

104448

T.C.

Fırat Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

**NONSELEKTİF BİR ENDOTELİN RESEPTÖR
ANTAGONİSTİ OLAN BOSENTANIN DENEYSEL
CROHN HASTALIĞI MODELİNDE BARSAK HASARI
VE ANASTOMOZ İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Cüneyt KIRKIL

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Ziya ÇETİNKAYA

Tez 973 no.lu proje ile FÜBAP tarafından desteklenmiştir.

Elazığ-2005

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Özge ARDIÇOĞLU



DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Yavuz Selim İLHAN

Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ziya CETİNKAYA

Danışman



Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Y. Selim İLHAN

Prof. Dr. Osman DOĞRU

Doç. Dr. Ziya CETİNKAYA

Doç. Dr. Arslan ARDIÇOĞLU

M. Doç. Dr. Nurullah BÜLBÜLLER

TEŞEKKÜR

Hekimlik sanatının bu en ince dal ını, büyük anlayış ve sabırla bizlere öğreten birbirinden değerli hocalarıma; bu yola gerek benden önce gerek sonra koyulmuş olan, yoğun bir iş temposunda sevinçli ve sıkıntılı anlarımızı paylaştığımız mesai arkadaşlarıma; kötü sosyoekonomik koşullara rağmen el birlikteliği yaparak sağlık hizmeti sunduğumuz Genel Cerrahi Kliniği ve ameliyathane çalışanlarına; tez çalışmasının laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ ve Yrd.Doç.Dr. Nusret AKPOLAT'a ve hayatım boyunca destek gördüğüm ve bundan sonra da göreceğime emin olduğum ailem ve eşime teşekkür etmeyi borç bilirim.

Dr. Cüneyt KIRKIL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
3. GİRİŞ	1
3.1. Patogenez	3
3.1.a. Genetik Faktörler	3
3.1.b. Çevresel Faktörler	4
3.1.c. Mikrobiyal Faktörler	7
3.1.d. İmmüno-inflamatuvar Faktörler	8
3.1.d.1. CD4 ⁺ Hücreleri ve Yardımcı T Hücre Alt Grupları	8
3.1.d.2. İmmünomodulatör Sitokinler	10
3.1.d.2.1. IL-2	10
3.1.d.2.2. IL-10	10
3.1.d.2.3. TGF- β	11
3.1.d.2.4. INF- γ	12
3.1.d.2.5. IL-12	12
3.1.d.3. Proinflamatuvar Sitokinler	12
3.1.d.3.1 IL-1 ve TNF- α	12
3.1.d.3.2. IL-11	13
3.2. Klinik	14
3.3. Tanı	16
3.3.a. Patoloji	18
3.4. Tedavi	18
3.4.a. Hafif-Orta Aktiviteli CH'nda Tedavi	20
3.4.b. Orta-Ağır Aktiviteli CH'nda Tedavi	20
3.4.c. Ağır-Fulminan Aktiviteli CH'nda Tedavi	21

3.4.d. İdame Tedavisi	22
3.4.e. Tedaviye Dair Yeni Görüşler	23
3.4.e.1. Konvansiyonel Tedavi	23
3.4.e.1.1. Azathiopurine ve 6-Mercaptopurine	23
3.4.e.1.2. Antibiyotikler	23
3.4.e.2. Konvansiyonel Olmayan Tedaviler	24
3.4.e.2.1. Biyolojik Tedaviler	24
3.4.e.2.1.a. Gen Tedavisi	24
3.4.e.2.1.b. İmmünoinflamatuvar Faktörlerin Manüplasyonu	25
3.4.e.2.1.b.1. Anti-CD4 Antikorlar	25
3.4.e.2.1.b.2. IL-10	25
3.4.e.2.1.b.3. IL-11	26
3.4.e.2.1.b.4. TNF Blokajı	26
3.4.e.2.1.b.5. Adhezyon Molekülleri ve Lökosit Kümelenmesi	27
3.4.e.2.2. Biyolojik Olmayan Tedaviler	27
3.4.e.2.2.a. Yeni İmmünomodülatör Ajanlar	27
3.4.e.2.2.a.1. Thalidomide	27
3.4.e.2.2.a.2. Tacrolimus	28
3.4.e.2.2.a.3. MMF	28
3.4.e.2.2.b. Heparin	28
3.4.e.2.2.c. Nöromodülatör Ajanlar	29
3.4.f. Cerrahi Tedavi Endikasyonları ve Nüks	29
3.4.g. CH'nın İnce Barsak ve İleokolik Tutulumu	31
3.5. Endotelinler	33
3.5.a. Endotelin Reseptör Alt Tipleri	34

3.5.b. In vitro Endotelin Üretimi	35
3.5.c. In vivo Endotelinlerin Fizyolojik ve Patolojik Rollerini	36
3.5.c.1. Düz Kas	36
3.5.c.2. Kan Basıncı Düzenlenmesi	37
3.5.c.3. İskemi	39
3.5.c.4. Hastalık Durumları	39
3.5.c.5. Depresyon	40
3.5.c.6. Subaraknoid Kanama	40
3.5.c.7. Gastrik Lezyonlar	40
3.5.c.8. İnflamasyon	40
3.5.c.9. Pulmoner Hastalık	40
3.5.c.10. Tümörler	40
3.5.d. Endotelin Reseptör Agonist ve Antagonistleri	40
3.5.d.1. Bosentan	41
3.5.e. Endotelin ve CH Arasındaki İlişki	43
4. GEREÇ VE YÖNTEM	44
4.1. Birinci Aşama	44
4.2. İkinci Aşama	45
4.3. Üçüncü Aşama	45
4.3.a. Peritonit Skorlaması	46
4.3.b. Anastomoz Patlama Basıncı Ölçümü	47
4.3.c. Örneklerin Alınması	48
4.4. Histopatolojik Değerlendirme	48
4.5. Doku OH-Prolin Düzeyi Ölçümü	48
4.6. İstatistiksel Yöntem	50

5. BULGULAR	51
5.1. İkinci Aşamada alınan Örneklerin Sonuçları	51
5.2. Üçüncü Aşamada Alınan Örneklerin Sonuçları	51
5.2.a. Histopatolojik Skor	51
5.2.b. Doku OH-Prolin Düzeyleri	52
5.2.c. Anastomoz Patlama Basınçları	53
5.2.d. Peritonit Skorları	53
6. TARTIŞMA	58
7. KAYNAKLAR	66
8. ÖZGEÇMİŞ	80



ŞEKİL VE RESİMLER

	Sayfa No
Şekil 1	11
Resim 1	54
Resim 2	54
Resim 3	55
Resim 4	55
Resim 5	56
Resim 6	56
Resim 7	57



TABLÖLAR

	Sayfa No
Tablo 1	5
Tablo 2	7
Tablo 3	9
Tablo 4	15
Tablo 5	17
Tablo 6	19
Tablo 7	36
Tablo 8	37
Tablo 9	38
Tablo 10	46
Tablo 11	47
Tablo 12	49
Tablo 13	52

KISALTMALAR

İBH:	İnflamatuvar Barsak Hastalığı
CH:	Crohn Hastalığı
ÜK:	Ülseratif Kolit
GİS:	Gastrointestinal Sistem
IL:	İnterlökin
Ig:	İmmünoglobulin
TNF:	Tümör Nekrotizan Faktör
TGF:	Doku Büyüme Faktörü
EDRF:	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
INF:	İnterferon
Th:	Yardımcı T Hücre
ICAM:	Hücreler Arası Adhezyon Molekülü
TACE:	TNF α Dönüştürücü Enzim
ET:	Endotelin
E1:	Endotelin 1
E2:	Endotelin 2
E3:	Endotelin 3
ET _A :	Endotelin Reseptörü A Alt Tipi
ET _B :	Endotelin Reseptörü B Alt Tipi
BT:	Bilgisayarlı Tomografi
KS:	Kortikosteroid
IV:	İntravenöz
SC:	Subkutan
IM:	İntramusküler

AZA: Azathiopurine

6-MP: 6-Mercaptopurine



1. ÖZET

Crohn Hastalıklı bireylerin barsak dokularında yüksek endotelin immünoreaktivitesi ve iskemiye neden olabilecek vasküler anormallikler gösterilmiştir. Deneysel Crohn Hastalığı modelinde endotelin antagonizmasının ince barsak anastomoz iyileşmesine etkisini incelemeyi amaçladık.

28 adet Spraque-Dawley rat 4 eşit gruba ayrıldı. Grup IV'teki ratlara enflamasyon oluşturulmadan 2 gün önce başlanarak deney modeli süresince her gün bosentan verildi. Grup I'e sham operasyon uygulandı. Grup III ve IV'te intrajejunal iodoasetamid uygulaması ile enflamasyon indüklendi. Grup II'ye kontrol grubu olarak sadece taşıyıcı maddeler verildi. Üç gün sonra tüm ratlarda aynı segmentin proksimal yarısı rezeke edilip uç-uca anastomoz yapıldı. İkinci aşamadan 4 gün sonra relaparotomi yapıldı. Peritonit skorları ve anastomoz patlama basınçları değerlendirilip histopatolojik inceleme ve hidroksprolin ölçümleri için doku örnekleri alındı.

Hiçbir örnekte histopatolojik olarak Crohn benzeri enflamasyon oluşturulamadı. Enflamasyonun şiddeti bosentanla tedavi edilen grupta daha düşüktü ($p<0.001$). Grup IV'teki ortalama doku hidroksprolin düzeyi Grup III'tekinden belirgin olarak yüksekti ($p<0.001$). Grup IV'teki ortalama anastomoz patlama basıncı Grup I ve II'dekilerden daha düşük olsa da Grup III'tekinden belirgin olarak daha yüksekti ($p<0.001$). Grup III'teki ratların ortalama peritonit skoru tüm diğer gruplarınkinden belirgin olarak daha yüksekti ($p<0.001$).

Sonuç olarak endotelin reseptör blokağı iodoasetamidin indüklediğı akut barsak enflamasyonunun şiddetini azaltır ve anastomoz hattı iyileşmesini artırır.

Anahtar kelimeler: Crohn Hastalığı, rezeksiyon-anastomoz, endotelin, bosentan

2. ABSTRACT

The Effect Of Bosentan Which Is A Non-Selective Endothelin Receptor Antagonist On Intestinal Damage And Anastomotic Healing In An Experimental Crohn's Disease Model

In the intestinal tissues of patients with Crohn's disease, high endothelin immunoreactivity and vascular abnormalities that can be cause to ischemia. We aimed to evaluate the effect of endothelin antagonism on healing of small intestinal anastomosis in an experimental Crohn's disease model.

Twenty eight Spraque-Dawley rats were divided into 4 groups. Rats were treated with bosentan every day starting two days prior to induction of inflammation. Group I was sham operated. Inflammation was induced in Group III and Group IV with intrajejunal iodoacetamide administration. Only vehicles were given to Group II, as a control group. Three days later proximal half of same jejunal segment was resected and end-to-end anastomosis was performed in all rats. Four days after second procedure relaparotomy performed. Peritonitis scores and anastomosis bursting pressures were evaluated and then tissue samples were taken for histopathological analysis and hydroxyproline assay.

Crohn's like inflammation could not formed in all samples. Severity of acute inflammation was less in bosentan treated group ($p<0.001$). Mean tissue hydroxyproline level of Group IV was significantly higher than Group III ($p<0.001$). Although mean anastomosis bursting pressure of was less than those Group I and Group II, it was higher than Group III ($p<0.001$). Mean peritonitis score of Group III (15.50 ± 3.99) was significantly higher than those of others ($p<0.001$).

As a result, the blockade of endothelin receptors reduced the severity of acute intestinal inflammation induced with iodoacetamide and improved anastomotic healing.

