame tedavisi uygulanır. Seçilmiş hastalarda ise cerrahi tedavi ilk seçenek olabilir. Cerrahi sonrası nüksün önlenmesi için çoğu zaman idame tedavisi gereklidir (106).

Bir grup hastada ise, hastalık aktivitesi steroidler ile kontrol altına alınamaz, steroid bağımlılığı ve steroid direnci söz konusu olabilir ya da steroid ve diğer immünomodülatuar ilaçlara karşı intolerans gelişebilir. Birinci basamak tedavilerle kontrol altına alınamayan orta-ağır şiddetli hastalıkta ve fistülizan tip CH'de anti-TNF tedavi gündeme gelmelidir. Anti-TNF tedavisinin, başlangıç tedavisine yanıt vermeyen ya da cerrahi tedavinin uygun bulunmadığı hastalar için saklanması, şu anda en iyi yaklaşım olmayı sürdürmektedir. Ancak steroid tedavisini minimum düzeye indirmede etkili bir yaklaşım, anti-TNF ilaçları erken dönemde kullanmaya başlamaktır. Biyolojik tedaviye uygun hastaların seçimi, klinik özelliklere, daha önceki tıbbi tedavilere alınan yanıt, fenotipe ve birlikte bulunan başka hastalıklara bağlıdır.

Belli hasta grupları, steroide yanıtız ya da steroide bağımlı hastalar, biyolojik tedaviye erken başlamaktan daha fazla yarar görebilirler. Genel yaklaşım olarak, CH'de tedavi seçenekleri yan etki profili daha güvenli olan ajanlardan, daha potent ve potansiyel olarak daha toksik olanlara doğru ardışık bir şekilde, klinik remisyonu sağlamak üzere kullanılırlar (step-up yaklaşım).

Anti-TNF tedaviler CH'da başlıca, inflamatuvar aktif luminal hastalık ve fistülizan hastalık olmak üzere iki endikasyonda kullanılır.

2.6.2.2.2. Ülseratif Kolitte anti-TNF Tedavi

Ülseratif kolitli hastaların kolonik mukozalarında yüksek düzeyde TNF eksprese edildiği bilinmektedir (107). Anti-TNF tedavi lerin CH'deki etkinliği ile ilgili bilgiler, ÜK tedavisinde IFX ve diğer biyolojik ajanların kullanımı üzerine yapılan çalışmaların dayanağını oluşturmuştur. Günümüzde IFX steroid dirençli ÜK tedavisinde remisyon indüksiyonu için kullanılmaktadır.

2.6.2.2.3. Anti-TNF Tedaviye Yanıtsızlık

Anti-TNF tedaviye yanıtsızlık iki şekilde karşımıza çıkabilir. Primer yanıtsızlık, biyolojik ajan açısından naiv hastada anti-TNF tedavi ile yeterli klinik yanıt alınamaması olarak tanımlanır. Genel kabul gören yaklaşım primer yanıtsızlığı değerlendirmek için 12. haftaya kadar beklemektir (108). Sekonder yanıtsızlıkta ise başlangıçta anti-TNF tedavi ile yanıt alınan hastada, ilerleyen dönemde gelişen yanıt kaybı ifade edilmektedir. Primer yanıtsızlık söz konusu olduğunda, kullanılan biyolojik ajanın değiştirilmesini destekleyen yeterli veri yoktur. Bu durumda cerrahi tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi ön planda düşünülmelidir. Ancak medikal tedavi dışında seçenek olmadığında diğer bir anti-TNF ilacın denemesi kaçınılmaz olabilir. Sekonder yanıtsızlık daha çok kullanılan anti-TNF ilaca karşı gelişen otoantikörler ile ilişkili olduğundan, doz artırımına gidilmesi veya doz aralıklarının azaltılmasının yeniden yanıt elde edilmesine katkısı olabilir (108). Bir diğer alternatif de anti-TNF ilacın değiştirilmesidir.

2.6.2.2.4. Anti-TNF İlaçların Yan Etkileri

Etki mekanizmaları ortak olan tüm anti-TNF ajanların belli başlı yan etkiler şunlardır:

2.6.2.2.4.1. Uygulama Yeri Reaksiyonları

En sık görülen yan etkilerdir. Çoğunlukla ilk 1 hafta içerisinde görülür ve 3-5 gün sürüp kendiliğinden geçerler. Çoğu zaman ilaç kesilmesi veya değişimine neden olacak düzeyde etkiler oluşmaz.

2.6.2.2.4.2. İnfüzyon Reaksiyonları

İnfüzyon reaksiyonları akut ve gecikmiş reaksiyonlar olarak ikiye ayrılır. Akut reaksiyonlar infliksimabın ilk 24 saatinde görülen reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlar infüzyonun başlamasından sonra genellikle 10 dakika ve 4 saat arasında başlar. Akut reaksiyonlar IgE ilişkili tip 1 hipersensitivite reaksiyonlarıdır (anafilaksi, hipotansiyon, bronkokonstriksiyon, ürtiker). Gecikmiş reaksiyonlar ise tipik olarak 5-7 gün içerisinde görülmekle beraber 1 ila 14 gün arasında görülebilirler. Serum hastalığı ile benzer özellikler gösterirler. Tip 3 hipersensitivite reaksiyonları (immunkompleks ilişkili) olarak ortaya çıkabilirler (cilt döküntüleri, artraljiler, miyaljiler, ateş ve halsizlik). Özellikle akut reaksiyonların önlenmesi için test dozu uygulaması veya çeşitli premedikasyonlar uygulanabilir (anti-histaminikler, parasetamol, kortikosteroidler).

2.6.2.2.4.3. Enfeksiyonlar

TNF immün sistemin çok önemli bir komponentidir ve anti-TNF tedaviler ciddi enfeksiyonlar için kolaylaştırıcı olabilir. Bunlar arasında bakteriyel enfeksiyonlar (özellikle pnömoni), tüberküloz ve diğer fırsatçı enfeksiyonlar sayılabilir. Özellikle tüberküloz riski nedeniyle tedavi öncesi hastalarda latent tüberküloz varlığı akciğer grafisi ve PPD (Purified Protein Derivative) testi ile değerlendirilmeli, gerekliyse izoniazid ile profilaksi uygulanmalıdır.

2.6.2.2.4.5. Demiyelinizan Hastalıklar

Anti-TNF tedaviler ve demiyelinizan hastalıklar arasında ilişki olabileceğine dair bazı ispatlanmamış şüpheler mevcuttur. FDA'nın 2001 yılındaki bir derlemesine

göre infliksimab ve etanercept ile ilişkili 19 vaka tanımlanmıştır (17 etanercept ve 2 infliksimab). Demiyelinizan hastalık başlangıç semptomları konfüzyon, ataksi, disestezi ve parestezi olabilir. Ayrıca fasiyal paralizi, optik nörit, hemiparezi, transvers miyelit, Guillain-Barre sendromu görülebilir. MR ve EMG (elektromiyografi) ile tanı konur. Çok nadir görülürler ancak nörolojik semptom varlığında ilaç hemen kesilmeli ve nöroloji departmanı ile konsülte edilmelidir.

2.6.2.2.4.6. Kalp Yetmezliği

Anti-TNF tedavi ile kalp yetmezliği arasındaki ilişki tam ortaya konamamıştır. Ancak yeni gelişen kalp yetmezliği veya mevcut hastalığın kötüleşmesi şeklinde vakalar bildirilmiştir. İnfliksimabın 5mg/kg üzerindeki dozları orta-ağır şiddetteki kalp yetmezliği hastalarında kontrendike kabul edilmektedir. Bugünkü bilgilerimizle semptomatik kalp yetmezliği olan hastalarda anti-TNF yerine alternatif tedaviler uygulanması önerilmektedir. Yeni gelişen kalp yetmezliği söz konusu ise anti-TNF ilişkili kalp yetmezliği düşünülerek ilaç kesilmeli ve gerekli tetkik ve tedaviler hemen uygulanmalıdır. Sınıf 1 ve 2 kalp yetmezliği olan hastalarda anti-TNF tedavi kullanılması gerekli ise öncesinde kardiyojoloji ile konsülte edilmeli, bazal elektrokardiyografi ve ekokardiyografi görülmelidir.

2.6.2.2.4.7. Hepatik Yan Etkiler

Anti-TNF ilişkili hepatotoksisite riski oldukça düşüktür. Akut karaciğer yetmezliği, hepatit ve kolestaz bildirilmiş yan etkiler arasındadır. Nadiren fatal olgular bildirilmiştir. Bu olguların büyük çoğunluğu infliksimab ile ilişkilidir ve ilacın prospektüsünde de bununla ilişkili uyarı mevcuttur.

Hepatit B taşıyıcısı olan hastalar anti-TNF ilaçlar ile tedavi edilecekler ise lamivudin ile profilaksi yapılmalıdır. Hepatit C ile ilgili veriler sınırlıdır. Ancak küçük hasta serili bazı çalışmalarda anti-TNF tedavinin hepatit C'li hastalarda güvenli olduğuna dair veriler mevcuttur (109-111).

2.6.2.2.4.8. Dermatolojik Yan Etkiler

Anti-TNF tedavi ile ilişkili bildirilmiş çeşitli hastalıklar mevcuttur:

- Psöriasis ve psöriasis benzeri cilt lezyonları
- Egzematöz dermatit
- Sistemik lupus eritematosus'un kutanöz bulguları
- Lökositoklastik vaskülit
- Liken plan ve benzeri lezyonlar
- Viral, bakteriyel ve fungal cilt enfeksiyonları

2.6.2.2.4.9. Sitopeniler

Anti-TNF tedavi ile ilişkilendirilmiş nadir pansitopeni ve aplastik anemi vakaları mevcuttur. Bu yüzden hastalar diğer bir kemik iliği süpresyonu yapan ilaç kullanmıyor olsa bile tam kan sayımları ile takip edilmelidir.

2.6.2.2.4.10. Maligniteler

Lenfoma, lösemi ve solid malignite riskinin anti-TNF tedavi ile artabileceğine ait görüşler mevcuttur. Özellikle lenfoma gelişimini değerlendiren yayınlar farklı sonuçlar ortaya koymaktadır. Anti-TNF ile siklofosfamid'in beraber kullanıldığında solid tümör gelişimi riskini arttırdığına dair görüş ise daha belirli verilere dayanmaktadır (112). Bu yüzden, bu ilaçların birlikte kullanımı kontrendikedir. EBV DNA titre takibi yakın zamanda gündeme gelen konular arasındadır. Sonuçta tedavi başlangıcında hastalar, riskler ve seçenekler konusunda bilgilendirilmeli ve tedavi boyunca malignite gelişimi açısından yakından izlenmelidir.

2.6.2.2.4.11. Otoimmün Hastalıklar

Anti-TNF tedavi ile ilişkili anti-dsDNA pozitifliği, lupus benzeri sendromlar ve vaskülitler bildirilmiştir. Çoğu vakada otoimmün hastalık anti-TNF'in kesilmesi ile gerilemiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. OLGU SEÇİMİ

Çalışmaya; İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Kliniğine 25 Temmuz 2007 ile 20 Kasım 2013 tarihleri arasında başvuran, klinik, endoskopik ve histopatolojik olarak İBH tanısı almış ve bu tanı doğrultusunda anti-TNF ilaçlar ile tedavi edilen ve halen tedavileri devam eden; toplam 50 hasta dahil edildi. Bu hastaların ilk tanı sırasında Hematoksilen Eozin(H&E) kesitleri incelenen kolonoskopik ve ileal mukozal biyopsileri, immünohistokimyasal belirteçler uygulanmak üzere çalışmaya alındı. Hastalar çalışma konusunda bilgilendirildi ve tüm hastalardan gönüllü onam formu alındı.

Olguların demografik verileri hastane otomasyon sistemi ve hastanemiz Gastroenteroloji Kliniği kayıtları incelenerek elde edildi. Kayıtlarda eksiklik görülmesi durumunda hastalara telefon edilerek bu bilgilere ulaşıldı. Hastaların yaşı, cinsiyeti, hastalık tipi ve süresi, uygulanan tedavi şekli ve süresi, hastalık lokalizasyonu, perianal hastalık varlığı, anti-TNF öncesi cerrahi ihtiyacı, varsa eşlik eden tedaviler kaydedildi.

Olguların hastalık süresi; hastanemiz Tıbbi Patoloji kliniği tarafından İBH tanısı verildiği tarihten, 2014 Haziran ayına kadar olan süre olarak kabul edildi ve “ay” olarak ifade edildi. Olgular hastalık tipi olarak ÜK ve CH olmak üzere iki gruba ayrıldı. Her hastaya infliksimab veya adalimumabdan biri olmak üzere iki tedavi şekli uygulanmış olup, tedavi süresi ilk doz ilacın verilmesinden 2014 Haziran ayına kadar kabul edilip yine “ay” olarak belirtildi. Hastalık lokalizasyonu ÜK için ekstensif kolit, sol kolit ve proktit; CH için ileal, kolonik, ileokolonik ve üst gastrointestinal sistem yerleşimli olarak kategorize edildi. Ayrıca CH olan olgular inflamatuvar, stenotik, penetran olarak alt klinik tiplere ayrıldı ve perianal hastalık eşlik edip etmediği belirtildi.

Anti-TNF tedavisi yanı sıra ek tedavi uygulanıp uygulanmadığı belirtildi, uygulandıysa bu ek tedaviler Asetilsalisilikasit, Budesonid, Azatiyopürin,

Asetilsalisilikasit ile birlikte Budesonid, Asetilsalisilikasit ile birlikte Azatiyopürin olarak gruplandırıldı ve ek tedavi almayanlarla birlikte altı grup oluşturuldu. Hastaların anti-TNF tedavisi öncesi cerrahi girişime ihtiyacı olup olmadığı veriler arasına dahil edildi.

Hastalık süresi ve tedavi süresi dışındaki tüm veriler istatistiksel analiz için sayı olarak özetlendi.

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri; biyopsi öncesi anti-TNF ve diğer İBH tedavisinde etkili ilaçların kullanılmış olması ve biyopsi sırasında aktif enfeksiyöz kolit bulunması idi.

Çalışma hastaları yanı sıra, 1 Ocak 2014 ile 1 Haziran 2014 tarihleri arasında hastanemiz Gastroenteroloji kliniğine başvuran ve kolonoskopi endikasyonu diyare dışındaki irritabl bağırsak semptomları olan 25 hasta kontrol grubu olarak seçildi. Kontrol grubunun kolonoskopik ve histolojik olarak normal özellikte olmasına dikkat edildi.

3.2. DOKU ÖRNEKLERİ

Çalışma grubunun biyopsileri, İBH hastalarının, ilk tanı anında yani herhangi bir tedavi uygulanmadan önce alınmış olan kolonik ve ileal mukozal biyopsilerinin, en şiddetli inflamasyon gösteren mukoza alanından; kontrol grubu biyopsileri ise normal makroskobik görünümüne sahip kolonik mukoza alanından alındı. Biyopsi örnekleri %10 formalin solüsyonu içerisinde Tıbbi Patoloji bölümüne ulaştırıldıktan sonra kasetlere alınıp kapalı sistem otomatik doku takibine alındı. Dokular parafin içerisine gömülüp bloklanarak ilk tanı için kesit alma ve H&E ile boyanma işlemlerinden geçirildi.

3.3. MİKROSKOBİK İNCELEME

Olgulara ait H&E boyalı kesitler tekrar gözden geçirilerek mikroskopik özellikleri yanı sıra immünohistokimyasal çalışma yapılmak üzere uygun parafin bloklar seçildi.

3.4. İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEM VE TNF-ALFA EKSPRESE EDEN HÜCRELERİN SAPTANMASI

Her bir olgu için, bir adet tanısal olan parafin blok saptandı. Her olgunun belirlenen parafin bloklarından lizinli lamlara, 3-4 mikron kalınlığında üçer adet seri kesit hazırlandı. Kontrol bloklarına da aynı işlem uygulandı.

Her olgunun ilk kesitlerine; mukozal TNF-alfa eksprese eden hücreleri saptamak için TNF-alfa, ikinci ve üçüncü kesitlere ise dokudaki TNF-alfa immünreaktif lenfosit ve makrofajları belirlemek için CD3 ve CD68 immünohistokimyasal belirteçleri uygulandı.

TNF-alfa; Novus marka rabbit polyclonal antikor 1:200 dilüsyonda hazırlanarak kullanıldı. Leica Bond-Max marka makine ile DAB kromojen sistemli detection kit (peroksidaz blok, postprimer, polimer, DAB kromojen, hematoksilin; detection kit Lot numarası 26228) ile boyandı. ER2 (Edta) solüsyonu ile çalışıldı.

CD3 ve CD68 için Dako marka kullanıma hazır mouse monoclonal antikorlar kullanıldı.

a)Dokular öncelikli olarak etüvde 60 derecede yarım saat bekletildi.

b)Dako marka PTLink cihazında EnVision FLEX Target retrieval Solution (50x), Low pH, K805 ile 97 C 20 dakika inkübe edilip 65 C'ye soğutuldu.

c)EnVision FLEX Washing buffer (20x), code K8007 hazırlanmış tanklar içerisinde 5 dakika bekletildi.

d)Boyama aşaması için Dako Autostainer Link48 cihazına tüm preparatlar aktarıldı.

Aşağıdaki boyama protokolü uygulandı:

1. Washing buffer ile yıkama
2. En Vision FLEX Peroxidase-Blocking Reagent ile inkübasyon 5 dakika
3. Washing buffer ile yıkama
4. Primer antikor ile inkübasyon 30 dakika
5. Washing buffer ile yıkama
6. En Vision FLEX/HRP ile inkübasyon 20 dakika
7. Washing buffer ile yıkama

8. Washing buffer ile yıkama
9. En Vision FLEX DAB+working solution ile inkübasyon 10 dakika
10. Distile su ile yıkama
11. Envision FLEX Hematoksilen ile inkübasyon 5 dakika
12. Washing buffer ile yıkama + dH20

Boyama işleminden sonra tüm preparatlar 2'şer dakika alkol serilerinden ve 5 dakika ksilen serisinden geçirilip mounting medium ile kapatıldı.

Pozitif kontrol olarak her üç antikor için sağlam bağırsak mukozası kullanıldı.

3.5. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BOYALARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

TNF-alfa, CD3 ve CD68 için sitoplazmik boyanma pozitif kabul edildi. Üç belirteç için de; her lam üzerinde, boyanmanın en yoğun olduğu en az beş alan seçildi. Bu alanlarda; Olympus marka BX51 model mikroskopla, x40 büyütmede 0.125 mm² genişlikteki birim alana düşen ve pozitif boyanma gösteren hücreler sayılarak ortalama sayısal değer alındı. Crohn granülomları ve lenfoid foliküllere ait histiyositlerdeki CD68 ve TNF-alfa immünekspresyonları değerlendirmeye dahil edilmedi. Her üç belirteç için, boyanan hücre sayısı GİS patolojisi alanında deneyimli iki patolog tarafından değerlendirildi.

İstatistiksel analiz için bu sayısal veriler iki şekilde kullanıldı. ÜK, CH ve kontrol gruplarının karşılaştırılması, ÜK ve CH'de hastalık tutulum yeri, CH için davranış biçimi ve perianal hastalık durumu değerlendirilmesinde; birim alana düşen, TNF-alfa ile pozitif boyanma gösteren hücre sayısı kullanıldı. Klinik parametrelerle mukozal TNF-alfa düzeyinin karşılaştırılmasında ise; bulduğumuz hücre sayısının bu 50 hasta için ortalaması alınıp bu değer altında kalanlar düşük, üzerindeki yüksek kabul edilerek iki grup oluşturuldu. Klinik parametrelerle hem birim alana düşen ortalama TNF-alfa pozitif hücre sayısı hem de oluşturduğumuz düşük ve yüksek gruplar karşılaştırıldı. CD3 ve CD68 boyanma yoğunluğu ise sadece ilk yöntemle değerlendirmeye alındı.

