



**T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**MEZENKİMAL STROMAL HÜCRELERİN  
CROHN HASTALIĞI MODELİNDE  
İNFLAMATUAR VE PROİNFLAMATUAR  
SİTOKİNLERE ETKİSİ VE TEDAVİDE KULLANIMI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. İbrahim Volkan ŞENKAL**

İSTANBUL 2010



**T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**MEZENKİMAL STROMAL HÜCRELERİN  
CROHN HASTALIĞI MODELİNDE  
İNFLAMATUAR VE PROİNFLAMATUAR  
SİTOKİNLERE ETKİSİ VE TEDAVİDE KULLANIMI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İbrahim Volkan ŞENKAL**

**İSTANBUL 2010**

## TEŐEKKÜR

Hastanemizde gerekli olan eğitim ve uygun çalışma ortamını sağlayan baŐhekimimiz Sn. Prof. Dr. Canan Aykut Bingöl'e,

Uzmanlık eğitimimiz süresi boyunca her zaman teorik ve pratik bilgi ile deneyimlerini bizlerle paylaŐarak iyi bir hekim olmamız için üstün gayretler sarf eden kıymetli hocam Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı BaŐkanı Sn. Prof. Dr. Cengiz Pata'ya, tüm bilgi ve deneyimlerinden faydalanma imkanı bulduğumuz, Sn. Prof. Dr. Sami Kartı'ya, Sn. Prof. Dr. Gülçin Kantarcı'ya, Sn. Prof. Dr. YaŐar Küçükardalı'ya, Sn. Doç Dr. Yusuf Ziya Erzin'e, Sn. Doç Dr. BaŐak Oyan Ulu'a, Sn. Yrd. Doç Dr. Hasan Aydın'a, Sn. Yrd. Doç Dr. Müge Bıakıgil'e, ve Sn. Yrd. Doç Dr. Zehra Eren'e sonsuz saygı ve teŐekkürlerimi sunarım.

Eđitimimiz süresince bilgi ve deneyimlerini paylaŐtıđımız Uzm. Dr. Ümit Akyüz, Uzm. Dr. etin Ordu ve Uzm. Dr. Cengiz Akosman'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca dostluk ve arkadaşlıklarını esirgemeyen, tez çalıŐmalarımnda desteklerini gördüğüm asistan arkadaşlarım Dr. Fevzi Fırat Yalınız, Dr. AyŐe Ayrılmaz ve Dr. Emrah Turunç'a, kliniğimizin özveri ile çalıŐan tüm hemŐire, laborant, teknisyen ve personeline içten teŐekkürlerimi sunarım.

Deđerli katkılarından dolayı, sevgili Rukset – Erkut Attar hocalarım teŐekkürü bir borç bilirim.

Ve herŐey için, en zor zamanlarımda desteklerini esirgemeyen, bana olan inançlarını her zaman hissettiğim sevgili anneme ve değerli, güzel eŐim Evrim ŞENKAL'a teŐekkürlerimi sunarım...

Dr. İbrahim Volkan ŞENKAL

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kolon embriyolojisi ve anatomisi.....	3
2.2 İnflamatuar bağırsak hastalıkları .....	6
2.3 Mezenkimal stromal hücreler .....	27
3.MATERYAL VE METOD .....	29
3.1 Rat grubu seçimi.....	29
3.2 Mikroskopik skorlama ve histoloji .....	30
3.3 Laboratuar İncelemeleri.....	30
3.4 İstatistiksel Değerlendirme .....	31
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ.....	43
7. ÖZET .....	45
KAYNAKLAR.....	47

## KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
5 ASA	5 Aminosalisilik asit
CH	Crohn hastalığı
DSS	Dekstran sulfat sodyum
GIS	Gastrointestinal sistem
IBH	Inflamatuar bağırsak hastalıkları
IFN- $\gamma$	Interferon gama
IL-10	İnterlökin On
MHC II	Major Histokompatibilite Kompleks II
MSH	Mezankimal stromal hücre
TGF- $\beta$	Transforming growth faktör beta
TH1	T helper Bir
TH2	T helper İki
TH3	T helper Üç
TNBS	Trinitrobenzen sulfonik asit
TNF- $\alpha$	Tümör nekrozis faktör alfa
ÜK	Ülseratif kolit

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mezenkimal stromal hücreler (MSH), ilk olarak insan kemik iliğinden ancak daha sonraları yağ dokusu, kord kanı, fetal karaciğer, kan gibi diğer dokulardan da izole edilebilen, mezoderm kökenli, fibroblast benzeri, nadir hücre topluluklarıdır (1).

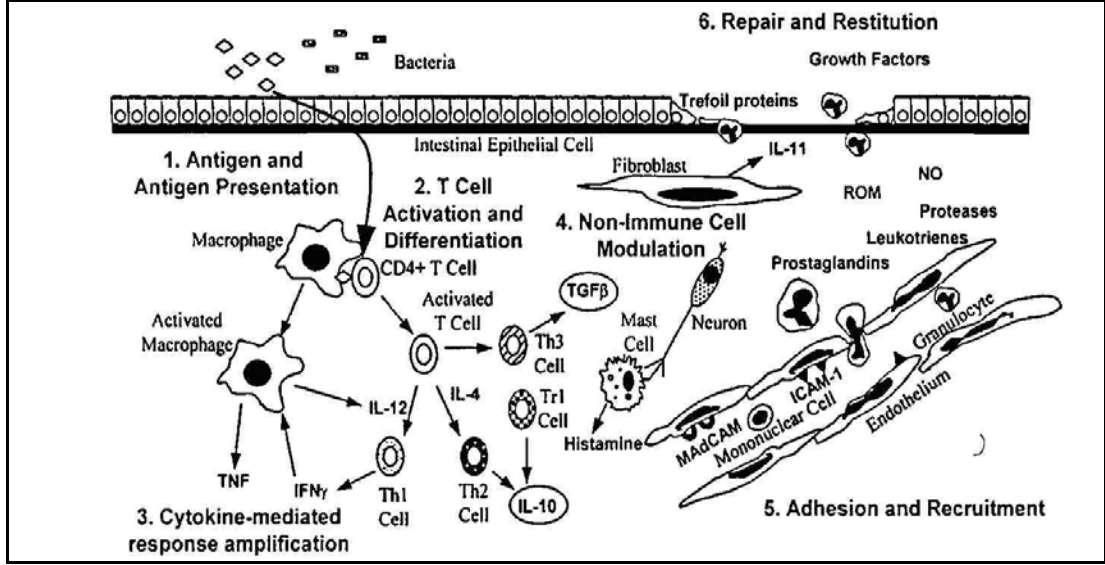
In-vitro ve in-vivo olarak kemik, yağ dokusu ve kıkırdak gibi dokulara differensiye olabilmemesinin yanında hasarlı dokuya yerleşip teröpetik potansiyel göstermesi, tedaviye rezistan akut graft-versus-host hastalığı, doku tamiri, allograft organ rejeksiyon tedavisi ve otoimmün hastalıklar gibi birçok alanda araştırma ve klinik uygulamada kullanılmasına yol açmıştır (2).

MSH, intravenöz infüzyon sonrasında birçok dokuda düşük seviyede saptanabilir ama tercihen hasarlı bölgeye yerleşir (3,4).

Inflamatuar bağırsak hastalıkları (İBH), doğal ve adaptif immün sistemin, kommensal bakteri ve mikrobiyal ürünleri de içeren birçok normal öğeye karşı kontrol dışı reaksiyonu ile giden hastalıklardır. Crohn hastalığı ve deneysel kolit modelinde bağırsakta, lamina propriada artmış hücre aktivasyonu vardır. T hücre ekspresyonu ön plandadır, T hücre fonksiyonları artması sonucu T hücre sitokinlerinde artış gözlenir.

Nötrofil gibi efektör hücreler çoğalır, proteaz ve reaktif oksijen metabolitleri gibi yıkıcı maddeler artar. İBH'de altta yatan mukozal immün fonksiyon defekti sonucunda daima T ve B hücre aktivasyonu ortaya çıkacaktır.

Artan sitokinler, proteaz ve reaktif oksijen metabolitleri mukozada immün hasara yol açar. İnflamatuar hastalığın tedavisinde, artan immün cevabın ve ilgili sitokinlerin baskılanması hedeflenir. Günümüzde, bu amaçla, steroid, mesalamin ve azatiyopirin gibi tedaviler kullanılmaktadır.



Şekil 1.1. Crohn hastalığının (CH) patogenezi; Mukozal inflamasyon ile başlayan süreçte makrofaj gibi antijen sunan hücreler, antijeni işler ve Major Histokompatibilite Kompleks II (MHC II) aracılığı ile CD4+ T hücrelerine sunar. Bu uyarı ile CD4+ T hücreleri aktive olur ve TH1, TH2 ve TH3 hücrelerine farklılaşır. TH1 tarafından salınan IFN- $\gamma$  aracılığı ile makrofajlar uyarılır ve başta TNF- $\alpha$  olmak üzere diğer inflamatuvar sitokinlerin salınımı artar. TH2 ve TH3 tarafından salınan IL-10 ile TH3 tarafından salınan TGF- $\beta$  etkisiyle inflamasyon baskılanır. Crohn hastalığında TH1'in aktivitesi artmış, TH2 ve TH3'ün aktivitesi ise azalmıştır (102).

Mezenkimal stromal hücrelerin immun sistem üzerindeki etkisi, çok çeşitli yollardan supresif yönde ve inflamasyonu baskılayıcı tarzdadır (Şekil 1.1); T helper 1 (TH1) aktivasyonunu ve dolayısı ile bu hücrelerden, inflamatuvar bir sitokin olan Interferon Gama (IFN- $\gamma$ ) salınımını inhibe ederler. TH1 proliferasyonunu inhibe ederken T helper 2 (TH2) ve T helper 3 (TH3, Regülatuar T hücreler, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> hücreler) proliferasyonu ve dolayısı ile bu hücrelerden salınan, güçlü bir antiinflamatuvar sitokin olan Interlökin-10 (IL-10) seviyesini artırır. Bunun yanında, inflamasyon sürecinde, dendritik hücre gibi antijen sunan hücrelerden yine inflamatuvar bir sitokin olan TNF- $\alpha$  salınımını inhibe ederler.

Genel anlamda mezenkimal stromal hücreler efektör T hücre cevabını baskılayıp, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve sepsiste teröpotik etkileri olabilir (5).

Mezenkimal stromal hücrelerin immun sistem üzerindeki etkisi, çok çeşitli yollardan supresif yönde ve inflamasyonu baskılayıcı tarzdadır. Bu hücrelerin immunsupresif etkilerinin yanında, immünmodulatuar ve rejeneratif özellikleri de bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı MSH'nin immunsupresif ve rejeneratif özelliklerinden faydalanarak, inflamatuvar bağırsak hastalıklarındaki inflamasyonu baskılamadaki potansiyel rolünü belirlemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kolon Embriyolojisi ve Anatomisi

#### 2.1.1. Kolon embriyolojisi

Gestasyonun 4. haftasında gelişen primitif bağırsak; ön bağırsak (foregut), orta bağırsak (midgut), son bağırsak (hindgut) olmak üzere üç parçaya ayrılır.

Midgutdan, ana safra kanalının girişinden başlayarak incebağırsaklar ve transvers kolonun orta kısmının proksimalinde kalan kalın bağırsaklar gelişir. Hindgutdan transvers kolonun orta kısmından başlayarak anüsün proksimaline kadar olan kalın bağırsaklar ve alt ürogenital trakt gelişir.

Gebeliğin 6. haftasında gelişen midgut abdominal kavite dışına çıkarken süperior mezenterik arter etrafında saat yönünün tersine 270° ' lik dönüşünü tamamlayarak abdominal kavitedeki son halini alır. Hindgut ise 6. haftada anatomik septumla ventralde ürogenital sinüs ile dorsalde rektuma bölünen kloaka ile sonlanır (6).

#### 2.1.2. Kolon anatomisi

Kolon ileoçekal bileşmeden başlayıp anüse kadar uzanır. 130-150 cm uzunluğunda 2.5-8.5 cm çaptadır. Çekum ile terminal ileum arasında ilioçekal kapak bulunur. Bu kapak sayesinde kolonik içeriğin ileuma geçişi engellenir. Longitudinal kas lifleri bir araya gelerek tenya omentalis, tenya libera, tenya mesokolika denilen üç ayrı bant oluşturur. Sirküler kas lifleri ise haustra denilen keselenmeleri meydana getirir. Pilika semilunaris denilen hilal biçimli yapılarla haustralar birbirinden ayrılırlar. Appendices epiploica ise tenyalara tutunan periton kaplı yağlı çıkıntılardır.

Kolon duvarı sırasıyla içten dışa; Mukoza, Submukoza, İçte sirküler kaslar, Dışta longitudinal kaslar, Serozadan oluşur.

Kolon; Çekum, Çıkan kolon, Transvers kolon, İnen kolon, Sigmoid kolon,



Rektum olmak üzere kısımlara ayrılır.

Omentum transvers kolonun üst kenarına tutunur. Çıkan kolon, inen kolon, hepatic ve splenic fleksura arka yüzleri genellikle retroperitonealdir. Çekum, transvers kolon, sigmoid kolon ise intraperitonealdir (7).

Çekum; kolonun ilk parçası olup, sağ iliak fossada yer alır. 6 cm uzunluğunda, 7.5 cm çapındadır. Arka yüzde psoas majör ve muskularis iliakus ile komşudur. Tenyalar çekum posteromedialinde appendices vermiformisin yapıştığı yerden başlar. İlioçekal valvin ileum tarafında villuslar bulunur.

Çıkan kolon; çekum ile hepatic fleksura arasındaki 15-20 cm' lik kısımdır. Karaciğer alt komşuluğuna uzanır ve sola öne dönerek transvers kolonu oluşturur. Arkada iliak kaslar, musculus quadrato lumborum ve sağ böbrek ile komşudur.

Transvers kolon; hepatic fleksuradan başlayarak splenic fleksuraya doğru transvers şekilde uzanır. Yaklaşık 50 cm' dir. Hepatic fleksurada duodenum 2. parçası ve pankreas başı ile komşudur. Gastrokolik ligaman ile mideye bağlıdır. Omentum majusa tamamen yapışıktır. Dalağın hemen inferiorunda splenic fleksurayı oluşturur.

İnen kolon; splenic fleksuradan itibaren 25 cm' lik kısmını oluşturur. Sol iliak fossada yerleşir. Sol böbrek dış kenarı, musculus psoas majör, musculus quadratus lumborum ile komşudur.

Sigmoid kolon; rektum ile inen kolon arasındaki 40 cm' lik kısımdır. Promontoryumun hemen önünde rektosigmoid bileşkeyi oluşturur. Rektosigmoid bileşke yakınında tenyalar net görülmez, appendices epiploicalar kaybolur.

Rektum; promontoryumun hemen önünde başlar. Sakrum ve koksigin eğimine bağlı aşağı ve arkaya doğru yönelir. Sakral bölgeyi geçip pelvik diafragmada anüs ile birleşir. 14 cm uzunluğunda 4 cm genişliğindedir. Haustra, appendices epiploica, tenya içermez. Üst 2/3' lük kısmı periton ile örtülüdür.

### **2.1.3. Kolonun kanlanması**

Süperior mezenterik arter (SMA), çölyak aksın altından aortanın önünden ayrılır. Çekum, çıkan kolon ve transvers kolonu iliokolik, sağ kolik, orta kolik dalları ile besler. İnférieur mezenterik arter (İMA), SMA' nın altında infrarenal

aortadan çıkarak inen kolon, sigmoid kolon ve üst rektumu sol kolik, sigmoidal ve süperior rektal arter dalları ile besler. İMA süperior rektal arter olarak devam eder ve internal iliak arterin medial rektal arter dalı ve internal pudental arterin inferior rektal arter dalı ile birleşerek anastomoz yapar ve rektumu beslerler.