Key words: Crohn's disease, resection and anastomosis, endothelin, bosentan



3. GİRİŞ

Crohn Hastalığı (CH), tüm gastro-intestinal sistemin (GİS) değişik seviyelerde tutulabildiği ve bazı olgularda ekstraintestinal bulguların da görülebildiği inflamatuvar bir barsak hastalığıdır (İBH). Tüm dünyada görülür, insidensi 3-10/100.000 ve prevalansı ise 20-200/100.000 arasında değişir (1). Hastalık her iki cinsi eşit oranda tutmakla birlikte bazı bölgelerde kadın hastalar %60'lık bir oranı tutmaktadır (2). CH sıklıkla ikinci dekatta ortaya çıkmaktadır, yaş ilerledikçe insidensinde hafif düşmeler görülmektedir (3). Temel etyolojik neden bilinmemektedir. Barsağın immün sistemindeki bazı değişikliklerin ya da defektlerin, hastalığın oluşumunda önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Hastalığın genetik bir eğilimi vardır, hastaların birinci derece akrabalarında %1.6 oranında CH görülmektedir (4). Sigara içenlerde ve appendektomi geçirenlerde CH gelişme riski daha fazladır (5). CH etyolojisinde pek çok infeksiyöz ajan suçlanmıştır. Özellikle Mycobactreium paratuberculosis'in CH'na neden olduğu üzerinde çok durulmuştur. Ancak bu konuda yapılan çalışmalar sonucunda bu etkenin CH'na neden olduğu görüşü ispatlanmamıştır. İntestinal floradaki antijenik uyarı ya da immün toleransın bozulması sonucu hücresel ve hümoral immünitede başlayan reaksiyonlarla CH'nın patogenezi açıklanmaktadır. Antijenin mukozadaki makrofajlar tarafından alınması sonucu meydana gelen immün kompleksler, T hücrelerinin aktivasyonuna ve farklılaşmasına neden olur. Bu yolla T hücrelerinden üretilen sitokinler (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, interferon gamma, TNF) ortama mononükleer hücrelerin ve granülositlerin gelmesini sağlar. Bu hücrelerden salınan proinflamatuvar maddeler (prostaglandinler, reaktif oksijen metabolitleri, nitrik oksid, proteazlar) doku hasarına neden olur. Genetik özelliklerin farklı olması sonucu bazı hastalarda ülseratif kolit, bazı hastalarda CH oluşmaktadır (6).

CH'ndan etkilenmiş barsak segmentlerinde iskemik hasara neden olabilecek vasküler ve perivasküler anormallikler bulunduğu ve granuloamların çoğunluğunun kan damarlarının duvarlarından geliştiği gösterilmiştir (7). Ayrıca CH'lı bireylerin barsak dokularında güçlü vazokonstriktör bir peptid olan endotelin immünoreaktivitesinin normal bireylerinkinden daha yüksek olduğu da ispatlanmıştır (8). CH'nda en sık cerrahi endikasyonu daralmaya bağlı tıkanıklıklardır ve özellikle ilk ameliyatlarda tercih edilen işlem rezeksiyon ve anastomozdur (9). Yapılan anastomozlar hem CH'ndaki vasküler anormallikler nedeniyle hem de yüksek doku endotelin düzeyine bağlı gelişebilecek vazokonstriksiyon sonucunda bölgesel iskemi nedeni ile risk altında olabilirler. Daha önceki çalışmalarda endotelin reseptör blokajının karaciğerde (10) ve endotelinle birlikte bir diğer güçlü vazokonstriktör peptid anjiotensin II blokajının kalp dokusunda (11) yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğu gösterildiği için endotelin reseptörlerinin tamamının bloke edilmesinin CH'ndan etkilenmiş barsak dokusunda yara iyileşmesini olumlu yönde etkileyebileceği varsayımı öne sürülebilir.

Bosentanın CH'nda doku hasarını engelleyebileceğini düşündüren bir diğer kanıt da endotelin reseptör alt tiplerinin işlevlerinden gelir. Şöyle ki; CH'nda normalden fazla olan serbest radikal üretiminin vasküler hipotezle desteklenen kronik iskemiden ziyade iskemi-reperfüzyon hasarı ile daha uyumlu olduğu varsayılmaktadır (8). Vazokonstriktör bir peptid olan endotelinin siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeylerinde artışa yol açtığı bildirilmektedir (12). cGMP artışı nitrik oksid olarak da anılan endotel kaynaklı gevşetici faktörün (endothelium-derived relaxing factor, EDRF) salınmasını artırır. Bu artış rat ve tavşanlarda arteryel damarlara endotelin uygulamasının geçici vazodilatör etkisinden sorumlu tutulmaktadır (13). İskemi-reperfüzyon hasarı E1'in vazokonstriktör etkisi ile çelişen

EDRF'nin vazodilatör etkisi sonucu oluşabilir. Bu noktada reseptör alt tiplerinin etkileri devreye girmektedir. ET_A reseptörleri vazokonstriksiyona aracılık ederken ET_B reseptörleri endotele bağlı vazodilatasyona aracılık ederler (14). Bosentan hem ET_A reseptörlerini hem de ET_B reseptörlerini bloke ederek iskemi-reperfüzyon hasarının gelişmesini engelleyebilir.

3.1. PATOGENEZ:

3.1.a. Genetik Faktörler: CH ve ÜK'in kısmen de olsa genetik bir yatkınlık sonucu oluştuğuna ve bir çok şüpheli gen bulunduğu dair bol kanıt vardır. Genetik faktörler CH'nda ÜK'ten daha baskın bir role sahiptir ve bu bağlamda CH için ailesel yatkınlığın derecesi daha fazla kanıtlanmıştır (15). Hastalığa yatkınlığı belirleyen ve hastalık spesifisiteni etkileyen genler hastalığın yaygınlığı ve şiddeti ile medikal tedaviye cevabı gibi klinik fenotipi belirleyen genlerden farklı görünmektedir. Monozigotik ikizler için konkordans oranları maalesef düşük penetrasyona sahiptir ki bu hastalığın çevresel faktörler gibi diğer nedenlere bağlı olabileceğini destekler.

Yatkınlık genleri iki strateji ile aranır: genome-wide tarama ve aday gen analizi. 1996'da genome-wide tarama ile 16. kromozom üzerinde CH'na yatkınlık geni tanımlandı. Günümüzde bağımsız ve farklı stratejilerle çalışan iki grup bu lokusta uygun geni tanımladı (16). Bu gen NOD2 olarak bilinir ve enfeksiyona direnç oluşturan bitkilerin R faktör genlerine benzer. NOD2 geni, IBD1 lokusu olarak tasarlandı. Bu bölgedeki NOD2 geninin mutasyonları kesin olarak CH ile ilişkilendirilmiştir. NOD proteinleri patojenik bakteriyel sinyaller için sitozolik reseptörler olarak düşünülmektedir; NOD2 monositlerde taşınır ve nükleer faktör kB'yi (NF-kB) aktive eder, ki bu immüno-inflamatuar cevapların oluşması için

gerekli bir anahtar transkripsiyonel faktördür (17). Bu mutasyonlar ailesel CH'lıların %8'inde, kontrollerin ise %4'ünde bulunur. Yine de sadece CH'lı hastalar bu mutasyonlar için homozigottur ve homo zigotluk bir 20-40 faktörü ile CH riskini artırır. NOD2'nin CH'na yatkınlık oluşturduğunu öneren modellerin hemen hepsinde bu molekülün moleküler alanları üzerine iki hipotez geliştirilmiştir. Bunlardan biri; "kaspaz aktivasyonunun varlığıdır ve tanınan alanlar gösterir ki NOD2 apoptozda rol oynar" (18). Diğeri "lösinden zengin tekrarlayan alanların varlığı NOD2 proteininin mikropların tanınması ve doğuştan var olan immünyetede bir role sahip olduğunu gösterir" çünkü lösinden zengin alanlar yapı-tanım reseptörleri olarak adlandırılırlar, mikrobiyal ürünlerin moleküler yapılarını tanıyan proteinlerin bir özelliğidir. Bu nedenle NOD proteinleri yapı-tanım reseptörlerinin bir başka ailesini oluşturabilir, NOD1 ve NOD2 endotoksinleri intraselüler olarak bağlar ve bu inflamatuvar sitokinlerin üretilmesini aktive eden transkripsiyon faktör NF-kB'nin aktivasyonu ile sonuçlanır. NF-kB, CH lezyonlarında artmıştır; TNF α , IL-1, IL-6 ve IL-12'yi içeren çeşitli inflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonu NF-kB aracılığıdır. CH'nda major bir role sahip IL-1 ve TNF α sitokinleri için olanlar, toll-like reseptörler (TLRs) ve NOD2 gibi bir çok reseptörler NF-kB sinyal-transduksiyon yolağına bağlıdır. Böylece NF-kB, bir kısım inflamatuvar sinyaller için son ortak yoldur ve onun inhibisyonu ilaç tedavisi için akılcı bir hedefdir (19).

NOD2 varyantları CH'lıların %20'sinden azında gösterilebildiği için başka yatkınlık genlerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır. Kromozom 12 (IBD2), 6 (IBD3) ve 14'ü (IBD4) içeren diğerkromozomlarda genel kabul gören ek lokuslar haritalanmıştır. Tablo 1 CH'nın patogenezi ile ilişkili genetik faktörleri gösterir.

3.1.b. Çevresel Faktörler: İBH'nın patogenezi için ait yapı bozular arasında en

az anlaşılan ve yerine konması günümüzde belki de en güç olanı CH ve ÜK'in ortaya çıkması ve ilerlemesinde çevresel faktörlerin rolüdür.

Tablo 1: CH'nın patogenezi ile ilişkili genetik faktörler

Hastalık sıklığında etnik farklılıklar (A.skenazi Yahudilerinde yüksek prevalans)
Eşlerde sıklık artmaksızın ailesel kümelenme
Monozigot ikizlerdeki konkordans oranı (%44) dizigotlardakinden (%3-8) daha yüksek
CH ile birliktelik gösteren genetik sendromlar (Turner sendromu, glikojen 1b depo hastalığı gibi)
Genetik olarak ilişkili özgül subklinik belirteçlerle ilişki [Saccaromyces cerevisiae'ye karşı serum antikorları (ASCA)]
Etkilenmiş ailelerde özgül kromozom bölgeleri ile ilişki
Genetiği üzerinde oynanmış hayvanlarda kendiliğinden ortaya çıkan Crohn benzeri hastalık

Bu rolün önemi geçen 50 yıl içinde az gelişmiş ülkelerde ilerleyen endüstrileşme ile hastalığın artması ve gelişmiş dünyada CH'nın sıklığındaki göze çarpan artışla desteklenmiştir. Gelişmiş hijyen, steril ve nonfermante gıdaların tüketimi, aşılama ve intestinal patojenlere ilk maruz kalma yaşını içeren değişen çevresel elemanlar mukozal immün sistemin, barsak mikroflorasının veya her ikisinin gelişmesini etkileyebilir (20). Bireyleri CH'na yatkın kılan genlerin yüksek prevalansı ve hastalık sıklığındaki değişiklikleri açıklamak için çaba harcandığında aynı genlerin temiz olmayan bir dünyada mukozal immün koruma gibi selektif bir avantajının olduğu ileri sürülür (15). Endüstrileşmiş bir toplumda değişen çevre ve hayat tarzıyla bu avantaj biter ve fizyolojiktan patolojik mukozal inflamasyona

ilerleme riski gibi daha büyük mukozal immün aşırı cevaplılıkla ilişkili olduğu için bir sorumluluk haline gelir. Daha gelişmiş dünyada helmintik parazit enfeksiyonlarındaki azalma bu hijyen hipotezinin bir yönüdür ve mekanizma olarak CH'nin prevalansında artışla ilişkilendirilmiştir (21). Helmintler, CH'nin tip-1 yardımcı T hücre (Th1) cevabını karşıt-dengeleyici tip-2 yardımcı T hücre (Th2) cevabıyla ilişkilidir.

Diğer çevresel faktörler hastalık fenotipini etkileyebilir. İBH'nin her bir formunun sonuçları üzerine sigara içmenin etkisi veya zıt etkisi, İBH ve çevresel faktörler arasındaki en entrika oluşturan ilişkiyi meydana getirir. Bir çok rapor sigara içmemenin ÜK'in, sigara içmenin ise CH'nin bir özelliği olduğunu gösterir. Sigara içme CH'nda klinik, cerrahi ve endoskopik rekürrens için bağımsız bir risk faktörüdür ve cerrahi sonrasında hastalık aktivitesini etkiler (22). Nikotin muhtemelen bu ilişkide esas aktif parçadır ancak mekanizma henüz bilinmemektedir. Sigara içiminin hücresel ve sıvısal bağışıklığı etkilediği (23) ve kolonik mukus üretimini artırdığı (24) gösterilmiştir. Sonuç olarak in vivo çalışmaların sonuçları göstermiştir ki nikotin ÜK'te baskın olan Th2 fonksiyonu üzerine inhibitör bir etkiye sahiptir ancak CH'nda baskın olan Th1 hücreleri üzerine etkisi yoktur (25).