3.6. HASTALARIN KLİNİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Hastalar anti-TNF tedaviye başladıkları tarihten en erken altı ay, en geç 78 ay sonra tedaviye verilen yanıt açısından klinik olarak değerlendirildi. Bu değerlendirme yapılırken; indüksiyon yanıtı, remisyona idame ettirilebilmesi, relaps görülüp görülmemesi, hastaneye yatış ve steroid ihtiyacı olup olmaması, intensifikasyon, anti-TNF ajanının değiştirilmesi gerekliliği, mukozal remisyona, fistül yanıtı, anti-TNF sonrası cerrahi ihtiyacı gibi klinik parametreler kullanıldı. Belirlenen sonuçlar istatistiksel analizde kullanabilmek için sayısal verilere dönüştürüldü.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

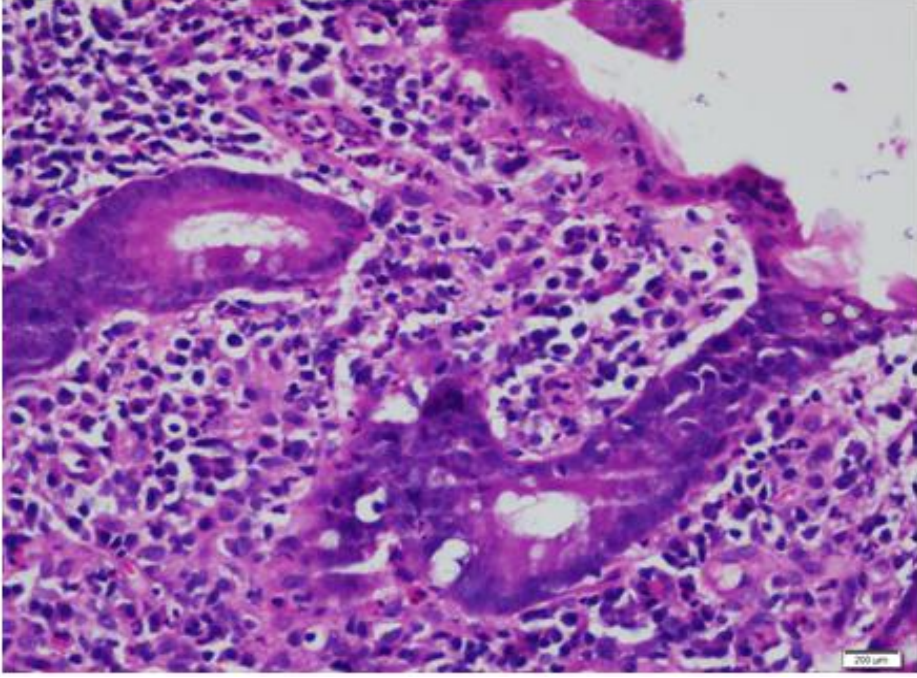
Çalışmanın istatistik analizleri, SPSS 16.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Betimleyici istatistikler, sınıflayıcı değişkenler için sayı ve yüzde, sürekli değişkenler için ortalama ve standart sapma veya medyan ve kartiller arası fark olarak hesaplandı. Farklı mukozal TNF-alfa düzeylerinde klinik parametrelerin değerlendirilmesinde ve düşük ve yüksek mukozal TNF-alfa düzeylerinde anti-TNF ajanların etkinliklerinin analizinde ki-kare veya Fisher kesinlik testi kullanıldı. Klinik parametreler için mukozal TNF-alfa düzeylerinin karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Mukozal TNF-alfa düzeyleri ile CD3(+) ve CD68(+) hücre yoğunlukları arasındaki ilişki Spearman korelasyon testi ile incelendi. %95 güven düzeyinde çalışıldı ($p < 0.05$ istatistiksel anlamlı kabul edildi).

4. BULGULAR

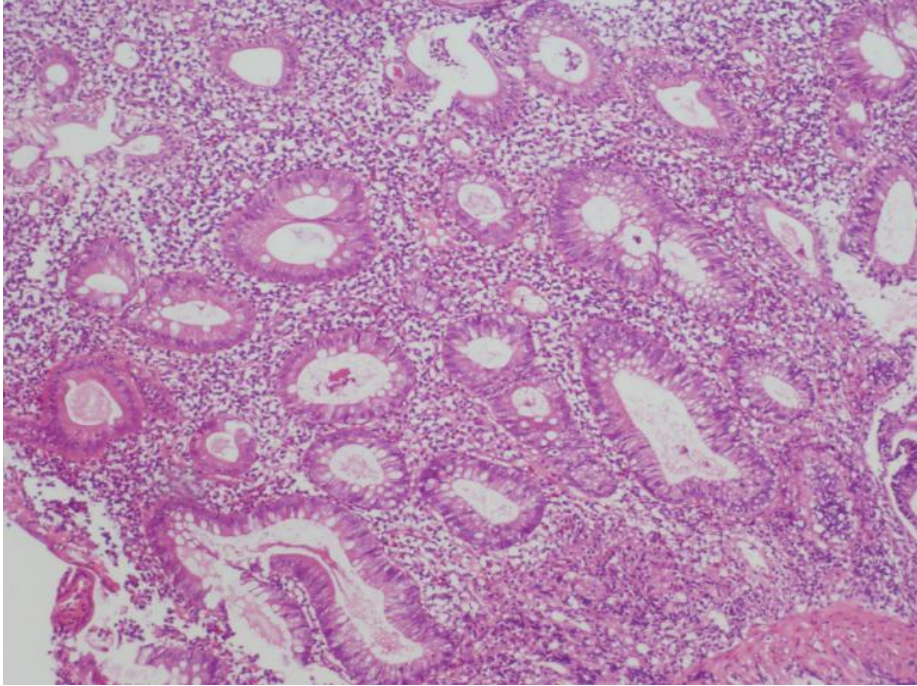
4.1. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Çalışma grubu için seçilen 50 İBH hastasının tümünde H&E boyalı kesitlerde ÜK ve CH için demonstratif, tanı koydurucu histopatolojik özellikler saptandı.

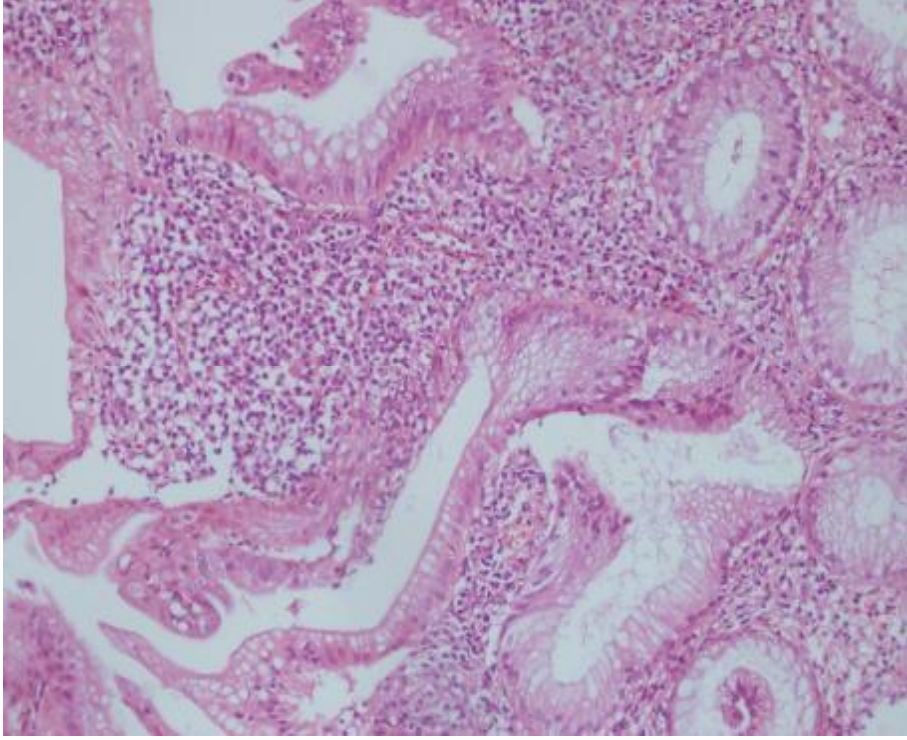
ÜK hastalarına ait mukozal biyopsilerin bir kısmında, hastalığın evresiyle ilişkili olarak lamina propriada diffüz mononükleer hücre hakimiyeti görülürken çoğunda mikst tipte inflamasyon izlendi (Resim 1). Kronik mukozal hasarla ilişkili olarak kriptlerde atrofi, mukus miktarında azalma, kriptlerde düzensizlik ve çatallanmayla karakterize arşitektürel distorsiyon biyopsilerin tamamında mevcuttu (Resim 2 ve 3). Kript harabiyetini gösteren bulgular olan, epitelin nötrofiller ile infiltrasyonu şeklinde görülen kriptit (Resim 4) ve hastalığın ilerlemesiyle yeterli sayıda nötrofilin kript lümenine geçmesiyle karakterize kript absesi (Resim 5) olguların çoğunda izlendi. lamina proprianın bazal kısmında lenfoplazmasitik infiltrasyon ve kript tabanlarının muskularis mukozadan uzaklaşmasıyla karakterize bazal plazmasitozisin ÜK olgularında CH'a göre daha sık olduğu görüldü (Resim 6 ve 7).



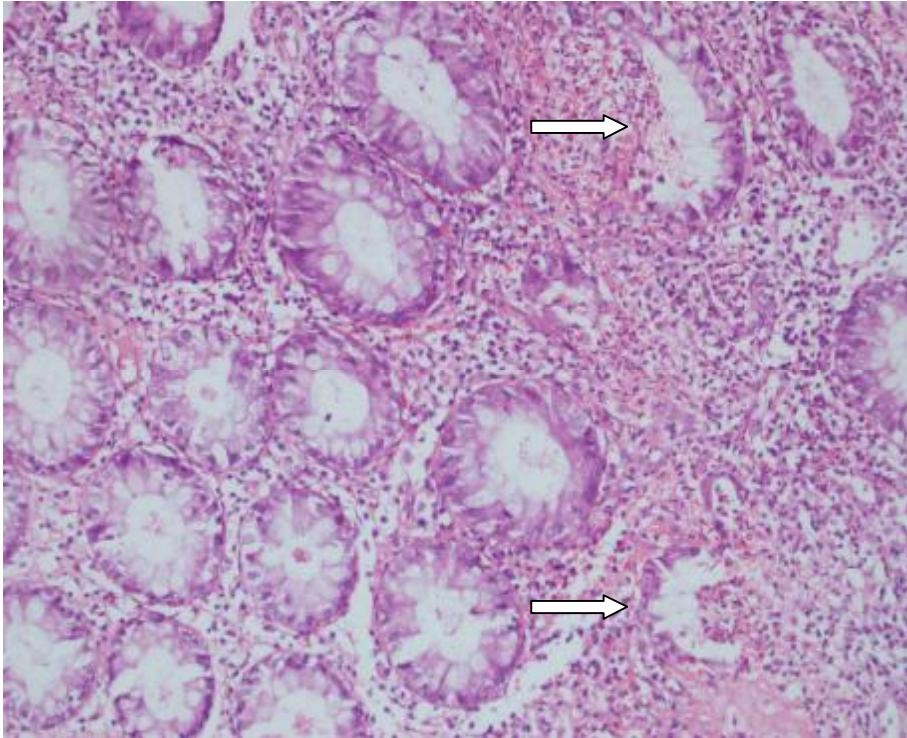
Resim 1: ÜK'de lamina propriada mikst inflamasyon, H&E X40



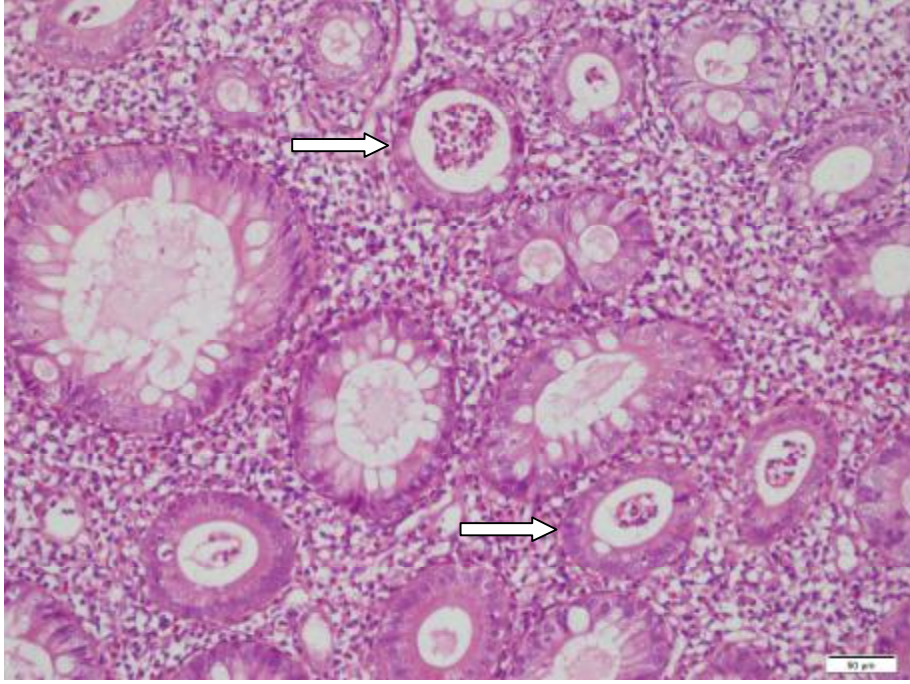
Resim 2: ÜK'de mikst inflamasyon ve arşitektürel distorsiyon, H&E X10



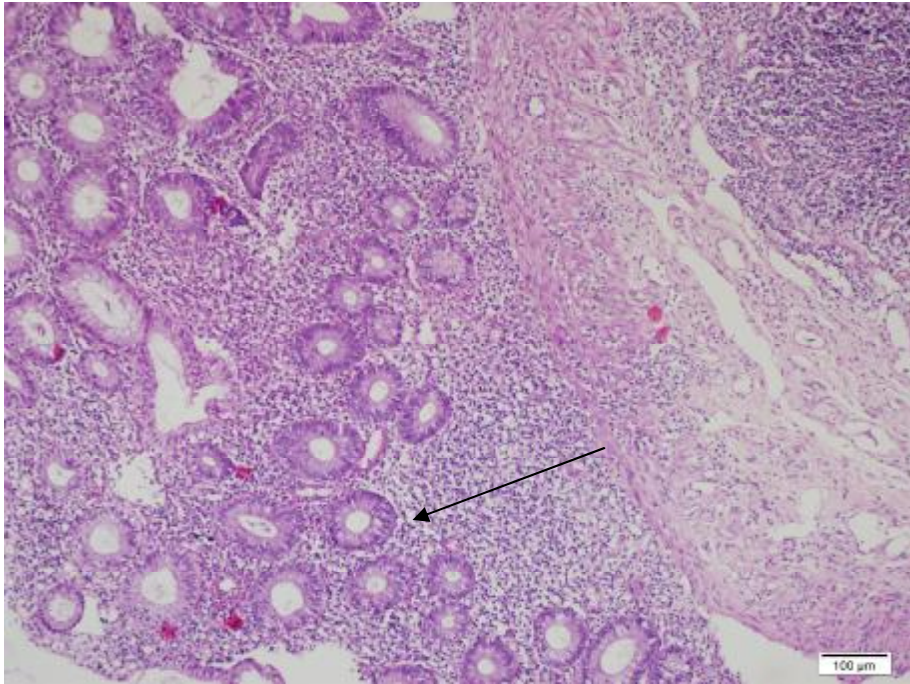
Resim 3: ÜK'de arşitektürel distorsiyon, H&E X20



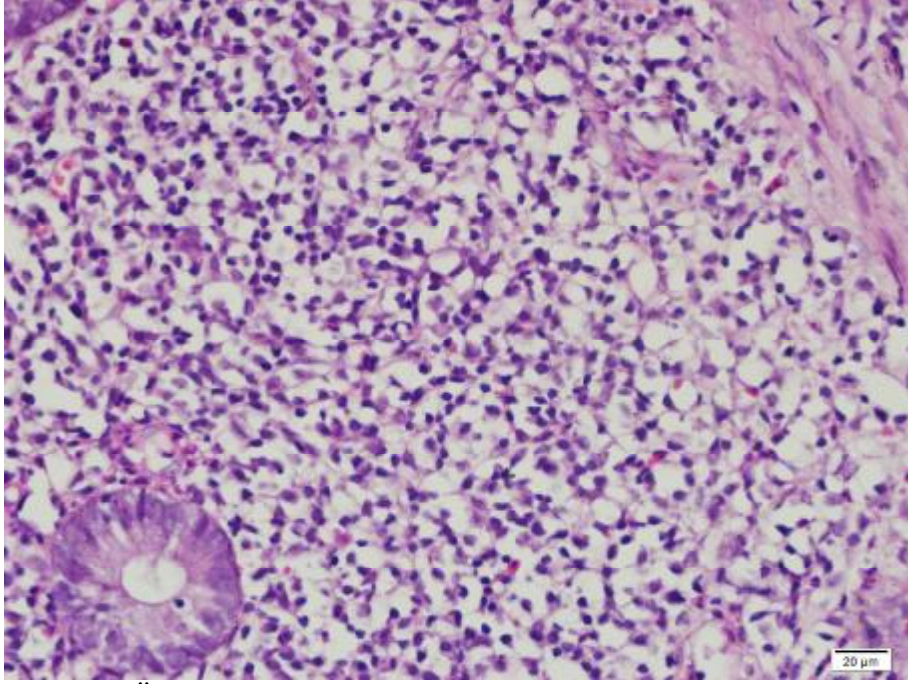
Resim 4: ÜK'te kriptit, H&E X20



Resim 5: ÜK'de kript absesi, H&E X20

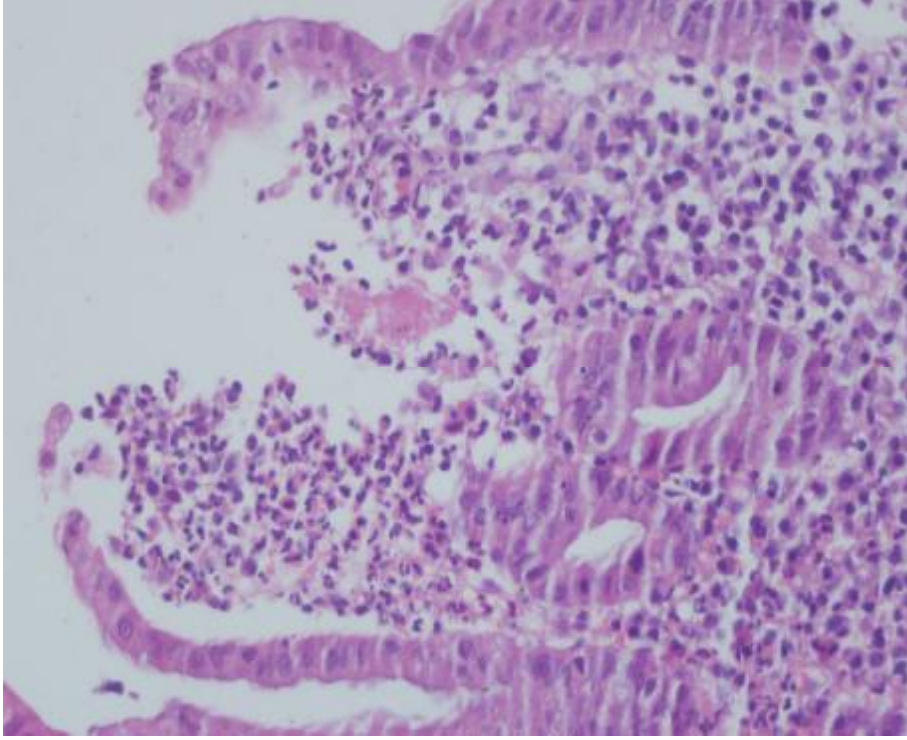


Resim 6: ÜK'de bazal plazmasitozis, H&E X4

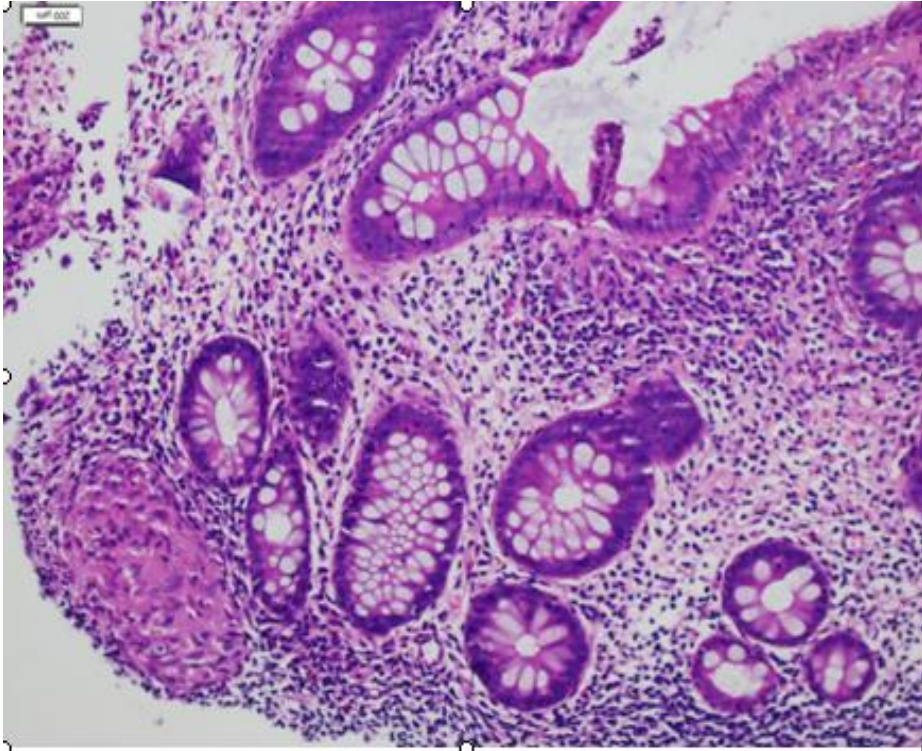


Resim 7: ÜK’de bazal plazmasitosiz, H&E X40

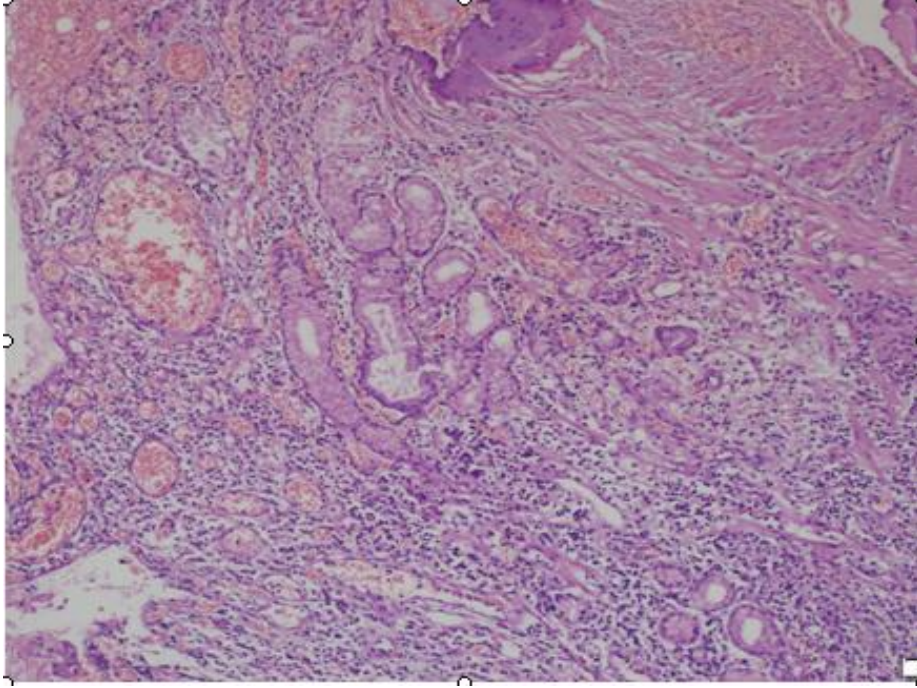
CH hastalarına ait mukozal biyopsilerde de ÜK hastalarının biyopsilerine benzer kronik inflamasyonu yansıtan bulgular mevcuttu. Ağır aktif hastalıkla ilişkili ve CH’nın karakteristik erken dönem bulgusu olan aftöz ülserler olguların bazılarında izlendi (Resim 8). Hem aktif hastalığın bulunduğu hem de tutulum görülmeyen barsak segmentlerinde izlenebilen granülomlar birkaç mukozal biyopside mevcuttu (Resim 9). Mukozada kronik harabiyete bağlı olan mukozal metaplaziler, antral tipte mide glandlarının görülmesi biçiminde pilorik metaplazi (Resim 10) ve distal kolonda normalde görülmeyen Paneth hücrelerinin gelişmesi şeklinde Paneth hücre metaplazisi (Resim 11) iki olguda görüldü.