Splenik fleksura hizasında SMA ve İMA arasında kollateraller bulunur. İleokolik, sağ kolik, orta kolik, sol kolik arterler aralarında anastomoz oluşturarak Drummond' un marjinal arterini meydana getirirler. Kolonun mezenterik sınırı boyunca yer alarak kolona vasa rectalarını verirler. Böylece mezenterik kenar boyunca devamlı kan akımı elde edilmiş olur.

İMA' nın sol kolik dalı ile SMA' nın orta kolik dalı arasındaki sabit olmayan damara ise riolan arkı denir (8).

#### **2.1.4. Kolonun Venöz Drenajı**

İnferior mezenterik ven dışında kolonu drene eden venler arterlerle aynı yolu takip eder. İnferior mezenterik ven inen kolonu, sigmoid kolonu ve proksimal rektumu drene eder. Trietz ligamanının solunda retroperitoneal olarak ilerler, pankreas gövdesi arkasında devam eder ve splenik vene katılır. Süperior mezenterik ven çekumu, çıkan kolonu ve transvers kolonu drene ederek splenik venle birleşip portal veni oluşturur.

#### **2.1.5. Kolonun lenfatik drenajı**

Kolon submukoza ve musküler tabakada yerleşmiş lenfatik kanallarla çevrilidir.

Mukozada lenfatik drenaj yoktur. Lenfatik damarlar kolonun arteriyel dolaşımını takip ederler. Lenf nodları barsak duvarında (epikolik), barsak kenarının iç yüzeyi boyunca (parakolik), mezenterik arterler boyunca (intermediate) ve SMA, İMA çıkışları civarında (ana lenf nodları) yer alırlar.

### **2.1.6. Kolonun sinirleri**

Sempatik sinirler T11-L3' ten kaynaklanan sempatik ganglionlardan sağlanır. Sempatik sinirler peristaltizmi ve sekresyonları azaltır. İlioçekal kapak ve anal sfinkter tonusunu arttırarak defekasyonu geciktirir.

Parasempatik sinirler ise sağ kolon ve transvers kolonun ilk yarısı nervus vagustan splenik fleksura ve inen kolon için ise S1-S3 pleksusundan köken alır. Parasempatik sinirler sekresyonları ve peristaltizmi arttırır. Sakral parasempatiklerin dağılımı hipogastrik pleksusdan geçerek splenik fleksuraya kadar ulaşır.

## **2.2. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları**

### **2.2.1.Tanım**

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, genetik olarak duyarlı kişilerde, çeşitli antijenlere ya da çevresel faktörlere karşı abartılı bir immün yanıt ile meydana gelen, nedeni tam olarak bilinmeyen, kronik seyirli, iyilik ve aktivasyon dönemleri olan ülseratif kolit ve Crohn hastalığını içeren, gastrointestinal yolun kronik inflamatuvar hastalıklarıdır. Klinik, endoskopik ve histolojik özellikleri ile tanı alırlar ancak her iki hastalık içinde kesin diagnostik bir bulgu yoktur. Buna ek olarak, bazı vakalar, her iki hastalığın arasında bir klinik tablo çizerler ki buna indetermine kolit denir.

Ülseratif kolitte, mukoza ve submukozaya sınırlı olan inflamatuvar cevap, Crohn hastalığında mukozadan serozaya uzanacak şekilde tüm bağırsak duvarını kapsar. Ülseratif kolit, kolona sınırlı ve dolayısı ile kolektomi bu hastalık için küratif iken Crohn hastalığı, ince bağırsakların distal bölümü ve kolon sıklıkla olmak üzere gastrointestinal traktın herhangi bir bölümünü tutabilir ve rezeksiyon küratif değildir; inflamasyon tekrarlama eğilimindedir (9).

### **2.2.2. Epidemiyoloji**

Ülseratif kolit ve Crohn hastalığının insidans ve prevalansı coğrafi bölgelere göre büyük farklılıklar gösterdiği gibi, etnik grup ve ırka göre de varyasyonlar gösterir. UK ve CH'nin insidansı 5-15/100 000'dir. CH prevalansı 9-199/100 000, UK prevalansı ise 21-268/100 000'dir (10).

Her iki hastalık da Kuzey Amerika ve Kuzey Afrika'da sık, Güney Amerika ve Avrupa, Asya, Afrika ve Latin Amerika'da daha nadir görülür (11).

İBH her ırkta görülürse de, Yahudilerde insidans diğer ırklara göre çok yüksektir. İsrail'de Asya ve Afrika kökenli Yahudilerde bu insidans, Avrupa ve Amerika kökenli Yahudilere kıyasla çok daha düşüktür (12).

İBH her yaşta görülse de pik insidansı 2. ve 3. dekada yapar. İnsidansda ufak bir artış ise 6. ve 8. dekadlar arasında görülür. Kadın:erkek oranı CH'da 1,2:1, ÜK'de ise 1:1'dir. İBH insidansı kentsel alanlarda, kırsal alanlara göre daha fazladır. Sosyoekonomik koşulların iyi olduğu toplumlarda insidansda hafif bir artış mevcuttur (13,14).

### **2.2.3. Etiyoloji ve patogenez**

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları, genetik olarak duyarlı kişilerde tetikleyici faktörlerle gelişen inflamasyonun bağırsak duvarında meydana getirdiği hasar sonucu gelişir (13).

#### İnflamasyon hazırlayıcıları:

a. Genetik yatkınlık: İBH'da genetik temeli olduğunu gösteren birçok kanıt vardır.

İBH olan hastaların 1. derece akrabaları arasında İBH insidansı, genel popülasyona göre 14-15 kat daha fazladır.

Ashkenazi Yahudilerinde, aynı coğrafi bölgeden olup Yahudi olmayanlara göre İBH gelişim riski 2-4 kat daha fazladır.

Monozigot ikizlerde CH %67 oranında uyum göstermekteyken, ÜK'de bu oran %13-20 arasındadır (13).

Birçok genin İBH ile ilişkili olduğu saptanmıştır. HLA-DR1 -DQB 1 ve DRB3\*0301 allelinin Crohn hastalığında, HLA-DR2'nin ise Ülseratif kolitte ekspresyonu artmıştır. NOD2/CARD15 (nucleotide-binding oligomerization domain 2-caspase-recruitment domain 15) geninin ise CH ile ilgili olduğu

gösterilmiştir (15).

b. Çevresel Faktörler: İBH olan hastalarda en dikkat edilmesi gereken çevresel faktörlerin başında sigara kullanımı gelmektedir. UK sigara içmeyen ve sigarayı bırakmış insanlarda, sigara içenlere göre 2-6 kat daha fazla sıklıkta gözlenmektedir (16).

CH ise sigara içme oranı daha fazla olup, sigara içenlerde daha fazla cerrahi gereksinim ve daha fazla relaps riski mevcuttur (13).

Besin allerjisi, özellikle süt allerjisi UK için potansiyel etyoloji olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Sütsüz diyetle remisyona girmiş hastaların, süt verildiğinde nüksettiği gözlenmiştir (17).

Apendektominin, UK için koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur Oral kontraseptif kullanımının hem UK hem de CH gelişim riskini arttırdığı düşünülmektedir (18).

Rafine şeker ve non steroid anti-inflamatuvar ilaç kullanımı da CH için risk faktörleri arasında sayılmaktadır (13,14).

c. İnfeksiyöz ajanlar: Bu konuda pek çok çalışma bulunmaktadır, ama hiçbir bakteriyel, viral, fungal ajan suçlanamamaktadır. Paramyxovirus (kızamık virüsü) granülomatöz vaskülit ve barsakta mikroinfarkt yapması nedeniyle CH sıklığını arttırdığını gösteren çalışmalar vardır. Erken kızamık aşılması ile CH sıklığının artması arasında ilişki bulunmuştur (19).

CH oluşumu ile ilgili en çok üzerinde durulan ajan Mycobacterium paratuberculosis'dir. Sonrasında da M. paratuberculosis ile ilgili birçok çalışma yapılmış olsa da bu hipotezi destekleyecek veya reddettirecek bir sonuca varılamamıştır (13).

### İnflamasyon tetikleyicileri:

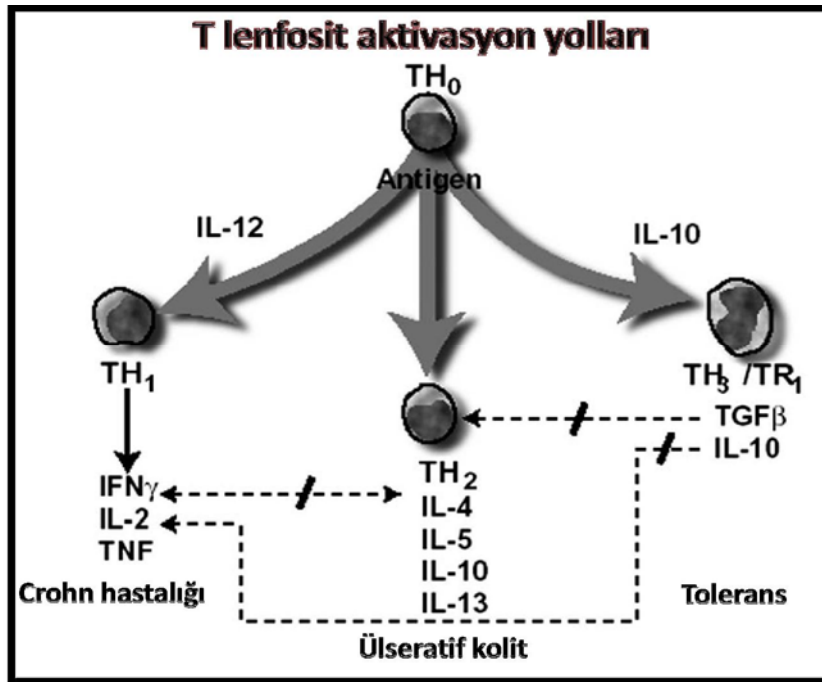
Genetik ve çevresel faktörlerle duyarlı hale gelmiş kişide inflamasyonu başlatacak tetikleyici olaylar; patojen olmayan kommensal lüminal flora ve onların ürünleri, diyet antijenleri ve intestinal epitelyum hücreleri olduğu düşünülmektedir (13).

### İnflamasyon:

Sağlıklı barsak mukozasında, besin maddeleri ve mikrobiyal ajanların uyarısıyla sürekli bir 'zayıf fizyolojik inflamasyon' meydana gelmektedir. Bu inflamasyon TH3 hücrelerinden salınan TGF- $\beta$  ve IL-10 ile bastırılarak belli bir düzeyde tutulmakta ve sonuçta bağırsakların zarar görmesi engellenmektedir. Buna 'immün tolerans' denmektedir. IBH olan hastalarda bu inflamatuvar cevap abartılı olmaktadır.

İnflamasyon, tetikleyici ajanın bağırsak duvarına nüfuz edip burada antijen sunan hücreler aracılığı ile T lenfositlere sunulması ile başlar. Makrofaj ve T lenfositler aktive olur. T lenfositler ürettikleri sitokinlere göre üç ana gruba ayrılır; TH1, TH2 ve TH3.

TH1 tipi hücreler, IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  salgılar. Bu tip sitokinler CH'da daha çok salgılanarak inflamasyonu artırır. TH2 tipi hücreler, IL-4, 5, 6, 10 gibi sitokinleri salgılar ve bu tip sitokinler UK'de belirgin olarak ön plandadır. Ülseratif kolit ve Crohn hastalığının her ikisinde de hem TH1 hem de TH2 tipi sitokinler değişik oranlarda bulunmaktadır. TH2 tipi sitokinler B lenfositleri uyararak IgG salgılamasına yol açarlar. CH'da IgG1 ve IgG2, UK'de ise IgG3 daha fazla salgılanmaktadır (13) (Şekil 2.1)



Şekil 2.1. T lenfosit aktivasyon yolları

Hastalığın fizyopatolojisinde nonimmün etkenlerin de rolü olduğu düşünülmektedir. Fibroblastlar IL-11 ve diğer proinflamatuvar sitokinleri salgırlar. Sitokinler, nöroenterik sistem ve mast hücreleri uyararak histamin salınımına neden olur. Granüosit ve mononükleer hücreler de bölgeye toplanarak olaya katılır ve mukozaya nüfuz ederler. Tüm bu hücrelerden prostaglandinler, lökotrienler, reaktif oksijen metabolitleri ve nitrik oksit salınımıyla bağırsak epitel hücreleri hasara uğrar (13,14).

IBH'da hem mukozal inflamasyon süreçlerinde aşırıya kaçma hem de bu inflamasyonu durdurmaya yönelik mekanizmalarda defekt mevcuttur (13).

#### **2.2.4. Crohn Hastalığı**

Crohn hastalığı, sindirim kanalında ağızdan anüse kadar herhangi bir lokalizasyonu tutan kronik inflamatuvar bir hastalıktır.

CH en sık terminal ileum ve sağ kolonu tutar. Vakaların %50'sinde ince bağırsak ve kolon tutulumu beraber, yaklaşık %30'unda sadece ince bağırsak tutulumu, %20'sinde ise sadece kolon tutulumu mevcuttur. Hasta segmentler arasında sağlam alanlar bulunabilir (skip areas). Anal kanalda derin fissürler, anal ve perianal fistüllere sık rastlanır ve bu Crohn hastalığını Ülseratif kolitten ayıran önemli özelliktir (20).

Patoloji: CH'daki intestinal inflamasyon tüm katları tutar ve segmenterdir. Lenfosit, plazma hücreleri, histiosit, polimorf nüveli lökositler ve eozinofiller tüm bağırsak katlarını infiltre etmişlerdir (mukoza, submukoza, muskuler, seroza) ve mezenterik lenf bezleri de tutulmuştur. En erken gelişen karakteristik lezyon aftöz ülserlerdir. Lenfoid agregatların üzerinde gelişen bu ülserler, lineer şekilde uzanırlar ve aralarında sağlam mukozayı sınırladıklarından klasik kaldırım taşı (cobblestone) görünümünü oluştururlar. Ülserler derinlemesine ilerleyerek bağırsak duvarının tüm katlarını aşabilir ve bağırsak ile mezenter ve komşu organlar arasında fistül gelişmesine neden olabilirler (13).

Granülomlar genellikle submukozada rastlanan, sınırları belirli, kazeifikasyon

nekrozu olmayan, multinukleuslu dev hücreleri içeren oluşumlardır ve granülomlar CH için karakteristik bulgudur. Prevalansı endoskopik serilerde %15 (21) cerrahi serilerde %70 civarındadır (22).

Granülomlara mesenterik lenf nodları, cilt, göz, karaciğerde de rastlanabilir ama oldukça nadirdir.

CH'da inflamatuvar değişiklikler transmural olup, bağırsak duvarının kalınlaşmasına ve lümenin daralmasına neden olur. Zamanla fibrozis gelişir ve striktürlere neden olur. Diğer karakteristik bir bulgu ise mezenterin kaba, yağlı görünümde olup bağırsağın serozal yüzeyine doğru uzanmasıdır (fat wrapping).

Klinik bulgular: CH belirti ve bulguları hastalığın şiddet, yaygınlık derecesi ve tutulan organa göre değişir. İleum tutulumu olan hastalarda yaygın kolik tarzda ya da sağ alt kadranda karın ağrısı olur. Ağrı defekasyon sonrası geçer. Sağ alt kadranda ele gelen kitle olabilir. Yumuşak ve sık dışkılama ve kilo kaybı da görülebilir. Kolon tutulumu, genelde sağ kolon tutulumu şeklindedir. Kolon tutulumu olan hastalarda da diyare ve karın ağrısı görülür. Rektum tutulumu nadir olduğundan tenezm nadir bir semptomdur (13).

Perianal bulgular; cilt lezyonları, anal kanal lezyonları ve perianal fistüller şeklinde sınıflanabilir. Cilt lezyonları maserasyon, yüzeysel ülser ve abseleri kapsar. Anal kanal lezyonları da fissür, ülser ve stenozdur. Perianal fistülere sekonder derin yerleşimli abseler de gelişebilir (23).