Artmış intestinal permeabilite CH'nin patogenezinde rol oynayabilir. Hastaların kendilerine ek olarak semptomsuz birinci derece yakınlarında da artmış permeabilite bulunabilir (21). CH'nin birinci derece sağlıklı akrabalarının artmış permeabiliteye sahip olup olmadığının belirlenmesi hayli patojenik öneme sahiptir çünkü bu ilerleyen yaşamda aşırı inflamasyona ve klinik belirtilere yol açabilen predispozan bir faktör olabilir. Tablo-2 CH patogenezinde etkili çevresel faktörleri özetler.

Tablo 2: CH patogenezine etkili çevresel faktörler

Monozigot ikizlerde tam olmayan konkordans (<%50)
Sigara içiciliğinin hasar yapıcı etkisi
Farklı jeografik bölgelerde yaşayan bazı etnik grupları için riskin değişmesi
Steril ve bozulmamış gıdaların tüketilmesi
Aşılama

3.1.c. Mikrobiyal Faktörler: Mikrobiyal ajanlar İBH patogenezi ile sıkı ilişkili görünmektedir. İBH'nın evrensel bir nedeni olarak tek bir rekürren ajanın suçluluğunu kanıtlayan veriler olmamasına rağmen bu hastalıklar multipl etyolojili heterojen bir grup oluşturabileceği için bu hipotez ihtimal dairesinde düşünülmelidir. Son birkaç yılda *M. paratuberculosis*, measles virüs ve *L. monocytogenes* suçlanmıştır (15). Geçtiğimiz 40 yıl boyunca bunlar ve diğer organizmalar üzerinde yoğun araştırmalar yapılmasına rağmen tek bir spesifik enfeksiyonun İBH'nın patogenezinde tehlikeli olduğu açıkça gösterilememiştir. Normal intestinal flora unsurlarının İBH'nı tetikleyebileceği, başlatabileceği veya katkıda bulunabileceği olasılığı bir başka şaşırtıcı faktördür. Barsak lümenindeki bakteriler dış çevreyle süreklilik arzeden kompleks bir açık ekosisteme sahiptir ve burada insan vücudundaki hücrelerden 10 kat fazla bakteri bulunur. Erken incelemelerde ÜK ve CH'lı hastalar ve normal bireylerde mikrobiyal ekolojideki farklılıkları destekleyen güçlü kanıtlar bulunmamıştır. Yine de son zamanlarda aktif İBH'lı hastalarda, inaktiflerde değil, anaerob bakteriler ve *Lactobacillus* sayısında belirgin bir düşüş bulunmuştur. Hatta kolonik mikroflora ve ÜK patogenezi arasındaki ilişkinin kanıtı spesifik patojenlerden arındırılmış bir çevrede nonpatojenik kolonik bakteriyel mikrofloraya maruz kaldığı zaman kolit gelişen ancak steril germsiz bir ortamda

olduklarında gelişmeyen genetik mühendislik tarafından üzerinde oynanmış hayvanlardan gelir. Bundan başka, hayvanlar geniş spektrumlu antibiyotiklerle tedavi edildiği zaman da deneysel kolit oluşturuldu(21). Normal floranın fizyolojik inflamasyonun bir modülatörü gibi çalıştığı hipotezi, İBH'lı hastalar otolog intestinal bakterilere maruz kaldıkları zaman mukozal mononükleer hücrelerin çoğaldığını gösteren Duchmann ve ark.nın (26) gözlemleriyle önemli biçimde kuvvetlendirilmiştir. Remisyondaki hastalardan aynı hastaların hastalısız mukozalarından hücreler otolog İBH florasına proliferasyonda yetersizdir. İnfeksiyon T hücre toleransını bozar ve intestinal enfeksiyonların yatkın bireylerde kendi floralarına karşı kronik immün cevaba yol açtığı hipotezi caziptir. Çalışmalar İBH'lı hastaların kolon epitelinde yüzeye yapışan ve intraselüler bakterilerin sayısında artış olduğunu göstermiştir (27). Bu gibi gözlemler İBH'nda normal mukoza ve luminal mikroflora arasındaki etkileşimin ve bunlardaki değişikliklerin mekanizmalarının daha fazla belirlenmesi gerektiğini gösterir. Tablo-3 CH patogenezi ile mikrobiyal faktörlerin ilişkisini gösterir.

3.1.d. İmmüno-İnflamatuar Faktörler:

3.1.d.1. CD4⁺ Hücreleri Ve Yardımcı T Hücre Altgrupları: CD4⁺ T hücreleri özgül immün yanıtın kritik yönlerini düzenlerler. CD4⁺ T hücreleri fonksiyonları ve özgül sitokinleri işleme yeteneklerine göre Th1 veya Th2 olarak sınıflandırılmışlardır. Th1 hücreleri hücre aracılı immün cevabı düzenler ve IL-2, IL-12 ve INF- γ salgılaya yetenekleri ile karakterizedirler. Aksine Th2 hücreleri salgısal cevaplara aracılık ederler ve IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 salgırlar. Bu alt gruplar anahtar sitokinler arasında resiprokal olarak bir diğeri düzenlerler. INF- γ Th1 hücreleri tarafından üretilir ve Th2'nin gelişmesini baskılar halbu ki IL-4, IL-10 ve IL-13 Th2 hücreleri tarafından salgılanırlar ve Th1 cevapları inhibe ederler.

ÜK'in sitokin yapıları daha az açık iken CH Th1 sitokinlerle ilişkilidir; ÜK Th1/Th2 dikotomisine tam olarak uymaz ancak en azından oturmuş hastalıkta modifiye Th2 cevabına daha çok benzer (28). Böylece CD4⁺ T hücreleri immün cevabın şekillenmesinde açıkça önemli bir rol oynarlar ve Th1 cevapların inhibisyonu İBH'nın, özellikle de Th1 etkilerinin kanıtlarının en güçlü olduğu CH'nın tedavisinde önemli bir hedef oluşturur. Hatta günümüzde inflamasyona yol açan esas anormalliğin kommensal bakterilere karşı mukozal aşırı cevaplılığa neden olan abartılı T hücre cevabının olduğu bilinmektedir (29). CH ve ÜK'li hastalardaki endojen florayla periferik kan ve kolonik lamina propria CD4⁺ T hücrelerinin çapraz reaksiyonu, bu hastalıkların patogeneziinde konak florasına karşı anormal T hücre-özellik immün cevaplarının önemli olduğunu destekler (26) (şekil1).

Tablo 3: CH patogenezi ile mikrobiyal faktörlerin ilişkisi

Bakteriyel flora mukozal sistemin gelişmesi, yapısı ve fonksiyonunu etkiler
Lezyonlar esas olarak barsağın en yüksek bakteri oranına sahip bölgelerinde gelişir
Gaita diversiyonu distalde iyileşmeyle ilişkilidir
Lezyonlar yatkın bireylerde enflamasyon olmayan barsak lümenine fekal materyal verilmesiyle deneysel olarak oluşturulabilir
CH'lılarda enterik bakterilere karşı immün reaktivite gözlemlenebilir
Antibiyotik veya probiyotiklerle floranın değiştirilmesi yararlı etkiler gösterebilir

İntestinal Th1 aktivasyonu ve sitokin salınımı, doku yıkımının temel mediatörleri olan aktif matrix metaloproteinazlarının meydana gelmesiyle ilişkilidir (29). Ayrıca sitokinler lokal mikrodamarlar üzerine etkilidir, adhezyon moleküllerini up-regüle eder ve inflamatuvar cevabın ve bunu müteakip doku hasarının

büyükliğüne katkıda bulunan nötrofil ve fagositlerden oluşan yardımcı efektör hücrelerin toplanmasını artırır.

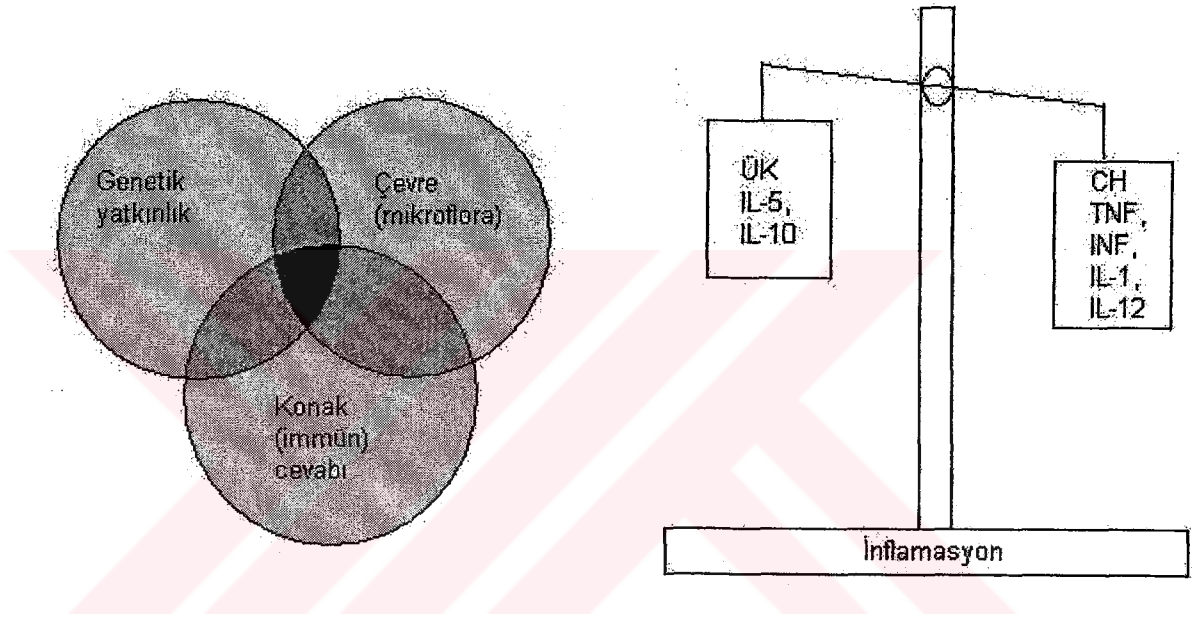
En az 2 mekanizma aktif mukozal T hücreleri düzenler. İlki sağlıklı mukozadaki efektör ve regülatör T hücre alt topluluklarının fonksiyonuna dayanır: efektör T hücreleri intestinal enflamasyona neden olma yeteneğine sahiptir ve regülatör T hücreleri inflamasyonu kontrol edebilir veya önleyebilir. Regülatör T hücrelerinin in vivo immün baskılayıcı aktivitesi IL-10 ve Tümör Büyüme Faktörü β üretimini gerektirir ve T hücre aktivasyonunun negatif bir düzenleyicisi olan sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4) aracılığıyla sinyallenmeye bağlıdır. İkinci mekanizma patojenlerle uğraşan aktif T hücrelerindeki apoptozun hızlanmasıyla immün cevapların sonlanmasından oluşur (21). CH'lılarda mukozal T hücreleri apoptoza dirençlidir, ki bu T hücrelerinin yığılmasına ve inflamatuvar cevabın devam etmesine neden olur (30). Bu direncin, IL-6'nın yüksek mukozal konsantrasyonlarıyla T hücrelerinin sinyallenmesine bağlı olduğu ileri sürülmüştür. CH'nda aktif makrofajlardan salınmış, kendi çözülebilir reseptörü (sIL-6R) ile bir kompleks oluşturan bu sitokin intestinal T hücrelerindeki antiapoptotik gen ekspresyonu kaskadını uyarır (21).

3.1.d.2. İmmünomodülatör Sitokinler:

3.1.d.2.1. IL-2: IL-2 özgül bir immün cevabın başlaması ve devamı için kritik bir kofaktördür. IL-2 doğuştan var olan T hücreleri tarafından aktivasyon sonrası üretilir. Aynı zamanda aktif T hücreleri IL-2 reseptörü işlerler; IL-2 B hücreleri, monositler ve NK hücreler gibi diğer immün hücreler üzerine önemli etkilere sahiptir (31).

3.1.d.2.2. IL-10: IL-10, Th2 hücreler tarafından üretilir ve Th1 hücreleri tarafından IL-2 ve INF γ 'nın üretimini baskılar. Deneysel çalışmalarda IL-10'un

İBH'nda faydalı bir terapötik ajan olabileceğine dair kanıtlar ortaya konmuştur. Gen- hedeflenmiş IL-10 yetersiz farelerin ince ve kalın barsağında CH'mı andıran şiddetli transmural ve granülomatoz enflamasyon gelişir ve inflamasyon IL-10 uygulamasıyla önlenir. İBH'lılardan alınan lamina propria mononükleer hücrelerin IL-10 ile tedavi edildiği zaman IL-1 ve TNF salgılanmasını uygun biçimde down-regüle ettikleri gösterilmiştir (32).