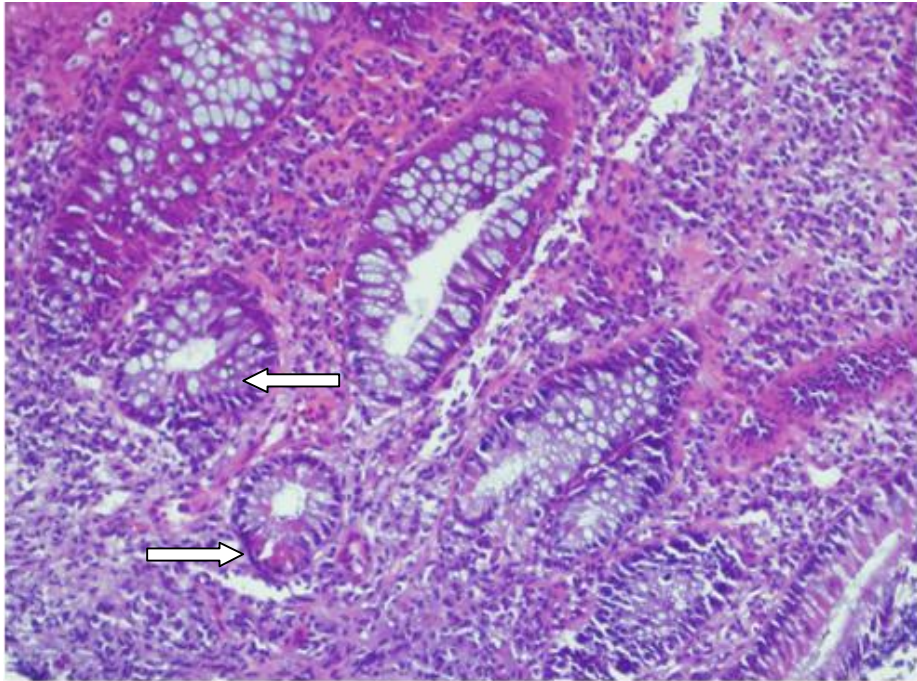
Resim 8: CH'de aftöz ülser, H&E X40



Resim 9: CH'de granülom formasyonu, H&E X20



Resim 10: CH'de pilorik metaplazi, H&E X4



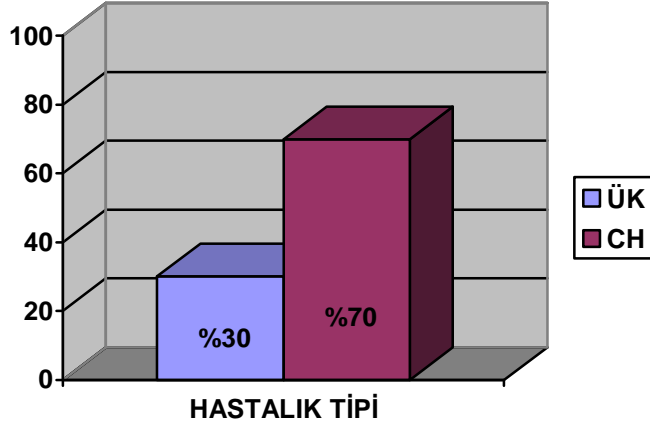
Resim 11: CH'de paneth hücre metaplazisi, H&E X10

4.2. HASTA KARAKTERİSTİKLERİ VE DEMOGRAFİK

VERİLER

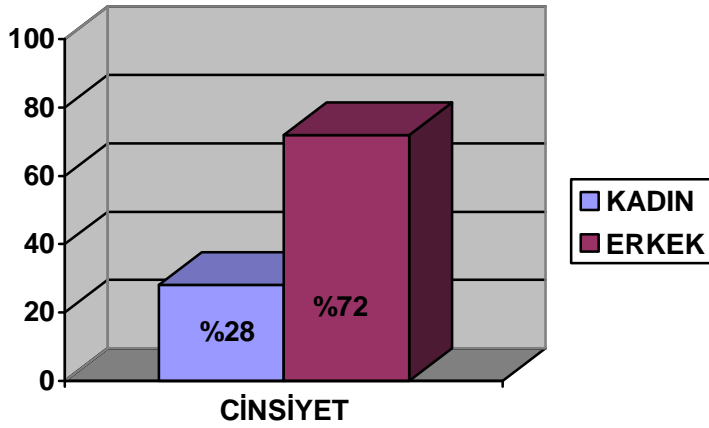
Çalışmamızda; 50 İBH hastası değerlendirilmiş olup, kontrol grubunda 25 hasta mevcuttur. Çalışmaya alınan İBH hastalarının yaş ortalaması 42.1 ± 10.6 olup, median İBH hastalık süresi 5 yıl, median anti-TNF tedavi süresi 18 ± 7.5 ay idi. Hastaların 22(%44)'si adalimumab, 28(%56)'i infliksimab tedavisi almakta idi. Hastaların 35(%70)'i Crohn, 15(%30)'i ÜK hastasıydı (Grafik 1).

Grafik 1: Hastaların hastalık tipine göre dağılımı



Hastaların cinsiyet dağılımına baktığımızda; 36(%72) hasta erkek, 14(%28) hasta kadın idi (Grafik 2).

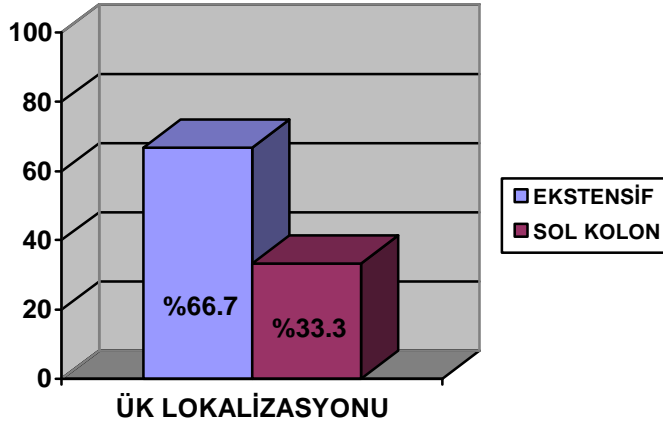
Grafik 2: Hastaların cinsiyet dağılımı



Hastalar anti-TNF tedaviye ek tedavi alıp almama ve tedavi şekline göre gruplandırıldığında; 15(%30) hasta Asetilsalisilikasit (ASA), 12(%24) hasta Azatiopürin (AZA), 17(%34) hasta ASA ve AZA birlikte tedavisi almakta olup, 6(%12) hastaya ek tedavi uygulanmamıştı.

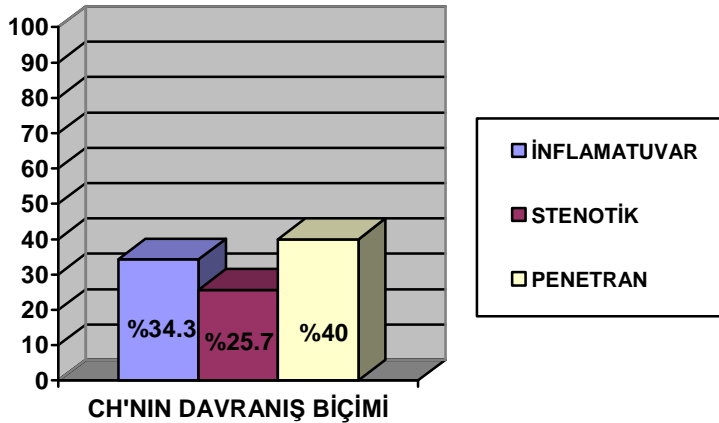
ÜK hastalarında hastalığın kolondaki lokalizasyonu; 10(%66.7) hastada ekstensif özelliğe, 5(%33.3) hastada sol kolon yerleşimliydi (Grafik 3).

Grafik 3: ÜK tutulum şekli dağılımı

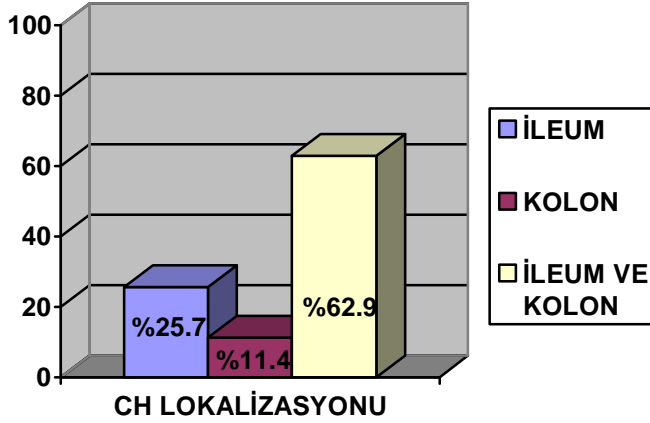


Crohn hastalarında hastalığın davranış biçimine göre dağılım; 12(%34.3) hastada inflamatuvar, 9(%25.7) hastada stenotik, 14(%40) hastada penetran şeklinde olup (Grafik 4), hastalık lokalizasyonu 9(%25.7) hastada ileum, 4(%11.4) hastada kolon, 22(%62.9) hastada ileum ve kolon olarak saptandı (Grafik 5).

Grafik 4: CH davranış biçimine göre dağılımı



Grafik 5: CH lokalizasyonuna göre dağılım



ÜK hastalarının yaş ortalaması 46.1 ± 13.5 olup ortalama hastalık süresi 4 yıl, ortalama anti-TNF tedavi süresi 16 ± 5 ay idi. Hastaların cinsiyet, anti-TNF tedavi şekli ve eşlik eden tedaviye göre dağılımı tablo 4’de belirtilmiştir.

Tablo 4: ÜK hastalarının cinsiyet, anti-TNF tedavi şekli ve eşlik eden tedaviye göre dağılımı

		Hasta Sayısı	Yüzde(%)	Toplam
CİNSİYET	Kadın	2	13.3	15 % 100
	Erkek	13	86.7	
ANTİ-TNF TEDAVİ ŞEKLİ	Adalimumab	2	13.3	
	İnfliksimumab	13	86.7	
EŞLİK EDEN TEDAVİ	ASA	5	33.3	
	AZA	1	6.7	
	ASA+AZA	9	60	

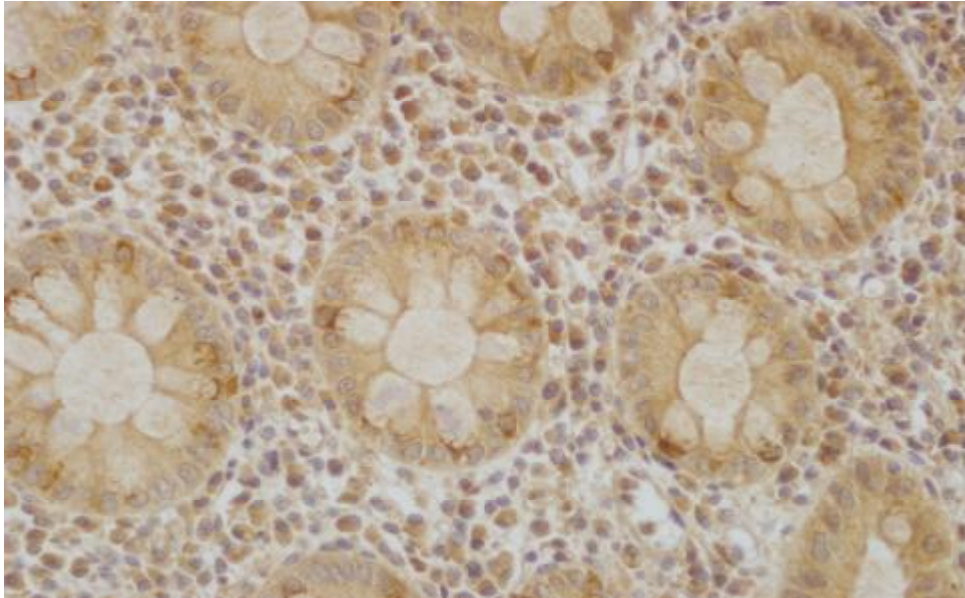
Crohn hastalarının yaş ortalaması 40.4 ± 8.8 olup ortalama hastalık süresi 5 yıl, ortalama anti-TNF tedavi süresi 18 ± 20 ay idi. Hastalarının $8(\%22.9)$ ’inde perianal hastalık mevcut olup, $27(\%77.1)$ ’inde izlenmedi. Hastaların cinsiyet, anti-TNF tedavi şekli ve eşlik eden tedaviye göre dağılımı tablo 5’te belirtilmiştir.

Tablo 5: Crohn hastalarının cinsiyet, anti-TNF tedavi şekli ve eşlik eden tedaviye göre dağılımı

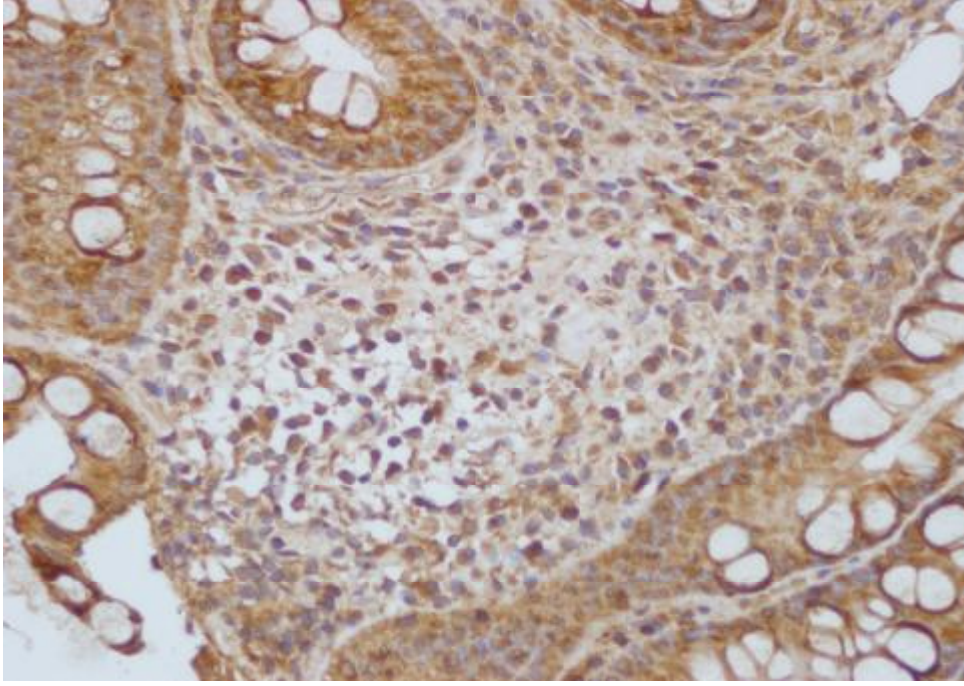
		Hasta Sayısı	Yüzde(%)	Toplam
CİNSİYET	Kadın	12	34.3	35 %100
	Erkek	23	65.7	
ANTİ-TNF TEDAVİ ŞEKLİ	Adalimumab	20	57.1	
	İnfliksimumab	15	42.9	
EŞLİK EDEN TEDAVİ	ASA	10	28.6	
	AZA	11	31.4	
	ASA+AZA	8	22.9	
	Yok	6	17.1	

4.3. İBH VE KONTROL GRUBUNDA MUKOZAL TNF DÜZEYLERİ VE GRUPLAR ARASINDA KARŞILAŞTIRMA

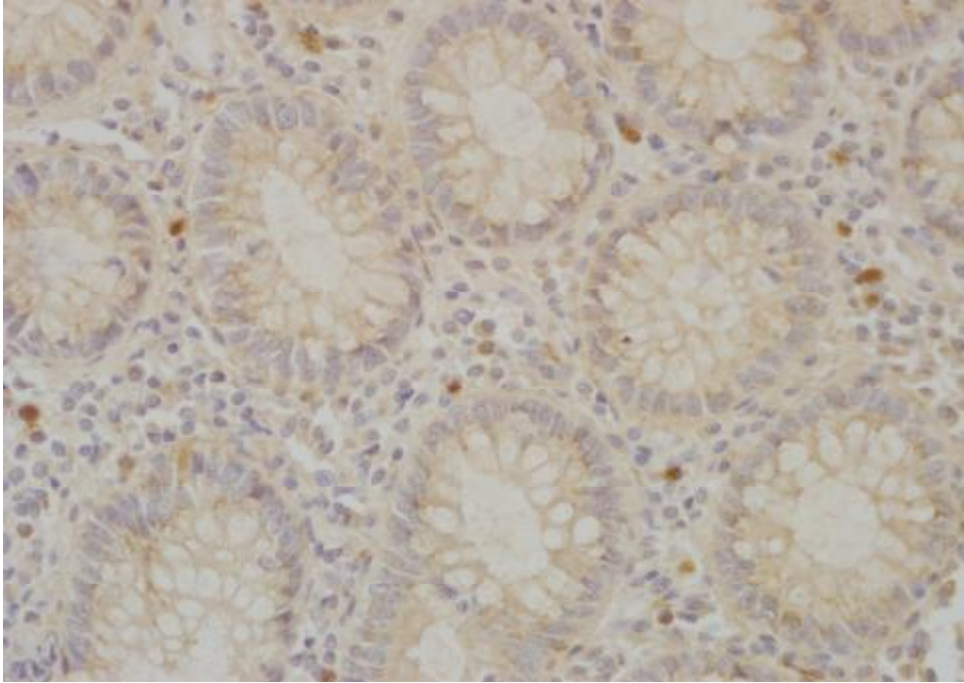
ÜK, CH ve kontrol gruplarında mukozal biyopsi örneklerindeki TNF-alfa düzeyleri incelendiğinde; ÜK ve CH'a ait biyopsilerin lamina propriasında yaygın, kontrol grubunda az sayıda sitoplazmik TNF-alfa (+) hücre görülmekle birlikte; ortalama mukozal TNF-alfa (mTNF-alfa) düzeyleri, ÜK, CH ve kontrol grubunda sırasıyla 25.7 ± 9.2 , 28.0 ± 8.9 ve 5.8 ± 2.1 olarak saptandı (Resim 12, 13 ve 14).



Resim 12: ÜK'de lamina propriada sitoplazmik TNF-alfa (+) hücreler, TNF-alfa X40



Resim 13: CH'de lamina propriada sitoplazmik TNF-alfa (+) hücreler, TNF-alfa X40



Resim 14: Kontrol grubunda lamina propriada sitoplazmik TNF-alfa (+) hücreler, TNF-alfa X40

ÜK ve CH arasında mTNF-alfa düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı ($p=0.378$) (Tablo 6). ÜK ve kontrol grubu arasında mTNF-alfa düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p<0.001$) (Tablo 7). Aynı şekilde CH ve kontrol grubu arasında m-TNF-alfa düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0.001$) (Tablo 8).