Kilo kaybı, halsizlik, iştahsızlık, ateş gibi konstitüsyonel semptomlar da görülebilir. CH'na bağlı ateş genellikle hafif düzeydedir, eğer yüksek veya persistan olursa altta yatan infeksiyöz bir neden veya abse formasyonu araştırılmalıdır (13). Uzun süreli CH olan hastalarda demir, folik asit, vitamin B12, kalsiyum, magnezyum, çinko ve yağda eriyen vitaminlerin eksikliklerine bağlı malnütrisyon belirtileri sıkça görülür (24).

CH klinik tipleri: CH klinik tipleri fistülizan ve obstrüktif-stenozan olmak üzere ikiye ayrılır. Üçüncü grup olarak da CH seyri boyunca her iki klinik tipin de gelişmediği hastalar kabul edilir. Her iki klinik tip aynı hastada da görülebilir (16).

a. Fistülizan CH: Fistül CH'nın sık görülen bir bulgusudur. İmmün aktivasyon



sonucu doku yıkımı, sinüs kanalı oluşumu ve sonuç olarak komşu dokuya penetrasyon gelişir. En sık perianal fistüller oluşur ve hastaların %15-35'inde rastlanır. İki GİS segmenti arasında gelişen fistüllere de sıkça rastlanır. Bunlar enteroenterik, enterokolonik ve kolokolonik fistüllerdir. Ayrıca rektovajinal, enterovezikal ve kolovezikal fistüller de oluşabilir. İleumdan retroperitoneuma açılan fistül psoas kasını tutarak psoas absesine sebep olabilir ve böylece karın ağrısı kalça, uyluk ve diz yoluyla sağ bacakta aşağıya doğru yayılabilir. Enterokutane fistüller ise daha çok önceki ameliyat skarlarında gelişirler (13).

CH'nın 1/4'ünde hayatlarının herhangi bir zamanında intraabdominal abse gelişmiştir. İnflamasyon çevre doku ve organlara yayılıp orada kapalı kalırsa abse gelişir. Belirtiler dalgalı ateş, karın ağrısı ve batında ele gelen kitle şeklindedir. Perforasyon riski yüksektir ve eğer gelişirse oluşan peritonit hayatı tehdit edicidir (13).

Obstrüktif-Stenozan CH: Hastalığın erken evresinde aktif inflamasyon nedeniyle oluşan ödem ve spazm obstrüksiyona yol açar. Bu da radyolojik olarak ip belirtisine neden olur. Uzun süreli inflamasyon sonucu bağırsağın herhangi bir segmentinde fibrozise bağlı darlık da oluşabilir. Bu tip hastalarda postprandiyal ağrı, şişkinlik, kusma görülür. Fibrostenoza bağlı darlıklar tam obstrüksiyona kadar gidebilir (13).

Tanı: Tanı, klinik gidişin değerlendirilmesi ve radyolojik, endoskopik ve çoğu vakada patolojik bulgularla doğrulanması ile konur. Anamnez ve özgeçmiş bilgilerinin alınması, fizik muayenede karında kitle, sertlik saptanması, perianal fistül ve abse gibi bulguların saptanması tanıda önemlidir (13).

Laboratuar bulguları normal olabilse de, anemi ve hipoalbuminemi saptanabilir. Anemi demir eksikliği, folik asid eksikliği, ve B12 vitamin eksikliği nedeniyle olabilir (25). Lökosit sayısı normal veya artmış olabilir. Dışkı incelemesi, kültür ve parazit incelemesi yararlıdır. Anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) antikorları yüksek oranda pozitifdir.

Radyolojik inceleme, CH tanısında önemlidir. Baryumlu ince bağırsak incelemesi, hastalığın anatomik yerleşimini ve aktif inflamasyonun bulgularını gösterir. Asıl yararı fistül, sinüs traktı ve striktür gibi geç transmural

komplasyonları göstermesidir (13). Erken lezyonlardan aftöz ülserler, kalınlaşmış mukozal villüsler de görülebilir. Klasik ‘ip belirtisi’ baryumlu incelemede görülen CH özgü lezyonlardandır. Geç lezyonlardan da kaldırım taşı görünümü saptanabilir (26).

Bilgisayarlı tomografi, lümen dışı bulgularda önem kazanır. İntraabdominal ve retroperitoneal abse gibi süpüratif lezyonların görüntülenmesinde yararlıdır (27).

Endoskopi, mukozayı direkt gösterir ve biyopsi alınma olasılığı vardır. Aftöz ülserler, mukoza ödemi, kaldırım taşı görünümü ve bağırsak lümeninde darlıklar görülebilir. Kolonoskopide segmental tutulum CH için önemli bulgudur. Aynı zamanda terminal ileumdan alınan biyopsi tanının sensitivite ve spesifitesini artırır (28).

Sonuç olarak, tanıda endoskopi ve patolojik bulgular önemlidir ve CH tarafından tutulmuş ve tutulmamış segmentlerden alınan biyopsiler ile tanının doğruluğu artırılır (13).

Aktivite: CH olan hastalarda tedavi yeterliliğinin belirti ve bulgularla takibi skorlama sistemleri ile yapılır. En sık kullanılanlar Harvey Bradshaw İndeksi (29) ve Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi’dir (30).

Eritrosit sedimentasyon hızı ve C-reaktif protein gibi akut faz reaktanları da hastalık aktivitesinin biyolojik göstergeleridir ama sensitivite ve spesifiteleri düşüktür (13). Diğer yaklaşımlar endoskopik bulgulara göre (31), perianal hastalığa göre (32) aktivite belirlenmesidir.

### **2.2.5. Ülseratif kolit**

Ülseratif kolit, primer olarak kolon mukozası ve submukozasını tutar. İnflamasyon rektumdan itibaren proksimale doğru uzanır ve arada sağlam kısım bırakmaksızın devamlı bir seyir gösterir (14).

Patoloji: Ülseratif kolitte, sadece rektum tutulursa ülseratif proktit veya hemorajik proktit diye de isimlendirilir. Sadece rektum ve sigmoid kolon tutulursa distal tutulumlu ülseratif kolit denir. Splenik fleksuraya kadar olan bölge (rektum+sigmoid+inen kolon) tutulursa sol kolon tutulumlu, transvers kolon da tutulursa (rektum+sigmoid+inen+transvers) yaygın tutulumlu ülseratif kolit denir. Tüm kolon tutulursa pankolit denir. Pankolitli hastaların pek az bir kısmında ileoçekal valvde meydana gelen deformasyon sonucu kolon içeriği terminal ileuma reflü olarak “backwash ileit” denen inflamasyona neden olabilir. Hastalarının %45’inde rektosigmoid tutulumu, %35’inde sigmoid kolonu aşan ama tüm kolonu kapsamayan tutulum, %20’sinde ise tüm kolon (pankolit) tutulumu mevcuttur.

Makroskopik olarak, hafif hastalıkta mukoza hiperemik, ödemli ve granülerdir. Hastalık ilerledikçe mukoza hemorajik hale gelir ve ülserler oluşur. Uzun süre devam eden ve ağır seyreden olgularda, kolonda psödopolipler gelişir. İnflamatuar polip adı verilen bu polipler rejenere olmuş hücrelerden oluşur. Uzun süren hastalıkta oluşan bir diğer lezyon da atrofik, soluk, düzleşmiş mukoza görünümüdür. Seyrek olarak ağır ve kronik olgularda kolonun çapı ve uzunluğu, mükülaris mukoza ve mükülaris proprianın kontraksiyonu sonucu küçülebilir.

Mikroskopik olarak, erken evrede lamina propriada ödem, kapiller ve venüllerde konjesyon mevcuttur. Sonrasında nötrofil, lenfosit, plazma hücreleri ve makrofajlar gibi inflammatuar hücreler infiltre eder. Nötrofiller kriptleri invaze ederek kriptit ve kript lümeninde toplanarak kript absesi oluştururlar. Bu inflammatuar değişiklikler sadece mukoza ve submukozayı kapsar. İnflamasyonun artmasıyla epitel dejenerasyonu sonucu lamina propriaya uzanan ülserler gelişir.

ÜK’in klasik histolojik bulgusu kript distorsiyonu, dallanması ve kriptlerde goblet hücre kaybıdır. Paneth hücre metaplazisi de diğer klasik histopatolojik bulgudur. Hastanın histolojik aktivitesinin düzeyi klinik aktivitesi ile korele değildir (14).

Klinik: Sık görülen belirtiler diyare, rektal kanama, mukuslu feçes, tenezm ve karın ağrısıdır. Ciddi vakalarda ateş ve kilo kaybı belirgindir. Belirtiler

hastalığın şiddeti ve yaygınlık derecesi ile orantılıdır (33).

Rektal kanama, proktit varlığında taze kırmızı kan şeklindedir ve dışkının sadece yüzeyindedir. Lezyon daha proksimale doğru gittikçe dışkı kan ve mukusa bulaşık şekilde olabilir (14).

Diyare, sık rastlanan bir belirtidir. Özellikle rektumun ciddi inflamasyonu durumunda dışkı kaçıracaktıymış hissi ile ani dışkılama ihtiyacı, hatta inkontinans bile olabilir. Diyare mukus, kan ve iltihap karışıktır. Proktiti olan hastaların %30'unda konstipasyon da olabilir (34).

Karın ağrısı, birçok hastada rastlanan bir belirtidir. Genellikle kramp tarzındadır. Diğer belirtiler ise; ateş, bulantı, kusma gibi sistemik belirtilerdir.

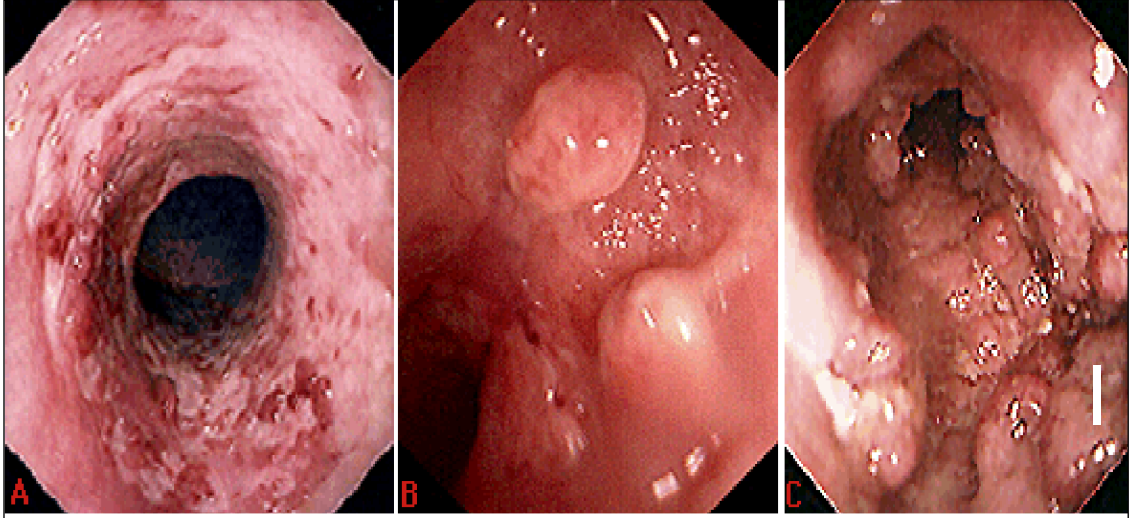
Fizik muayenede, herhangi bir anormallik saptanmayabilir veya karın muayenesinde hafif hassasiyet olabilir. Çomak parmak, ödem ve barsak dışı tutulum belirtileri olabilir. Ciddi ataklarda taşikardi, ateş, kilo kaybı görülebilir. Fulminan kolit geliştiğinde, barsak seslerinin kaybı ile beraber batında distansiyon ve periton inflamasyon belirtileri ortaya çıkar (34).

Tanı: Klinik belirtiler, endoskopik görünüm ve histolojik bulguların toplamı ile konur.

Laboratuvar bulguları, tanıya yönlendirmede ve aktivite değerlendirilmesinde anlamlıdır. Dışkının direkt mikroskopik analizinde eritrosit ve lökositler saptanır. Hematolojik değişiklikler; anemi, lökositoz ve trombositoz şeklindedir. Anemi, kronik kan kaybına bağlı demir eksikliği, kronik hastalık anemisi veya ilaçlara bağlı kemik iliği süpresyonu nedeniyle olabilir. Ataklar sırasında hipokalemi, metabolik alkaloz ve kreatinin artışı saptanabilir. Hipoalbuminemi hem aktif hastalık, hem de remisyonda saptanabilir. Ciddi hastalık durumlarında aspartat aminotransferaz ve alkalın fosfataz sıklıkla yükselebilir, remisyona girince normale döner. Serum inflamatuvar göstergelerinden eritrosit sedimentasyon oranı ve C-reaktif protein de aktif hastalık durumunda yükselir ama sensitivite ve spesifitesi düşüktür. pANCA (Perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikor), %50-85'inde pozitifdir.

Endoskopi; tanı, ayırıcı tanı, tutulum yeri saptanması açısından önemlidir. Sigmoidoskopi ile birlikte yapılan biyopsi genellikle tanıyı doğrulamada yeterlidir. Aktif hastalıkta perforasyon riski nedeniyle kolonoskopinin dikkatli yapılması önerilmektedir. Kolonoskopik incelemede ilk bulgu mukozanın normal vasküler paterninin kaybı, ödemli ve eritemli görünümünün ortaya çıkmasıdır. Bunu granülaritenin gelişmesi izler. Endoskopun teması ile mukoza kolayca kanar (friabilite). Daha ciddi hastalıkta yüzeysel küçük ülserasyonlar belirir. Lümende spontan kan ve eksüdasyon bulunur, haustral yapı silinir. Uzun süreli ÜK hastalarında psödopolipler belirir. İnflamatuvar polip de denen bu polipler remisyon döneminde de vardır ve tedavi ile gerilemez. Malignite potansiyeli yoktur. Polipler küçük, yumuşak ve silindirik şekillidir. Bütün bu endoskopik anormallikler rektumdan başlar ve prosimale doğru arada sağlam bölge bırakmadan devam eder (14).

Radyolojik incelemelerden düz karın grafisi, hastalığın iki önemli komplikasyonu olan toksik megakolon ve perforasyon tanısında yardımcı olur. Toksik megakolonda kolon çapı 6 cm'den fazla ölçülür, ayakta çekilen grafide diyafragma altında serbest hava bulunması perforasyonu gösterir (35). Çift kontrastlı baryum lavmanı ile mukozal değişiklikler gösterilebilir ama endoskopun kullanıma girmesi ile daha az gereksinim duyulmaktadır. Kolonda striktür geliştiğinde endoskopun geçişine izin vermez ve baryum enema striktürün yeri, uzunluğu, çapı ve kolonun tamamı hakkında bilgi verir. Baryumlu incelemede erken dönemde; ödem, artmış sekresyon, granülarite sonucu kolon cidarının tam olarak belirginleşmemesi gözlenir. Cidarın düzensiz olması yüzeysel erozyonlar, küçük ülserasyonlar ve psödopoliplere bağlıdır, psödopolipler sayısız lümen içi dolmuş defektleri şeklinde gözlenirler. Tekrarlayan inflamasyonlar sonucu gelişen fibroz, longitudinal retraksiyon, haustra kaybına ve kurşun boru görünümüne neden olur. Bazen fibroza bağlı konsantrik darlıklar gözlenebilir. Darlıklar uzun süren hastalığın komplikasyonu olan kanser gelişiminde de gözlenir ama bu darlıklar ekzantriktir (36) (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. UK'in endoskopik görünümü. Mukozada yaygın ülserasyon UK'in en sık endoskopik bulgusudur. Mukoza düzensiz ve eritamatoz ve normal vasküler işaretlerin kaybı mevcut (Panel A). Psödopolipler rejeneratif inflamatuvar nodüllerdir (Panel B). Psödopolipler bazı yaygın olabilir (Panel C).