Şekil 1: Sitokin üretiminden etkilenmiş mukozal hasarın şematik görüntüsü. Yatkın bireylerde bakterilere karşı mukozal immün cevabın düzenlenmesinde bozulmalardan ötürü İBH gelişebilir. CH'nda sitokin profili bir Th1 cevabını yansıtırken ÜK Th1/Th2 dikotomisine tam uymaz ancak Th2 patternine daha çok benzer.

3.1.d.2.3. Transforming Growth Factor β (TGF β): TGF β kısmen ligand bağlayan hücre tipine bağlı olarak proliferasyon, diferansiyasyon ve fonksiyon üzerine farklı etkileri olan bir sitokindir. Bu büyüme faktörü hematopoetik ve

nonhematopoetik bir çok hücre tipi gibi T hücreleri tarafından da üretilebilir. Hem ÜK hem de CH'nda lamina propria hücrelerinde artmış TGF β mesaj ekspresyonu bulundu ve çeşitli çalışmalar TGF β 'nın Th1 efektör hücreleri üzerine güçlü süpresif etkisini saptamıştır (29). İBH'nda şimdiye kadar geçerli bir çalışma yoktur.

3.1.d.2.4. INF γ : İBH'nın tüm genetik modellerinde INF γ yükselir ve Th1 cevaplarının gelişmesinde kritik gibi görünür. İBH'nın tedavisinde hedef Th1 cevapları azaltmak ise INF γ 'nın direkt nötralizasyonu akılcı bir yaklaşımdır. Şaşırtıcı olarak, anti INF γ uygulanan IL-10 knock-out farelerde fayda görülmedi (29). Şimdiye kadar insanlarda kullanımına dair rapor yoktur.

3.1.d.2.5. IL-12: IL-12 bakteriye maruziyet veya proinflamatuvar sitokinlerle aktivasyon sonrası monosit/makrofaj ve lenfositler tarafından üretilir. NK hücre aktivitesini uyarmasına ek olarak tek başına veya INF γ ile birlikte CD4⁺ hücrelerin Th1 olarak farklılaşmasını uyarabilir. Bu nedenle IL-12'nin nötralizasyonu İBH'nda yararlı olabilir çünkü anti-IL-12 tedavisi kolitte belirgin düzelmeye yol açar (29).

3.1.d.3. Proinflamatuvar Sitokinler:

3.1.d.3.1. IL-1 ve TNF α : IL-1 ve TNF α proinflamatuvar özellikler taşırlar ve İBH'ndaki mukozal inflamasyonun büyüklüğünün belirlenmesinde kritik rol görürler. Her iki sitokin aktivasyondaki monosit ve makrofajlardan salınırlar ve intestinal makrofaj, nötrofil, fibroblast ve düz kas hücrelerini prostaglandinler, proteazlar ve diğer çözünebilir inflamasyon ve zedelenme mediatörlerini düzenlemek için uyarırlar. İBH'nda IL-1 ve TNF α 'nın yüksek ekspresyonu bulundu ve bu hastalıkların gelişmesinde TNF α 'nın önemli rolü olduğu doğrulandı. TNF'ün barsaktaki mukozal enflamasyonda rol oynayabilecek etkileri epitelyal bariyerin bozulması, villüs epitelyal hücrelerinde apoptozun uyarılması ve barsak epitel

hücrelerinde kemokinlerin salınmasını içerir. TNF, sitokin ve kemokinlerin ekspresyonunu indükleyerek olduğu gibi E-selektin ve interselüler adhezyon molekülü (ICAM)-1 gibi diğer adhezyon moleküllerini up-regüle ederek endoteli aktive eder. TNF de nötrofil ve makrofajları aktive eder ve B hücrelerini uyarır. IL-12 ve IL-18'den bağımsız olarak mukozal T hücrelerinden $INF\gamma$ üretimini artırır. T hücrelerinde CD44'ü aktive eder ve intraepitelyal lenfosit proliferasyonunu ve migrasyonu artırır. TNF fetal barsaktan gelen stromal hücreleri de doku hasarına yol açan matris metaloproteinazlarını (MMPs) üretmek için uyarır. TNF dentritik hücreleri barsaktan seferber eder. TNF granülom oluşumunda belirleyici gibi görünmektedir ve IL-6, IL-1 ile birlikte TNF İBH'nın yapısal semptomlarına katkıda bulunabilir ve akut faz proteinlerinin oluşmasına yol açar (33).

TNF α , dış membrana proteini bağlayan, olağan dışı uzun bir sinyal petidi içeren bir öncül olarak nakledilir. Lokal ve sistemik inflamatuvar reaksiyonlar esnasında membrana bağlı TNF α , TNF α dönüştürücü enzim (TACE) olarak adlandırılan özgün, çinko-bağımlı bir metaloproteaz tarafından ekstraselüler olarak bölünerek TNF α 'nın hem kompartmentalize hem de dolaşan sitokin olarak iş görebilen çözünebilir homotrimerik formu oluşturulur. Başlangıçta TNF α 'nın bölünmesinin major son yol engeli olduğu düşünüldü ancak sonradan membranda taşınan TNF α 'nın hem p55 hem de p75 TNF reseptörleri ile etkileşerek hücre-hücre teması esnasında bir homotrimer olarak işlev gördüğü belirlendi (34). Çok yeni bir çalışma (35) normal kolon mukozasında epitelyal hücreler gibi mononükleer hücrelerin de biyoaktif TACE taşıdığını ve aktif ÜK'li hastalardan alınan mukozal biyopsilerde TACE aktivitesinin arttığını ancak CH'nda artmadığını bildirir.

3.1.d.3.2. IL-11: IL-11 mezenkimal hücrelerden çıkartılan tuhaf bir sitokindir. IL-6 ailesinin bu üyesinin ilk olarak, günümüzde pazarlama endikasyonu

olan, kanser kemoterapisindeki artmış platelet üretimini artırma özelliği saptandı (36). Hayvan modellerinde IL-11'in kolit üzerine yararlı olduğu gösterilmiştir (37).

3.2. KLİNİK

CH GİS'in her bölgesinde görülebilmekle birlikte, en sık tutulum yeri terminal ileum ve kolonun proksimal kısmıdır. Olguların yaklaşık %50'sinde ileokolonik tutulum, %40'ında sadece ileal tutulum ve %10'unda kolonik tutulum vardır. Jejunum, duodenum, mide ve özefagusta tutulum nadirdir. Tutulum yerindeki bu çeşitliliklerin yanı sıra, tuttuğu yerdeki patolojik durumlara göre CH'nda farklı klinik tablolar oluşmaktadır. Buna göre CH'nda inflamatuvar, stenozan, fistülizan tip ayrımı yapılır. Hastalık kronik ve sessiz gidişlidir, hastalıklı bölgede barsak duvarı tam kat tutulabilir. Bu nedenle uzun süren inflamasyon sonucunda fibröz doku ve stenotik değişikliklere bağlı darlıklar oluşabilir. İnflamatuvar aktivitenin devamında proteaz ve metalloproteazların aktivasyonu sonucu internal ya da daha sıklıkla cilde kadar ilerleyen fistüller gelişir.

Hastalarda barsak lümeninde daralmaya bağlı olarak ani başlayan, kolik tarzda karın ağrıları, bulantı, kusma olabilir. Bu hastaların fizik muayenesinde karın sağ alt kadranda ağrılı dolgunluk ya da kitle palpe edilir. Barsakta inflamatuvar aktiviteye bağlı olarak ishal, kilo kaybı, ateş olabilir. Bu tablonun akut apandisit ile sıkça karıştırıldığı unutulmamalıdır. Kolon tutulumlu CH'nda ishal ön planda olabilir, kanlı dışkılama ülseratif kolite göre daha nadirdir, karın ağrısı ve kilo kaybı olabilir. Rektum nadiren tutulur. Bu tabloların beraberinde bazı hastalarda perianal bölgede fistüller görülebilir. Bazı hastalarda ise tablo öncelikle perianal fistül şeklinde başlayabilir. Fistüllerin görülebileceği diğer yerler karın bölgesi, skrotum, vagina, kalça ve sakral bölgedir. Appendektomiden sonra yara yerinden fistül gelişmesi

CH'ni düşündürmelidir. Bazı hastalarda gastrokolik, ileokolik, kolokolik internal fistüller gelişebilir, bunlarda ciddi ishal, ağır malabsorbsiyon tabloları vardır. Fistüllerin retroperitoneal bölgeye açılması retroperitoneal bölgede flegmon ve abselere neden olur. Mesaneye ve üriner sistemin diğer yerlerine de fistülleşmeler olabilir. Üst GİS tutulumlu CH'nda tablo çok belirgin değildir. Özefagus tutulumunda disfaji, yanma olabilir. Mide ve duodenumda H. pylori'nin negatif olduğu inatçı ve komplikasyonlu peptik ülserlerde CH akla gelmelidir.

CH'nın geniş bir kliniği olduğundan bu hastalığı sınıflamak gerekmiştir. Bu nedenle 1998 yılında Viyanada'ki Dünya Gastroenteroloji Kongresi'nde bir sınıflama önerilmiştir (tablo-4). Bu sınıflamaya göre CH'nın davranışı ALB sembolleri (A= Age, yaş; L= Localization, lokalizasyon; B= Behavior, davranış) ile belirtilmektedir.

Tablo 4: CH'nın Viyana Sınıflaması

Tanı esnasında yaş	A1	<40 yaş
(Age)	A2	>40 yaş
Lokalizasyon	L1	Terminal ileum
	L2	Kolon
	L3	İleokolonik
	L4	Üst gastrointestinal
Davranış (Behavior)	B1	Striktür/penetrasyon yok
	B2	Striktürlü
	B3	Penetran

CH'nda %25 oranında ekstra intestinal bulgular mevcuttur. Çomak parmak, oral aftlar, eritema nodozum, piyoderma gangrenozum, üveit, episklerit görülebilir.

Diz, el ve ayak bileklerinde, metakarpofalangingial ve interfalangingial eklemlerde seronegatif artrit, ankilozan spondilit, sakroileit görülebilir. Hepatobilyer sistemle ilgili olarak safra taşları, primer sklerozan kolanjit, perikolanjit, otoimmün hepatit, hepatosteatoz görülür. Üriner sistemde ürik asid ya da oksalat taşları, böbrekte amiloidoz saptanabilir. Derin ven trombozlarına rastlanır. Kolon tutulumlu CH'nda kolorektal kanser gelişme riski vardır.

CH'nın klinik aktivitesini belirlemek için bazı skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Bunlardan en sık kullanılanları "Crohn Disease Activity Index- CDAI" ve "Harvey-Bradshaw" aktivite indeksleridir. CDAI sisteminde hastaların ishal durumları, karın ağrıları, genel durumları, ekstra intestinal tutulumları, antidiyareik kullanımları, abdominal kitle varlığı, anemi, kilo kaybı gibi özellikleri hafiften ağıra doğru puanlanarak indeks hesaplanır. Harvey-Bradshaw aktivite indeksi daha pratiktir, CH'nda klinik aktiviteyi belirlemede daha sık kullanılır (tablo5). Klinik aktivite kriterleri hastalığın tedavi yaklaşımının belirlenmesi ve uygulanan tedaviye cevabı değerlendirmede kullanılır.

3.3. TANI

Bu hastalıkla ayırıcı tanıya giren bir çok hastalık bulunduğundan CH tanısı koyarken hekimlerin çok dikkatli olması gerekir. Radyolojik incelemeler CH'nın tanısında önemli bir yere sahiptir. İnce barsak pasaj grafisi ya da enterokliziste hastalığın en çok tutulduğu yer olan terminal ileumda, hastalığın derecesine bağlı olarak mukozada düzensizlik, ödem, aftöz ya da derin ülserlerin varlığı, kaldırım taşı görünümü, lümende daralma, striktür, dikensi çıkıntılar şeklinde fistül başlangıçları ya da fistüller görülebilir. Bilgisayarlı tomografi (BT) ile batın içi inflamasyon, kitle, abse bulgularının ayırmasını yapmak mümkündür. Terminal ileumda inflamasyon olan hastalarda BT ile ileum duvarı kalın görülebilir, stenotik olgularda ince barsak

lūmeninindeki darlık ve genişlemeler yine BT ile saptanabilir. Özellikle fistüllü olgularda manyetik rezonans incelemesi ile perianal bölgedeki fistülleri net olarak göstermek mümkündür.