Tablo 6: ÜK ve CH arasındaki ortalama mTNF-alfa düzeyi ilişkisi

	Hasta Sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
ÜK	15	25.7±9.2	0.378
CH	35	28.0±8.9	

Tablo 7: ÜK ve kontrol grubu arasındaki ortalama mTNF-alfa düzeyi ilişkisi

	Hasta Sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
ÜK	15	25.7±9.2	<0.001
Kontrol Grubu	25	5.8±2.1	

Tablo 8: CH ve kontrol grubu arasındaki ortalama mTNF-alfa düzeyi ilişkisi

	Hasta Sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
CH	35	28.0±8.9	<0.001
Kontrol Grubu	25	5.8±2.1	

ÜK ve CH'da, mTNF-alfa düzeyleri; hastalık tutulum yeri, CH için davranış biçimi ve perianal hastalık açısından değerlendirildiğinde; ÜK ve CH'da mTNF-alfa düzeylerinin hastalık lokalizasyonlarına göre anlamlı fark göstermediği tespit edildi ($p>0.05$) (Tablo 9 ve 10 A, B, C)

Tablo 9: ÜK hastalarında hastalık lokalizasyonuna göre mukozal TNF-alfa düzeyleri

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTALIK LOKALİZASYONU	Ekstensif	10	25.7±9.5	0.389
	Sol Kolon	5	25.8±9.4	

Tablo10 A, B, C: Crohn hastalarında hastalık lokalizasyonuna göre mTNF-alfa düzeyleri

Tablo 10 A: İleum ve kolon yerleşimli hastalık arasındaki ilişki

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTALIK LOKALİZASYONU	İleum	9	26.8±4.2	0.755
	Kolon	4	26.3±5.7	

Tablo 10 B: İleum ve ileum-kolon yerleşimli hastalık arasındaki ilişki

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTALIK LOKALİZASYONU	İleum	9	26.8±4.2	0.585
	İleum ve Kolon	22	28.8±10.7	

Tablo 10 C: Kolon ve ileum-kolon yerleşimli hastalık arasındaki ilişki

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTALIK LOKALİZASYONU	Kolon	4	26.3±5.7	0.643
	İleum ve Kolon	22	28.8±10.7	

CH davranış biçimleri arasında yapılan incelemede, fibro-stenotik tipte hastalığı olanlarda mTNF-alfa düzeylerinin inflamatuvar tipte hastalığı olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (p=0.032) (Tablo 11A). İnflamatuvar ve penetran hastalık (Tablo 11B) ile stenotik ve penetran hastalık (Tablo 11C) CH arasında yapılan karşılaştırmada mTNF-alfa düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 11 A, B, C: CH hastalık davranış biçimine göre mTNF-alfa düzeyleri**Tablo 11 A:** Stenotik ve inflamatuvar hastalık arasındaki ilişki

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTALIK DAVRANIŞ BİÇİMİ	İnflamatuvar	12	25.5±5.7	0.032
	Stenotik	9	32.0±6.9	

Tablo 11 B: İnflamatuvar ve penetran hastalık arasındaki ilişki

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTALIK DAVRANIŞ BİÇİMİ	İnflamatuvar	12	25.5±5.7	0.776
	Penetran	14	27.6±11.5	

Tablo 11 C: Stenotik ve penetran hastalık arasındaki ilişki

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTALIK DAVRANIŞ BİÇİMİ	Stenotik	9	32.0±6.9	0.174
	Penetran	14	27.6±11.5	

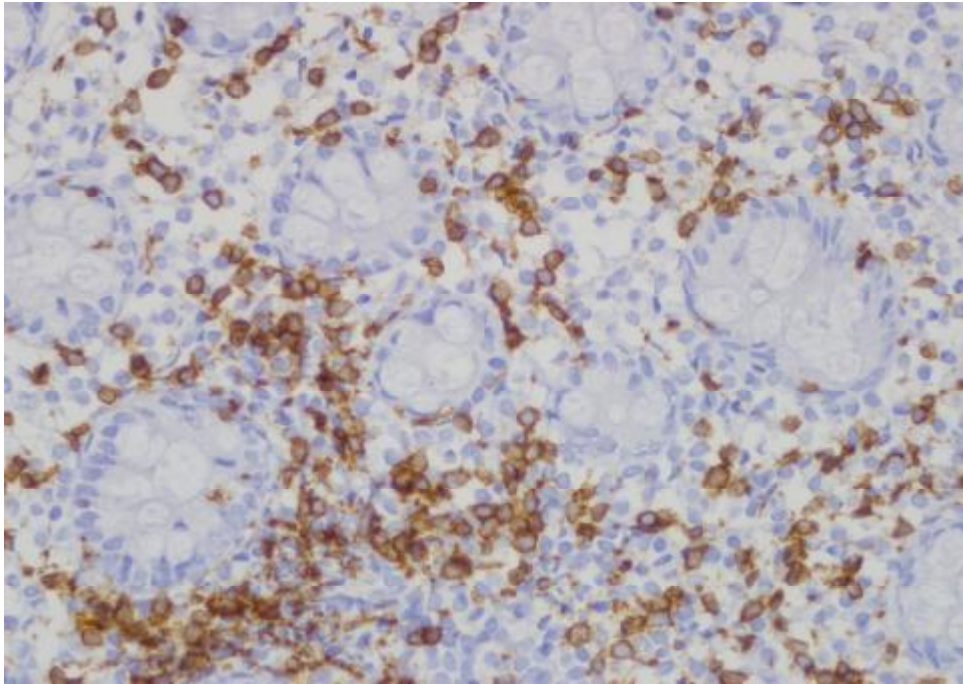
Perianal hastalığı olan ve olmayan CH gruplarında mTNF-alfa düzeylerinin anlamlı fark oluşturmadığı izlendi (p=0.622) (Tablo 12).

Tablo 12: Crohn hastalarında perianal hastalık ile mTNF-alfa düzeyleri arasındaki ilişki

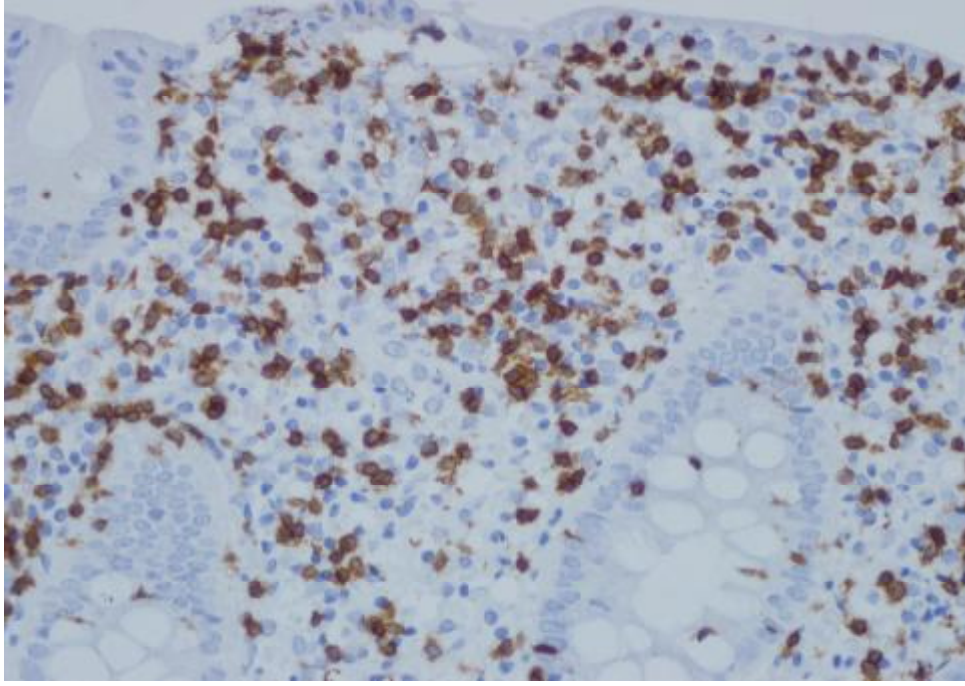
		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
PERİANAL HASTALIK	Var	8	27.3±11	0.622
	Yok	27	28.2±8.3	

4.4. MUKOZAL TNF-ALFA DÜZEYLERİ İLE CD3 (+) T LENFOSİT VE CD68 (+) MAKROFAJ YOĞUNLUKLARI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

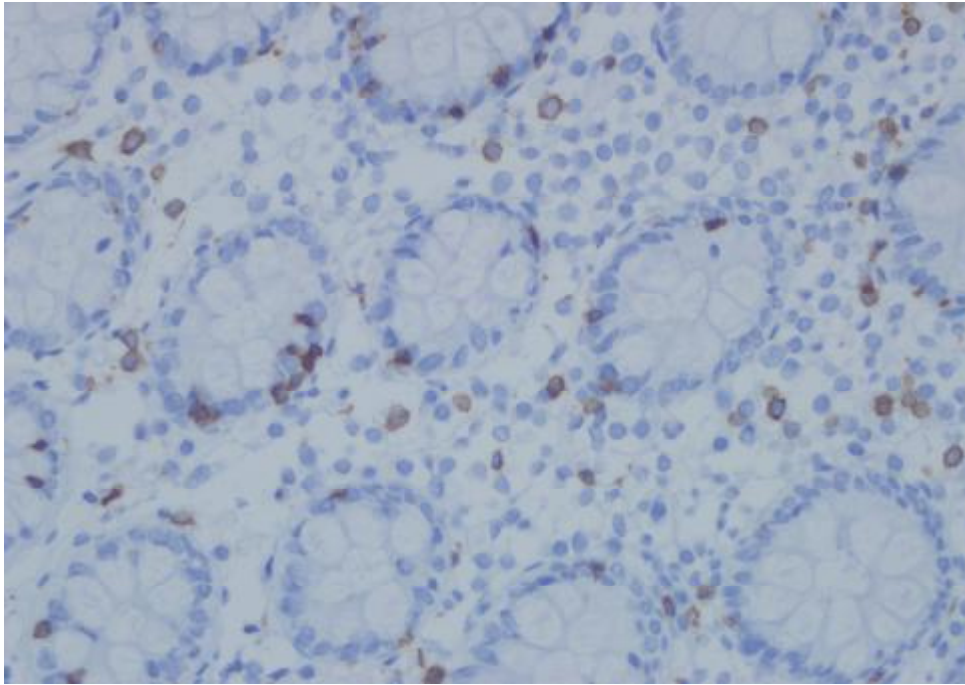
Anti-TNF tedavi öncesinde alınan intestinal mukoza biyopsi örneklerinde ÜK ve CH'a ait biyopsilerin lamina propriasında yaygın, kontrol grubunda ise az sayıda CD3(+) T lenfositler ve CD68(+) histiyositler izlendi (Resim 15-20).



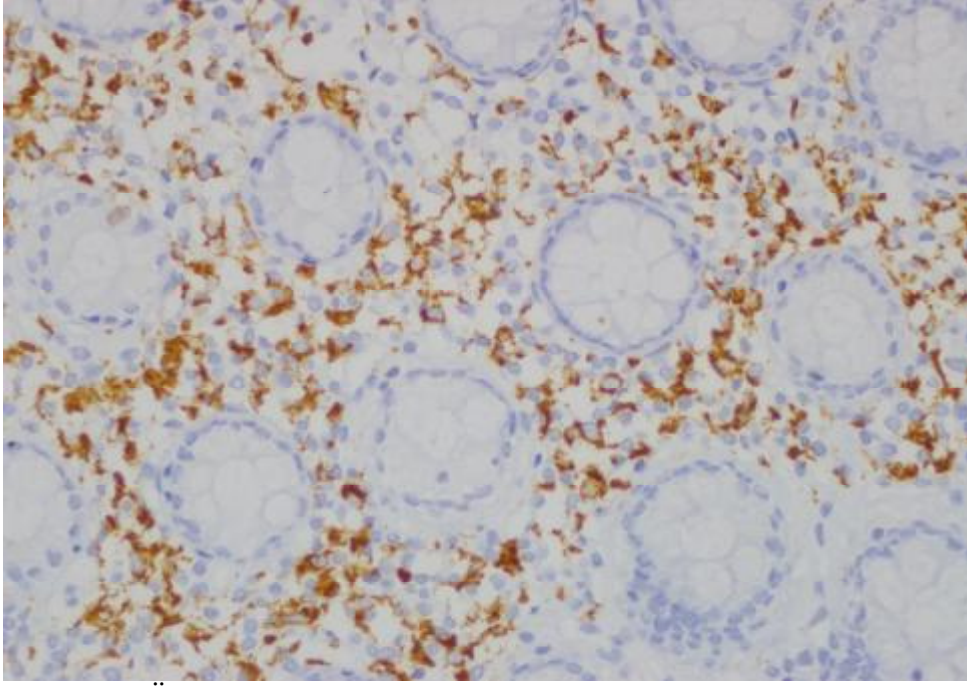
Resim 15: ÜK'de lamina propriada CD3 (+) T lenfositler, CD3 X40



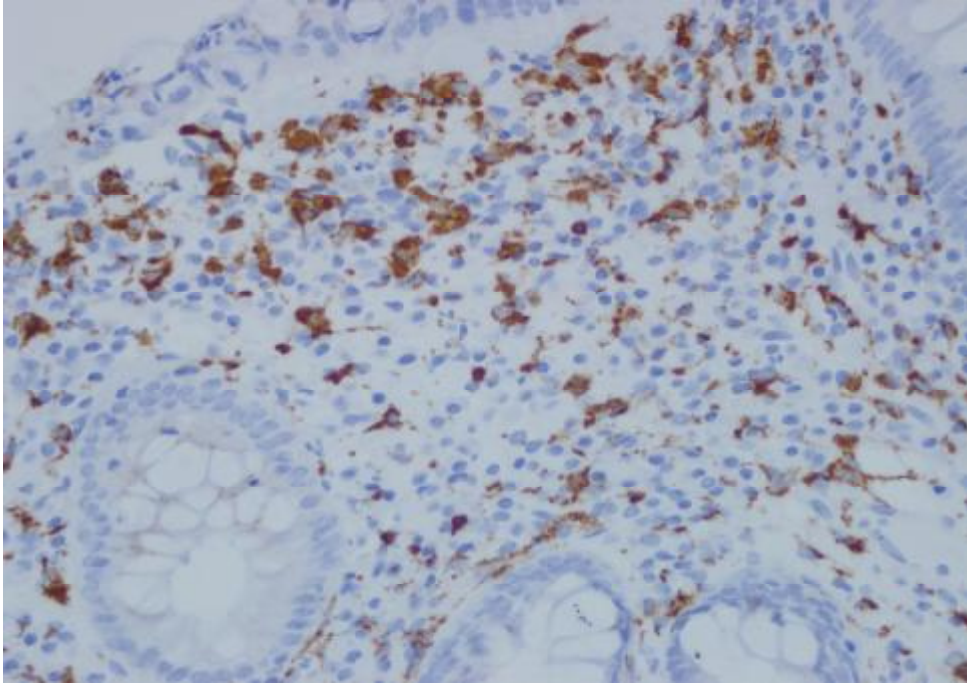
Resim 16: CH'de lamina propriada CD3 (+) T lenfositler, CD3 X40



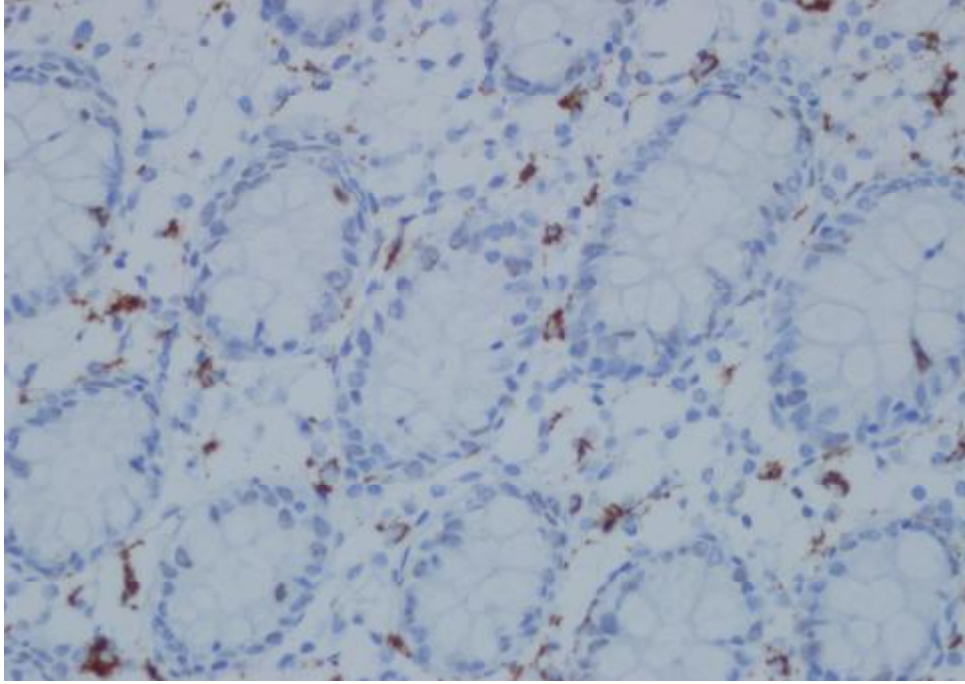
Resim 17: Kontrol grubunda lamina propriada CD3 (+) T lenfositler, CD3 X40



Resim 18: ÜK'de lamina propriada CD68 (+) histiyositler, CD68 X40



Resim 19: CH'de lamina propriada CD68 (+) histiyositler, CD68 X40



Resim 20: Kontrol grubunda lamina propriada CD68 (+) histiyositler, CD68 X40

Bu biyopsi örneklerinde TNF-alfa salgılayan hücrelerin yoğunluğu ile CD3 (+) T lenfosit ve CD68 (+) makrofaj sayıları arasında yapılan değerlendirmede; ÜK hastalarında TNF-alfa salgılayan hücre sayısı ile CD3 (+) lenfosit sayısı arasındaki Spearman korelasyon katsayısı 0.705 ($p=0.003$) olarak bulundu. İki değişken arasında pozitif yönlü ve güçlü istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi. Benzer şekilde TNF-alfa salgılayan hücre sayısı ile CD68 (+) makrofaj sayısı arasındaki ilişki incelendiğinde Spearman korelasyon katsayısı 0.552 ($p=0.033$) olarak görüldü. İki değişken arasında pozitif yönlü ve orta dereceli istatistiksel anlamlı ilişki tespit edilmiştir.

Crohn hastalarında TNF-alfa salgılayan hücre sayısı ile CD3 (+) lenfosit sayısı arasındaki ilişki incelendiğinde, Spearman korelasyon katsayısı 0.723 ($p<0.001$) olarak hesaplandı. İki değişken arasında pozitif yönlü ve güçlü istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi. Benzer şekilde TNF-alfa salgılayan hücre sayısı ile CD68 (+) makrofaj sayısı arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde, Spearman korelasyon katsayısı 0.572 ($p<0.001$) olarak bulundu. İki değişken arasında pozitif yönlü ve orta dereceli istatistiksel anlamlı ilişki tespit edildi (Tablo 13 ve 14).

Tablo 13: ÜK, Crohn hastaları ve kontrol grubunda ortalama mukozal CD3 düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta Sayısı	Ortalama Mukozal CD3 Düzeyi	p
ÜK	15	28.1±15.3	0.248
CH	35	32.9±15.0	
ÜK	15	28.1±15.3	<0.001
Kontrol Grubu	25	5.8±2.1	
CH	35	32.9±15.0	<0.001
Kontrol Grubu	25	5.8±2.1	

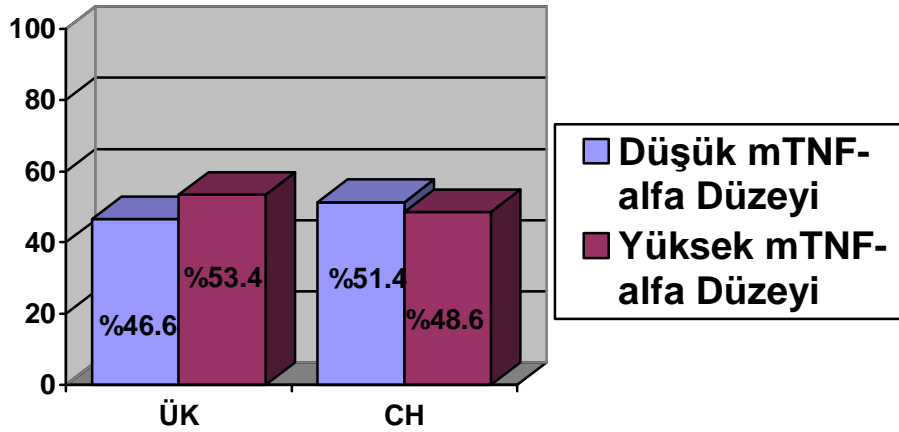
Tablo 14: ÜK, Crohn hastaları ve kontrol grubunda ortalama mukozal CD68 düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta sayısı	Ortalama mukozal CD68 düzeyi	p
ÜK	15	26.1±8.1	0.248
CH	35	30.0±7.5	
ÜK	15	26.1±8.1	<0.001
Kontrol Grubu	25	13.2±2.4	
CH	35	30.0±7.5	<0.001
Kontrol Grubu	25	13.2±2.4	

4.5. MUKOZAL TNF-ALFA DÜZEYLERİNİN KLİNİK PARAMETRELERE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÜK ve Crohn hastalarında ortalama mTNF-alfa düzeyleri sırasıyla 25.7 ve 28.0 olup hastalar ortalama mTNF-alfa düzeylerine göre düşük ve yüksek yoğunlukta mTNF-alfa grupları olarak ikiye ayrıldı. Buna göre ÜK grubunda düşük yoğunlukta m-TNF-alfa düzeyine sahip hasta sayısı 7(%46.6), yüksek yoğunlukta mTNF-alfa düzeyine sahip hasta sayısı 8(%53.4) olarak belirlendi. CH grubunda ise düşük yoğunlukta mTNF-alfa düzeyine sahip hasta sayısı 18(%51.4), yüksek yoğunlukta mTNF-alfa düzeyine sahip hasta sayısı 17(%48.6) olarak görüldü.