Aktivite: Aktivite belirlenmesi prognoz ve tedavi belirlenmesinde önem taşır. En sık kullanılan Truelove-Witt aktivite indeksidir (37).

Ayrıca Ülseratif Kolit Hastalığı Aktivite İndeksi de mevcuttur. Bu indeks dışkı sıklığı, rektal kanama, sigmoidoskopik bulgular ve doktorun genel muayene bulguları skorlanarak toplamına göre hesaplanır (38). Endoskopik ve histolojik skalalar da mevcuttur (39,40).

### Komplikasyonlar:

a. Toksik megakolon: UK'in en sık rastlanan ve en ciddi komplikasyonudur. Şiddetli ve yaygın hastalığı olan olgularda gelişir. Klinik tablo hızla bozular. Radyolojik olarak kolon dilatasyonu (>6 cm) ve distansiyonuna ek olarak, ateş, taşikardi, lökositoz ve anemi vardır. Antikolinergikler, narkotik analjezikler, potasyum kaybına bağlı olabilir. Şiddetli kolit olan hastada kolonoskopi megakolon ve perforasyona yol açabilir, bu nedenle kontrendikedir. Olguların %50'si tıbbi tedavi ile düzelebilir, diğerlerinde acil kolektomi gerekir, perforasyon gelişebilir (41).

b. Perforasyon: Genellikle toksik megakolonlu hastalarda gelişir, daha çok ilk UK atağında ve sol kolonda görülür. Kortikosteroid kullanan hastalarda peritonitin fizik muayene bulguları maskelenebilir. Perforasyon mortalitesi % 50'dir (42).

c. Darlık: UK'de yaklaşık %5 olup nadir görülür (43).

d. Masif kanama: Nadir gözlenir, durdurulamazsa acil kolektomi gerekir (44).

e. Kolorektal kanser: UK'li hastalarda kolorektal kanser gelişme riski artmıştır. En önemli risk faktörü, hastalığın süresi ve boyutudur. Diğer risk faktörleri; primer sklerozan kolanjit, kolon kanseri aile hikayesi varlığı, UK hastalığı tan yaşı, inflamasyon şiddeti ve muhtemelen "backwash ileit" varlığıdır (45).

Hastalık başlangıcından beri 20 yıl geçmiş olguların %7-10'unda, 35 yıl geçmiş olan olguların ise %30'unda kolon kanseri geliştiği görülmüştür. Kolorektal kanser gelişme riski 8- 10 yıldan sonra her yıl için %0.5-1 artar. Displazi öncü lezyondur. Multifokal olabilir. 8-10 yıllık UK olan hastalarda yıllık veya iki yılda bir kolonoskopi ile multipl biyopsi alınarak takip yapılır. İzleme adı verilen bu işlem özellikle hastalığın remisyon devresinde yapılmalıdır, çünkü aktif hastalıkta da displaziye benzer epitel değişiklikleri bulunabilir. İleri düzey (high grade) displazi saptandığında kolektomi kararı verilir (46) (Tablo 2.1)

	Crohn hastalığı	Ülseratif kolit
<b>Klinik</b>		
Sigara kullanımı	++	+/-
Rektal kanama	++	+++
Karında kitle	++	+
Karın ağrısı	+++	+
Perianal abse	+++	-
<b>Endoskonik</b>		
Rektal hastalık	+	+++
Difüz, süregen tutulum	+	+++
Aftöz ve lineer ülserler	+++	-
Kaldırım taşı görünümü	++	-
Friabilite	++	+++
<b>Radyolojik</b>		
Süregen hastalık	+	+++
İleum tutulumu	++	-
Darlık	++	+
Fistül	++	+
<b>Patolojik</b>		
Kesinti	++	-
Transmural tutulum	+++	-/+
Lenfoid agregat	+++	-
Kript abseleri	+++	+++
Granülom	++	-
Sinüs trakt/fistül	+++	-

Tablo 2.1. Crohn hastalığı ve Ülseratif kolit ayrımı (14)



Ekstraintestinal tutulumlar: Ekstraintestinal komplikasyonlar hem UK hem de CH'da görülmektedir. Her iki hastalık karşılaştırıldığında CH'da daha sık görülmektedir. Crohn hastalığı olan hastaların dörtte birinde bu komplikasyonların birden fazlası görülmektedir (47).

a. Kas-iskelet sistemi: Periferik artrit: İki tipi mevcuttur. Tip 1 ; asimetric, tutulan eklem sayısı beşten az, sıklıkla diz, dirsek ve ayak bileği eklemleri tutulduğu formdur. İBH'nın alevlenmesi ile eklem belirtileri ortaya çıkar. Tip 1 formu; UK'de %3.6 , CH'da ise %6.0 sıklıkta görülür. Tip 2 formunda; simetric, poliartiküler (beş ve üzeri sayıda eklem tutulumu), sıklıkla metakarpofalangeal, proksimal interfalangeal eklemler gibi küçük eklem tutulumu vardır. Tip 2 formu; UK'de %2.5, CH'da %4.0 oranında görülür (48). İBH aktivasyonundan bağımsız ortaya çıkar. Her iki form da deformite bırakmaz ve seronegatifdir. İBH tedavisine yanıt verir (49).

Ankilozan spondilit; İBH olan hastaların %3-6'sında gözlenir. CH'da daha sık gözlenir. Ankilozan spondiliti olan inflamatuvar bağırsak hastalarının 2/3'ünde HLAB27 pozitifdir (50). Ankilozan spondilit gelişimi İBH aktivitesi ile ilişkili değildir, ilerleyicidir ve iskelet deformitesine yol açar. Sakroileit İBH'da daha sık (%10-15) oranda görülür (51).

Metabolik kemik hastalığı; osteoporoz ve osteopeni CH'da %30-40 oranında görülür. CH'da ince bağırsak tutulumuyla kalsiyum ve D vitamini emiliminin azalması, sigara ve muhtemelen proinflamatuvar sitokinlerin etkisi yanında ana risk faktörü glukokortikoid kullanımındır (52).

b. Deri: Pyoderma gangrenozum; papül, püstül veya nodül olarak başlar. Nekrotizan ülseratif lezyon halini alır. Bir veya birden fazla olabilirler. Çapları 30cm'ye kadar büyüyebilir. UK'de daha sık gözlenirler. Hastalığın aktivitesi ile ilişkili olmayıp, yıllar önce gelişebilirler. Tedavisi bazen çok güç olabilir. Skar bırakarak iyileşirler, kolektomiden sonra da devam edebilirler (53).

Eritema nodozum; daha çok bacağın ön yüzünde gözlenen, ağrılı, sıcak, çapları 1-5 cm arasında değişen nodüllerdir. Hastalığın aktivitesi ile ilişkilidir. Skar bırakmadan iyileşirler (54).

Diğer deri tutulumları; CH deri metastazı (55) lökositoklastik vaskülit (56) ve Sweet sendromu'dur (57).

c. Göz: İBH'da göz tutulumu yaklaşık %5'dir. Episklerit, sklerit, üveit şeklinde olabilir. Tedavide lokal kortikosteroid kullanılır. Üveit, hasta remisyonda iken veya kolon rezeksiyonundan sonra da görülebilir, sistemik kortikosteroid gerekebilir (58).

d. Hepatobiliyer: Kolelitiyazis: CH'da %25 oranında görülür. Normal populasyona göre CH'da kolelitiyazis gelişme riski 1.8 oranında artmıştır. CH'de özellikle safra tuzu emiliminin etkilendiği terminal ileum tutulumlarında veya rezeksiyonunda gelişir (59).

Primer sklerozan kolanjit: (%3-5): Ekstrahepatik ve intrahepatik safra yollarının inflamasyonu ve fibrozudur. Tanı ALP, GGT, bilirubin yüksekliğinin yanında endoskopik retrograd kolanji pankreatografi ile konur. Biliyer siroza neden olabilir, kolanjiokarsinom gelişebilir. CH'de daha az sıklıkla, özellikle kolon tutulumlarında görülmektedir (60).

Perikolanjit: Küçük safra kanallarının inflamasyonudur. Görülme oranı %30 civarındadır. Hastalar genellikle asemptomatiktir, ALP %30'unda yüksek olabilir, bilirubin değerleri nadiren yükselir (61).

Diğer hepatobiliyer komplikasyonlar yağlı karaciğer ve otoimmün hepatittir (13).

e. Renal: Nefrolitiyazis: CH'da görülür. Ürik asit ve oksalat taşları sıktır. İnce barsak tutulumunda veya rezeksiyonunda yağ malabsorbsiyonu oluşur ve lümeninde serbest yağ asitleri kalsiyumu bağlar. Yağ asitleri ile bağlanan kalsiyum, oksalat ile bağlanamaz ve oksalat emilir. Oksalat taşları oluşur (62).

Diğer nadir renal komplikasyonlar; membranöz nefropati, glomerülonefritler ve renal amiloidozdur (13).

f. Hematolojik: Tromboza eğilim; İBH'lı hastalarda genellikle venöz tromboemboli eğilimi vardır, nadiren arteriyel de görülebilir. Derin ven trombozu, pulmoner emboli, serebrovasküler atak gibi şekillerde karşımıza çıkar (63).

Anemi; kronik gastrointestinal kan kaybı, kronik hastalık, folat eksikliği, vitamin B12 eksikliği veya otoimmün hemolitik anemi nedeniyle olabilir (14).

### 2.2.6. Tedavi

İBH tedavisinde başlıca ilaçlar; antiinflamatuvarlar, immunosupresifler, immunomodulatorler, antibiyotikler, nütrisyonel ve destekleyici ajanlardır.

Sulfasalazine ve meselamin: Sulfasalazin, sulfapiridine azo bağıyla bağlanmış 5-aminosalisilik asid'ten (5-ASA) ibarettir. Bu bileşikteki sulfapiridin taşıyıcı olup, esas etkili ve aktif kısmı 5-ASA'dır (64).

5-ASA'nın muhtemel etki mekanizmaları arasında 'natural killer' hücrelerinin, antikor sentezinin, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarının ve nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonu ile serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi yer alır. 5-ASA ağız yoluyla direkt verildiğinde, hemen hemen tamamı üst sindirim kanalından emilir ve kana geçer. Halbuki inflamatuvar bağırsak hastalığında 5-ASA etkisini sindirim kanalındaki inflamasyonlu bölgeye ulaşır diffüze olarak gösterir, yani topikal etkilidir. Sulfasalazin ağız yoluyla alındığında çekuma ulaşınca bakteriler azoredüktaz enzimi aracılığıyla sulfasalazin ve 5-ASA arasındaki azo bağına parçalar ve aktif bileşik 5-ASA açığa çıkar. Sulfapiridin hızla emilip karaciğerde metabolize edilir ve idrarla atılır. 5-ASA'nın %25 kadarı kolondan emilir, geri kalanı dışkı ile değişmeden atılır (65).

Sulfasalazindeki taşıyıcı inaktif molekül sulfapiridin, sulfasalazin kullananlarda rastlanan yan etkilerin büyük kısmından sorumludur. Sulfasalazin alanların %25-30'unda doza bağlı (bulantı, kusma, iştahsızlık, folat malabsorbsiyonu, baş ağrısı, saç dökülmesi) veya aşırı duyarlılığa bağlı (raş, hemolitik anemi, agranülositoz, toksik hepatit, pankreatit, fibrozan alveolit, oligo-azospermi) yan etkiler görülebilir. Hastaların %15'inde bu yan etkiler sulfasalazinin kesilmesini gerektirecek ciddiyettedir (66).

Meselamin sadece 5-ASA molekülü içerir. Ağız yolundan alınan 5-ASA

molekölü jejenumdan emildiğinden kolona ulaşamaz. Bu nedenle 5-ASA, pH'ya duyarlı membranla kaplanarak veya etilsellüloz kaplı granül ile kolona ulaşması sağlanır ve istenen etkiyi yapar. Lavman ve supozituar formu da vardır.

Olsalazin ise iki molekül meselamin'in azo bağı ile bağlanmasından oluşur (67).

Meselamin, sulfasalazin'e kıyasla daha az yan etkiye sahiptir (68).

Ülseratif kolitte hem remisyonu sağlamada, hem de remisyonun idamesinde sulfasalazin ve 5-ASA bileşikleri eşdeğer dozlarda eşdeğer etkinliğe sahiptir, ancak sulfasalazin çok daha ucuzdur. Dolayısı ile ülseratif kolitte ilk kullanılacak oral aminosalisilat bileşiği, sulfasalazindir. Genç erkeklerde ve sulfasalazin intoleransında 5-ASA verilir. Kolon tutulumlu CH'da sulfasalazin yararlıdır (69).

Kortikosteroidler: İBH'da akut tedavide yeri varken, nükse engel olmada etkileri yoktur, bu nedenle idame tedavide yeri yoktur. Ciddi yan etkileri nedeniyle uzun süre kullanımı sakıncalıdır. Orta ve şiddetli olgularda 40-60 mg/gün prednizolon veya eşdeğeri kullanılır. Cevap alındıkça yavaş yavaş doz azaltılmalıdır (70).

Sol kolon tutulumu olan aktif ÜK'de likit formda topikal glukokortikoidler etkilidir. Bu amaçla hidrokortizon lavmanı, kortizon asetat köpük ve supozituarı kullanılır (71).

İmmunosupresif ilaçlar: Azothiopürin ve 6-merkaptopürin gibi immünsüpresif ilaçlar İBH tedavisinde etkilidir. Kortikosteroide bağımlı veya kortikorezistan olgularda kullanılmalıdır. Azatioprin ve 6-merkaptopürinin etkisinin başlaması için birkaç ayın (ortalama 3 ay) geçmesi gerekir. Azatioprin ve 6-Merkaptopürinin primer endikasyonları yılda iki veya daha fazla nüks olması, steroid bağımlılığı, kronik aktif hastalık, ve fistüllü Crohn hastalığıdır. Sağlanan remisyonun idamesi, postoperatif Crohn hastalığı nüksünün engellenmesi için de azatioprin ve 6-merkaptopürin kullanılmaktadır. Azothiopürin 1.5 mg/kg/gün ve 6-merkaptopürin 50-100 mg/gün dozunda kullanılır (72).

Akut pankreatit, alerjik reaksiyon, lökopeni ve hepatit gibi yan etkileri vardır (13).

Siklosporin, steroide dirençli UK'de etkilidir (73). Fistüllü Crohn vakalarında da kısmen başarılı olduğunu gösteren çalışmalar vardır (74).

Ayrıca metotreksat CH tedavisinde yararlı bulunmuştur (75).

Takrolimus ve mikofenolat diğer ajanlardır. Takrolimus, fistüllü CH'da (76) ve steroide yanıtı olmayan ÜK'de etkili olduğu gösterilmiştir (77). Mikofenolat'ın CH'daki etkisi net değilken, ÜK'de steroide yanıtı olmayan hastalarda faydalıdır (78).

Antibiyotikler: Metronidazol ve siprofloksasin mevcut tedaviye tek veya kombine olarak eklendiğinde aktif Crohn hastalığının remisyona girmesini kolaylaştırır (79).

Fistüllü veya intraabdominal abseli Crohn hastalarında da başarıyla kullanılır (80).

Antibiyotiklerin ÜK tedavisinde rolü sınırlıdır. Yapılan çalışmalarda aktif hastalık tedavisinde ve remisyon devamının sağlanmasında yararı gösterilememiştir (81).

İmmunomodülatörler: Anti-tümör nekroz faktör alfa (İnfliximab) fistüllü Crohn hastalığında ve tedaviye dirençli aktif hastalık durumunda hastalık aktivitesinde azalmaya yol açtığı klinik deneylerle kanıtlanmıştır. Diğer tedavi seçeneklerine yanıtı olmayan CH'da infliximab'ın yararlı olduğu gösterilmiştir (82-85).

Fistüllü CH'nda da başarılı sonuçlar alınmıştır, ancak striktürlü CH'da kullanılmaz (86).