Tablo 5: CH'nda Harvey-Bradshaw aktivite indeksi

Genel durum	Çok iyi	0
	Orta	1
	Kötü	2
	Çok kötü	3
	Ağır	4
Karın ağrısı	Yok	0
	Hafif	1
	Orta	2
	Çok	3
İshal sayısı	Her seferi 1 puan	
Karında kitle	Yok	0
	Şüpheli	1
	Var	2
	Var ve ağırlı	3
Komplikasyonlar	Her biri 1 puan	

İndeks >5 ise hastalık aktif, <5 ise remisyonda

Lezyonları doğrudan görme ve biyopsi alma imkanı sağladığından, endoskopik incelemeler CH'nın tanısında çok önemli bir yere sahiptir. Kolonoskopik incelemedeki bulgular CH'nın aktivitesi ve süresine göre farklı olabilir. Erken dönemde aftöz ülserler ve mukozada ödem nedeni ile hafif engebeli görünüm saptanabilir. Orta derecede aktif olgularda aftöz ülserler sayıca ve çapça artmış olup,

ayrıca yıldız şeklini alabilirler. Hastalık ilerledikçe submukozal ödem belirginleşir, ülserlerle birlikte kaldırım taşı görünümü ortaya çıkar. Bazı olgularda daha derin ülserlere rastlanır. Kronik ve ağır aktiviteli olgularda terminal ileum ağzında ve terminal ileumda deformasyon, daralmalar, kolonda darlıklar görülür.

3.3.a. Patoloji: Lezyonlardan alınan biyopsi materyallerinin histopatolojik incelemesinde intestinal mukozanın herhangi bir yerinde inflamasyon görülür. Yüzeysel inflamasyonun lenfoid agregatlara yakınlığı CH için karakteristiktir ve bu kısımda aftoid ülserler de görülür. Goblet hücrelerinde mûsin birikimi vardır. İnflamasyonun dağılımı multifokal olup, yoğunluğu odaktan odağa değişebilir. İnflamasyon horizontal değil, duvara doğru vertikal uzanır. İnflamatuvar hücrelerin çoğu histiyosit, nötrofil ve eozinofil gibi polimorf hücrelerden oluşur. Kriptlerin tutulduğu aftoid tip inflamasyonda, histiyosit birikiminin olması CH'nda erken bir bulgudur. Nonkazeöz granulomların varlığı, inflamasyonun muskularis mukoza ve submukozaya yayılması CH'nı destekleyen bulgulardır.

Özellikle kolonun tutulduğu CH'nda bazen ÜK-CH ayrımını yapmak zor olabilir. Tablo 6'da ÜK ile CH arasındaki farklar belirtilmiştir. Tedavinin şeklini belirlemede ve cerrahi tedavi düşünülen olgularda bu ayrımı yapmak gerekmektedir.

CH'nın ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken diğer hastalıklar intestinal tüberküloz, akut apandisit, divertikülit, intestinal lenfoma, gluten enteropatisi, kanserler, Behçet hastalığı ve diğer vaskülitik hastalıklar, iskemik barsak hastalıkları, infeksiyöz ishal nedenleri, radyasyon enteriti ve koliti ile malokoplakidir (38).

3.4. TEDAVİ

Bu hastalıkta tedavi hastalığın yerleşim yerine ve ağırlık derecesine göre belirlenir. Tedavideki amaç hastalığı remisyona sokmak ve remisyonun devamını sağlamaktır.

Tablo 6: ÜK ile CH arasındaki farklar

	ÜK	CH
Kanlı dışkılama	Çok sık	Çok nadir
Karında kitle	Çok nadir	Çok sık
Perianal fistül	Çok nadir	Çok sık
İshal	Kolon tipi	İnce barsak tipi ya da mikst tip
İleus tablosu	Çok nadir	Sık
Rektum tutulumu	%95-100	%25-50
Terminal ileum tutulumu	Çok nadiren inflamasyon	Ülserli ve stenotik
Yalnız ince barsak tutulumu	Yok	%30-35
İnce ve kalın barsağın birlikte tutulması	Yalnız kalın barsak	%50-60
Toksik megakolon	Seyrek	Nadir
İltihabi reaksiyon yapısı		
Ülserasyonlar	Birleşen, düzensiz	Çok sayıda lineer penetran
Transmural fibrozis	Çok nadir	Çok yoğun
Granulomlar	Çok nadir	Sık
Sekonder kanser	Sık	Seyrek
PANCA *	%70	%20
ASCA	%15	%65

(*) perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikor

3.4.a. Hafif-Orta Aktiviteli CH'nda Tedavi

Bunlar karında kitle ve obstrüksiyon tablosu olmayan, yemesi normal, kilo kaybı %10'dan az mobil durumdaki hastalardır. Bu durumdaki hastalarda aminosalisilatlar yeterli olabilir. Hastalık kolonda ise sülfasalazin ya da meselamin oral yolla verilir. Hastalığın ileuma lokalize olması durumunda meselamin preparatlarından biri seçilmelidir. Sülfasalazinin günlük dozu 3-6 gr'dır. Mesalamin günlük dozu ise 2-3 gr'dır. Ayrıca hafif etkili CH'nda antibiyotiklerin etkili olduğu gösterilmiştir. Oral yolla 10-20 mg/kg/gün dozunda verilen metronidazol ileokolonik tutulumlu CH'nda aminosalisilatlar kadar etkili bulunmuştur. 3 ay süreyle verilen metronidazolden sonra 1. yılda endoskopik ve klinik relaps azalmakla birlikte, 2. ve 3. yıllarda bu olumlu etki görülmemektedir. Metronidazol ile birlikte siprofloksasin kombinasyonlarının daha etkili olduğu belirtilmektedir. Bu kombinasyon üç ay süreyle uygulandığında kortikosteroidler kadar etkili bulunmuştur. Perianal bölgede hastalığı, enterokutanöz fistülü olan kolon tutulumlu Crohn'lularda antibiyotikler yararlı olabilmektedir. Hafif-orta aktiviteli, ileum ve sağ kolon tutulumlu CH'nda budesonid, prednisolon kadar etkili bir kortikosteroiddir. Budesonid 9 mg/gün dozunda oral yolla 12 hafta süreyle verildiğinde steroide bağlı yan etkiler minimal derecede görülmüştür. Budesonid hastaların %75'inde klinik remisyonu sağlar, relapsları geciktirir. Aminosalisilatlar, antibiyotikler ya da kortikosterooidlerle tedavi edilen hafif-orta aktiviteli hastalarda tedavinin etkisi 8-12 hafta süresince gözlenir. Hasta remisyona girerse idame tedavisine geçilir. Hasta iyileşmemiş ise daha etkili tedavi seçenekleri uygulanır.

3.4.b. Orta-Ağır Aktiviteli CH'nda Tedavi

Ateş, belirgin kilo kaybı, anemi, karın ağrısı, kusma yakınması olan hastalar ve hafif-orta aktiviteli olup tedaviye cevap vermeyen hastaların tedavisi bu kısımda ele

alınacaktır. Bu grupta ön planda verilecek ilaç kortikosteroiddir (KS). Prednisolon 40 mg/gün şeklinde başlanarak, aynı dozda 4 hafta süreyle verilir, bu süre sonundaki remisyon derecesi %50-70'dir. Bu süre sonunda klinik ve laboratuardaki düzelmeyi takiben prednisolon tedavisi haftada 4 mg azaltılarak, 8 haftada kesilir. KS'ler yan etkileri nedeni ile idame tedavisinde kullanılmazlar. Bazı olgularda steroid azaltılmaya başlandığında klinik alevlenme olursa, steroide bağımlılık durumu söz konusudur. Bu hastalarda azatioprin (1-2 mg/kg/gün) ya da 6-merkaptopurin (1-1.5 mg/kg/gün) başlanır. Bu ilaçların etkisi kullanılmaya başladıktan 10-12 hafta sonra ortaya çıkar, ilaçların etkisi görülene kadar KS tedavisine devam edilmelidir. KS tedavisine bu ilaçların eklenmesi remisyon derecesini artırır. Hastalarda remisyon sağlanmazsa alternatif tedaviler seçilmelidir. Hastalarda bu amaçla tümör nekroz faktör (TNF) monoklonal antikoru olan "İnfliximab" kullanılır. Tek bir doz (5 mg/kg) İnfliximabın infüzyonundan 4 hafta sonra klinik cevap oranı %65, remisyon oranı %31'dir. İnfliximab histolojik iyileşme sağlamakta, enterokutanöz fistülleri iyileştirmekte ve drenajı azaltmaktadır. Bazı olgularda infüzyonun 8 hafta ara ile tekrarlanması gerekmektedir. Yan etkileri anti-DNA antikoru ve lupus oluşturması, erken ve geç infüzyon reaksiyonlarıdır. İnfüzyondan önce hastalar tüberküloz açısından dikkatlice araştırılmalıdır.

3.4.c. Ağır-Fulminan Aktiviteli CH'nda Tedavi

Bu bölümde oral KS'e cevap vermeyen, şiddetli karın ağrısı, obstrüksiyon ya da abse bulguları olan, ateşli, kaşektik hastaların tedavisi ele alınacaktır. Bu hastalar hastanede tedavi edilmeli, cerrahi konsültasyon yapılmalıdır. İntravenöz (IV) sıvı, elektrolit replasmanları, parenteral hiperalimentasyon, gerekli durumlarda kan transfüzyonları yapılmalıdır. Yüksek ateş, toksik görünüm varsa geniş spektrumlu antibiyotikler IV yolla verilir. Ultrasonografi ve BT tetkiki yapılır, ortaya çıkmış

abseler perkutan ya da cerrahi yolla drene edilir. İnflamasyon ya da yapışıklıklara bağlı ileus tablosunda gelen hastaya nazogastrik dekompresyon uygulanmalıdır. Bu hastalara IV yolla geniş spektrumlu antibiyotiklerle birlikte IV steroid tedavisi başlanır. İleus tablosunda 24-36 saatte gerileme olmazsa cerrahi girişim düşünülür. İleus tablosunda olmayan ancak durumu ağır olan hastalarda IV prednisolon tedavisine 40-60 mg dozunda 5-7 gün devam edilir, durumu düzelen hastada bu süreden sonra aynı dozda oral KS tedavisine devam edilir. KS tedavisine cevapsız hastalarda siklosporin ya da “infliximab” düşünülebilir. Ancak fulminan olgularda “infliximab” yeterince araştırılmamıştır. KS’e cevapsız CH’nda siklosporin IV yolla verildiğinde, ÜK’de olduğu gibi etkili olsa da, uzun süreli etkisi sınırlıdır. Ağır-fulminan tablodaki hasta ilaç tedavisi ile remisyona girdiyse bunlara azatioprine ile idame tedavisi mutlaka verilmelidir. Medikal tedaviye cevap vermeyen ağır-fulminan ve toksik tablodaki CH’nda cerrahi tedavi düşünülür.

3.4.d. İdame Tedavisi

Sülfasalazin, meselamin orta ve ağır aktiviteli CH’nın idame tedavisinde etkili değildir. Ayrıca KS’lerin de CH’nın idame tedavisinde yeri yoktur. Günümüzde CH’nın idame tedavisinde kullanılan ilaçlar azatioprin ve 6-merkaptopurindir. Azatioprin 1-2 mg/kg/gün dozunda uzun süre kullanılmaktadır, bir yıllık kullanımda relaps oranı %11, beş yıllık kullanımda %32’dir. İdame tedavisinde bir diğer uygulama “İnfliximab”dır. Bu ilacın 5 mg/kg dozunda 0,2 ve 6. haftalardaki infüzyonunu takiben, 8 haftalık aralarla infüzyona devam edildiğinde, 30 hafta süreyle hastaların KS’e ihtiyaç göstermeden remisyonda kaldıkları gözlenmiştir. Bu uygulamaya azotioprin ya da 6-merkaptopurin ilavesi idame tedavisinde daha da yararlı olmaktadır (38).