Grafik 6: ÜK ve Crohn hastalarının düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeylerine göre dağılımı



ÜK grubundaki hasta sayısının azlığı, ÜK hastalarında anti-TNF tedavi kolları arasında uyumlu dağılımın olmaması ve TNF-alfa'nın CH da major inflamatuvar sitokin olması nedenleri ile mTNF-alfa düzeylerinin klinik parametreler üzerindeki etkileri değerlendirilirken ağırlıklı olarak CH grubu verileri değerlendirildi.

mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyir üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesinde; anti-TNF tedavi öncesi ve sırasında cerrahi gereksinimi, remisyon idamesi, hastalık alevlenmesi, steroid ihtiyacı, anti-TNF tedavi intensifikasyonu veya anti-TNF ajanın değiştirilmesi gerekliliği, mukozal iyileşme ve fistül yanıtları incelendi.

CH grubunda, düşük ve yüksek m-TNF-alfa düzeylerine sahip hastalar arasında klinik parametrelerin sonuçları incelendiğinde; hastane yatışı gerekliliği düşük mTNF-alfa düzeylerine sahip hastalar arasında % 44.4 iken yüksek mTNF-alfa düzeylerine sahip hastalar arasında %17.6 olarak anlamlı bulundu (p=0.088) (Tablo 15).

Tablo 15: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile hastaneye yatış gerekliliği arasındaki ilişki

		mTNF-alfa düzeyi					p
		Düşük (18 hasta)		Yüksek (17 hasta)			
HASTANEYE YATIŞ GEREKLİLİĞİ		Hasta sayısı	Yüzde(%)	Hasta sayısı	Yüzde(%)	Toplam	0.088
	Var	8	44.44	3	17.65	11	
	Yok	10	55.56	14	82.35	24	

Hastane yatışı gerekliliği dışında kalan tüm klinik parametrelerdeki değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği görüldü (p>0.05). İstatistiksel anlama ulaşmasa da, remisyon idamesi ve mukozal iyileşme gibi olumlu parametrelerin yüksek m-TNF-alfa düzeylerine sahip hastalarda daha fazla olduğu görüldü(Tablo 16).

Tablo 16: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile olumlu klinik parametreler arasındaki ilişki

		mTNF-alfa düzeyi					p
		Düşük(18 hasta)		Yüksek(17 hasta)			
REMİSYON İDAMESİ		Hasta sayısı	Yüzde(%)	Hasta sayısı	Yüzde(%)	Toplam	0.691
	Var	13	72.22	14	82.35	27	
	Yok	5	27.78	3	17.65	8	
MUKOZAL İYİLEŞME	Var	11	61.11	13	76.47	24	0.328
	Yok	7	38.89	4	23.53	11	

Klinik seyri olumsuz etkileyen relaps, anti-TNF tedavi intensifikasyonu veya anti-TNF ajanın değiştirilmesi gerekliliği, steroid gerekliliği ve anti-TNF tedavi sürecinde cerrahi gereksinimi parametrelerinin ise düşük m-TNF-alfa düzeylerinde daha fazla oranda olduğu tespit edildi(Tablo 17).

Tablo 17: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile olumsuz klinik parametreler arasındaki ilişki

		mTNF-alfa düzeyi					p
		Düşük(18 hasta)		Yüksek(17 hasta)		Toplam	
		Hasta sayısı	Yüzde(%)	Hasta sayısı	Yüzde(%)		
RELAPS	Var	10	55.56	6	35.29	16	0.229
	Yok	8	44.44	11	64.71	19	
ANTI-TNF TEDAVİ İNTENSİFİKASYONU	Var	3	16.67	0	0.00	3	0.229
	Yok	15	83.33	17	100.0	32	
ANTI-TNF İLAÇ DEĞİŞİKLİĞİ	Var	5	27.78	4	23.53	9	1.000
	Yok	13	72.22	13	76.47	26	
STEROİD GEREKLİLİĞİ	Var	4	22.22	4	23.53	8	1.000
	Yok	14	77.78	13	76.47	27	
ANTI-TNF TEDAVİ SÜRESİNCE CERRAHİ GEREKLİLİĞİ	Var	4	22.22	2	11.76	6	0.658
	Yok	14	77.78	15	88.24	29	

Farklı olarak sadece fistül iyileşmesinin düşük m-TNF-alfa düzeylerine sahip hastalarda daha fazla olduğu bulundu(Tablo 18).

Tablo 18: CH'de mTNF-alfa düzeyi ile fistül iyileşmesi arasındaki ilişki

		mTNF-alfa düzeyi				p	
		Düşük(18 hasta)		Yüksek(17 hasta)			Toplam
		Hasta sayısı	Yüzde(%)	Hasta sayısı	Yüzde(%)		
FİSTÜL İYİLEŞMESİ	Var	8	88.89	3	50.00	11	0.235
	Yok	1	11.11	3	50.00	4	

ÜK grubunda ise düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeylerine sahip hastalar arasında klinik parametrelerin sonuçları incelendiğinde; değişkenlerin dağılımının genellikle homojen olmadığı ve klinik seyri etkileyen tüm parametrelerin düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeylerinden anlamlı olarak etkilenmediği görüldü ($p>0.05$). ÜK grubunda düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyri olumlu etkileyen parametreler üzerindeki etkilerine ait veriler tablo 19’da, olumsuz etkileyen parametreler üzerindeki etkilerine ait veriler tablo 20’de belirtilmiştir. Anti-TNF tedavi intensifikasyonu ve anti-TNF tedavi süresince cerrahi gerekliliği olan hasta sayısı sıfır olduğundan bu iki parametre için istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır.

Tablo 19: ÜK hastalarında mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyri olumlu etkileyen parametreler üzerindeki etkisi

		mTNF-alfa düzeyi					p
		Düşük(7 hasta)		Yüksek(8 hasta)		Toplam	
		Hasta sayısı	Yüzde(%)	Hasta sayısı	Yüzde(%)	Toplam	
REMİSYON İDAMESİ	Var	7	100.0	7	87.50	14	1.000
	Yok	0	0.00	1	12.50	1	
MUKOZAL İYİLEŞME	Var	3	42.86	6	75.00	9	0.315
	Yok	4	57.14	2	25.00	6	

Tablo 20: ÜK hastalarında mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyri olumsuz etkileyen parametreler üzerindeki etkisi

		mTNF-alfa düzeyi					p
		Düşük(7 hasta)		Yüksek(8 hasta)		Toplam	
		Hasta sayısı	Yüzde(%)	Hasta sayısı	Yüzde(%)	Toplam	
HASTANEYE YATIŞ GEREKLİLİĞİ	Var	1	14.29	1	12.50	2	1.000
	Yok	6	85.71	7	87.50	13	
RELAPS	Var	2	28.57	2	25.00	4	1.000
	Yok	5	71.43	6	75.00	11	
ANTI-TNF İLAÇ DEĞİŞİKLİĞİ	Var	0	0.00	2	25.00	2	0.467
	Yok	7	100.0	6	75.00	13	
STEROİD GEREKLİLİĞİ	Var	2	28.57	2	25.00	4	1.000
	Yok	5	71.43	6	75.00	11	

Klinik seyrin değerlendirilmesinde kullanılan her bir parametredeki değişimlerin ortalama mTNF-alfa düzeyleri ile ilişkisinin değerlendirilmesinde; CH grubunda, sadece hastane yatışı gerekliliği olan hastalarda mTNF-alfa düzeyinin istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü ($p=0.024$) (Tablo 21).

Tablo 21: CH’de ortalama mTNF-alfa düzeyinin hastane yatış gerekliliği ile olan ilişkisi

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTANEYE YATIŞ GEREKLİLİĞİ	Var	11	23.0±8.7	0.024
	Yok	24	30.3±8.1	

Diğer parametrelerde ortalama mTNF-alfa düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı fark taşımadığı tespit edildi ($p>0.05$). Ancak düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeylerine göre yapılan değerlendirmemize benzer şekilde, remisyon idamesi ve mukozal iyileşme gibi olumlu klinik parametrelerinin yüksek ortalama mTNF-alfa düzeyleri ile uyum gösterdiği görüldü(Tablo 22).

Tablo 22: CH’de ortalama mTNF-alfa düzeyinin olumlu klinik parametrelerle olan ilişkisi

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
REMİSYON İDAMESİ	Var	27	28.5±8.0	0.419
	Yok	8	26.4±11.8	
MUKOZAL İYİLEŞME	Var	24	29.9±8.2	0.097
	Yok	11	23.9±9.2	

Relaps, steroid ihtiyacı, anti-TNF tedavisi süresince cerrahi gerekliliği gibi olumsuz faktörlerin de daha düşük ortalama mTNF-alfa düzeyleri ile ilişkili oldukları tespit edildi(Tablo 23 ve 24).

Tablo 23: CH’de ortalama mTNF-alfa düzeyinin olumsuz klinik parametrelerle olan ilişkisi

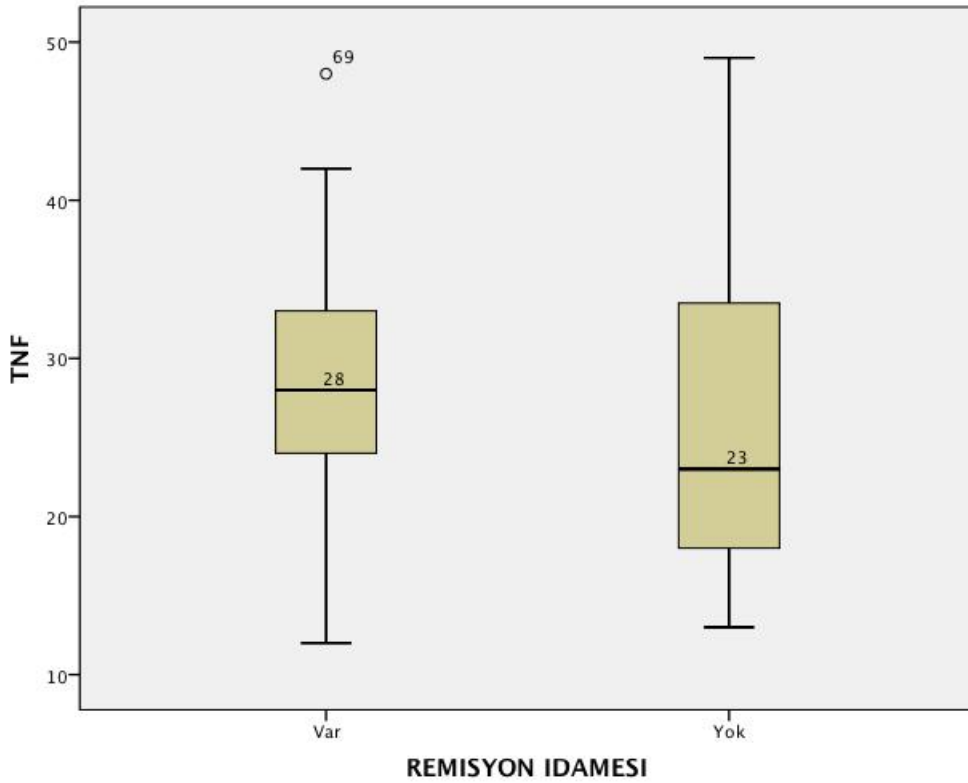
		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
RELAPS	Var	16	26.7±9.4	0.107
	Yok	19	29.7±8.2	
ANTİ-TNF TEDAVİ İNTENSİFİKASYONU	Var	3	22.3±3.8	0.183
	Yok	32	28.5±9.0	
ANTİ-TNF İLAÇ DEĞİŞİKLİĞİ	Var	9	26.7±11.1	0.394
	Yok	26	28.5±8.2	
STEROİD İHTİYACI	Var	8	25.9±9.0	0.595
	Yok	27	28.6±8.9	
ANTİ-TNF TEDAVİ SÜRESİNCE CERRAHİ GEREKLİLİĞİ	Var	6	22.8±11.1	0.147
	Yok	29	29.1±8.1	

Tablo 24: CH’de ortalama mTNF-alfa düzeyi ile fistül iyileşmesi arasındaki ilişki

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
FİSTÜL İYİLEŞMESİ	Tam iyileşme	7	27.3±10.5	0.086
	Kısmi iyileşme	4	18.8±5.4	
	Tam iyileşme	7	27.3±10.5	0.256
	Yok	4	35.8±11.5	
	Kısmi iyileşme	4	18.8±5.4	0.043
	Yok	4	35.8±11.5	

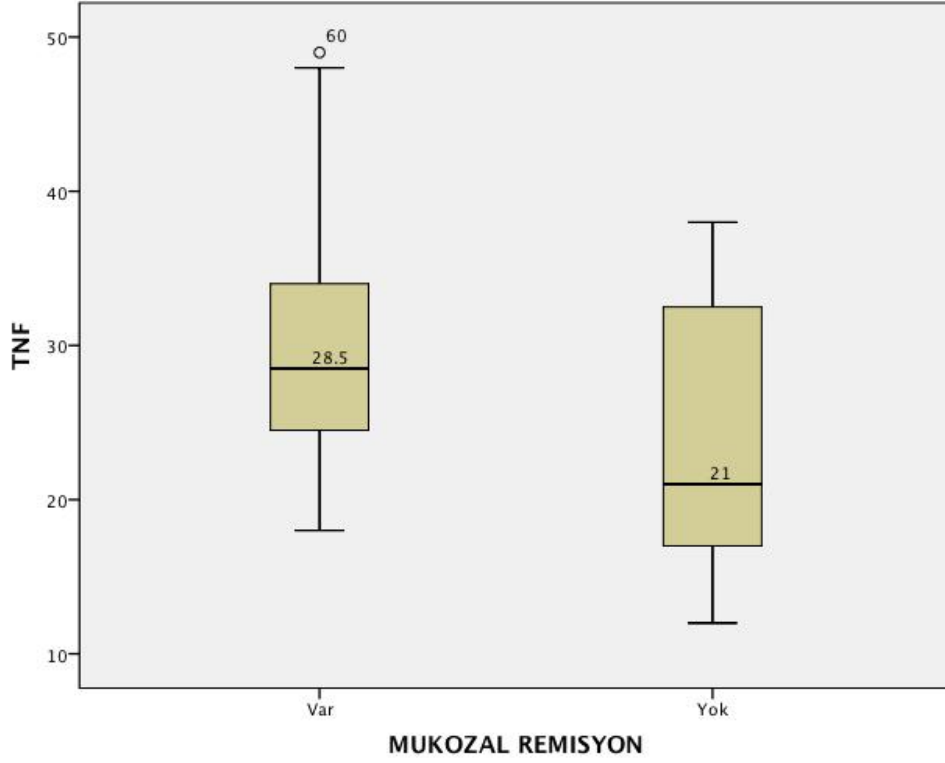
Remisyon idamesi ve mukozal iyileşme ile m-TNF-alfa düzeyleri arasındaki ilişki sırasıyla şekil 5 ve şekil 6’da belirtilmiştir.

Şekil 5: Crohn hastalarında remisyon idamesi olan ve olmayan hasta gruplarında mukozal TNF-alfa düzeylerine ait kutu grafiği



Remisyon idamesi olan grupta tedavi öncesi medyan mukozal TNF-alfa düzeyi 28, remisyon idamesi olmayan grupta medyan mukozal TNF-alfa düzeyi 23 olarak belirlenmiştir.

Şekil 6: Crohn hastalarında mukozal iyileşmesi olan ve olmayan hasta gruplarında mukozal TNF-alfa düzeylerine ait kutu grafiği



Mukozal iyileşme olan grupta tedavi öncesi medyan mukozal TNF-alfa düzeyi 28.5, mukozal iyileşme olmayan grupta medyan mukozal TNF-alfa düzeyi 21 olarak belirlenmiştir.

ÜK hastalarında klinik seyri etkileyen parametreler ile m-TNF-alfa düzeyleri arasındaki ilişki her bir parametre için ayrı olarak incelendiğinde; değişkenlerin dağılımının homojen olmadığı görüldü. Alt grup analizlerde ortalama mTNF-alfa düzeyleri ile klinik parametrelerin değişimi arasında anlamlı fark oluşmadığı tespit edildi ($p>0.05$). ÜK hastalarında klinik seyri etkileyen parametrelerin ortalama m-TNF-alfa düzeylerine göre değerlendirilmesi ile elde edilen sonuçlar tablo 25 ve 26'da belirtilmiştir. Remisyon idamesi görülmeyen sadece bir hasta olduğundan, anti-TNF tedavi intensifikasyonu ve anti-TNF tedavi süresince cerrahi gerekliliği olan hasta bulunmadığından bu parametreler istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

Tablo 25: ÜK hastalarında ortalama mTNF-alfa düzeylerinin mukozal iyileşme üzerine olan etkisi

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
MUKOZAL İYİLEŞME	Var	9	27.2±10.3	0.442
	Yok	6	23.5±7.6	

Tablo 26: ÜK hastalarında mTNF-alfa düzeylerinin klinik seyri olumsuz etkileyen parametreler üzerindeki etkisi

		Hasta sayısı	Ortalama mTNF-alfa düzeyi	p
HASTANEYE YATIŞ GEREKLİLİĞİ	Var	2	25.0±7.1	0.865
	Yok	13	25.9±9.7	
RELAPS	Var	4	27.0±6.8	0.555
	Yok	11	25.3±10.2	
ANTI-TNF İLAÇ DEĞİŞİKLİĞİ	Var	2	32.5±3.5	0.061
	Yok	13	24.7±9.4	
STEROİD İHTİYACI	Var	4	27.0±6.8	0.555
	Yok	11	25.3±10.2	

4.6. CROHN HASTALARINDA MUKOZAL TNF-ALFA DÜZEYLERİNE GÖRE ANTI-TNF AJANLARIN ETKİNLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeyleri olan CH'da infliximab ve adalimumab tedavilerinin klinik seyri etkileyen parametreler üzerindeki etkinliklerinin karşılaştırılmasında; düşük mTNF-alfa düzeyleri olan grupta infliximab ve adalimumab tedavisinin klinik parametreler üzerindeki etkinlikleri arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde yüksek mTNF-alfa düzeyleri olan CH'da infliximab ve adalimumab tedavisinin klinik parametreler üzerindeki etkinlikleri arasında istatistiksel bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). CH'da anti-TNF ajanların düşük ve yüksek mTNF-alfa düzeyleri olan hastalarda klinik parametreler üzerindeki etkinliklerin değerlendirilmesi ile ilgili veriler sırasıyla tablo 27 ve 28'de verilmiştir. Yüksek mukozal TNF-alfa düzeyli Crohn hastalarında anti-TNF tedavi intensifikasyonu görülen hasta olmadığından bu parametre istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

Tablo 27: Düşük mukozal TNF-alfa düzeyli Crohn hastalarında anti-TNF ajanların etkinlikleri

		Adalimumab (n=8)		Infliximab (n=10)		Toplam	p
		n	%	n	%	n	
REMİSYON İDAMESİ	Var	7	87.5	6	60.0	13	0.314
	Yok	1	12.5	4	40.0	5	
RELAPS	Var	3	37.5	7	70.0	10	0.342
	Yok	5	62.5	3	30.0	8	
HASTANE YATIŞ GEREKLİLİĞİ	Var	3	37.5	5	50.0	8	0.664
	Yok	5	62.5	5	50.0	10	
STEROİD GEREKLİLİĞİ	Var	1	12.5	3	30.0	4	0.588
	Yok	7	87.5	7	70.0	14	
ANTI-TNF İLAÇ DEĞİŞİKLİĞİ	Var	2	25.0	3	30.0	5	1.000
	Yok	6	75.0	7	70.0	13	
ANTI-TNF İNTENSİFİKASYONU	Var	0	0.0	3	30.0	3	0.216
	Yok	8	100.0	7	70.0	15	
MUKOZAL İYİLEŞME	Var	5	62.5	6	60.0	11	1.000
	Yok	3	37.5	4	40.0	7	
FİSTÜL İYİLEŞMESİ	Var	3	100.0	5	83.3	8	1.000
	Yok	0	0.0	1	16.7	1	
ANTI-TNF TEDAVİ SÜRESİNCE CERRAHİ GEREKLİLİĞİ	Var	2	25.0	2	20.0	4	1.000
	Yok	6	75.0	8	80.0	14	

(n: Hasta sayısı)

Tablo 28: Yüksek mukozal TNF-alfa düzeyli Crohn hastalarında anti-TNF ajanların etkinlikleri

		Adalimumab (n=12)		Infliximab (n=5)		Toplam	p
		n	%	n	%	n	
REMİSYON İDAMESİ	Var	9	75.0	5	100.0	14	0.515
	Yok	3	25.0	0	0.0	3	
RELAPS	Var	4	33.3	2	40.0	6	1.000
	Yok	8	66.7	3	60.0	11	
HASTANEYE YATIŞ GEREKLİLİĞİ	Var	3	25.0	0	0.0	3	0.515
	Yok	9	75.0	5	100.0	14	
STEROİD GEREKLİLİĞİ	Var	3	25.0	1	20.0	4	1.000
	Yok	9	75.0	4	80.0	13	
ANTİ-TNF İLAÇ DEĞİŞİKLİĞİ	Var	2	16.7	2	40.0	4	0.538
	Yok	10	83.3	3	60.0	13	
MUKOZAL İYİLEŞME	Var	9	75.0	4	80.0	13	1.000
	Yok	3	25.0	1	20.0	4	
FİSTÜL İYİLEŞMESİ	Var	2	40.0	1	100.0	3	1.000
	Yok	3	60.0	0	0.0	3	
ANTİ-TNF TEDAVİ SÜRESİNCE CERRAHİ GEREKLİLİĞİ	Var	2	16.7	0	0.0	2	1.000
	Yok	10	83.3	5	100.0	15	

(n: Hasta sayısı)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

CH ve ÜK; çeşitli hücrel ve hümmoral immün cevap bozuklukları ile birlikte olan inflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulması İBH'nın patogenezindeki temel mekanizmadır. TNF-alfa İBH'nın patogenezinde rol oynayan sitokinler arasında önemli bir yere sahiptir (113).