Crohn hastalığı tedavi yaklaşımı: Kolit veya ileokolit durumunda aminosalisilatlardan biri seçilip, metronidazol ve/veya siprofloksasin ile birlikte hastaya verilir. Remisyon sağlanamadı ise steroidler eklenir. Steroid ile remisyon sağlanıyor ancak doz azaltılamıyor ise veya steroide rağmen kısmi bir aktivite devam ediyor ise uzun etkili immunosupresifler başlanır. İmmünespresif tedaviye rağmen devam eden aktivite durumunda cerrahi tedavi düşünülür.

Fistül varlığında, sessiz ise tedavisiz izlenirken, bağırsak hastalığının inflamatuvar aktivitesinin olmadığı hafif semptomatik fistüllerde immünomodülatör tedavi ve total parenteral beslenme ile tedavi denir. İnfliximab, fistüllü Crohn'da yeni ve umut vadeden bir tedavi alternatifi olarak gözükmektedir. Tedavi edilemezse cerrahi girişim gerektirir. Komplike olan

fistüllerde (aşikar inflamatuvar aktivite veya karın içi absenin eşlik ettiği) ise tıbbi-cerrahi-radyolojik kombine tedavi yaklaşımları zorunludur.

Obstrüktif-stenozan tip Crohn hastalığında aktif inflamasyon var ise, intravenöz sıvı, nazogastrik drenaj ve parenteral steroid verilir. Obstrüksiyon inflamasyona bağlı değilse endoskopik veya cerrahi yöntemlerle dar segmentin tedavisi yapılmalıdır. Dar segment kısa ve endoskopta ulaşılabilecek yerde ise endoskopik balon dilatasyon yapılmalı, aksi takdirde çok uzun olmayan dar segmentler için striktüroplasti, uzun segmentler için rezeksiyon tarzında cerrahi girişimler uygulanır.

İdame tedavi olarak aminosalisilatlar Crohn hastalığı'nda Ülseratif kolitteki kadar etkili değildir, ancak idamede kullanılırlar. Yılda iki veya daha fazla nükseden vakalarda da idame tedavisine uzun etkili immunosupresifler eklenir. Rezeksiyon cerrahisi uygulanan Crohn'lu hastalarda postoperatif nüksü önlemede kullanılacak tedavi tartışmalıdır. Genellikle 2-3 g/gün oral 5-ASA verilir. Ancak hastanın cerrahi girişimden önce ciddi inflamatuvar aktivite, fistül ve daha önce rezeksiyon cerrahisi geçirmiş olmak gibi özellikleri varsa ilk 3 ayında metronidazole birlikte olmak üzere 6-merkaptopurin (50 mg/gün) kullanılmalıdır.

Cerrahi tedavi, hastalığı tedavi etmez, komplikasyonların giderilmesi amacıyla başvurulur. Obstrüksiyon, abse, fistül ve perforasyon durumunda başvurulur. Tıbbi tedaviye yanıtız ve sürekli kortikosteroid kullanması gereken hastalarda da semptomları kontrol etmek amacıyla başvurulur (13).

Ülseratif kolit tedavi yaklaşımı: Aktif ülseratif kolitli bir hastanın tedavisini planlarken en önemli nokta, alevlenmenin sebebini belirlemektir. Alevlenme intestinal amebiyazis, C.difficile veya sitomegalovirus koliti gibi hastalığın intrensek aktivitesi dışında bir sebebe bağlı ise tedavinin o sebebe yönelik düzenlenmesi gerekir. Ülseratif proktit durumunda topikal tedavi verilir. 5-ASA supozituar veya lavman verilir. Yanıt alınamazsa lokal kortikosteroid, oral 5-ASA ve kortikosteroid kullanılması gerekir.

Hafif derecede ÜK, topikal uygulamaya ek olarak oral 5-ASA tedavisi verilir. Yanıt alınamazsa oral prednisolon başlanır ve remisyona girince doz

yavaş yavaş azaltılarak kesilir. İdame tedavi yine aminosalisilatlar ile yapılır.

Orta şiddette UK, oral kortikosteroid ve 5-ASA başlanır ve remisyon sağlanınca idame tedavi aminosalisilatlar ile yapılır.

Şiddetli UK, parenteral kortikosteroid ve parenteral beslenme, sıvı-elektrolit desteği yapılmalıdır. Rektal kortikosteroid lavmanları da ek olarak yapılmalıdır. Hasta toksik megakolon ve perforasyon yönünden takip edilmelidir. İyileşmekte olan hastalara önce oral kortikosteroide geçilir, sonrasında aminosalisilatlara geçilir. Tüm çabalara rağmen düzelmeyen hastalarda, toksik megakolon veya perforasyon gelişmiş hastalarda acil kolektomi uygulanmalıdır.

Ülseratif kolitte idame tedavisi, oral sulfasalazin veya 5-ASA ile yapılır. Aminosalisilatlarla rağmen bir yıl içinde iki veya daha fazla nüks meydana gelmiş ise uzun etkili immunosupresifler tedaviye eklenir. Ülseratif proktit formunda idame tedavisi sadece topikal 5-ASA preparatları ile de yapılabilir. Aminosalisilatlarla en az 3 yıl remisyonda kalan hastalarda idame tedavisi kesilebilir.

Cerrahi tedavi; acil olarak toksik megakolon ve perforasyon durumlarında uygulanır. Elektif olarak da tıbbi tedaviye yanıt vermeyen veya yüksek doz kortikosteroid tedavi gerektiren hastalarda uygulanır (14).

### **2.2.7. Prognoz**

Crohn hastalığı olan hastalarda yaşam kalitesi hastalık şiddeti, yaygınlık derecesi ve komplikasyonların gelişmesine bağlı olsa da genel olarak kötüdür. Perianal lezyonlar, internal ve eksternal fistüller ve striktürler yaşam kalitesini olumsuz yönde etkiler, tedaviyi zorlaştırır ve cerrahi tedaviyi zorunlu hale getirir. Kolorektal kanser gelişme riski farklı klinik çalışmalarda; normal populasyona göre artmamış risk veya çok artmış risk şeklinde farklılık gösterir. Kalın barsak tutulumlu CH'da risk ÜK'deki riskle benzerdir (87).

Ülseratif kolit'de de prognoza etkili olan en önemli iki faktör, hastalığın yaygınlığı ve tıbbi tedaviye yanıtıdır. Hastaların büyük bir bölümünde (%80) hastalık intermittan ataklarla, %15 kadarında kronik devamlı ve arta kalan küçük bir kısmında da ilk atakta fulminan seyir gösterir ve kolektomiye gerek duyulabilir (88).

Mortalite komplikasyonlara bağlıdır. Perforasyon, toksik kolon dilatasyonu ve kansere bağlıdır Cerrahi girişim ÜK'de hastalığı ortadan kaldıracı yöntemdir (14).

### 2.3. Mezenkimal Stromal Hücreler

Erişkin kemik iliği stroması mezenkimal stromal hücreleri (MSH) veya mezenkimal progenitor hücreler olarak bilinen hematopoietik hücre olmayan bir hücre grubu içerir. Bunlar kemik, kıkırdak, yağ, tendon, kas ve kemik iliği stromasını içeren farklı mezenkimal dokulara in vitro veya in-vivo olarak gelişebilen multipotent öncüllerdir ve bu onları doku mühendisliği çalışmaları için çekici bir hücre kaynağı yapar (89).

Bunlar kemik iliği hücrelerinin yaklaşık sadece %0,01 ile %0,001'ini temsil eder; fakat cam ve plastiğe yapıştıkları için hematopoietik kök hücrelerinden kolaylıkla ayrılabilirler (90).

Vücutta kemik iliği, kemik, kıkırdak, düz kas ve iskelet kası gibi dokularda bulunduğu ve deri, karaciğer, beyin hücreleri (nöronlar ve glia) gibi hücrelere dönüşebildiği gösterilmiş olan MSH vardır. Tam tersi olarak nöral kök hücrelerden kan hücrelerine de dönüşüm gösterilmiştir (91,92).

İnsanlarda ana mezenkimal kök hücre kaynağı kemik iliği stromasıdır. MSH elde etmek için crista iliaca'dan alınan kemik iliğinin en uygun olduğu düşünülmektedir (93).

Fakat yaşla birlikte kemik iliğindeki MSH sayısı önemli oranda azalır; bu nedenle, otolog ve allojen kullanım için alternatif kaynaklar gerekmektedir (94).

Umbilikal kord kanı kök ve progenitor hücreler için zengin bir kaynaktır ve insan umbilikal kord veninden kültür edilen MSH benzeri hücrelerin immunofenotipleme ve morfolojik çalışmalarının sonuçları, bu hücrelerin kemik iliği ve diğer kaynaklardan elde edilen kültüre edilmiş mezenkimal stromal hücrelerine çok benzediği fikrinin ileri sürülmesine neden olmuştur (91).

MSH kemik iliğinden izole ettikten sonra in vitro kültür koşullarında çoğaltmak mümkün hale gelmiştir. Doku mühendisliğindeki olası



kullanımlarına ve hücre bazlı tedaviye (95,96) ek olarak, mezenkimal stromal hücreler değişik retroviral ve diğer vektörlerle değiştirilebilir, sistemik ve lokal hastalıkların somatik gen terapileri için kullanılabilir. Kanser hastalarının malign hücrelerine kemoterapötik ilaçların taşınmasını sağlayan genlerle modifiye edilmiş MSH ile yapılmış başarılı çalışmalar mevcuttur. Kemik iliği kaynaklı MSH'in, de novo myokard oluşturduğu ve enfarkt alanına yapılan MSH infuzyonunun artmış global kalp fonksiyonu sağladığı bilinmektedir. Aynı hücrelerin başka uyaranlarla nöral hücre serisine dönüşmesiyle MSH'in; felç, travmatik hasarlar, Parkinson hastalığı, spinal kord yaralanmaları gibi durumlarda kullanılabileceğini gösteren deneysel çalışmalar da bulunmaktadır. Kemp ve arkadaşları yaptıkları prelinik ve klinik çalışmalar neticesinde hematolojik hastalığı olup myeloablatif terapi görmüş hastaların hematopoietik kök hücre engraftmanını arttırmada hematopoietik prekürsörlerle birlikte MSH'in de kullanılabileceğini göstermişlerdir (97,98).

MSH çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda kullanılabilir ve omurga cerrahisinde kullanımı da oldukça akla yatkın gözükmektedir. Helm ve Gazit klinik olarak intervertebral disk onarımı ve spinal artrodezlerde kök hücre kullanımının yakın gelecekte gerçekleşebileceğini öne sürmektedirler (99,100).

### 3. MATERYAL – METOD

#### 3.1 Rat grubu seçimi

Bu araştırma Şubat – Mayıs 2010 tarihleri arasında Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarında gerçekleştirildi. MSH, hastanemizde seksiyoy ile doğum yapan, aydınlatılmış onam formu alınmış bir gebenin 100 cc kordon kanı alınarak İstanbul Teknik Üniversitesi, Kök Hücre Teknolojileri ONKİM laboratuvarında üretildi. Çalışmaya dahil edilen ratlar; Wistar türü, 180-250 gr ağırlığında, doğum yapmamış, genç dişi ratlardı. Her grupta 6 rat olmak üzere toplam yedi grup oluşturuldu. Ratlarda, Dekstran sülfat sodyum (DSS) konularak Crohn hastalığı modeli oluşturuldu (5).

Grup 1) DSS verilmeyip takip edildi (sağlıklı kontrol grubu).

Grup 2) DSS verilip placebo uygulandı.

Grup 3) DSS verildi, steroid (metilprednisolon 1 mg/kg, po) uygulandı.

Grup 4) DSS verildi, 5 ASA (mesalazin 100 mg/kg, po) uygulandı.

Grup 5) DSS verildi, MSH ( $10^6$  hücre/rat, intraperitoneal) uygulandı.

Grup 6) DSS verilip steroid (metilprednisolon 1 mg/kg, po) ve MSH ( $10^6$  hücre/rat, intraperitoneal) uygulandı.

Grup 7) DSS verilip 5ASA (mesalazin 100 mg/kg, po) ve MSH ( $10^6$  hücre/rat, intraperitoneal) uygulandı.

DSS, %3 oranında hazırlanarak içme suyuna konuldu ve ratlara 14 gün süresince verildi. MSH, 14 günlük sürecin sonunda (14.günde), bir defa olacak şekilde intraperitoneal olarak,  $10^6$  hücre/rat olarak uygulandı. Steroid (1 mg/kg) ve 5 ASA (100 mg/kg dozunda), 14 günlük siklusün 8. gününden başlayarak hergün (8., 9., 10., 11., 12., 13., 14. günlerde) içme suyuna konuldu.

Dışkılama değişiklikleri ve içtikleri suyun miktarın daha doğru takip edilmesi amacı ile her kafeste tek rat olacak şekilde takip edildi.

Tüm ratlar 17. günde dekapite edildi. Gruplar; klirik olarak (kilo kaybı, diare, sağkalım, rektal kanama), histopatolojik olarak (total kolektomi sonrası kolon

mukozasında hiperemi, ülserasyon, duvar kalınlaşması) ve biyokimyasal olarak (IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) ile birbirleri ile kıyaslandı.

### **3.2 Mikroskopik skortlama ve Histoloji**

Materyaller örneklemeyi takiben %10'luk formalin ile fiske edildi. Fiksasyonu takiben lümen açılarak makroskopik skortlama yapıldı. Makroskopide tanımlanan patolojik alanlara uygun ve normal alanlardan multipl örnekleme yapıldı. Tüm örnekler rutin parafin takip aşamasından sonra mikron kalınlığında kesildi ve H&E ile boyandı. Mikroskopide aynı spesimende gözlenen farklı şiddetteki alanlar da dikkate alınarak kör olarak tüm gruplara ait örnekler aşağıdaki skalaya göre skortlanarak değerlendirildi (103).

Grade 0: Normal mukoza

Grade 1: Ödem

Grade 2: Konjesyon

Grade 3: Fokal erozyon

Grade 4: Ülserasyon

### **3.3 Laboratuvar incelemeleri**

Her rattan, sakrifiye edildikleri 17. günde ortalama olarak 10 cc kan, kuru tüpe alındı, tüp içindeki kan 4000 devir/dk.da 10 dk çevrildi ve serumu ayrıldı.

IL-10 düzeyi; Rat IL-10 ELISA kıt – ASSAYPRO ile,

TNF- $\alpha$  düzeyi; Rat TNF-alpha ELISA kıt – ASSAYPRO ile,

IFN- $\gamma$  düzeyi; Rat IFN-gamma ELISA kıt – BENDERMED SYSTEM

ile çalışıldı.

Her üç parametrede, uygun kitler ile Beckman Coulter DTX 880 Multimode Detector cihazı ile ELISA yöntemi kullanılarak kantitatif olarak çalışıldı.

### **3.3 İstatistiksel değerlendirme**

Biyokimyasal ve patolojik dataları analiz etmek için SPSS paket programında One-way ANOVA ve anlamlı olan sonuçlar için Tukey HSD testi kullanıldı. Gruplar arasındaki korelasyonun saptanması için Spearman Correlation test kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde, %95'lik güven aralığında değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR

Bu çalışma, Şubat – Mayıs 2010 tarihleri arasında Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen ratlar; Wistar türü, 180-250 gr ağırlığında, doğum yapmamış, genç dişi ratlardı.