3.4.e. Tedaviye Dair Yeni Görüşler:

3.4.e.1. Konvansiyonel Tedavi:

3.4.e.1.1. Azathiopurine Ve 6-Mercaptopurine: Purine analogları olan AZA ve 6-MP'in İBH üzerine etkinliği iyi tanımlanmıştır. Bundan dolayı son çalışmalar bu ilaçların optimal kullanımları üzerine odaklanmıştır (39). AZA, eritrosit ve diğer dokularda bulunan glutatyon gibi sülfidril içeren bileşikler tarafından nonenzimatik nükleofilik bir yolla çabucak 6-MP'e çevrilen bir ön ilaçtır. 6-MP'i metabolize etmek için 3 enzim sistemi yarışır: 6-MP'i inaktif metabolitlere yıkan ksantin oksidaz ve tiyopurin metiltransferaz (TPMT) ve hipoksantinfosforibozil transferaz (HPRT), ki bunu takip eden çeşitli enzimler 6-MP'i inaktif metabolitlere ve 6-tiyoguanin nükleotidlere (6-TGNs) çevirir (40). 6-MP, TPMT ve HPRT tarafından asetilize edilerek 6-metil-iyonozin 5'monofosfata da çevrilebilir. 6-TGNs protein, RNA ve DNA sentezini ve böylece hücre büyümesini inhibe eden purin antagonistleridir. TPMT aktivitesinde belirgin genetik bir polimorfizm gözlenmiştir (39). Bu enzimatik aktivite gerçekte popülasyonun %0.3'ünde yoktur, %11'inde heterozigot olarak düşüktür ve %89'unda normaldir (40). Bu genetik varyasyon tedaviye bireysel cevap ve toksisite gelişme riski üzerine muhtemelen etkilidir. AZA/6-MP'in CH'nda rolü iyi belirlenmesine rağmen ÜK tedavisinde bu immünomodülatörlerin kullanımı daha az açıklık kazanmıştır.

3.4.e.1.2. Antibiyotikler: İBH'nda merkezi rol bakteriyel florayla ilişkili olarak gösterilse de İBH'nın tedavisinde antibiyotiklerin rolüne ilişkin çok az veri vardır. Bunlar CH'nın tedavisinde uzun süredir başarıyla kullanılırken ÜK'teki etkinlikleri hakkında inandırıcı kanıtlar yetersizdir. Yeni bir çalışma antimikobakteriyel tedavinin özellikle *Mycobacterium avium*'un kanıtlandığı hastalarda şiddetli CH'nın

tedavisinde etkili olduğunu gösterdi (41). Bu, infeksiyonun CH'nda nedensel rolü olduğunu ve kürün olası olduğunu destekler.

3.4.e.2. Konvansiyonel Olmayan Tedaviler:

3.4.e.2.1. Biyolojik Tedaviler: CH ve ÜK'in altta yatan mekanizmaları hakkında son bilgiler yeni tedavi yaklaşımlarının tanımlanmasına yol açmıştır. Aynı zamanda moleküler biyolojideki teknik gelişmeler şaşırtıcı keşiflere yol açmıştır. Biyolojik tedaviler, immün sistem aktivasyonunun uç etkisini çevreleyen sitokin ve kemokin efektör moleküllerin karışık kaskadında özel bölgeleri hedef almak için tasarlanmıştır. Bu tedaviler 5 geniş kategoriye kapsarlar: (1) otolog veya donör hücre popülasyonlarını değiştirebilen tekniklerden oluşan hücre ve gen tedavileri, (2) doğal biyolojik preparatlar ve izolatlar (pıhtılaşma faktörleri veya immünoglobulinler gibi kan veya serumdan izole edilen protein), (3) rekombinant peptid veya proteinler (sitokinler, sitokinler ve diğer uygun ligandlar için çözülebilir reseptörler ve reseptör antagonistleri), (4) antikor-tabanlı tedaviler (monoklonal antikorlar gibi), (5) nükleik asit tabanlı tedaviler (antisense oligonükleotidler gibi).

3.4.e.2.1.a. Gen Tedavisi: İBH'nın patogeneze bir mi birden fazla mı genin katkıda bulunduğu dikkate alınmaksızın göz önünde tutulan bir optimizm vardır ki çalışmalar İBH'nda yatkınlık genlerinin belirlenmesini sağlayacak ve terapötik yararlar gibi erken klinik sonuçlara neden olacaktır. Örneğin hücre ve gen tedavisi, viral veya plasmid vektörlerle in vivo olarak yapılabilir (21).

Th1 cevapların Th2 sitokinler tarafından dramatik olarak down-regüle edilebileceğinden yola çıkan Hogaboam ve ark, kemirgen IL-4 taşıyan rekombinan bir human adenovirus 5 vektörü kullanılan (Ad5IL-4) ratlarda IL-4'ün trinitrobenzen sulfonik asit (TBNS) kolitini önleyip önleyemeyeceğini incelediler (42).

İntraperitoneal olarak verilen virüs karaciğer, diafragma ve kolonda infekte hücrelere

yol açtı. IL-4 serum düzeyleri yükseltildi. Çalışma gösterdi ki Ad5IL-4 vektörü verilen ratlar kontrol bir viral vektör verilen ratlardan daha az doku hasarı, daha düşük mukozal INF γ konsantrasyonları, daha az indüklenbilir nitrik oksit sentaz ve mukozada daha az nötrofile sahipti.

3.4.e.2.1.b. İmmünoinflamatuvar Faktörlerin Manuplasyonu:

3.4.e.2.1.b.1. Anti-CD4 Antikorlar: Anti-CD4 antikorlar bir çok immün hastalıkta kullanılmıştır, CH ve ÜK'te de kullanımına çalışılmaktadır. Bir CD4 depletan antikor (cM-T412) bir açık çalışmada test edildi (şiddetli steroide dirençli toplam 18 CH ve 4 ÜK'li hasta) (43). 7-11 günlük bir tedavi sonrası hastalar klinik ve endoskopik iyileşme/remisyon gösterdi.

Diğer bir açık çalışmada (44), CD4 nondepletan antikorları (MAX.16H5 ve B-F5) aktif hastalıklı toplam 16 CH, 9 ÜK'liye uygulandı (12 CH'sı standart tedavilere dirençliydi). 9 ÜK'li hastanın 5'inde remisyon sağlanırken 16 CH'sının yalnızca 6'sında remisyon sağlandı. Böylece CD4'e depletan antikorlar nondepletan antikorlardan daha etkili görünmektedir. Bu tedavi şeklinin güvenli görünmesine rağmen CD4 sayısının uzun süre azaltılması ve fırsatçı enfeksiyon riski geniş çaplı kullanımlarını engeller.

3.4.e.2.1.b.2. IL-10: Hafif-orta derecede aktif veya kronik olarak aktif CH'nın tedavisinde IL-10'un güvenilirliği ve etkinliğine ilişkin 2 tane çok merkezli, çift kör, plasebo kontrollü çalışma vardır. İlkinde tedaviye dirençli CH'lı 329 hastaya subkutan (SC) insan rekombinant (rhu) IL-10 1, 4, 8, 20 μ g/kg veya plasebo 28 gün verildi (45). Tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Yine de 8 μ g/kg doz grubunda klinik iyileşmeye bir eğilim gözlemlendi. İkinci çalışmada (46), hafif-orta derecede aktif CH'lı 95 hastaya 28 gün boyunca 1, 5, 10, 20 μ g/kg SC rhu IL-10 veya plasebo verildi. Tedavi sonrasında 5 μ g/kg rhuIL-10

grubunda klinik remisyon ve endoskopik iyileşme oranı %23,5 plasebo grubunda ise %0 idi.

3.4.e.2.1.b.3. IL-11: Aktif CH'nda rhuIL-11 üzerine pilot bir çalışma platelet ve diğer akut faz reaktanlarının üretimini minimize eden dozaj rejimlerinin etkinliğini gösterdi (47). Steroid almayan aktif CH'lılarda rhuIL-11 üzerinde yapılan daha geniş bir randomize kontrollü çalışma da bu etkinliği doğruladı. Haftada bir kez 15 mg/kg dozunda SC rhuIL-11 uygulanan hastalarda remisyon oranı %37, plasebo verilenlerde ise %16 (<0,05) idi (48). Bu rejimin güvenlik profili mükemmel gibi görünüyordu; hastalarda sadece minör enjeksiyon bölgesi reaksiyonlar gözlemlendi.

3.4.e.2.1.b.3. TNF Blokajı: Nötralizan anti-TNF antikoru üzerinde yapılan çalışmalar onların CH'nda etkinliğini doğruladı. Infliximab %75 insan ve %25 kemirgen ardışıklarını içeren kimerik bir IgG₁ monoklonal antikordur. Günümüzde İBH'nın tedavisinde en çok incelenmiş biyolojik ajandır ve çeşitli ülkelerde CH tedavisinde kullanımı için onaylanmıştır. Infliximab'ın klinik ve endoskopik iyileşme/remisyonu çabuk indüklemeye etkili olduğunu gösteren ilk açık-etiketli çalışmalar (49,50) çeşitli kontrollü çalışmalarla doğrulanmıştır.

Infliximab üzerine ilk randomize, plasebo kontrollü çalışma tek bir kör infüzyon sonrası 4 haftalık cevap oranlarına odaklandı. Tüm hastalar diğer tedavilere rağmen orta-şiddetli hastalığa sahipti veya daha önce immünomodülatörlerle tedaviye cevapsızlardı. Tek bir infüzyon hastaların %65'inde CDAI'te %70'ten fazla düşüş sağlarken plasebo grubunda cevap oranı %17 idi. En yüksek cevap oranı 5 mg/kg dozla tedavi edilen hastalarda gözlemlendi (%81); her nedense 10 veya 20 mg/kg dozunda tedavi edilenlerde cevap oranları daha düşüktü (%50 ve 64) (51).

Monoklonal antikor CDP571, füzyon peptidi etanercept, fosfodiesteraz inhibitörü

oxpentyfilline ve thalidomide değişik inceleme fazlarında olan TNF antagonistleridir (21).

TNF'yi inhibe etmenin bir diğer yolu gen ekspresyonu ve hücre proliferasyonu gibi önemli hücresele olayları düzenleyen sinyal-çeviren enzimler, mitojen-aktif protein kinazların (MAPKs) inhibisyonudur. Bir guaniltidrazon olan CNI-1493 ile MAPKs'ın inhibisyonunun etkinliği şiddetli CH'lı 12 hastaya 12 gün için günlük 8 veya 25 mg/m² CNI-1493 randomize olarak verilerek test edildi. Klinik remisyona 4. haftada hastaların %25'inde, 8. haftada %42'sinde görüldü. Hastaların biri dışında tümünde endoskopik iyileşme görüldü. Infliximabın yetersiz kaldığı 6 hastanın 3'ünde cevap gözlemlendi, bunların 2'sinde remisyona sağlandı (52).

3.4.e.2.1.b.5. Adhezyon molekülleri ve lökosit kümelenmesi: Steroid bağımlı CH'lı hastalarda yapılan randomize, çift kör, plasebo faz II bir çalışmada ICAM-1'in anti-sense inhibitörü olan ISIS 2302'nin etkinliği ve güvenilirliği incelendi. Sonuçta bir aylık tedavi dönemi sonunda plasebo ile karşılaştırıldığında ISIS 2302 ile tedavi edilen hastaların belirgin olarak daha büyük bir bölümünde remisyona sağlandı (53).

3.4.e.2.2. Biyolojik Olmayan Tedaviler:

3.4.e.2.2.a. Yeni İmmünomodülatör Ajanlar: Tipik olarak transplant ve otoimmün hastalarda kullanılmak için yeni immünomodülatör ajanlar geliştirilmiştir. Bunların çoğunun İBH'ndaki olası aktiviteleri incelenmiştir. Bunlar thalidomide, tacrolimus ve mycophenolate mofetildir (MMF).

3.4.e.2.2.a.1. Thalidomide: Protein kodlayan TNF α mRNA'sının degradasyonunu hızlandırarak TNF α üretimini azaltır. Thalidomide hücresele immün cevapların gelişmesinde kritik bir role sahip ve önemli bir immünoregülatör sitokin olan IL-12'nin de üretimini inhibe eder. Günümüzde aktif CH için thalidomide

kullanımına dair açık-etiketli pilot bir çalışma bu ilacın faydalı olabileceğini destekler (54).

3.4.e.2.2.a.2. Tacrolimus: Tacrolimus (FK506) hepatic transplantasyonda allogreft rejeksiyonunu önlemek için etkinliği olan immünomodülatör özellikli bir makrolid antibiyotiktir. Etki mekanizmalarından biri T-yardımcı hücreleri tarafından IL-2'nin inhibisyonudur ve bu siklosporinin etki mekanizmalarından birine benzer. Randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada CH'na bağlı enterokutanöz ve perianal fistüllerin tedavisinde tacrolimusun etkinliği değerlendirildi. Tacrolimus grubunda iyileşme oranı %43 iken plasebo grubunda bu oran %8 idi ($p=0,0004$) (55).