CH'nın doğal seyri inflamatuvar hastalıktan, stenoza ve fistülizan hastalık gibi daha komplike klinik durumlara doğru ilerleme ile karakterizedir. Hastalık aktivitesinin sonucu olan bu geri dönüşümsüz komplikasyonlar, tekrarlayan cerrahi tedavilere ve hayat kalitesinde bozulmalara neden olur. Bu komplikasyonların önlenmesi ancak hastalığın doğal seyrinin değiştirilmesi ile mümkündür (114). TNF-alfa antagonisti (anti-TNF) tedavileri ile CH'de aktivitenin hızlı ve uzun vadeli olarak baskılandığı, birçok olguda mukozal iyileşmenin olduğu ve fistüllerin kapandığı ortaya konmuştur (115). Daha sonraki yıllarda steroid tedavisine dirençli veya bağımlı orta-ciddi aktiviteli ÜK'li hastalarda da anti-TNF ajanların etkili olduğu gösterilmiştir (116). Bugün için infliksimab ve adalimumab CH ve ÜK tedavisinde en sık kullanılan anti-TNF ajanlardır. Certolizumab ve golimumab İBH tedavisinde daha az sıklıkla kullanılan TNF-alfa inhibitörleridir (117).

CH tedavisinde prensip olarak iki ayrı tedavi yaklaşımı benimsenmiştir. Bunlardan ilki step-up tedavi olarak tanımlanan yan etki profili daha güvenli, daha düşük etki gücüne sahip ilaçlardan, daha potent olanlara doğru ardışık bir şekilde ilerleyen yaklaşımdır. Diğer tedavi şekli ise top-down tedavi olarak tanımlanan ve direkt olarak birinci basamakta en güçlü etkinliğe sahip (tiopürinler ve anti-TNF'ler vb) ilaçların kullanımını öngören tedavi yaklaşımıdır (118). İBH'de geçmiş dönemde klinik iyileşme veya remisyon tedavinin öncelikli amacı olarak görülmekte iken son yıllarda yapılan çalışmalar ile mukozal iyileşme veya mukozal remisyonun, hastalık seyri ve prognozu üzerinde en önemli belirleyici parametreler olduğu gösterilmiştir (119). Bugün için İBH'de mukozal iyileşmenin sağlanması, idamesi ve dolayısıyla da

hastalığın doğal seyrinin değiştirilmesinde en fazla potansiyeli olan ajanlar anti-TNF ajanlar olarak görünmektedir (120). Son günlerde anti-TNF ajanların İBH'nın erken dönemlerinde kullanımının daha olumlu sonuçlara yol açtığı yönünde çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Ancak erken anti-TNF tedavi adayı olan hastaların belirlenmesine yönelik halen tam bir görüş birliğine varılamamıştır (121).

Belirli hasta gruplarında, özellikle de uzun dönem hastalık seyrinin kötü olacağı öngörülebilir hastalarda, erken anti-TNF tedavi doğal seyri değiştirebilir. Bu hastalar genç yaşta tanı konup, ilk tanıda cerrahi ihtiyacı olan, fistülizan/stenozan tip, ileal tutulumlu, ağır endoskopik lezyonları bulunan, ASCA/p-ANCA pozitifliği ile NOD2/IBD5 mutasyonu olan hastalar olarak tanımlanabilir (122).

Ülseratif kolitli hastaların kolonik mukozalarında yüksek düzeyde TNF-alfa eksprese edildiği bilinmektedir (107). Anti-TNF tedavilerin CH'deki etkinliği ile ilgili bilgiler, ÜK tedavisinde infliksimab ve diğer biyolojik ajanların kullanımı üzerine yapılan çalışmaların dayanağını oluşturmuştur. Günümüzde infliksimab, steroid dirençli ÜK tedavisinde remisyon indüksiyonu için kullanılmaktadır.

TNF-alfanın immün sistemdeki en önemli rolü lenfoid organların, lenfoid mikroçevrenin ve germinal merkezlerin gelişmesi ve bu yapının devamı üzerinedir. Düşük konsantrasyonda enfeksiyonlara karşı konak defans mekanizmalarının birikmesini sağlamaktadır. Yüksek konsantrasyonlarda ise inflamasyon ve organ zedelenmesinden sorumlu tutulmaktadır (78). IL-1, IL-17 ve diğer sitokinlerle birlikte proinflamatuvar sitokin olarak görev yapmaktadır. Kısaca ifade etmek gerekirse etkilenmiş doku ve organlarda doğal ve edinilmiş immünitinin cevabı olarak TNF-alfa salınır. Başlıca kaynağı makrofajlar ve T lenfositler olmak üzere mast hücreleri, granülositler, NK hücreleri, fibroblastlar, nöronlar, keratinositler ve düz kas hücreleridir (79).

Yapılan çalışmalarla; CH'nın karakteristik TH1 aracılı hastalık, ÜK'in ise atipik TH2 odaklı bir hastalık olduğu sonucuna varılmıştır (123, 124). TH1 hücre kökenli bir sitokin olan TNF-alfa CH patogenezinde merkezi bir role sahiptir (125, 126) ve Crohn hastalarının mukoza, serum ve dışkı örneklerinde yüksek düzeyde tespit edilmiştir (5, 6). ÜK'te ise TH1 ve TH2 sitokinlerle ilgili çelişkili çalışmalar

mevcuttur. Bazı çalışmalar; TH2 teorisini destekleyecek şekilde; düşük derecede TH1 sitokin ve yüksek derecede TH2 sitokin etkisini savunmaktadır (27, 127, 128, 129, 130), oysa diğer çalışmalar TNF-alfa gibi TH1 sitokinlerin kolonik mukoza, kan örnekleri ve dışkıda yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmiştir (5, 107, 131-133).

Olsen ve arkadaşlarının İBH'da mukozal sitokin gen ekspresyonu ile ilgili çalışmasında; ÜK ve CH arasında TH1/TH2 sitokin ekspresyonu açısından önemli bir fark bulunmamakla birlikte tedavi edilmemiş ÜK hastalarında TNF-alfa gen ekspresyonu kontrol hastalarına göre belirgin artmış olarak bulunmuştur. Elde edilen verilerle TNF-alfanın daha önce CH'de belirtildiği gibi ÜK'te de önemli patofizyolojik rolü olduğu sonucuna varılmıştır (134).

İBH'da mukozal TNF-alfa düzeyini kalitatif ve kantitatif olarak belirlemek için yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur.

Akazawa ve arkadaşlarının kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanarak yaptığı çalışmada; remisyon ve relaps dönemlerinde olan ÜK ve Crohn hastalarının kolon mukozalarından alınan biyopsi örneklerinde, kontrol grubuna göre TNF-alfa mRNA ekspresyon düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu yüksekliğin ÜK hastalarında, hastalığın endoskopik şiddetiyle ilişkili olduğu görülmüş ve TNF-alfanın ÜK'te mukozal hasardan sorumlu olduğu sonucu çıkarılmıştır. CH'de ise mukozal hastalık şiddetiyle TNF-alfa düzeyi ilişkili bulunmamış olup bu durum; intestinal mukozanın inaktif CH'de bile kronik inflamasyonun devamlılığını sağlayabilecek kadar yüksek düzeyde TNF-alfa mRNA eksprese ediyor olduğu şeklinde yorumlanmıştır (131).

Olsen ve arkadaşları, çalışmalarında inflame mukozadaki TNF-alfa düzeyinin tedaviyle azaldığını ve TNF-alfa düzeyindeki bu düşüşün klinik ve endoskopik iyileşmeyle birlikte olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda tedavi sonucu TNF-alfa mRNA ekspresyonu düzeyi yüksek kalmaya devam eden hastaların remisyona girmediği de görülmüştür (135).

Ierardi ve arkadaşları; ÜK, CH ve kontrol grubu olarak irritabl bağırsak sendromu hastalarının kolonik mukozal biyopsilerinde, eş zamanlı polimeraz zincir

reaksiyonu (RT-PCR) ve immünohistokimyasal yöntemle TNF-alfa düzeyini değerlendirmişler ve İBH olan hastalarda mukozal TNF-alfa düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (136).

Cui ve arkadaşlarının, yine kolonik mukozada RT-PCR kullanarak yaptığı çalışma sonucunda TNF-alfa mRNA ekspresyonunun kontrol grubuna göre ÜK ve CH için aynı düzeyde anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuca göre RT-PCR ile mukozal sitokin düzeyi ölçümünün İBH tanısı için duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğu ve klinik kullanımının kolaylaştırılması gerektiği yorumu yapılmıştır (137).

İBH'da; mukozal ülser ve aktif inflamasyonun yokluğu olarak tanımlanan mukozal iyileşme daha düşük relaps oranı (138), operasyon ve hastaneye yatış gerekliliği ile ilişkilidir (139). Rismo ve arkadaşlarının CH'de mukozal remisyonun tedaviyi kesme kararında etkili olup olamayacağını araştırdıkları çalışmalarında; mukozal iyileşme sonucu RT-PCR kullanılarak ölçülen birçok mukozal proinflamatuvar sitokin ekspresyon düzeyinde belirgin azalma olmakla birlikte, TNF-alfa ve bir diğer TH1 ilişkili sitokin olan IL-17 yüksekliğinin devam ettiği bulunmuştur (140). Hasta takiplerinde; mukozal iyileşmeye dayanılarak tedaviye son verilmesinin bir yıl içinde relapla sonuçlandığı görülmüş, tedaviye son verme kararında TNF-alfa ve IL17 düzeyinin normalleşmesi olarak tanımlanan immünolojik remisyonun baz alınması gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada mukozal gen ekspresyonunun RT-PCR ile ölçülmesinin sağlıklı sonuç vereceği belirtilmiştir (140).

Bizim çalışmamızda; ÜK ve CH mukozal biyopsileri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, mukozal TNF-alfa düzeyi, literatürle uyumlu olarak her iki grup için de belirgin yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). ÜK ve CH arasında TNF-alfa düzeyleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmama ile birlikte ($p = 0.378$) CH'de (ortalama 28) mukozal TNF-alfa düzeylerinin ÜK'e (ortalama 25.7) göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Daha önce ELISA, immünohistokimya ve PCR kullanılarak yapılan çalışmalarda CH'de bizim çalışmamızla benzer şekilde, daha yüksek düzeyde mukozal TNF-alfa saptanmıştır (6, 127, 141). Ayrıca çalışmamızda ülseratif kolitin ekstensif veya sol kolon

yerleşimli ($p=0.389$) ve CH'nın ileal, kolonik veya ileokolonik lokalizasyonlu olması ile TNF-alfa düzeyi arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Bu konuda, Martinez-Borra ve arkadaşlarının CH'de serum TNF-alfa düzeyleri ile hastalık lokalizasyonunu arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmada da, hastalık lokalizasyonu ile serum TNF-alfa düzeyleri arasında bir korelasyon bulunamamıştır (142). Çalışmamızda; CH'nın inflamatuvar, stenotik ve penetran davranış tiplerinin mukozal TNF-alfa düzeyine göre karşılaştırılmasında; stenotik tipte inflamatuvar tipe göre mukozal TNF-alfa düzeyi anlamlı yüksek bulunmuş olup ($p=0.032$), diğer ikili karşılaştırmalarda mukozal TNF-alfa düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Aynı şekilde CH'de perianal hastalık olup olmamasıyla mukozal TNF-alfa düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p=0.622$).

İlginç olarak sağlıklı erişkinlerin kolon mukozasında da ölçülebilir düzeyde TNF-alfa saptanmıştır, ama bu düzey İBH bulunanlara göre belirgin olarak düşüktür (107). Bizim kontrol grubumuzda da, İBH hastalarının mukozasında saptanan düzeye göre anlamlı derecede düşük olmakla birlikte sayılabilir düzeyde TNF-alfa salgılayan hücre saptanmıştır.

ÜK ve CH'da inflame mukozada baskın olan hücreler makrofaj, nötrofil ve T lenfositlerdir (143). Monositler/makrofajlar TNF-alfanın mukozadaki en büyük kaynağıdır ama T lenfositler de hücrenin aktivasyon derecesine göre önemli miktarda TNF-alfa üretir. Natural killer (NK) hücreleri gibi diğer hücreler de artmış TNF-alfa düzeyinden sorumludur (126).

Olsen ve arkadaşları immünohistokimyasal yöntem kullanarak ÜK ve Crohn hastalarının intestinal mukozasında T lenfosit ve makrofaj düzeyini yüksek bulup, aynı zamanda bu hücrelerde artmış TNF-alfa ekspresyonu saptamışlardır (134). Aynı yazarların başka bir çalışmalarında ise tedavi sonucunda remisyona giren hastaların kolonik mukozalarında TNF-alfa ile birlikte T lenfosit ve makrofaj düzeyinin de azaldığı sonucuna varılmıştır (135). Bu sonuç anti-TNF ilaç tedavisinin bu hücreleri baskıladığını desteklemektedir (126). Birçok çalışma, anti-TNF tedavinin monosit ve T lenfositlerin apoptozunu indüklediğini göstermiştir (95, 144, 145).

Tsukada ve arkadaşlarının yüksek hastalık aktivitesi gösteren ÜK'li hastaların mukozalarında, PCR ile IL-8 sitokinini artmış buldukları çalışmada, makrofaj sayısı da yüksek olarak bulunmuştur. Bu nedenle makrofajların İBH'da TNF-alfa dışındaki diğer sitokinlerin de temel kaynağı olabileceği yorumu yapılmıştır (146).

Akazawa ve arkadaşlarının ÜK lezyonlarını makrofajların dağılımına göre yüzeysel grup (subepitelyal lezyonlar) ve diffüz grup (lamina propriyanın diffüz infiltrasyonu) olarak ayırdığı çalışmada, makrofaj dağılımının TNF-alfa mRNA ekspresyon miktarını yansıttığı görülmüştür (131).

Bizim çalışmamızda; ÜK hastalarında CD3 (+) T lenfosit düzeyi ($p=0.003$) ve CD68 (+) histiyosit düzeyi ($p=0.033$) ile TNF-alfa (+) hücre sayısı arasında pozitif yönlü anlamlı ilişki bulundu. Aynı şekilde, Crohn hastalarında da CD3 (+) T lenfosit düzeyi ($p<0.001$) ve CD68 (+) histiyosit düzeyi ($p<0.001$) ile TNF-alfa (+) hücre sayısı arasında pozitif yönlü ve güçlü anlamlı ilişki olduğu görüldü. ÜK ve CH mukozal biyopsilerinde T hücre ve makrofajlarda TNF-alfa ekspresyonunun artmış olduğu sonucuna varıldı.

İBH'da serumda bulunan TNF-alfa; intestinal mukozada üretilen TNF-alfa'nın taşması olarak yorumlanabilir ve lokal üretilen miktarla orantılıdır (132). Ayrıca lamina propriada bulunan aktive CD4+ T hücreleri yanı sıra periferel kandaki T hücreleri de inflamatuvar sitokinler salgılar (147). İBH hastalarında, PCR ile yapılan ölçümde sağlıklı kontrollere göre serum TNF-alfa konsantrasyonu yaklaşık 390 kat yüksek bulunmuştur. ÜK'in aktivasyon döneminde ise remisyona oranla serum TNF-alfa konsantrasyonu 1.7 kat yüksek bulunmuştur (132). Ayrıca ELISA yöntemi kullanılarak yapılan başka bir çalışmada da artmış serum TNF-alfa düzeyinin bir yıl içerisindeki hastalık alevlenmesi ile birlikte olduğu görülmüştür (129).

Avdagic ve arkadaşları CH'de ÜK'e göre serum TNF düzeyini, istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte daha yüksek bulmuş olup, her iki hastalık için de bu düzeyin hastalık aktivitesiyle ilişkili olmadığı sonucuna varmışlardır. Bu sonuca göre serum TNF-alfa düzeyi hastalık aktivitesini belirlemek için uygun bir biyobelirteç olarak görülmemektedir (148).

Son yıllarda İBH tedavisinde immünsüpresif ajanların kullanımı kabul görmüş ve yaygınlaşmıştır. İnfliksimab ve adalimumab remisyonun sağlanması ve korunmasında etkili ilaçlardır. Aynı zamanda bu ajanların bazı olası yan etkileri de mevcuttur. Bu yan etkilerin başında fırsatçı enfeksiyonları da içeren enfeksiyonlar, infüzyon reaksiyonları ve otoimmün hastalıklar gelir. Bunun yanında maliyetleri de tartışma konusu haline gelmiştir. Bu sınırlamalar ve tedaviye uzun dönemde tüm hastaların yanıt vermemesi nedeniyle; dikkatli hasta seçimi ve tedaviye yanıtta prediktif parametrelerin araştırılmasını gündeme getirmiştir (149).

Olsen ve arkadaşları; ÜK'te mukozal TNF düzeyinin hastalık aktivitesiyle ilişkili olduğunu belirttikleri çalışmalarında, kolonik mukozal TNF-alfa düzeyinin, ileri çalışmalarla desteklendiği takdirde, tedaviye yanıtta prediktif bir belirteç olarak kullanılabilceği yorumunu yapmışlardır (134).

Schmidt ve arkadaşları; tedavi öncesi TNF-alfa, IL-18, MRP-14 ve IL-8 düzeyini RT-PCR ile ölçtükleri çalışmalarında; tedavi öncesi mukozal TNF-alfa düzeyinin tedavi sonrası klinik yanıt kriteri olan uzun dönem remisyonla en iyi korelasyon gösteren bulgu olduğu sonucuna varmışlardır. Bu çalışmada, düşük mukozal TNF-alfa yoğunluğu uzun dönem remisyonla ilişkili olup %100 duyarlı ve %87.5 özgül bulunmuştur (149).

Rismo ve arkadaşları TH1, TH17, TH2 ve T-regulatuvar (Treg) ilişkili sitokinlerin tedavi öncesi düzeyinin tedaviye klinik yanıtla ilişkisini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada TH1 ilişkili sitokin olan IFN-gama ve TH17 ilişkili IL17 düzeyi remisyonla giren hastalarda tedaviye yanıtla ilişkili olarak anlamlı yüksek bulunmuş olup TH2 ve Treg ilişkili sitokinlerin tedaviye yanıt açısından yararlı prediktif belirteçler olmadığı sonucu çıkarılmıştır (150).

Olsen ve arkadaşları başka bir çalışmalarında; anti-TNF tedaviye yanıtı belirlemek için yaş, cinsiyet, steroid tedavisi alma, immünsüpresif tedavi alma, pankolit bulunması, endoskopik skorlama, hastalık süresi, C reaktif protein düzeyi, mukozal IL-4, IL-10 ve IFN-gamma ekspresyonu, mukozal TNF-alfa ekspresyonu ve TNF-alfa salgılayan hücre yoğunluğunu değerlendirmişlerdir. Tedaviye yanıt olarak klinik ve endoskopik remisyon kriteri olarak alınmış olup, mukozal TNF-alfa gen ekspresyonunun remisyonla ilişkili olan tek, belirgin, bağımsız faktör olduğunu belirtmişlerdir. Demografik ve klinik veriler, diğer sitokinlerin mukozal ekspresyonu

ve TNF-alfa salgılayan hücrelerin immünohistokimyasal olarak saptanan mukozal düzeyiyle klinik veya endoskopik yanıt arasında ilişki saptanmamıştır. (151).