Ratlar kilo kaybı ve sağkalım açısından takip edildi (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Grupların kilo kaybı değerleri

	Grup1	Grup2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup7	P
<b>Kilo Kaybı (%)</b>	3.3±1.1	14.1±2.2	11.3±3.3	10.6±6.6	9.1±1.1	8.3±2.2	12±1.1	0.05 <sup>a-t</sup>

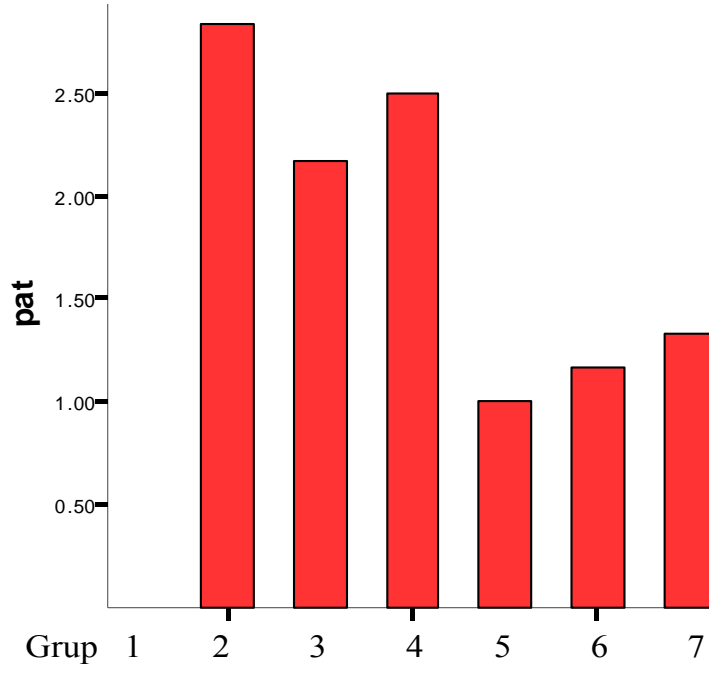
Araştırmanın ilk günü (1. gün) ile son günü (17. gün) arasındaki vücut kilo kaybı yüzdeleri; Grup 1 için %3.3±1.1, Grup 2 için %14.1±2.2, Grup 3 için 11.3±3.3, Grup 4 için %10.6±6.6, Grup 5 için %9.1±1.1, Grup 6 için %8.3±2.2 ve Grup 7 için %12±1.1 idi. MSH uygulanan gruplarda kilo kaybı daha az olma eğilimindeydi. Bu azalma steroid ilavesi ile bir miktar daha belirginleşmesine rağmen gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Çalışmamızda, sağkalım açısından takip edilen gruplarda mortaliteye rastlanılmadı.

Tablo 4.2. Grupların sitokin düzeyi ve patoloji skoru değerleri

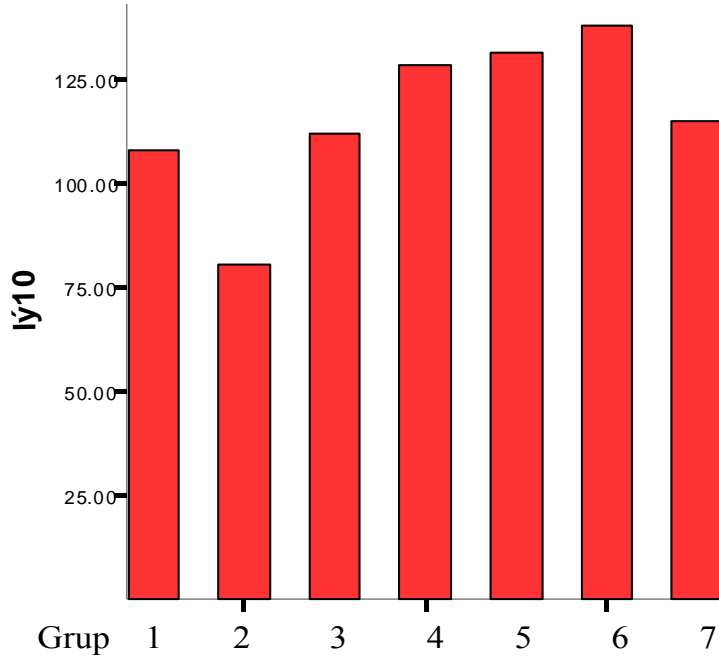
	IL-10 (pg/ml)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IFN- $\gamma$ (pg/ml)	Patoloji (skor)
Grup 1	108.33 $\pm$ 2.23	61.33 $\pm$ 1.38	52.66 $\pm$ 0.91	0
Grup 2	80.83 $\pm$ 3.62	62.66 $\pm$ 1.80	51.50 $\pm$ 0.22	2.83 $\pm$ 0.16
Grup 3	112.33 $\pm$ 4.27	57.66 $\pm$ 2.64	53.33 $\pm$ 0.55	2.16 $\pm$ 0.16
Grup 4	128.66 $\pm$ 2.74	62.0 $\pm$ 1.59	51.0 $\pm$ 0.36	2.5 $\pm$ 0.22
Grup 5	131.66 $\pm$ 3.83	58.16 $\pm$ 1.47	48.66 $\pm$ 0.55	1.0 $\pm$ 0
Grup 6	138.33 $\pm$ 3.19	59.33 $\pm$ 2.07	51.66 $\pm$ 0.55	1.16 $\pm$ 0.16
Grup 7	115.33 $\pm$ 5.21	61.33 $\pm$ 2.01	51.0 $\pm$ 0.29	1.33 $\pm$ 0.21
P	0.001 <sup>l,i,m</sup>	0.05 <sup>a-t</sup>	0.05 <sup>a-t</sup>	0.001 <sup>a-f, g-j, l, m, o, ö</sup>

Gruplar arasındaki P değeri; a: Grup 1,2; b: Grup 1,3; c: Grup 1,4; d: Grup 1,5; e: Grup 1,6; f: Grup 1,7; g: Grup 2,3; h: Grup 2,4; i: Grup 2,5; j: Grup 2,6; k: Grup 2,7; l: Grup 3,4; m: Grup 3,5; n: Grup 3,6; o: Grup 3,7; ö: Grup 4,5; p: Grup 4,6; q: Grup 4,7; r: Grup 5,6; s: Grup 5,7; t: Grup 6,7



Şekil 4.1. Kolit skorunun gruplara göre dağılımı

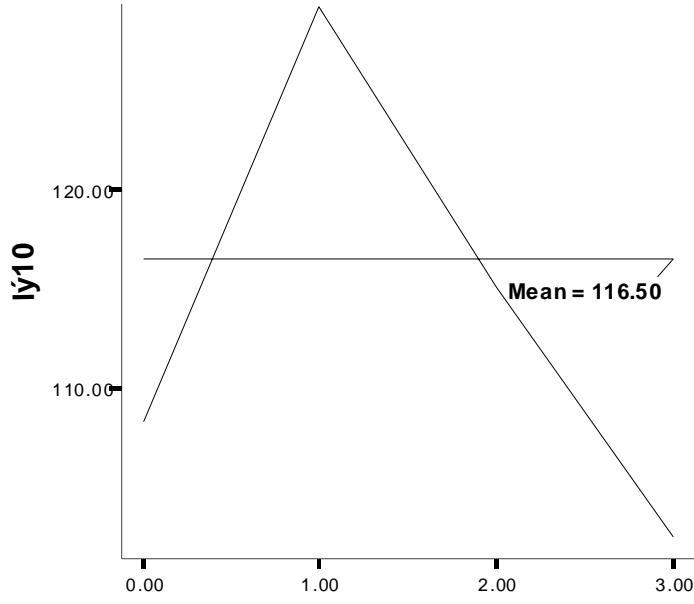
Patolojik kesitlerdeki kolit skoru Grup 1 için 0, Grup 2 için  $2.83 \pm 0.16$ , Grup 3 için  $2.16 \pm 0.16$ , Grup 4 için  $2.5 \pm 0.22$ , Grup 5 için  $1.0 \pm 0$ , Grup 6 için  $1.16 \pm 0.16$ , ve Grup 7 için  $1.33 \pm 0.21$  idi. Grup 1 ile tüm gruplar ve Grup 2 ile 4, Grup 2 ile 5, Grup 2 ile 6, Grup 3 ile 6, Grup 4 ile 5 ve Grup 4 ile 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil 4.1).



Şekil 4.2. Serum IL-10 düzeylerinin gruplara göre dağılımı

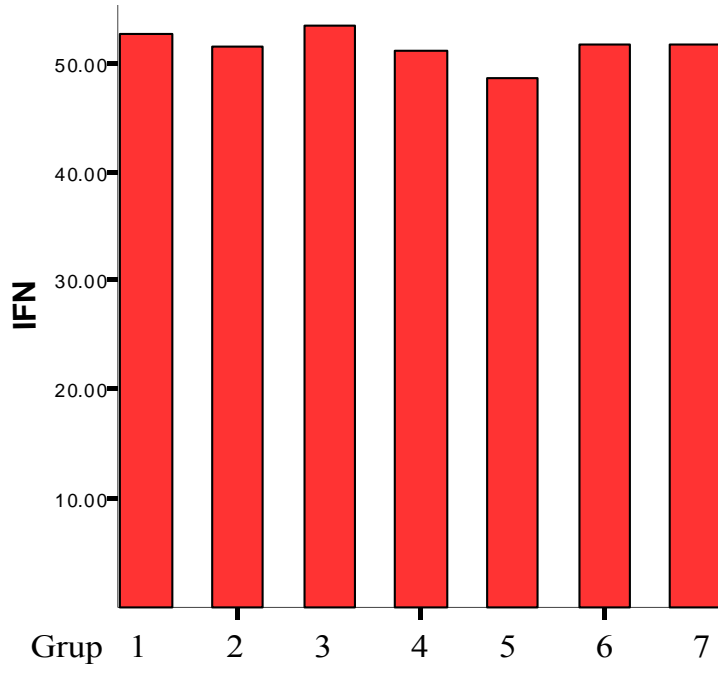
Serum sitokin düzeylerinde IL-10 düzeyi Grup 1 için  $108.33 \pm 2.23$  pg/ml, Grup 2 için  $80.83 \pm 3.62$  pg/ml, Grup 3 için  $112.23 \pm 3.62$  pg/ml, Grup 4 için  $128.66 \pm 2.74$  pg/ml, Grup 5 için  $131.66 \pm 3.83$  pg/ml, Grup 6 için  $138.33 \pm 3.19$  pg/ml ve Grup 7 için  $115.33 \pm 5.21$  pg/ml idi. Serum IL-10 düzeyleri Grup 2 ile 5, Grup 2 ile 6 ve Grup 3 ile 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil 4.2).





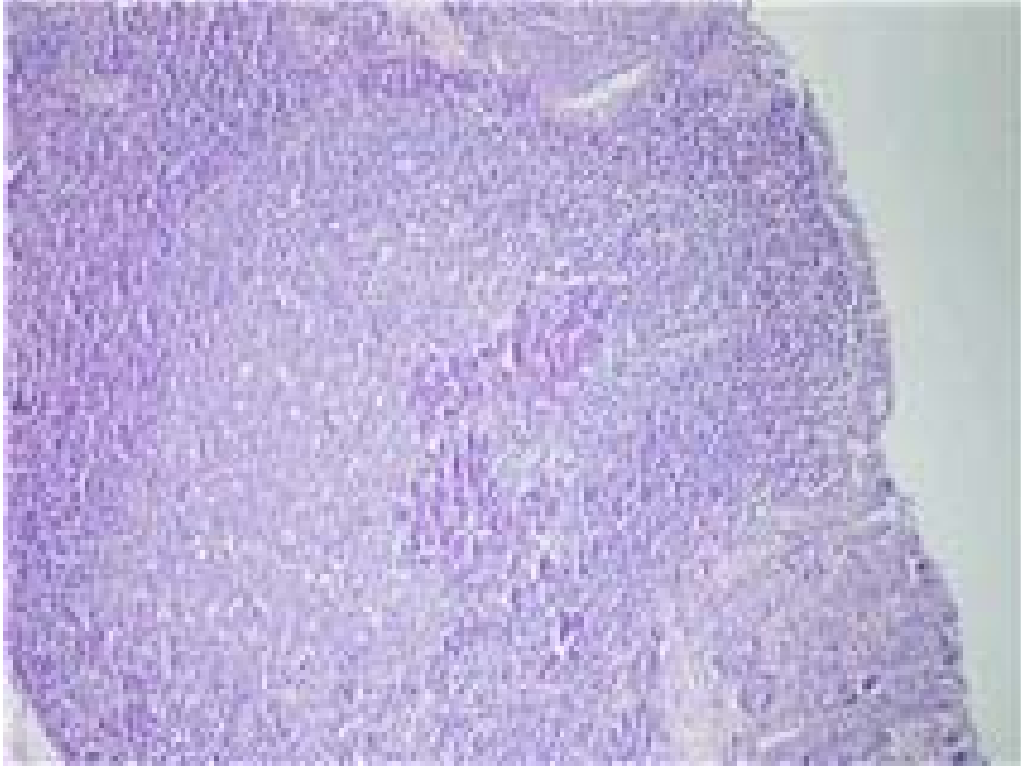
Şekil 4.3. Serum IL-10 düzeyi ile kolit skorunun ters korelasyonu

Patoloji kesitlerindeki kolit skoru ile serum IL-10 düzeyi arasında ters korelasyon olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.3).

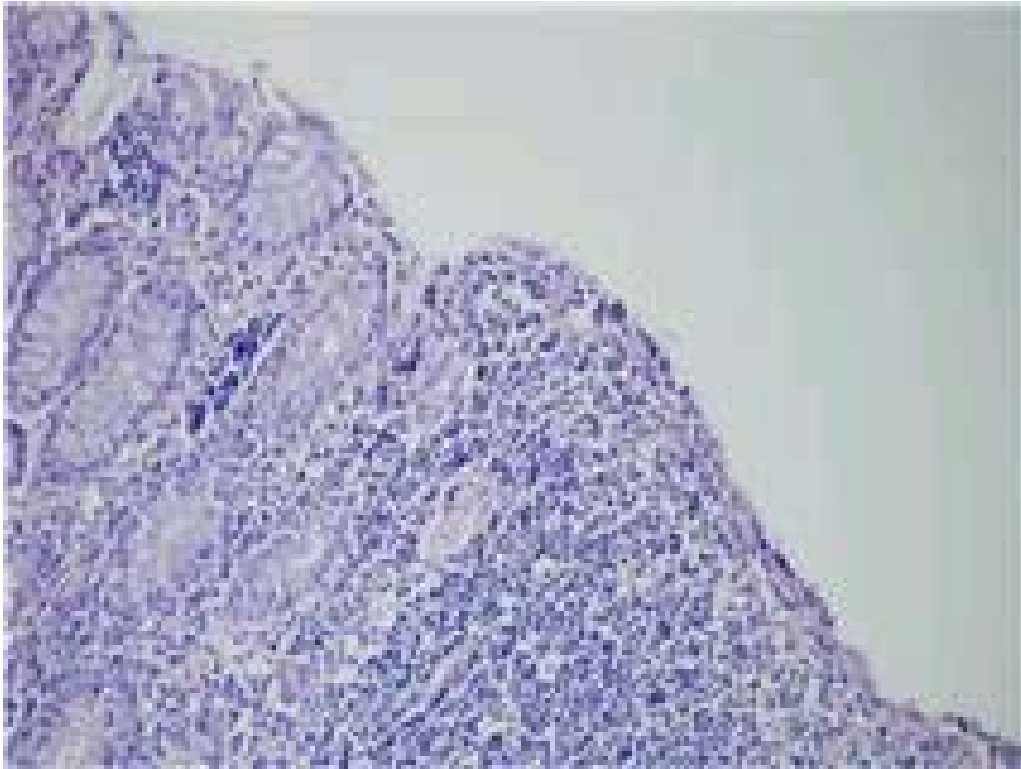


Şekil 4.4. Serum IFN- $\gamma$  düzeyinin gruplara göre dağılımı

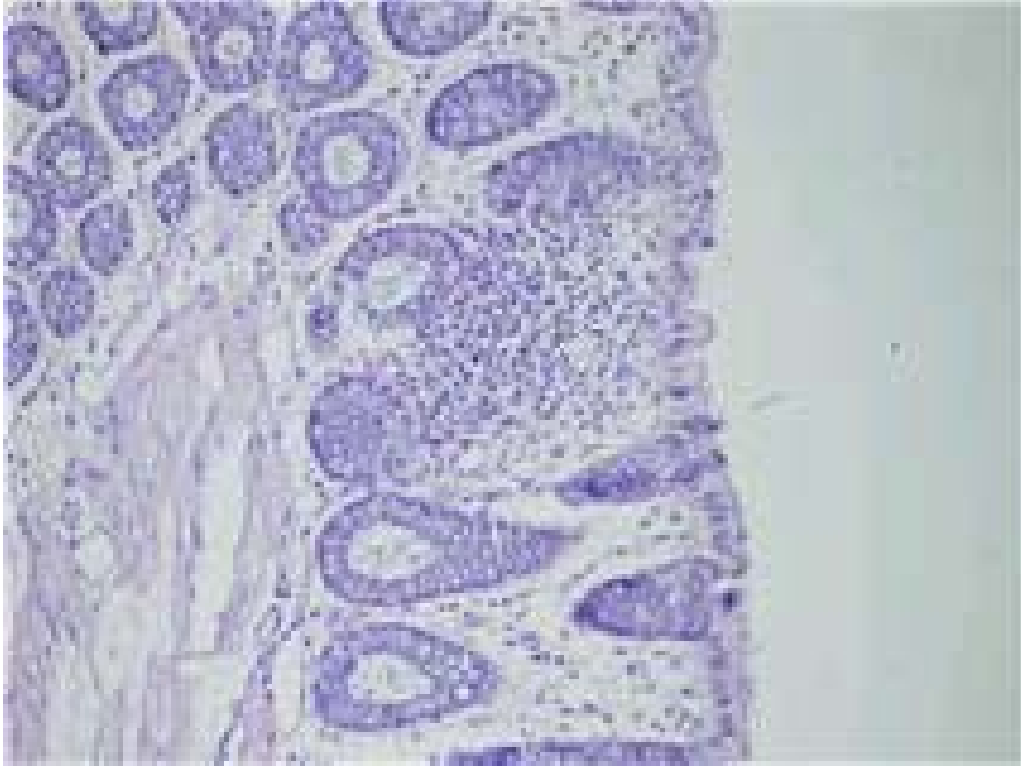
Serum IFN- $\gamma$  düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.4).