3.4.e.2.2.a.3. MMF: Inozin monofosfat dehidrogenazı inhibe eden mycophenolic asidin bir ester ön ilacıdır. Lenfosit proliferasyonunu potent olarak baskılar ve T hücreleri tarafından INF γ üretimini azaltır. Kortikosteroidlerle tedavi alan CH'lı hastalarda AZA ile MMF randomize olarak karşılaştırıldığında her iki grupta kıyaslanabilir cevap oranları gözlemlendi ancak alt gruplar incelendiğinde bazalde daha aktif hastalıklı hastalar arasında MMF ile daha hızlı cevap alındığı bildirildi (56).

3.4.e.2.2.b. Heparin: doku vaskülarizasyonu anormal kan desteği, koagülasyon bozuklukları ve vaskülit içeren barsak morfolojisi ve fonksiyon üzerine çeşitli etkilere sahip olabilir. Bu mekanizmaların hepsi temel olarak değişik derecelerde hipertansiyon ve bunu müteakip mukozal ve/veya barsak duvarının daha derin tabakalarında hasarla sonuçlanacaktır. Klinik çalışmalardan bilinmektedir ki CH'nda trombotik olay ve mikrotrombus oluşumu olağandır. Ayrıca CH'ndan etkilenmiş barsak bölgelerinde arterlerde tıkaçıcı fibrinoid lezyonlar gösterilmiştir. Böylece CH'nın patogenetik mekanizması olarak multifokal infarkt önerilmiştir (21).

3.4.e.2.2.c. Nöromodülatör Ajanlar: Sinir sisteminin immün sistemi etkilediğine ve sinir, endokrin ve immün sistemlerin nöropeptidler, hormonlar ve sitokinler aracılığı ile biri birleriyle haberleştiğini destekleyen kanıtlar artmaktadır (57). Hayvan çalışmaları mukoza inflamasyonunun nöroenterik fonksiyonda değişikliklere yol açabileceğini ve insan çalışmaları bunun ÜK ve CH'nda sinir liflerinde bulunan vazoaktif intestinal peptitde azalmaya ve İBH'nda mukozada P maddesi artışına yol açabileceğini göstermiştir (58).

3.4.f. Cerrahi Tedavi Endikasyonları ve Nüks Hastalık

CH'nda 20 yıllık sürede hastaların %75'inde cerrahi girişim ihtiyacı olmaktadır. CH'nda tanının konduğu andan itibaren cerrahi girişim gereksinimi yıllar içinde giderek artar. Distal ileum tutulumu olan hastalarda, tanı anından itibaren beş yıllık sürede ameliyat geçirme olasılığı %80'dir. Takip daha da uzun sürerse bu oran %91'e ulaşmaktadır (9). CH'nın cerrahi tedavisinden sonraki en önemli problem hastalığın geniş rezeksiyon gerektirmesi sonucu gelişen kısa barsak sendromudur. Ayrıca aktif hastalığı ortadan kaldırmasına ve semptomları rahatlatmasına rağmen cerrahi girişimden sonraki 1. yılda hastaların %80'inde endoskopik rekürrens olmakta, klinik relaps 4. yılda %50'leri bulmaktadır. Bu nedenlerle CH'nda cerrahi tedavi endikasyonu, medikal tedavilerle kontrol altına alınamayan olgularda dikkatlice koyulmalıdır.

CH'nda cerrahiye, tıbbi tedaviyle kontrolü mümkün olmayan komplikasyonların tedavisinde başvurulur. Cerrahi girişimler; barsak geçişini engelleyen tıkanıklıklarda, enterokutan ya da intraabdominal fistüllerde, intraabdominal veya retroperitoneal abselerde, akut ya da kronik kanamaların kontrolünde, perforasyonlarda ve toksik megakolon veya kanser gelişen olgularda gerekli olur. Bu endikasyonlar içinde en sık görüleni tıkanıklıklardır (9). Ayrıca CH

veya hastalığın tıbbi tedavisine bağılı gelişme bozukluğu gösteren çocuklarda ve kronik debil hastalarda da cerrahi tedavi endikasyonu vardır. CH'nın ankilozan spondilit ve hepatik komplikasyonlar dışındaki ekstraintestinal bulguları da intestinal CH'nın rezeksiyonundan sonra düzelebilir (59).

CH'nın ağır inflamasyonla seyreden ve fistülleşme/abseleşme ile seyreden şekilleri öncelikle tıbbi tedaviyle iyileştirilmeye çalışılırken darlık ve tıkanıklıkla seyreden şekilleri çoğunlukla cerrahi girişim ile tedavi edilir. CH'nda uygulanan cerrahi girişimler basit bir saptırıcı ileostomiden, abdominopelvik cerrahiler gibi ciddi girişimlere kadar uzanabilir (9).

Bir çok faktör yüksek veya düşük rekürrens riski ile ilişkili bulunmuştur. Yaş, cinsiyet, hastalık süresi, hastalığa tutulan bölge, rezeksiyon sayısı, cerrahi anındaki semptomatik durum, ince barsak rezeksiyonunun uzunluğu, hastalığın fistülleşme mi yoksa obstrüksiyonla mı seyrettiği, proksimal sınır uzaklığı, mikroskopik sınır histolojisi, hastalığa tutulan bölgelerin sayısı, yalnızca kolonik tutulumun olup olmadığı, granülomların varlığı, kan transfüzyonları, aile öyküsü ve proflaktik tedavi bu faktörler arasında sayılabilir. Cerrahın ameliyat esnasında kontrol edebileceği faktörler anastomoz şekli, proksimal sınır uzaklığı ve mikroskopik sınır histolojisidir. Krause ve ark.nın (60) 14 yıllık takip sonrasında proksimal rezeksiyon sınırının ≥ 10 cm tutulduğu hastaların < 10 cm tutulan hastalara göre daha düşük bir rekürrens oranı ve daha iyi bir yaşam kalitesine sahip olduklarını bildirmesine rağmen bu konudaki tek prospektif çalışmada Fazio ve ark. sınırlı rezeksiyon ve geniş rezeksiyon sonrasında rekürrens oranları arasında anlamlı farklılık bulunmadığı bildirilmektedir (61). Rezeksiyon sınırında CH'ndaki mikroskopik değişikliklerin varlığıyla ilişkili sonuçlar da rezeksiyon sınırının uzunluğunda olduğu gibi çelişkilidir. Kolonik CH'nda cerrahi sonrasında proflaktik tedaviler dışında düşük rekürrensle ilişkili

olduğu bilinen tek faktör Brooke ileostomiyle birlikte yapılan proktokolektomidir (59).

CH'nda cerrahi tedavi sonrası relapsları önlemeye yönelik bazı çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda postoperatif profilaksi veya "adjuvan tedavi" büyük ölçüde uygulamaya girmiştir. Prospektif randomize bir çalışmada 3 gr/gün dozunda mesalamin rekürrens riskini 0.628'den 0.532'ye düşürdü. Etkinlik incelemelerinde endoskopik ve radyolojik rekürrens oranları da anlamlı olarak azaldı (62). Özellikle ileokolik anastomoz sonrası 3 ay süreyle 20 mg/kg/gün dozunda verilen metronidazolün 1. yıldaki endoskopik ve klinik relaps derecesini azalttığı belirtilmiştir. KS ve budesonidin rezeksiyon sonrası relapsı azaltmada etkisi yoktur. 6-merkaptopurin cerrahi sonrası klinik ve endoskopik relaps derecesini mesalaminden daha fazla azalttığı gösterilmiştir (9).

3.4.g. Crohn Hastalığının İnce Barsak Ve İleokolik Tutulumu

İleoçekal bölge ve ince barsak en çok cerrahiye gereksinim duyulan barsak kesimidir. Ameliyat edilen hastaların yaklaşık %40'ı bu bölgelerin hastalığına bağlı olarak ameliyat edilir. Klasik olarak hastalar terminal ileumdaki darlığa bağlı tıkanıklık bulgularıyla gelirler.

Rezeksiyon CH'nda, özellikle ilk girişim için en uygun seçenektir. İleoçekal hastalık sınırlı ileoçekal rezeksiyonla tedavi edilir. Yakın zamana kadar optimum rezeksiyon sınırları konusunda görüş birliği yoktu. Ancak günümüzde; her iki uçtan makroskopik olarak birkaç santimetre normal barsak bırakılarak, uç-uca anastomoz yapılmasının yeterli olduğuna inanılmaktadır.

İlk ameliyattan sonraki 5 yıl içerisinde yeniden ameliyat gereksinimi oranı %20-25'tir. On yılda bu oran %35-40'a çıkar. Kolonoskopik olarak ilk yıllarda vakaların %72'sinde erken nüks gelişir, daha uzun süreli takiplerde ise bu oran

%88'e çıkar. Nüksler genellikle ince barsak tarafında olur. Bunlar daha evvelki ameliyata bağlı yetersiz rezeksiyon sınırlarından gelişmemiş olup, hastalıklı yeni kısımlardır. Bazı cerrahlar uç-yan anastomozların, bazıları ise yan-yana anastomozun daha iyi sonuç verdiğini iddia etseler de, anastomoz şeklinin hastalık nüksü üzerine etkisi yoktur.

Eğer izole ince barsak tutulumu varsa, bu hemen her zaman terminal ileumdadır ve çoğunlukla da sınırlı bir rezeksiyonla tedavi edilebilir. Daha yaygın hastalık ince barsağın farklı bölümlerinde darlıklarla seyrederek. Geçmişte bu tür lezyonlar için çok sayıda rezeksiyonlar yapılır ve hasta kısa barsak sendromu ile karşı karşıya kalırdı. Distal ileal hastalığı olan hastaların %30'u 10 yıl içinde birden fazla rezeksiyon, %5'i de üçten fazla rezeksiyon geçirir ve vakaların %2-12'sinde kısa barsak sendromu gelişir. Barsak uzunluğunu korumak için striktüroplasti düşüncesi gelişmiş ve bu teknik günümüzde tüm uygun lezyonlarda kullanılır olmuştur. Ancak barsak uzunluğunda sıkıntı yoksa aktif inflamasyonlu uzun darlıklar genellikle rezeksiyonla tedavi edilirler. Bir çok seride striktüroplasti yapılan hastaların çoğunda ameliyata segmenter rezeksiyon da ilave edilmiştir.

Striktüroplasti sonuçları bu yöntemin etkili ve emniyetli olduğunu göstermektedir. Olguların %98-99'unda semptomatik iyileşme sağlanır. Ameliyat sonrası septik komplikasyonların oranı %4-5 civarındadır. Striktüroplasti sahasından kanama ise %5-9 hastada görülür, ancak bu sorun konservatif yaklaşımlarla çözülür. Nüks, 2 yıllık takip sonucunda %13; 5 yıllık takip sonunda ise %35 civarındadır. Striktüroplastiden sonra yeniden ameliyat oranı, ameliyata sınırlı bir rezeksiyon eklenmiş olsun ya da olmasın aynıdır. Striktüroplastilerin sadece %2-4'ü yeniden daralır; yani nüks darlıkların çoğu yeni lokalizasyonlarda olur.

İleokolik darlıkların, özellikle de anastomoz darlıklarının balonla dilatasyonu kısa dönemde başarılı sonuçlar vermektedir. Bir seride, ileokolik darlıklarda 34 aylık ortalama takip sonunda %62 başarı oranı elde edilmiş ama %11 oranında da perforasyon meydana gelmiştir. Günümüzde rutin klinik uygulamada dilatasyonun yeri yoktur ancak ameliyata engel ikincil bir hastalığı olanlarda uygulanabilir (9).

3.5. ENDOTELİNLER:

1988'de Yanagisawa ve ark tarafından peptid endotelinin yapısının yayınlanması ve bazı özelliklerinin tanımlanması (12) büyük ilgi uyandırdı. 21 aminoasit rezidüsü olan bu peptid bilinen en güçlü vazokonstriktör olarak tanımlandı. Bu ailenin üyeleri endotelin 1, 2 ve 3 (E1, E2 ve E3) olarak adlandırıldı; dördüncü bir peptid de, vazointestinal kontraktör, bazen E2'nin sıçan veya rat formu olarak tanımlandı. Onlar çoğunlukla Cys3-Cys11 disülfid bağı ile oluşan 29 üyeli halka sisteminde ayrılırlar. Bir çok hormon gibi endotelinler de preproendotelinin, matür endoteline metabolize olan proendoteline (Yanagisawa ve ark tarafından big endothelin olarak adlandırılır) metabolize olması ile üretilir. Proendotelinin parçalanmasının spesifik bir enzimin aktivitesine bağlı olduğu düşünülür ve bir çok araştırma bu enzimi belirlemeye ve onun selektif inhibitörlerini bulmaya yönlendirilmiştir.