Çalışmamızda; ÜK ve CH için tedavi öncesi mukozal TNF düzeyleri ve mukozal TNF-alfa düzeyleri ile klinik seyri etkileyen parametrelerin karşılaştırılması ayrı ayrı yapılmıştır. ÜK hastalarında klinik seyir ile ilişkili parametrelerin TNF-alfa düzeyinden anlamlı olarak etkilenmediği görülmesi, subgrup analizlerde ÜK hastalarının dağılımının homojen olmaması nedeni ile tartışma çoğunlukla CH ile ilgili veriler üzerinden yapılmıştır.

Bizim çalışmamızda tedaviye klinik yanıtı değerlendirmek için belirlediğimiz parametrelerden sadece hastaneye yatış gerekliliği ile tedavi öncesi mukozal TNF-alfa düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p=0.088$). Hastaneye yatış gerekliliği olmayan hastalarda bu düzey hastane yatışı ihtiyacı olanlara göre belirgin yüksek bulundu. Klinik seyir açısından olumlu parametreler olan remisyonun devam etmesi ve mukozal iyileşme görülen hastalarda görülmeyenlere göre, istatistiksel olarak anlamlı sonuç oluşturmada da, tedavi öncesi mukozal TNF-alfa düzeyinin daha yüksek olduğu görüldü. Klinik yanıt açısından olumsuz parametreler olan hastalık alevlenmesi, anti-TNF ilacın değiştirilmesi gerekliliği, anti-TNF ilacın intensifikasyonu, anti-TNF tedavi süresince cerrahi gereksinimi olan hastalarda ise mukozal TNF-alfa düzeyi daha düşük olarak tespit edildi.

Diğer sonuçlarımızla uyumsuz şekilde olumlu parametrelerden sadece fistül iyileşmesinin görüldüğü hastalarda mukozal TNF-alfa düzeyi daha düşük bulunmuştur.

İnflamatuvar sürecin bir sonucu olan fistüller CH'nın sık bir komplikasyonudur. Sadece %25-30'u spontan veya ilaç tedavisiyle iyileşme gösterirken sıklıkla cerrahi olarak tedavi edilebilirler. Martinez-Borra ve arkadaşları serum TNF düzeyi ile fistül iyileşmesi ve fistül tipini karşılaştırdıkları çalışmalarında, fistül yanıtı olan hastalarda TNF düzeyini düşük bulmuşlardır. Bilindiği gibi TNF-alfa, fistülizan CH'deki temel sitokindir ve fistül oluşumunu direkt etkilemektedir. İnflamatuvar süreç boyunca, lamina propria ekstrasellüler matriksinde yıkıma yol açan, fibroblast kökenli matriks metalloproteinaz salınımını uyarmaktadır (142, 152). Tedavi öncesi TNF-alfa düzeyi yüksek olan hastalarda tedaviyle fistül iyileşmesinin düşük olması; bu yıkıma bağlı doku hasarının yüksek

olup, sitokin sekresyonunun azaltılması sonucu hasarın geri dönüşünün mümkün olamaması ile kısmen açıklanabilir.

Çalışmamızdan elde edilen verilere göre; CH’de daha ön planda olmak üzere İBH patogenezinde çok önemli rolü olan TNF-alfanın mukozal yoğunluğunun ve TNF-alfa salgılayan hücre sayısının fazla olmasının, tedaviye daha iyi yanıt alınmasını sağladığı sonucuna varılabilir. Anti-TNF ilaçların; çözünür haldeki formunu bloke ederek TNF-alfanın etkilerin nötralize ettiği, transmembranöz formuna bağlanarak kompleman fiksasyonuna ve TNF-alfa salgılayan hücrelerin yıkımına sebep olduğu daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (153, 154). Bu etki mekanizmalarından yola çıkarak inflamatuvar süreçte ne kadar yüksek konsantrasyonda TNF-alfa ve onu salgılayan hücre mevcut ise, anti-TNF ajanın hedef alacağı hücre ve molekül düzeyi de o kadar yüksek olacaktır. Bu da tedaviye klinik ve endoskopik yanıtın daha iyi olması şeklinde yansiyacaktır. Aksi takdirde, bu süreçte görevli diğer sitokinlerin inflamatuvar mukozada baskın olduğunu, anti-TNF ajana ek olarak diğer tedavilere ihtiyaç duyulduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda özellikle Crohn hastalığı grubunda kullanılan anti-TNF ajanın mukozal TNF-alfa düzeylerine göre etkinliklerinin değerlendirilmesi sonucunda, adalimumab ve infliksimab’ın etkinlikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Literatürde de mukozal TNF-alfa düzeylerine göre anti-TNF ajanlar arasında etkinlik karşılaştırılması yapılmış bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Çalışmamızda hastane yatış gerekliliği dışındaki klinik ve endoskopik parametrelerin tamamı için anlamlı sonuç elde edilmemesi, mukozal TNF-alfa düzeylerinin belirlenmesinde sadece immünohistokimyasal yöntemin kullanılmış olması ile açıklanabilir. Bilindiği gibi immünohistokimya semi-kantitatif bir yöntem olup, duyarlılığı kantitatif bir yöntem olan RT-PCR’a göre daha düşüktür. Mukozadaki TNF-alfa pozitif hücre sayısı, aynı mukozadaki TNF-alfa gen mRNA ekspresyon düzeyini kesin olarak yansıtmayabilir. Bu sebeple çalışmamızın sonuçları, mukozal TNF-alfa düzeylerinin RT-PCR kullanılarak belirlendiği çalışma sonuçlarıyla paralel olmasına rağmen, anlamlı sonuç verecek düzeye ulaşmamış olabilir.

Sonuç olarak; literatürle de uyumlu olarak, anti-TNF ilaç tedavisi öncesi yüksek mukozal TNF-alfa düzeyinin, tedaviye klinik yanıt üzerine olumlu etkisi

olduğunu düşünmekteyiz. İBH tedavisinde çok önemli yeri olan bu ilaçların maliyetleri, yararları ve olası uzun dönem yan etkileri göz önünde bulundurularak, hasta seçimi dikkatli ve kılavuzlara uygun olarak yapılmalıdır. Tedaviye aday hastaların belirlenmesi aşamasında, çalışmamızda kullandığımız yöntemin prediktif değeri olmakla birlikte, literatürdeki çelişkili sonuç ve yorumları da dikkate alırsak, doku TNF-alfa düzeyinin immünohistokimyasal ölçümünün tek başına kullanılması tedavide başarılı sonuç vermeyebilir. Histopatolojik bulgular ve mukozal ölçümlerle; hasta demografik özellikleri, klinik ve endoskopik bulguların kombinasyonu hasta seçiminde en doğru kararın verilmesini sağlayacaktır.

6. ÖZET

İNFLAMATUVAR BAĞIRSAK HASTALIKLARINDA DOKU TNF ALFA DÜZEYİNİN KLİNİK SEYİR VE TEDAVİYE YANIT ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları; çeşitli hücrel ve hümoral immun cevap bozuklukları ile birlikte olan ülseratif kolit ve Crohn hastalığıdır. Bu hastalıkların patogenezleri multifaktöriyel olup, en temel mekanizma proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulmasıdır ve bu mekanizmada birçok major ve minör yolakları kapsar. Bu yolaklarda görev alan ve mukozal inflamasyonun amplifikasyonunda en kritik role sahip proinflamatuvar sitokin TNF-alfadır.

TNF-alfanın immün sistemdeki görevi patojenlere karşı defans oluşturmaktır. Düşük konsantrasyonda enfeksiyonlara karşı konak defans mekanizmalarının birikmesini sağlar, yüksek konsantrasyonlarda ise inflamasyon ve organ zedelenmesinden sorumlu tutulmaktadır. Başlıca kaynağı makrofajlar ve T lenfositleri olmak üzere; mast hücreleri, granülositler, NK hücreleri, fibroblastlar, nöronlar, keratinositler ve düz kas hücreleri tarafından üretilir. Endotel hücresi ve hematopoetik hücreler dahil neredeyse tüm hücre yüzeylerinde glikoprotein yapıda olan TNF reseptörleri bulunur. Reseptöre bağlanma sonucu NF-KB aktivasyonu ve başta IL-1, IL-17 ve IFN-gama olmak üzere mukozal hasardan sorumlu inflamatuvar sitokinlerin salınımı gerçekleşir. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında, TNF-alfanın bağırsak mukozasında artmış düzeyde saptandığı çok sayıda çalışma mevcuttur.

Bu çalışmaya anti-TNF ajanlar olan infliksimab veya adalimumab ile tedavi edilen; 15'i ülseratif kolit, 35'i Crohn hastalığı olmak üzere toplam 50 inflamatuvar bağırsak hastalığı olgusu dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak mukozal biyopsileri olağan histolojide olan 25 hasta seçilmiştir. İBH hastalarının tanı öncesi mukozal biyopsilerine TNF-alfa, CD3 ve CD68 belirteçleri immünohistokimyasal olarak uygulanmıştır. Aynı belirteçler kontrol grubu biyopsilerine de uygulanmıştır. Bu

belirteçlerin boyanma oranları, her bir lam üzerinde birim alana düşen (+) hücreler sayılarak hesaplanmıştır. Aynı zamanda bu hastaların tedavi sonrası klinik seyirleri olumlu parametreler olan mukozal iyileşme, remisyon idamesi ve fistül iyileşmesi; olumsuz parametreler olan hastaneye yatış gerekliliği, relaps, anti-TNF tedavi intensifikasyonu, anti-TNF ajanın değiştirilmesi gerekliliği, steroid gerekliliği ve anti-TNF tedavi sürecinde cerrahi gereksinimi ile değerlendirilmiştir.

Çalışma grubunda, mukozal TNF-alfa, CD3 ve CD68 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. TNF-alfa düzeyleri ile klinik parametreler karşılaştırıldığında; olumsuz parametrelerin görüldüğü hastalarda TNF-alfa düzeyinin düşük olduğu ve bunlardan sadece hastaneye yatış gerekliliğinin istatistiksel olarak anlamlı değere ulaştığı izlenmiştir. Olumlu parametrelerden hiçbiri için anlamlı sonuç elde edilememiş olup, fistül iyileşmesi görülen hastalarda TNF-alfa düzeyi düşük olup, diğer iki parametrede yüksek saptanmıştır.

Bu sonuçlara göre, tedavi öncesi yüksek mukozal TNF-alfa düzeyinin, tedaviye klinik yanıt üzerine olumlu etkisi bulunmaktadır. Tedaviye aday hastaların belirlenmesi aşamasında, çalışmamızda kullandığımız yöntemin prediktif değeri olmakla birlikte, daha güvenilir ve kesin sonuçlar için immünohistokimyasal yöntemin histopatolojik bulgular ve mukozal ölçümlerle desteklenmesi; hasta demografik özellikleri, klinik ve endoskopik bulguların birlikte değerlendirilmesi gereklidir.

Anahtar sözcükler: İnflamatuvar bağırsak hastalığı, TNF-alfa, klinik seyir

7. SUMMARY

EVALUATION OF THE EFFECT OF TISSUE TNF ALPHA LEVEL ON CLINICAL OUTCOME AND TREATMENT RESPONSE IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Inflammatory bowel diseases are ulcerative colitis and Crohn's disease accompanied by several cellular and humoral immune response disorders. Although the pathogenesis of these diseases are multifactorial, the disparity between proinflammatory and antiinflammatory cytokines is the principal mechanism and this mechanism includes many major and minor pathways. TNF-alpha is a proinflammatory cytokine, that is involved in these pathways and has the most critical role in the amplification of mucosal inflammation.

The function of TNF-alpha in the immune system is to create a defense against pathogens. It provides the accumulation of host defense mechanisms at low concentration, while it is held liable for inflammation and organ damage at high concentration. Although macrophages and T lymphocytes are the major source; TNF-alpha is also produced by mast cells, granulocytes, NK cells, fibroblasts, neurons, keratinocytes and smooth muscle cells. TNF receptors which have glycoprotein structure, are located almost on all cell surfaces including endothelial cells and hematopoietic cells. As a result of binding with a receptor; activation of NF-KB and releasing of inflammatory cytokines including IL-1, IL-17 and IFN-gamma that are responsible for mucosal damage, occurs. There are numerous studies that determine the increased level of TNF-alpha in intestinal mucosa in inflammatory bowel disease.

50 patients with inflammatory bowel disease comprising 15 ulcerative colitis and 35 Crohn's disease who were treated with anti-TNF agents infliximab or adalimumab were included in this study. 25 patients, whose mucosal biopsies had normal histology were chosen as control group. TNF-alpha, CD3 and CD68

immunohistochemical markers were performed on inflammatory bowel disease patients' pretreatment mucosal biopsies. Also the same markers were performed on the biopsies of the control group. Staining levels of these markers were determined by counting (+) staining cells per unit area on each slides. Also clinical outcome after treatment was evaluated according to mucosal healing, maintenance of remission, fistula healing which are favorable parameters and also according to the need for hospitalization, relapse, anti-TNF treatment intensification, necessity of changing anti-TNF agent, steroid requirement, need for surgery in the treatment process which are unfavorable parameters.

Mucosal TNF-alpha, CD3 and CD68 levels were significantly higher in study group compared to normal controls. When TNF-alpha levels compared with the clinical parameters; TNF-alpha levels were low in patients who had unfavorable parameters and it is observed that only who need hospitalization reached statistically significant values. Significant results could not be obtained for any of the favorable parameters but TNF-alpha level in patients with fistula healing was low and two other favorable parameters were found high.

According to these results, high mucosal levels of TNF-alpha before treatment has positive effect on clinical outcome. Although in determining patients who are candidates for the treatment, the immunohistochemical process we used in our study has predictive value; but immunohistochemical technique should be supported with histopathological findings and mucosal evaluations together with patients' demographic characteristics, clinical and endoscopic findings, for more reliable and accurate results.

Key words: Inflammatory bowel disease, TNF-alpha, clinical outcome

8. KAYNAKLAR

1. Baran B, Kaymakođlu S. İnfiamatuvar bağırsak hastalıklarında tümör nekrotizan faktör alfa antagonistleri ile tedavi. *Turkiye Klinikleri J Immunol Rheumatol-Special Topics* 2010; 3(2):20-31.
2. Grip O, Janciauskiene S, Lindgren S. Macrophages in Inflammatory Bowel Disease. *Current Drug Targets-Inflammation&Allergy*, 2003, 2, 155-160.
3. Kemp R, Dunn E, Schultz M. Immunomodulators in Inflammatory Bowel Disease: An Emerging Role for Biologic Agents. *BioDrugs*. 2013 Dec;27(6):585-90.
4. Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonald TT. Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet* 1992;339:89-91.
5. Murch SH, Lamkin VA, Savage MO, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Serum concentrations of tumour necrosis factor α in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 1991;32:913-7.
6. Murch SH, Braegger CP, Walker-Smith JA, MacDonald TT. Location of tumour necrosis factor α by immunohistochemistry in chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 1993;34:1705-9.
7. Knigge KL. İnfiammatuvar bağırsak hastalıkları. *Clin Cornerstone* 2002;4:49-57.
8. Podolsky DK. İnfiammatuvar bağırsak hastalıkları. *N Engl J Med*. 2002;347(6):417-29.
9. Kildebo S, Nordgaard K, Aronsen O, et al. The incidence of ulcerative colitis in Northern Norway from 1983 to 1986. The Northern Norwegian Gastroenterology Society. *Scand J Gastroenterol*. 1990; 25:890-6.
10. Kildebo S, Breckan R, Nordgaard K, Burhol PG, Jorde R. The incidence of Crohn's disease in northern Norway from 1983 to 1986. The Northern Norway Gastroenterology Society. *Scand J Gastroenterol*. 1989; 24:1265-70.
11. Dağlı Ü ve İBH Çalışma Grubu. Epidemiology and genetics of inflammatory bowel disease in Turkey. *Falk Symposium* 159. *IBD 2007-Achievements in research and clinical practice*. Edited by Tözün N, Dağlı Ü, Mantzaris G, Schölmerich J 2007;3-12.
12. Rubin GP, Hungin APS, Kelly PJ, et al. İnfiammatuvar bağırsak hastalıkları: epidemiology and management in English general practice population. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:1553-9.

13. Sonnenberg A, McCarty DJ, Jacobsen SJ. Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. *Gastroenterology* 1991; 100:143-9.
14. Boggild H, Tuchsén F, Orhede E. Occupation, employment status and chronic inflammatory bowel disease in Denmark. *Int J Epidemiol.* 1996;25:630-7.
15. Feagan B, Rishmond SY. Epidemiology of inflammatory bowel disease. In: Lichenstein GR, ed. *The clinician's guide to inflammatory bowel disease. USA;* Slack:2003 p.1-6.
16. Satsangi J, Grootsholten C, Hold H, Jewell DP. Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. *Gut* 1996;38(5):738-41.
17. Lesage S, Zouali H, Cezard JP, et al. CARD 15/NOD 2 gene mutational analysis and genotyp-phenotyp correlation in 612 patient with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet* 2002;70:845-57.
18. Rubin DT, Hanauer SB. Smoking and inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000;12(8):855-62.
19. Ekblom A, Montgomery SM. Environmental risk factors (excluding tobacco and microorganisms): critical analysis of old and new hypotheses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004;18(3):497-508.
20. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence and environmental influences. *Gastroenterology* 2004;126(6):1504-17.
21. Diagnass AU, Baumgard DC, Sturm A. Review article: the aetiopathogenesis of inflammatory bowel disease—immunology and repair mechanisms. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20 Suppl 4:9-17.
22. Elphick DA, Mahida YR. Paneth cells: their role in innate immunity and inflammatory disease. *Gut* 2005;54(12):1802-9.
23. Baumgard DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007;369(9573):1627-40.
24. Shih DQ, Targan SR. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008;14(3):390-400.
25. Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nunez G, et al. Nod2 dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science* 2005;307(5710):731-4.

26. Mosman TR, Cofmann RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989;7:145-73.
27. Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, et al. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease: Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of INF-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol* 1996;157:1261-70.
28. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, Yang Z, Exley M, Kitani A, Blumberg RS, Mannon P, Strober W. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize a typical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004;113:1490-1497.
29. Mehmet Yücesoy. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında etyoloji ve patogenez. *Türkiye Klinikleri J İnt Med Sci* 2005, 1(34):4-9.
30. Reinisch W, Gasche C, Tilinger W, et al. Clinical relevance of serum interleukin-6 in Crohn's disease: single point measurements, therapy monitoring, and prediction of clinical relapse. *Am J Gastroenterol* 1999; 94(8):2156-64.
31. Ishiguro Y. Mucosal proinflammatory cytokine production correlates with endoscopic activity of ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 1999;34:66-74.
32. Mitsuyama K, Toyonaga A, Sasaki E, et al. Soluble interleukin-6 receptors in inflammatory bowel disease: relation to circulating interleukin-6. *Gut* 1995;36:45-49.
33. Kopf M, Baumann H, Freer G, et al. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature* 1994;368(6469):339-42.
34. Atreya R, Neurath MF. Involvement of IL-6 in the pathogenesis of inflammatory bowel disease and colon cancer. *Clin Rev Allergy Immunol* 2005;28(3):187-96.
35. Miner PB. Clinical features, course, laboratory findings, and complications in ulcerative colitis. In: Kirsner JB, eds. *Inflammatory Bowel Disease*; 5th ed. Philadelphia, W.B. Saunders Comp. 2000.p.299.
36. Su C, Lichtenstein GR. Ulcerative Colitis. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. *Sleisenger Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 8th ed. Philadelphia; Saunders Elsevier: 2006. P.2499-548.
37. Langholz E, Munkholm P, Davidsen M, Binder V. Course of ulcerative colitis: analysis of changes in disease activity over years. *Gastroenterology* 1994;107(1):3-11.

38. Farmer RG, Whelan G, Fazio VW. Long-term follow-up of patients of Crohn's disease: Relationship between clinical pattern and prognosis. *Gastroenterology* 1985;88:1818.
39. Orhan Sezgin. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının klinik özellikleri. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1(34):1-15.
40. Roux C, Abitbol V, Chaussade S, et al. Bone loss in patients with inflammatory bowel disease: A prospective study. *Osteoporosis Int* 1995;5:156.
41. Abu-Qurshin R, Naschitz JE, Zuckerman E, et al. Crohn's disease with Pellegra and increased excretion of 5-hydroxyindolacetic acid. *Am J Med Sci* 1997;313:11.
42. Wagtmans MJ, van Hogezaand RA, Griffioen G, et al. Crohn's disease of the upper gastrointestinal tract. *Neth J Med.* 1997;50(2):S2-7.
43. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, et al. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology.* 1976 Mar;70(3):439-44.
44. Yoshida EM. The Crohn's Disease Activity Index, its derivatives and the Inflammatory Bowel Disease Questionnaire: a review of instruments to assess Crohn's disease. *Can J Gastroenterol.* 1999;13(1):65-73.
45. Buğra Tolga Konduk, Saadettin Hülagü. İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında tanı. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005;1(34): 16-53.
46. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:661-5.
47. Solem CA, Loftus EV Jr, Fletcher JG, et al. Small-bowel imaging in Crohn's disease: a prospective, blinded, 4-way comparison trial. *WJ. Gastrointest Endosc.* 2008 Aug;68(2):255-66.
48. Higgs CS, Allan RN: Crohn's disease of the distal ileum. *Gut* 1980;21:933.
49. Okada M, Yao T, Fuchigami T, et al: Anatomical involvement and clinical features in 91 Japanese patients with Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol* 1987;9:165.
50. Ribeiro M, Greenstein A, Yamazaki Y, Aufses AH Jr: Intra-abdominal abscess in regional enteritis. *Ann Surg* 1991;213:32.
51. Fox CC, Lazenby AJ, Moore WC, et al: Enhancement of human intestinal mast cell mediator release in active ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1990;99:119.