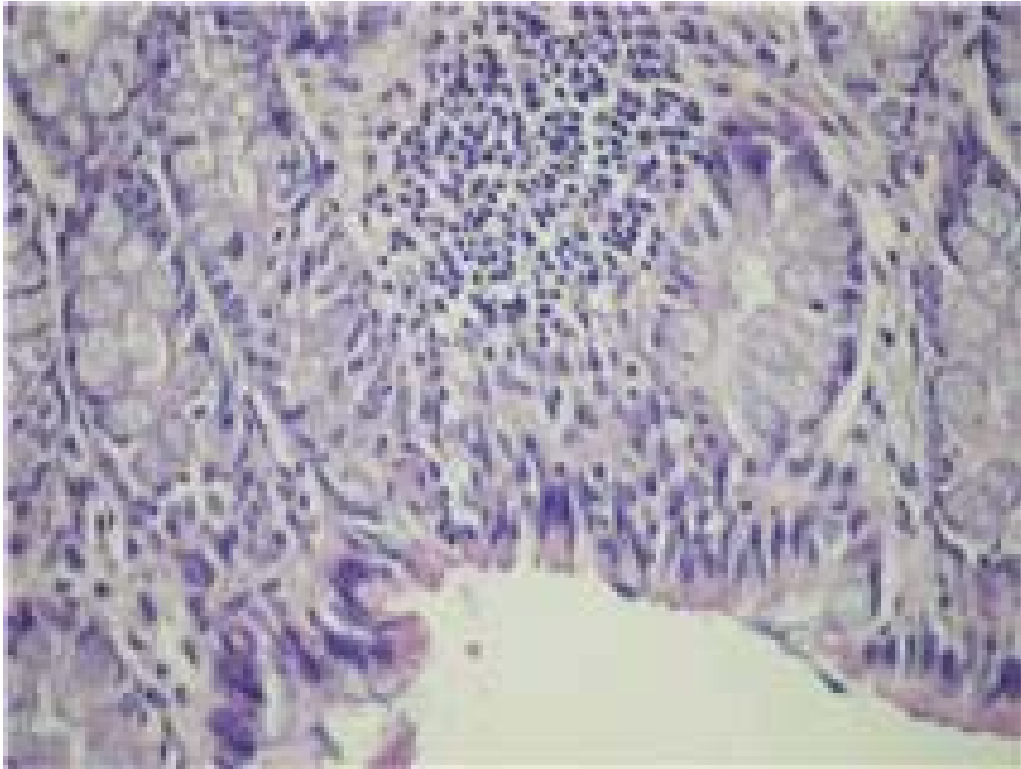
Şekil 4.5. Yoğun şiddette nötrofilik infiltrasyonun eşlik ettiği lenfoplazmositer inflamatuvar reaksiyon, epitelit. (Kolit skor; 3 olarak değerlendirildi) (DSS ile kolit oluşan gruptan)



Şekil 4.6. Kolit skor;3 (Büyük büyütmedeki görünüm)



Şekil 4.7. Hafif şiddette infiltrasyon, ödem mevcut, Fokal erozyon, ülserasyon, epitelit yok (Kolit skor; 1 olarak değerlendirildi) (DSS ile kolit oluştuktan sonra MSH ve steroid verilen gruptan)



Şekil 4.8. Kolit skor; 1 (Büyük büyütmedeki görünüm)



Şekil 4.9. Diğer gruplarda görmediğimiz ancak MSH verdiğimiz gruplarda gördüğümüz kolon mezosundaki vaskülarite artışı

## 5. TARTIŞMA

Crohn hastalığı modeli literatürdeki birçok çalışmada ratların içme suyuna DSS konularak oluşturulmaktadır (5). Bir kısım çalışmada ise trinitrobenzen sulfonik asitin (TNBS) rektal yoldan uygulanması (2) ile deneysel kolit modeline ulaşılmaktadır. Bizim çalışmamızda da daha sistemik yayımlı ve daha kronik bir sürece sahip Crohn hastalığı modeli hedeflendiği için ratların içme suyuna, 14 gün süresince %3'lük DSS ilave edildi. Gonzales ve ark. (2) çalışmasındaki, DSS ile ulaştığı kolit skoru (3+) ve kolit olma yüzdesine (%100) bizim çalışmamızda da ulaşıldı.

Hayashi ve ark. (104), çalışmasında 14. gündeki kilo kaybını %11 ve Gonzales ve ark. (2), çalışmasında 14. gündeki kilo kaybını %12 olarak bulmuştur. Bizim çalışmamızda da 14.gündeki kilo kaybı %10 olarak saptanmıştır.

Yine Gonzales ve ark.'nın (2) çalışmasında 14. günde %12'ye varan mortalite ve Elena ve ark.'nın (5) çalışmasında 14. günde %21'ye varan mortalite olmasına rağmen bizim çalışmamızda mortaliteye rastlanılmadı. Bu durum, her ratın ayrı kafeste olması, özel havalandırma sisteminin olması, içme suyunun, gıdalarının ve kafes temizliğinin uzman veteriner hekimler tarafından haftanın yedi günü takip edilmesi ile ilgili olabilir.

Chen ve ark.'nın çalışmasında steroid tedavisi; DSS ile oluşturulmuş Crohn hastalığının kolit skorunu %23 oranında azaltmıştır. Misiewicz ve ark.'nın (70) çalışmasında ise mesalazin tedavisi Crohn hastalığındaki kolit skorunu % 14 oranında azaltmıştır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde steroid tedavisi ile %21, mesalazin tedavisi ile %12 oranında kolit skoru azalmıştır. Görüldüğü gibi bu düzelleme oranı literatür ile uyumludur ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Gonzales ve ark. (2), Crohn Hastalığında, MSH ile patolojik kesitlerde kolit skorunda %39'a varan gerileme saptamıştır, Elena ve ark. (5) çalışmasında ise MSH, DSS ile oluşturulan Crohn hastalığındaki kolit skorunu %43 oranında gerileme saptamıştır. Bizim çalışmamızda MSH ile kolit skorunda %46 oranında gerileme saptandı.

Literatürde steroid ve mesalazin tedavisinin Crohn hastalığındaki yeri ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. MSH, Crohn hastalığındaki immüsupresif ve immünmodulatuar etkisini araştıran bazı yayınlar mevcuttur. Ancak MSH ile steroid ve mesalazin tedavisini karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Bizim çalışmamızda, MSH verilen gruplarda kolit skoru daha düşük olma eğilimindeydi. Bu eğilim, MSH ile birlikte steroid kullanımında daha da artmaktaydı.

İnflamasyon kaskadına bakıldığında, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin de yüksek olması beklenebilirdi ancak çalışmamızda bakılan kan sitokin düzeylerinde, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  için, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum gruplardaki rat sayısının az olmasından kaynaklanabilir. Öte yandan doku sitokin düzeyi ile kan sitokin düzeyi arasında her patolojik durumda paralellik olmadığı bilinmektedir. Gruplar arasında doku IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  düzeylerine bakıldığında anlamlı bir fark çıkacaktır ancak bizim çalışmamızda teknik şartlar dolayısı ile doku sitokin düzeyi bakılmadı.

MSH'i intravenöz yada intraperitoneal olarak verildiğinde, kısa bir sürede, spesifik olarak hasarlı dokuya yerleşmektedir. Bu durum literatürde çeşitli yayınlar ile gösterilmiştir (2,5). Biz çalışmamızda MSH'in hasarlı kolon mukozasına yerleştiği göstermedik.

Antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 serum düzeyleri incelendiğinde ise MSH ve steroidin bir arada kullanıldığı grupta % 40'a varan artış ve sadece MSH kullanılan grupta %34, sadece steroid kullanılan grupta ise %29 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Bu durum MSH'nin kendisinden değil ancak MSH'in ekspresyonunu artırdığı TH3 (Regülatuvar T hücreler, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> hücreler) ve dolayısı ile bu hücrelerden artan IL-10 sekresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu sonuç, Elena ve ark. (5) ve Gonzales ve ark. (2) çalışmaları ile de benzerdir.

## 6. SONUÇ

Crohn hastalığı, kronik ve idiyopatik bir inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. İmmün sistem, kommensal bakteri ve mikrobiyal ürünleri de içeren birçok normal öğeye karşı kontrol dışı reaksiyon geliştirir. Mukozal T hücre disfonksiyonu, artan iflamatuvar hücreler ve sitokinler gastrointestinal traktta mukozal hasar ile sonuçlanır. Steroid, mesalamin ve azatiyopirin gibi immunsupresif tedaviler bu amaçla kullanılmaktadır. Güncel tedavi, inflamatuvar cevabı baskılamak ve kontrolsüz inflamasyon ile oluşan sekelin tedavisinden ibarettir. Bu hali ile mevcut tedavilerin hastalığın önlemesi veya tamamen medikal tedavisiz izlemi sağlaması mümkün değildir.

MSH ise immün sistemi, özellikle T hücre başta olmak üzere, birden fazla noktada ve hücresel düzeyde suprese etmekte, inflamatuvar sitokin salınımını ve antijen sunan hücreleri inhibe etmekte, direkt kendisinden olmasa da aktive ettiği hücrelerden antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını sağlamaktadır. Bu hücrelerin etkileri immün sistem kaskadının daha uç bölgelerindeki noktalardadır. İmmunsupresif etki daha potent ve aynı zamanda daha spesifik olduğu için yan etki potansiyeli de daha az gibi görünmektedir.

MSH'in, mevcut tedavilere olan bir üstünlüğü de intravenöz ya da intraperitoneal verildikten kısa bir zaman sonra hasarlı dokuya yerleşip rejeneratif özelliği olmasıdır. Bu hücreler, sadece kendi geliştikleri mezenkimal serinin değil diğer embriyojenik germ katmanlarının hücrelerine de dönüşebilmektedir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, MSH ile ilgili diğer çalışmalarda da, daha önceki kök hücre çalışmalarında rastlanılan onkolojik potansiyele, teratom gibi tümoral oluşuma rastlanılmamıştır.

Literatürde Crohn hastalığında steroid ve mesalazin tedavisinin kullanımı ile ilgili pek çok çalışma ve MSH kullanımı ile ilgili sayılı çalışma yer almaktadır. Crohn hastalığında MSH ile steroid ve mesalazinin birlikte kullanımını veya bu tedavileri kıyaslayan bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız, Crohn hastalığında MSH ile steroid ve mesalazin tedavilerinin birlikte kullanımı incelenmiş ve birbirleri arasında kıyaslanmıştır. Patolojik incelemedeki çoklu kesitlerde saptanan kolit skoru ve serum IL-10 düzeyleri baz alınarak; MSH verilen gruplarda (Grup V, VI, VII) ; kolit skoru



daha düşük ve serum IL-10 düzeyi daha yüksek olup bu fark anlamlıydı. Bu eğilim MSH ilaveten steroid kullanımında biraz daha belirginleşmesine rağmen yine de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bu durum MSH'in TH1'i baskılaması; TH2 ve özellikle TH3 (Regülatuar T hücreler, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> hücreler) ve dolayısı ile bu hücrelerden salınan antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 sekresyonu ile ilişkilendirilebilir. Steroidin sayısız antiinflamatuvar ve immunsupresif etkisi bulunmaktadır. Bunların başlıcaları proinflamatuvar sitokinlerin, adhezyon moleküllerin, lökotrienlerin, elastazın salınmasındaki inhibisyonudur. MSH ile birlikte anlamlı bir etki artışı oluşmasının nedeni lenfosit apoptozisini artırması, antijen sunan hücrelerdeki inhibisyonu ve bu sayede CD4<sup>+</sup> TH aktivasyonu bloke etmesi gibi görünmektedir.

Sonuç olarak; MSH ile ilgili; etki mekanizmaları, güvenilirlikleri ve yan etkileri ile ilgili daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

## 7.ÖZET

Mezenkimal stromal hücreler (MSH), ilk olarak insan kemik iliğinden ancak daha sonraları yağ dokusu, kord kanı, fetal karaciğer, kan gibi diğer dokulardan da izole edilebilen, mezoderm kökenli, fibroblast benzeri, nadir hücre topluluklarıdır (1).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH), doğal ve adaptif immun sistemin, kommensal bakteri ve mikrobiyal ürünleri de içeren birçok normal ögeye karşı kontrol dışı reaksiyonu ile giden hastalıklardır. Crohn hastalığı ve deneysel kolit modelinde bağırsakta, lamina propriada artmış hücre aktivasyonu vardır. T hücre ekspresyonu olur. T hücre fonksiyonları artması sonucu T hücre sitokinleri artar.

Artan sitokinler, proteaz ve reaktif oksijen metabolitleri mukozada immun hasara yol açar. İnflamatuvar hastalığın tedavisinde, artan immun cevabın ve ilgili sitokinlerin baskılanması hedeflenir. Günümüzde, steroid, mesalamin ve azatiyopürin gibi tedaviler bu amaçla kullanılmaktadır. Güncel tedavi, inflamatuvar cevabı baskılamak ve kontrolsüz inflamasyon ile oluşan sekelin tedavisinden ibarettir. Bu hali ile mevcut tedavilerin hastalığın önlemesi veya tamamen medikal tedavisiz izlemi sağlaması mümkün değildir.

MSH ise immun sistemi, özellikle T hücre başta olmak üzere, birden fazla noktada ve hücresel düzeyde suprese etmekte, inflamatuvar sitokin salınımını ve antijen sunan hücreleri inhibe etmekte, direkt kendisinden olmasa da aktive ettiği hücrelerden antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını sağlamaktadır. Bu hücrelerin etkileri immun sistem kaskadının daha uç bölgelerindeki noktalardadır. İmmunsupresif etki daha potent ve aynı zamanda daha spesifik olduğu için yan etki potansiyeli de daha az gibi görünmektedir. Bunun yanında mevcut tedavilere olan bir üstünlüğü de intravenöz ya da intraperitoneal verildikten kısa bir zaman sonra hasarlı dokuya yerleşip rejeneratif özelliği olmasıdır.