52. Surawicz CM, Meisel JL, Ylvisaker T, et al: Rectal biopsy in the diagnosis of Crohn's disease : value of multipl biopsies and serial sectioning. *Gastroenterology* 1981;81:66.
53. Petri M, Poulsen SS, Christensen K, Jarnum S: The incidence of granulomas in serial sections of rectal biopsies from patients with Crohn's disease. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [A]* 1982;90:145.
54. Chambers TJ, Morson BC: Large bowel biopsy in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Invest Cell Pathol* 1980;3:159.
55. O'MorainC, Bishop A, McGregor GP, et al: Vasoactive intestinal peptide concentrations and immunocytochemical studies in rectal biopsies from patient with inflammatory bowel disease. *Gut* 1984;25:57.
56. Fox CC, Lichtenstein LM, Roche JK: Intestinal mast cell responses in idiopathic inflammatory bowel disease: histamine release from human intestinal mast cells in response to gut epithelial proteins. *Dig Dis Sci* 1993;38:1105.
57. Kimura M, Masuda T, Hiwatashi N, et al: Changes in neuropeptide containing nerves in human colonic mucosa with inflammatory bowel disease. *Pathol Int* 1994;44:624.
58. Surrenti C, Renzi D, Garcea MR, et al: Colonic vasoactive intestinal polypeptide in ulcerative colitis. *J Physiol* 1993;87:307.
59. Pitt MA, Knox WF, Haboubi NY: Multinucleated stromal giant cells of the colonic lamina propria in ulcerative colitis. *JpHYSIOL* 1993;87:307.
60. Ardite E, Panes J, Miranda M, Salas A, Elizalde JI, Sans M, et al. Effects of steroid treatment on activation of nuclear factor kappaB in patients with inflammatory bowel disease. *Br J Pharmacol.* 1998;124:431–3.
61. Grilli M, Chiu JJ, Lenardo MJ. NF-kappa B and Rel: participants in a multiform transcriptional regulatory system. *Int Rev Cytol.* 1993;143:1–62.
62. Neurath MF, Travis SP. Mucosal healing in inflammatory bowel diseases: a systematic review. *Gut.* 2012;61:1619–35.
63. Marehbian J, Arrighi HM, Hass S, Tian H, Sandborn WJ. Adverse events associated with common therapy regimens for moderate-to-severe Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 2009;104:2524–33.
64. Rahier JF, Ben-Horin S, Chowers Y, Conlon C, De Munter P, D'Haens G, et al. European evidence-based Consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis.* 2009;3:47–91.

65. Elion GB. The purine path to chemotherapy. *Science*. 1989;244:41–7.
66. Miheller P, Lakatos PL. Thiopurines in Crohn's disease, is there something new? *Expert Opin DrugMetab Toxicol*. 2010;6:1505–14.
67. Tiede I, Fritz G, Strand S, Poppe D, Dvorsky R, Strand D, et al. CD28-dependent Rac1 activation is the molecular target of azathioprine in primary human CD4⁺ T lymphocytes. *J Clin Invest*. 2003;111:1133–45.
68. Kandiel A, Fraser AG, Korelitz BI, Brensinger C, Lewis JD. Increased risk of lymphoma among inflammatory bowel disease patients treated with azathioprine and 6-mercaptopurine. *Gut*. 2005;54:1121–5.
69. Beaugerie L, Brousse N, Bouvier AM, Colombel JF, Lemann M, Cosnes J, et al. Lymphoproliferative disorders in patients receiving thiopurines for inflammatory bowel disease: a prospective observational cohort study. *Lancet*. 2009;374:1617–25.
70. Siegel CA, Marden SM, Persing SM, Larson RJ, Sands BE. Risk of lymphoma associated with combination anti-tumor necrosis factor and immunomodulator therapy for the treatment of Crohn's disease: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7:874–81.
71. Fraser AG, Orchard TR, Jewell DP. The efficacy of azathioprine for the treatment of inflammatory bowel disease: a 30 year review. *Gut*. 2002;50:485.
72. McDonald JW, Tsoulis DJ, Macdonald JK, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;12:CD003459.
73. Brody M, Bohm I, Bauer R. Mechanism of action of methotrexate: experimental evidence that methotrexate blocks the binding of interleukin 1 beta to the interleukin 1 receptor on target cells. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1993;31:667–74.
74. Ng SC, Chan FK, Sung JJ. Review article: the role of non-biological drugs in refractory inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33:417–27.
75. Keffer J, Probert L, Cazlaris H, Georgopoulos S, Kaslaris E, Kioussis D, et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *EMBO J* 1991;10:4025-31.
76. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long FA, Charles P, Katsikis P, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with chimeric monoclonal antibodies to tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Rheum* 1993;36:168190.

77. Bazzoni F, Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 1996;334:1717-25.
78. Feldmann M, Steinman L. Design of effective immunotherapy for human autoimmunity. *Nature* 2005;435:612-9.
79. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld GJ, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review *Pharmacology & Therapeutics* 2008;117: 244-79.
80. Eissner G, Kolch W, Scheurich P. Ligand working as receptors: reverse signaling by members of the TNF super family enhance the plasticity of the immune system. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:353-66.
81. Chan FK, Chun HJ, Zheng L, Siegel RM, Bui KL, Lenardo MJ. A domain in TNF receptors that mediates ligand-independent receptor assembly and signaling. *Science* 2000;288: 2351-4.
82. Grell M, Wajant H, Zimmermann G, Scheurich P. The type 1 receptor (CD120a) is the high-affinity receptor for soluble tumor necrosis factor. *PNAS* 1998;95:570-5.
83. Gomerman JL, Browning JL. Lymphotoxin/light, lymphoid microenvironments and autoimmune disease. *Nat Rev Immunol* 2003;3: 642-55.
84. Medvedev AE, Espevik T, Ranges G, Sundan A. Distinct roles of the two tumor necrosis factor(TNF) receptors in modulating TNF and lymphotoxin alpha effects. *J Biol Chem* 1996;271:9778-84.
85. Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. *J Pharm Sci* 2004;93:2645-68.
86. Scallon B, Cai A, Solowski N, Rosenberg A, Song XY, Shealy, D., et al. Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;301:418-26.
87. Nestorov I. Clinical pharmacokinetics of TNF antagonists: how do they differ? *Semin Arthritis Rheum* 2005;34:12-8.
88. St. Clair EW, Wagner CL, Fasanmade AA, Wang B, Schaible T, Kavanaugh A, et al. The relationship of serum infliximab concentrations to clinical improvement in rheumatoid arthritis: results from ATTRACT, a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46:1451-9.
89. Charles P, Elliott MJ, Davis D, Potter A, Kalden JR, Antoni C, et al. Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1999;163: 1521-8.

90. Anderson PJ. Tumor necrosis factor inhibitors: clinical implications of their different immunogenicity profiles. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34:19-22.
91. Kaymakçalan Z, Kalghatgi L, Xiong L. Differential TNF neutralizing potencies of adalimumab, etanercept, and infliximab. *Ann Rheum Dis* 2006;65(Suppl II), 458.
92. Anolik JH, Owen T, Barnard J, Sanz I. Anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis alters B lymphocyte dynamics. *Arthritis Rheum* 2005;52: S677.
93. Gramlick A, Fossati G, Nesbitt AM. Neutralization of soluble and membrane tumor necrosis factor alpha (TNF- alpha) by infliximab, adalimumab, or certolizumab pegol using P55 or P75 TNF-alpha Receptor specific bioassays. *Gastroenterology* 2006;130:A697.
94. Kirchner S, Holler E, Haffner S, Andreesen R, Eissner G. Effect of different tumor necrosis factor TNF reactive agents on reverse signaling of membrane integrated TNF in monocytes. *Cytokine* 2004;28:67-74.
95. ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP, van Deventer SJ. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease. *Gut* 2002;50: 206-11.
96. Shen C, Assche GV, Colpaert S, Maerten P, Geboes K, Rutgeerts P, et al. Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:251-8.
97. Catrina AI, Trollmo C, af Klint E, Engstrom M, Lampa J, Hermansson Y, et al. Evidence that anti-tumor necrosis factor therapy with both etanercept and infliximab induces apoptosis in macrophages, but not lymphocytes, in rheumatoid arthritis joints: extended report. *Arthritis Rheum* 2005;52:61-72.
98. Kohno T, Louie JS, Stevens SR. Differences in Fc receptor and C1q binding in tumor necrosis factor(TNF) antagonists may contribute to differences in mechanisms of action. *J Invest Dermatol* 2005;124:A111.
99. Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A, Moore S, Warnes G, Isenberg DA, et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF alpha therapy. *J ExpMed* 2004;200:277-85.
100. Vigna-Pérez M, Abud MC, Portillo SH, Alvarado SB, Cuevas OE, Moreno VR, et al. Immune effects of therapy with Adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2005;141:372-80.
101. de Rycke L, Baeten D, Kruithof E, Van den Bosch F, Veys EM, de Keyser F. Infliximab, but not etanercept, induces IgM anti-double stranded DNA

autoantibodies as main antinuclear reactivity: biologic and clinical implications in auto immune arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52:2192-201.

102. Elkayam O, Caspi D, Reitblatt T, Charboneau D, Rubins JB. The effect of tumor necrosis factor blockade on the response to pneumococcal vaccination in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Semin Arthritis Rheum* 2004;33:283-8.

103. Mease PJ, Ritchlin CT, Martin RW, Gottlieb AB, Baumgartner SW, Burge DJ, et al. Pneumococcal vaccine response in psoriatic arthritis patients during treatment with etanercept. *J Rheumatol* 2004;31:1356-61.

104. Kaine JL, Kivitz AJ, Birbara C, Luo AY. Immune responses following administration of influenza and pneumococcal vaccines to patients with rheumatoid arthritis receiving adalimumab. *J Rheumatol* 2007;34:2729.

105. Ehlers S. Tumor Necrosis Factor and Its Blockade in Granulomatous Infections: Differential Modes of Action of Infliximab and Etanercept? *Clin Infect Dis* 2005;41:199-203.

106. Sands BE. Crohn's Disease. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, 8th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2006. p.2459-2490.

107. Masuda H, Iwai S, Tanaka T, Hayakawa S. Expression of IL-8, TNF-alpha and IFN-gamma m-RNA in ulcerative colitis, particularly in patients with inactive phase. *J Clin Lab Immunol.* 1995;46:111-23.

108. Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO, Lémann M, Söderholm J, Colombel JF, et al. The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. *Journal of Crohn's and Colitis* (2010) doi:10.1016/j.crohns.2009.12.002.

109. Roux CH, Brocq O, Breuil V, Albert C, Euller-Ziegler L. Safety of anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis and spondylarthropathies with concurrent B or C chronic hepatitis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:1294-7.

110. Peterson JR, Hsu FC, Simkin PA, Wener MH. Effect of tumour necrosis factor alpha antagonists on serum transaminases and viraemia in patients with rheumatoid arthritis and chronic hepatitis C infection. *Ann Rheum Dis* 2003;62:1078-82.

111. Parke FA, Reveille JD. Anti-tumor necrosis factor agents for rheumatoid arthritis in the setting of chronic hepatitis C infection. *Arthritis Rheum* 2004;51:800-4.

112. Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial (WGET) Research Group. Etanercept plus standard therapy for Wegener's granulomatosis. *N Engl J Med* 2005;352:351-61.
113. Fausto Sanchez-Muñoz, Aaron Dominguez-Lopez, Jesus K Yamamoto-Furusho. Role of cytokines in inflammatory bowel disease *World J Gastroenterol*. 2008 July 21; 14(27): 4280–4288.
114. Dias CC, Rodrigues PP, da Costa-Pereira A, Magro F. Clinical prognostic factors for disabling Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2013 Jun 28;19(24):3866-71.
115. Kawalec P, Mikrut A, Wiśniewska N, Pilc A. Tumor necrosis factor- α antibodies (infliximab, adalimumab and certolizumab) in Crohn's disease: systematic review and meta-analysis. *Arch Med Sci*. 2013 Oct 31;9(5):765-79. doi: 10.5114/aoms.2013.38670.
116. Thorlund K, Druyts E, Mills EJ, Fedorak RN, Marshall JK. Adalimumab versus infliximab for the treatment of moderate to severe ulcerative colitis in adult patients naïve to anti-TNF therapy: An indirect treatment comparison meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2014 Jul 1;8(7):571-581.
117. Devlin SM, Bressler B, Bernstein CN, Fedorak RN, Bitton A, Singh H, Feagan BG. Overview of subsequent entry biologics for the management of inflammatory bowel disease and Canadian Association of Gastroenterology position statement on subsequent entry biologics. *Can J Gastroenterol*. 2013 Oct;27(10):567-71.
118. Rogler G. Top-down or step-up treatment in Crohn's disease? *Dig Dis*. 2013;31(1):83-90.
119. Rogler G, Vavricka S, Schoepfer A, Lakatos PL. Mucosal healing and deep remission: what does it mean? *World J Gastroenterol*. 2013 Nov 21;19(43):7552-60.
120. Chevaux JB, Vavricka SR, Rogler G, Lakatos PL, Schoepfer A, Peyrin-Biroulet L. Mucosal healing with anti-TNF antibodies. *Digestion*. 2012;86 Suppl 1:16-22.
121. Fascì Spurio F, Aratari A, Margagnoni G, Doddato MT, Papi C. Early treatment in Crohn's disease: do we have enough evidence to reverse the therapeutic pyramid? *J Gastrointest Liver Dis*. 2012 Mar;21(1):67-73.
122. Beaugerie L, Seksik P, Nion-Larmurier I, Gendre JP, Cosnes J. Predictors of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006;130:650.
123. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003;3:521-33.

124. Melmed GY, Abreu MT. New insights into the pathogenesis of inflammatory bowel disease . *Curr Gastroenterol Rep* 2004;6:474-81.
125. Van Deventer SJ. Tumour necrosis factor and Crohn's disease. *Gut* 1997;40:443-448.
126. Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology* 2000;119:1148-1157.
127. Dionne S, Hiscott J, D'Agata I. Quantitative PCR analysis of TNF-alpha and IL-1 beta mRNA levels in pediatric IBD mucosal biopsies. *Dig Dis Sci* 1997;42:1557-66.
128. McCormack G, Moriarty D, O Donoghue DP, McCormick PA, Sheahan K, Baird AW. Tissue cytokine and chemokine expression in inflammatory bowel disease. *Inflamm Res* 2011;50:491-5.
129. Hyams JS, Treem WR, Eddy E, Wyzga N, Moore RE. Tumor necrosis factor-alpha is not elevated in children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;12:233-6.
130. Inoue S, Matsumoto T, Iida M, Mizuno M, Kuroki F, Hoshika K, et al. Characterization of cytokine expression in the rectal mucosa of ulcerative colitis: correlation with disease activity. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2441-6.
131. Akazawa A, Sakaida I, Higaki S, Kubo Y, Uchida K, Okita K. Increased expression of tumor necrosis factor-alpha messenger RNA in the intestinal mucosa of inflammatory bowel disease, particularly in patients with disease in the inactive phase. *J Gastroenterol* 2002;37:345-53.
132. Komatsu M, Kobayashi D, Saito K, Furuya D, Yagihashi A, Araake H, et al. Tumor necrosis factor-alpha in serum of patients with inflammatory bowel disease as measured by a highly sensitive immuno-PCR. *Clin Chem* 2001;47:1297-301.
133. Sawa Y, Oshitani N, Adachi K, Higuchi K, Matsumoto T, Arakawa T. Comprehensive analysis of intestinal cytokine messenger RNA profile by real-time quantitative polymerase chain reaction in patients with inflammatory bowel disease. *Int J Mol Med* 2003;11:175-9.
134. Olsen T, Goll R, Cui G, Husebekk A, Vonen B, Birketvedt GS, et al. Tissue levels of tumor necrosis factor-alpha correlates with grade of inflammation in untreated ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2007;42:1312-20.
135. Olsen T, Cui G, Goll R, Husebekk A, Florholmen J. Infliximab therapy decrease the levels of TNF-alpha and IFN-gamma mRNA in colonic mucosa of ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2009;44:727-735.

136. Ierardi E, Giorgio F, Rosania R, Zotti M, Prencipe S, Della Valle N, et al. Mucosal assessment of tumor necrosis factor alpha levels on paraffined samples: a comparison between immunohistochemistry and real time polymerase chain reaction. *Scand J Gastroenterol* 2010;45:1007-1008.

137. Cui G, Olsen T, Christiansen I, Vonen B, Florholmen J, Goll R. Improvement of real time polymerase chain reaction for quantifying TNF-alpha mRNA expression in inflamed colorectal mucosa: An approach to optimize procedures for clinical use. *Scand J Clin Lab Invest* 2006;66:249-260.

138. D'Haens G, Noman M, Baert F, Hiele MI. Endoscopic healing after infliximab treatment for Crohn's disease provides longer time to relapse. *Gastroenterology* 2002;122.

139. Peyrin-Biroulet L, Ferrante M, Magro F, Campbell S, Franchimont D, Fidler H, et al. Results from the 2nd Scientific Workshop of the ECCO (I): Impact of mucosal healing on the course of inflammatory bowel disease. *J Crohn's Colitis* 2011;5:477-83.

140. Rismo R, Olsen T, Cui G, Paulssen E, Christiansen I, Johnsen K, et al. Normalization of mucosal cytokine gene expression levels predicts long-term remission after discontinuation of anti-TNF therapy in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2013;48:311-319.

141. Plevy SE, Landers CJ, Prehn J, Carramanzana NM, Deem RL, Shealy D, et al. A role for TNF-alpha and mucosal T hepler-1 cytokine in the pathogenesis of Crohn's disease. *J Immunol* 1997;159:6276-82.

142. Martinez-Borra J, B.S., Lopez-Larrea C, Ph.D., Gonzales S, M.D., Ph.D., Fuentes D, M.D., Dieguez A, M.D., Ph.D., Deschamps EM, B.S., et al. High serum tumor necrosis factor alpha levels are associated with lack of response to infliximab in fistulizing Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2350-2356.

143. Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:390-407.

144. Van den Brande JM, Braat H, van den Brink GR, Versteeg HH, Bauer CA, Hoedemaeker I, et al. Infliximab but not etanercept induces apoptosis in lamina propria T-lymphocytes from patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003;124:1774-85.

145. Luger A, Schmidt M, Luger N, Pauels HG, Domschke W, Kucharzik T. Infliximab induces apoptosis in monocytes from patients with chronic active Crohn's disease by using a caspase-dependent pathway. *Gastroenterology* 2001;121:1145-57.

146. Tsukada Y, M.D., Nakamura T, M.D., Ph.D., Iimura M, M.D., Ph.D., Iizuka B, M.D., Hayashi N, M.D. Cytokine profile in colonic mucosa of ulcerative colitis correlates with disease activity and response to granulocytapheresis. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2820-2828.
147. Friedman S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J (eds). *Harrison's principles of internal medicine*, 18th ed. New York: McGraw-Hill, 2011.
148. Avdagic N, Babic N, Seremet M, Delic-Sarac M, Drace Z, Denjalic A, et al. Tumor necrosis factor-alpha serum level in assessment of disease activity in inflammatory bowel diseases. *Med Glas (Zenica)* 2013; 10(2):211-216.
149. Schmidt C, Giese T, Hermann E, Zeuzem S, Meuer SC, Stallmach A. Predictive value of mucosal TNF-alpha transcripts in steroid-refractory Crohn's disease patients receiving intensive immunosuppressive therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13(1):65-70.
150. Rismo R, Olsen T, Cui G, Christiansen I, Florholmen J, Goll R. Mucosal cytokine gene expression profiles as biomarkers of response to infliximab in ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 2012;47:538-547.
151. Olsen T, Goll R, Cui G, Christiansen I, Florholmen J. TNF-alpha gene expression in colorectal mucosa as a predictor of remission after induction therapy with infliximab in ulcerative colitis.
152. Schuppan D, Hahn EG. MMPs in gut: Inflammation hits the matrix. *Gut* 2000;47:12-4.
153. Siegel SA, Shealy DJ, Nakada MT, et al. The mouse/human chimeric monoclonal antibody cA2 neutralizes in vitro and protects transgenic mice from cachexia and TNF alpha lethality in vivo. *Cytokine* 1995;7:15-25.
154. Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, et al. Chimeric anti-TNF alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF alpha and activates immune effector functions. *Cytokine* 1995;7:251-9.