Literatürde Crohn hastalığında steroid ve mesalazin tedavisinin kullanımı ile ilgili pek çok çalışma ve MSH kullanımı ile ilgili sayılı çalışma yer almaktadır. Crohn hastalığında MSH ile steroid ve mesalazinin birlikte kullanımını veya bu tedavileri kıyaslayan bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

Bizler immunsupresif ve rejeneratif özelliklerinden faydalanarak, MSH'in inflamatuvar bağırsak hastalıklarındaki teropötik potansiyelini ve MSH ile steroid ve mesalazin tedavilerinin birlikte kullanımı ve birbirleri arasında kıyaslama yapmayı amaçladık.

Çalışmamızda patolojik incelemedeki kesitlerde saptanan kolit skoru ve serum IL-10 düzeyi baz alınarak MSH verilen gruplarda kolit skoru daha düşük ve serum IL-10 düzeyini daha yüksek olma eğiliminde olduğunu gördük.

MSH, Crohn hastalığı tedavisinde etkili bir tedavi potansiyeli taşımaktadır. Steroid ile birlikte kullanılması tedavi yanıtını artırıcı etkisi olduğu düşünülebilir. Ancak insan tedavisinde kullanılabilmesi için, MSH ile ilgili; etki mekanizmaları, güvenilirlikleri ve yan etkileri ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Kaynaklar

1. Le Blanc K., Ringden O., Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *Journal of Internal Medicine*, 2007; 262:509-525
2. Gonzales-Rey E et al, Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Alleviate Experimental Colitis by Inhibiting Inflammatory and Autoimmune Responses, *Gastroenterology*, 2008 November 27
3. Caplan AI, Mesenchymal stem cells, *J Orthop Res* 1991; 9: 641-50
4. Devine SM, Cobbs C Jennings M, Bartholomew A, Hoffman R, Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusions into nonhuman primates, *Blood*, 2003; 101:2009-3001
5. Gonzales-Rey E et al, Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut*, 2009 Jan 9
6. Moore KL. *The developing human: Clinically oriented embryology*, 4th ed. Philadelphia, WB Saunders. 1988
7. Fry RD, Kodner IJ. Anorectal disorders. *Ciba Clinical Symposia* 37; 6; 1985
8. Kodner IJ, Fleshman JW, Fry RD. In Maingot' s abdominal operations. 1989
9. Arend W., Armitage J., Clemmons D., Drazen J., Griggs R., LaRusso N., Cecil Textbook of Internal Medicine (23<sup>th</sup> ed.) WB Saunders Company 2008; 144: 1042-1050
10. Irvine EJ, Farrokhyar F, Swarbrick ET. A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36(1):2-15
11. Sonnenberg A, McCarty DJ, Jacobsen SJ. Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. *Gastroenterology* 1991;100(1):143-149
12. Odes HS, Fraser D, Krawiec J. Incidence of idiopathic ulcerative colitis in Jewish population subgroups in the Beer Sheva region of Israel. *Am J Gastroenterol*. 1987; 82(9):854-858.
13. Sands BE; Crohn's Disease. Feldman M. Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease, Eighth ed. Saunders: 2006: 2459-2498
14. Su C, Lichtenstein GR; Ulcerative Colitis. Feldman M. Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease, Eighth ed. Saunders: 2006:2499-2548

15. Hugot JP, et al: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411:599.
16. Greenstein AJ, Lachman P, Sachar DB, et al: Perforating and non-perforating indications for repeated operations in Crohn's disease: Evidence for two clinical forms. *Gut* 1988; 29:588.
17. Truelove SC: Ulcerative colitis provoked by milk. *BMJ* 1961; 5220:154.
18. Rutgeerts P, D'Haens G, Hiele M, et al: Appendectomy protects against ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1994; 106:1251.
19. Wakefield AJ, Pittilo RM, Sim R, et al: Evidence of persistent measles virus infection in Crohn's disease. *J Med Virol* : 1993; 39:345
20. Munkholm P: Crohn's disease—occurrence, course and prognosis: An epidemiologic cohort-study. *Dan Med Bull* 1997; 44:287
21. Okada M, Maeda K, Yao T, et al: Minute lesions of the rectum and sigmoid colon in patients with Crohn's disease. *Gastrointest Endosc* 1991; 37:319.
22. Chambers TJ, Morson BC: The granuloma in Crohn's disease. *Gut* 1979; 20:269
23. Buchmann P, Alexander-Williams J: Classification of perianal Crohn's disease. *Clin Gastroenterol* 1980; 9:323.
24. Han PD, Burke A, Baldassano RN, et al: Nutrition and inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28:423
25. Schreiber S, Howaldt S, Schnoor M, et al: Recombinant erythropoietin for the treatment of anemia in inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 1996; 334:619
26. Scotinotis I, Rubesin SE, Ginsberg GG: Imaging modalities in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28:391.
27. Gore RM, Balthazar EJ, Ghahremani GG, Miller FH: CT features of ulcerative colitis and Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 167:3.
28. Pera A, Bellando P, Caldera D, et al: Colonoscopy in inflammatory bowel disease: Diagnostic accuracy and proposal of an endoscopic score. *Gastroenterology* 1987; 92:181.
29. Harvey RF, Bradshaw JM: A simple index of Crohn's disease activity. *Lancet* 1980; 1:514
30. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, et al: Development of a Crohn's

- disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 70:439, 1976.
31. Mary JY, Modigliani R: Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: A prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID). *Gut* 1989; 30:983.
  32. Allan A, Linares L, Spooner HA, Alexander-Williams J: Clinical index to quantitate symptoms of perianal Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1992; 35:656.
  33. Both H, Torp-Pedersen K, Kreiner S, et al: Clinical appearance at diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease in a regional patient group. *Scand J Gastroenterol* 1983; 18:987.
  34. Rao SS, Holdsworth CD, Read NW: Symptoms and stool patterns in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1988; 29:342.
  35. Buckell NA, Williams GT, Bartram CI, et al: Depth of ulceration in acute colitis: Correlation with outcome and clinical and radiologic features. *Gastroenterology* 1980; 79:19.
  36. Almer S, Bodemar G, Franzen L, et al. Use of air enema radiography to assess depth of ulceration during acute attacks of ulcerative colitis. *Lancet* 1996;347:1731
  37. Truelove SC, Witts LJ: Cortisone in ulcerative colitis: Final report on a therapeutic trial. *BMJ* 1955; 2:1041.
  38. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM: Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis: A randomized study. *N Engl J Med* 1987; 317:1625.
  39. Baron JH, Connell AM, Lennard-Jones JE: Variation between observers in describing mucosal appearances in proctocolitis. *BMJ* 1964; 5375:89.
  40. Truelove SC, Richards WC: Biopsy studies in ulcerative colitis.
  41. *BMJ* 1956; 4979:1315. 36.
  42. Korelitz BI, Janowitz HD. Dilatation of colon: serious complications of ulcerative colitis. *Ann Intern Med* 1960;53:153
  43. Greenstein AJ, Aufses Jr AH: Differences in pathogenesis, incidence, and outcome of perforation in inflammatory bowel disease. *Surg Gynecol Obstet* 1985; 160:63.
  44. Gumaste V, Sachar DB, Greenstein AJ: Benign and malignant colorectal strictures in ulcerative colitis. *Gut* 1992; 33:938.
  45. Robert JH, Sachar DB, Aufes A et al. Management of severe hemorrhage in ulcerative colitis. *Am J Surg* 1990;159:550-555
  46. Rutter M, Saunders B, Wilkinson K, et al: Severity of inflammation is a risk factor for colorectal neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2004; 126:451.

47. Itzkowitz SH, Harpaz N: Diagnosis and management of dysplasia in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2004; 126:1634.
48. Danzi JT: Extraintestinal manifestations of idiopathic inflammatory bowel disease. *Arch Intern Med* 1988; 148:297
49. Orchard TR, Wordsworth BP, Jewell DP: Peripheral arthropathies in inflammatory bowel disease: Their articular distribution and natural history. *Gut* 1998; 42:387..
50. Su C, Judge TA, Lichtenstein GR: Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2002;31:307
51. Brewerton DA, Nicholls A, Caffrey M et al. HLA-B27 and arthropathies associated with ulcerative colitis and psoriasis. *Lancet* 1974;1:1821
52. Gravalles EM, Kantrowitz FG: Arthritic manifestations of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1988; 83:703.
53. Schulte CM, Dignass AU, Goebell H, et al: Genetic factors determine extent of bone loss in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000; 119:909.
54. Gelernt IM, Kreel I. Pyoderma gangrenosum in ulcerative colitis prevention of the gangrenous component *Mt Sinai J-Med* 1976;43:467
55. Samitz MH. Skin complications of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Cutis* 1973;16:533
56. Hackzell-Bradley M, Hedblad MA, Stephansson EA: Metastatic Crohn's disease: Report of three cases with special reference to histopathologic findings. *Arch Dermatol* 1996; 132:928
57. Zlatanovic J, Fleisher M, Sasson M, et al: Crohn's disease and acute leukocytoclastic vasculitis of skin. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:2410
58. Travis S, Innes N, Davies MG, et al: Sweet's syndrome: An unusual cutaneous feature of Crohn's disease or ulcerative colitis. The South West Gastroenterology Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9:715.
59. Baioco PJ, Gorman BD, Korelitz BJ. Uveitis occurring after colectomy and ileal rectal sleeve anastomosis for ulcerative col *Dig Dis Sci* 1984;29:570
60. Lapidus A, Bangstad M, Astrom M, Muhrbeck O: The prevalence of gallstone disease in a defined cohort of patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1261
61. Mihas AA, Murad TM, Hirshowitz BI. Sclerosing cholangitis associated with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1978;70:614

62. Rasmussen HH, Fallingborg JF, Mortensen PB, et al: Hepatobiliary dysfunction and primary sclerosing cholangitis in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:604.
63. Pardi DS, Tremaine WJ, Sandborn WJ, Mc Carthy JT. Renal and urologic complications of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1998;93:504- 14
64. Talbot RW, Heppell J, Dozois RR, Beart RW. Vascular complications of inflammatory bowel disease. *Mayo Clin Prn* 1986; 61(2):140-5
65. Azad Khan AK, Piris J, Truelove SC: An experiment to determine the active therapeutic moiety of sulphasalazine. *Lancet* 1977; 2:892
66. MacDermott RP: Progress in understanding the mechanisms of action of 5-aminosalicylic acid. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:3343.
67. Giaffer MH, O'Brien CJ, Holdsworth CD: Clinical tolerance to three 5-aminosalicylic acid releasing preparations in patients with inflammatory bowel disease intolerant or allergic to sulphasalazine. *Aliment Pharmacol Ther* 1992; 6:51.
68. Sutherland LR, May GR, Shaffer EA: Sulfasalazine revisited: A meta-analysis of 5-aminosalicylic acid in the treatment of ulcerative colitis. *Ann Intern Med* 1993; 118:540.
69. Sutherland L, MacDonald JK: Oral 5-aminosalicylic acid for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD000543
70. Misiewicz JJ, Lond MB. Controlled trial of sulphasalazine in maintenance therapy for ulcerative colitis. *Lancet*: 1965;2: 185
71. Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V: Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. *Gut* 1994; 35:360.
72. Truelove SC: Treatment of ulcerative colitis with local hydrocortisone hemisuccinate sodium: A report on a controlled therapeutic trial. *BMJ* 1958; 2:1072.
73. Pearson DC, May GR, Fick GH, Sutherland LK. Azathioprine and 6-mercaptopurine in Crohn 's disease; a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1995;122:132
74. Kornbluth A, Lichtiger S, Present D, et al: Long-term results of oral cyclosporin in patients with severe ulcerative colitis: A double-blind randomized multicenter trial [Abstract]. *Gastroenterology* 1994; 106:A714.
75. Feagan BG, McDonald JW, Rochon J, et al: Low-dose cyclosporine for the treatment of Crohn's disease. The Canadian Crohn's Relapse Prevention Trial Investigators. *N Engl J Med* 1994; 330:1846.



76. Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, et al: Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. The North American Crohn's Study Group Investigators. *N Engl J Med* 1995; 332:292.
77. Sandborn WJ, Present DH, Isaacs KL, et al: Tacrolimus for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease: A randomized, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 125:380.
78. Felleman K, Tanko Z, Herrlinger KR, et al: Response of refractory colitis to intravenous or oral tacrolimus (FK506). *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8:317.
79. Ford AC, Towler RJ, Moayyedi P, et al: Mycophenolate mofetil in refractory inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17:1365.
80. Prantera C, Zaninoni F, Scribano ML et al. An antibiotic regimen for the treatment of active Crohn's disease: a randomized, controlled clinical trial of metronidazole plus ciprofloxacin. *Am J Gastroenterol* 1996;91 :328
81. Brandt LJ, Bernstein LH, Boley SJ, Frank MS: Metronidazole therapy for perineal Crohn's disease: A follow-up study. *Gastroenterology* 1982; 83:383
82. Mantzaris GJ, Archavlis E, Christoforidis P, et al: A prospective, randomized, controlled trial of oral ciprofloxacin in acute ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:454.
83. Derkx B, Taminiau J, Radema S, et al: Tumour necrosis factor antibody treatment in Crohn's disease. *Lancet* 1993; 342:173.
84. Van Dullemen HM, van Deventer SJ, Hommes DW, et al: Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* 1995; 109:129.
85. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, et al: A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337:1029.
86. Baert FJ, D'Haens GR, Peeters M, et al: Tumor necrosis factor alpha antibody (infliximab) therapy profoundly down-regulates the inflammation in Crohn's ileocolitis. *Gastroenterology* 1999; 116:22.
87. Present DH, Rutgeerts P, Targan S, et al: Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med* 1999; 340:1398.
88. Lewis JD, Deren JJ, Lichtenstein GR: Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28:459.
89. Hendriksen C, Kreiner S, Binder V: Long-term prognosis in ulcerative colitis— based on results from a regional patient group from the county of Copenhagen. *Gut* 1985; 26:158.

90. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, et al. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells*. 19:180, 2001.
91. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, et al. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97:3213,2000.
92. Campagnoli C, Roberts IAG, Kumar S, et al. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood*. 98:2396,2001.
93. Krabbe C, Zimmer J, Meyer M: Neural transdifferentiation of mesenchymal stem cells-a critical review. *APMIS* 113(11-12):831, 2005.
94. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 284:143, 1999.
95. Rao MS, Mattson MP. Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mech Ageing Dev*. 122:713, 2001.
96. Tilney NL, Whitley WD, Diamond JR. Chronic rejection: an unidentified conundrum. *Transplantation*. 52:389, 1991.
97. Dunn DL. Problems related to immunosuppression. Infection and malignancy occurring after solid organ transplantation. *Crit Care Clin*. 6:955, 1990
98. Kemp KC, Hows J, Donaldson C: Bonemarrow-derived mesenchymal stem cells. *Leuk Lymphoma* 46(11): 1531, 2005.
99. Wislet-Gendebien S, Wautier F, Leprince P, Rogister B: Astrocytic and neuronal fate of mesenchymal stem cells expressing nestin. *Brain Res Bull*. 68(1-2):95, 2005.
100. Helm GA, Gait Z: Future uses of mesenchymal stem cells in spine surgery. *Neurosurg Focus* 19(6):E13, 2005
101. Uccelli A, Zappia E, Benvenuto F, Frassoni F, Mancardi G: Stem cells in inflammatory demyelinating disorders: a dual role for immunosuppression and neuroprotection. *Expert Opin Biol Ther* 6(1):17, 2006.
102. Sands BE: Novel therapies for inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics North America* 28:323-351, 1999

103. Fedorak RW, Empley LR, Walker K. Verapamil alters eicosanoid synthesis and accelerates healing during experimental colitis in rats. *Gastroenterology* 1992; 102:1229-1235