Bu reseptörler için esas sinyal transdüksiyon yolağı rodopsin üstfamilyasının G proteinine bağlı reseptörü tarafından fosfolipaz C'nin aktivasyonunu gerektiren inositol 1,4,5-trifosfat (IP₃) ve diaçilgliserolden oluşan bir sistemdir. IP₃ (ve metabolitleri) hücre içinde depolanmış kalsiyumu salmak için özgül reseptörler üzerinde etki gösterir. Sıklıkla kalmodulin ile ilişkili olan bu kalsiyum transmitter salınımını da içeren sekresyon gibi olayları uyarır veya düzenler ve hücre salılabılır mekanizmaları uyaran myozin hafif-zincir kinaz gibi enzimleri uyarır. Bu

nedenle hücre içi serbest kalsiyum konsantrasyonunda, kontraksiyonda ve sekresyonda artışlar endotelin reseptör uyarılmasına beklenen cevaplardır. Endotelin reseptörlerinin uyarılması iyon kanallarının açılması, membran potansiyellerinde değişiklikler ve hücre dışı sodyum ve kalsiyumun hücre içine alınması ile de ilişkilidir.

3.5.a. Endotelin Reseptör Alt Tipleri: Endotelin reseptörleri

klonlanmadan önce, farklı dokularda değişik agonist güçlerinin keşfedilmesiyle, reseptör alt tiplerinin varlığı anlaşılmıştır. Endotelin reseptör alt tiplerinin varlığı için ileri sürülen fonksiyonel kanıtlardan biri endotelinin C ucundaki heksapeptidin, [endotelin 1]₁₆₋₂₁, doku seçiciliğidir (63). Bu peptid için bazı yapısal aktivite verileri mevcuttur. Yine de Tschirhart ve ark (64) [endotelin 1]₁₆₋₂₁'in 10 µM'da, kontraksiyon için EC₅₀'sinden yaklaşık 1 000 kez yüksek bir konsantrasyon, guinea-pig trakeasında I¹²⁵ ile işaretlenmiş E1 bağlama etkisinin yetersiz olduğunu buldular. Bu ilginç sonuç [endotelin 1]₁₆₋₂₁ için ayrı reseptörlerin bulunabileceğini destekler ve E1'in in vivo degradasyonunun ana peptitten farklı aktiviteli bir fragmanın serbestleşmesine katkıda bulunma olasılığını doğurur.

Artık insan, rat ve sığır cDNA'sında iki ve domuzda bir endotelin reseptör izotipi bilinmektedir (65). Reseptörler transmembran helikslerinin oluşturduğu ileri sürülen 7 hidrofobik bölgeye sahip rodopsin üst ailesinin heptahelikal reseptörleri olarak adlandırılan diğer reseptörlere homologdur.

Klonlama çalışmalarının en sık sonucu endotelin reseptörlerinin en az iki sınıfının yaygın varlığıdır. Günümüzde reseptörler E1 veya E3'e selektif olmalarına göre ET_A veya ET_B tipi olarak sınıflandırılmıştır; ET_A reseptörleri E3'e E1'den daha düşük bir affiniteye sahiptir ve ET_B reseptörleri bu peptidler için nonselektiftirler. Yine de vasküler hücre fonksiyonunun özellikle E3'e duyarlı olduğu görülmüştür; bu

sınıflama ile kanıtsal olarak açıklanamamıştır. Bir çok klonlama stratejisinin reseptör cDNA'yı izole etmek için benzer ardışıklar kullandığını ve bu nedenle üçüncü bir (veya daha fazla) reseptörün bulunabileceğinin farkına varmak önemlidir.

Genelde nonselektif ET_B reseptörü daha yaygın taşınır görünmektedir (karaciğer, böbrek ve uterus gibi) ve muhtemelen santral sinir sisteminde baskın olan reseptördür. Kalp ET_A tipi reseptörlerin predominant olduğu konusunda fikir birliğine varılan tek dokudur.

Her iki reseptörün cDNA fragmanlarından yapılmış RNA proplar kullanılan in situ hibridizasyon beyinde ET_A reseptörlerinin kan damarlarıyla ve ET_B reseptörlerinin glial, epitelyal ve ependimal hücrelerle ilişkili olduğu sonucuna ulaştı. Böbrekte ET_A reseptörleri kan damarı (glomerüler arteriyolları de içerir) düz kas hücrelerinde ve ET_B reseptörleri glomeruler arteriyolların vasa rectii ve Henle lupunun ince segmentlerinde bulunur.

3.5.b. İn Vitro Endotelin Üretimi: Sadece kültüre edilen endotelial hücreler kültür ortamına proendotelin ve endotelin salmaz; renal epitelyal hücre hatları, endometrial hücreler, vasküler düz kas hücreleri ve bronşiyal epitelyal hücreler gibi hücreler de bunu yapar. Bir çok kültür hücresi hipoksik durumlarda ve hormonları da içeren çeşitli ajanlar tarafından (tablo-7) endotelin salgılarını artırmak için uyarılabilirler. Kültür hücreleri tarafından bazal endotelin sekresyonu serum faktörlerine bağlı olabilir çünkü oksitosin ve vazopressin için reseptör antagonistleri tarafından ve bazı durumlarda TGF β antikorları tarafından azaltılabilir. Hücrelerin serumsuz ortama maruz kalmaları da endotelin sekresyonunu uyarabilir. Endotelinlerin kendileri bazı hormonların salınmasını uyarabilir (Tablo-8) ve prolaktin gibi diğerlerini inhibe edebilir. Böylece geniş bir in vivo aktivite spektrumuna sahip oldukları umulur.

Tablo-7: Kùltür hücrelerinden endothelin salınmasını uyaran ajanlar

Ajan	Tür	Hücre tipi
Trombin	İnsan	Endotel
Trombin	Domuz	Endotel
Trombin	Tavşan	Mide epiteli
Tümör büyüme faktörü β	Tavşan	Mide epiteli
Arjinin-vazopressin	İnsan	Endotel
Arjinin-vazopressin	Sığır	Endotel
Oksihemoglobin	Sığır	Endotel
Anjiotensin II	Sığır, insan	Endotel
Anjiotensin II	Rat	Vasküler düz kas
Hipoksi	Sığır, insan	Endotel
Forbol ester	Sığır	Endotel
İyonomisin	Sığır	Endotel
Glukoz	Sığır	Endotel
Siklosporin	İnsan	Endotel
Siklosporin	İnsan	Böbrek epiteli
İnsülin benzeri büyüme faktörü	Rat	Ön hipofiz
Endojen dijital benzeri faktör	Sığır	Endotel
Bombesin	İnsan	T47D çizgisi
Kortizol	İnsan	T47D çizgisi

3.5.c. İn Vivo Endotelinlerin Fizyolojik Ve Patolojik Rollerini

3.5.c.1. Düz Kas: Endotelinler spesifik reseptörleri aktive ederek tüm düz kas tiplerini kontrakte eder ve belki reseptör aktivasyonu ile direkt olarak veya

endotel kaynaklı gevşetici faktör (nitrik oksid) ve eikozanoidler gibi endotel ve epitelden salınan faktörlerle indirekt olarak bazılarını da gevşetebilir. Bu nedenle IV endotelin uygulamasından sonra kan basıncı (pressor ve depressor etkiler), bölgesel kan akımı (farklı olarak) ve böbrek fonksiyonunun modifikasyonlarının olması ve in vitro renin salınımının endotelinler tarafından inhibe edilebilmesine rağmen dolaşımdaki renin, vazopressin ve atrial natriüretik faktör seviyelerinin artabilmesi şaşırtıcı değildir. İntrinsik etkileri büyük olmamasına rağmen endotelinler kültüre hücreler için güçlü mitojendirler.

Tablo-8: Endotelinler tarafından uyarılan sekresyonlar

Sekresyon	Doku/Hücre
Gonadotropin	Ön hipofiz hücreleri
Aldosteron	Zona glomeruloza hücreleri
Platelet kaynaklı büyüme faktörü	Mezenşiyal hücreler
Cl ⁻ iyonları	Trakea epiteli
Prostaglandin E ₂	Median eminens
Atrial natriüretik faktör	Atriyum
Nitrik oksid	Endotelyal hücreler

3.5.c.2. Kan Basıncının Düzenlenmesi: Spontan olarak hipertansif ratlarda (SHR) endotelin seviyeleri farklı değildir ve yaş karşılaştırmalı kontrollerle karşılaştırıldığında düşük bile olabilir. SHR'daki bu gözlem çoğu klinik veriye aykırıdır (Tablo-9) ve hepsinden öte endotelinle uyarılmış tonusun normal kan basıncının devamlılığında bir rolü olduğu veya değişen seviyelerin yüksek basınçtan sorumlu olduğu fikrini destekleyen yeterli çalışma yoktur. Yine de E1 antikorları SHR'da kan basıncını Wistar Kyoto kontrol ratlarda bulunan düzeye düşürebilir ve

bunun peşinden renal rezistans, glomeruler filtrasyon hızı ve renal plazma akımını artırabilir.

Tablo-9: Dolaşımdaki endotelin düzeylerinin arttığı bazı klinik durumlar

Yüksek endotelin düzeyi ile ilişkili durumlar	
Esansiyel hipertansiyon	Hemodiyaliz
Pulmoner hipertansiyon	Üremi
Kardiyomiyopati (kalp yetmezliği)	Stabil kronik böbrek yetmezliği
Akut miyokard enfarktüsü	Diabetes mellitus
Koroner spastik anjina	Gebelik
İskemik kalp hastalığı	Preeklampsi
Koroner spazm	Gestasyonel hipertansiyon
Kardiyojenik şok	Cerrahi
Raynaud fenomeni	Sepsis
Yaygın damar içi pıhtılaşma	Travma
Subaraknoid kanama	Soğuk
İlerlemiş ateroskleroz	Postural değişiklikler
	Egzersiz

Bir çok fizyolojik ve deneysel durumda endotelin etkileri yavaşça geri dönebilir çünkü bu peptid reseptörlerinden çok yavaş ayrılma hızına sahiptir. Kan basıncı kontrolünde dolaşımdaki endotelinlerin rolünü uygun biçimde değerlendirebilmek için reseptör antagonistlerinin kronik dozlarının veya uzun yarı ömürlü, güçlü endothelin-converting enzim inhibitörlerinin kullanıldığı çalışmaların sonuçlarını beklemek gerekir.

Endotelinler beyin ventriküllerine veya spesifik beyin bölgelerine enjekte edildiği zaman davranışsal etkiler oluştururlar ve kan basıncı ve kalp hızını

değiştirebilirler. Endotelinlerin kültüre neonatal sinir hücrelerinde aspartat salınımını ve IP₃ turnoverını uyarmalarına (66) ve 10 µM E3'ün striatal dilimlerden dopamin ve noradrenalin salınmasını uyarmasına (67) rağmen santral sinir sistemindeki (SSS) sinir hücrelerinde endotelin reseptörlerinin varlığına karşı kanıt vardır. Bu fonksiyonel cevaplar sekonder olabilir çünkü endotelinler 108CC15 hücrelerde (bir fare nöroblastoma rat glioma hibridi) muhtemelen nitrik oksid oluşması yoluyla cGMP düzeylerini artırabilirler (68).

SSS içine endotelin uygulamasına cevaplar gliadan mediatörlerin salınması ve kan damarı üzerindeki etkilere de bağlı olabilir. Endotelinler kalsiyum kanal akımını ve periferik nöronlardan transmitter salınımını da düzenleyebilir ve bu etkilerin indirekt olması muhtemeldir.

3.5.c.3. İskemi: Endotelin antikorları ratlarda in vivo post-iskemik böbrek kan akımını artırır (69) ve miyokard enfarktüsündeki olası rolü endotelin antikor infüzyonunun hayvanlarda enfarkt boyutunu sınırlayabilmesinin saptanması (70) ile güçlenmiştir. İskemik durumlar altında endotelinlerin vazoaaktif etkileri artar ve böylece hipoksi hem endotelin üretimini hem de etkinliğini artırmış olur.

3.5.c.4. Hastalık Durumları: Değişik hastalık durumlarında (tablo-9) hastalarda dolaşımdaki endotelin seviyesi 2-3 kat artar. Plazma düzeylerinin arttığı bu durumlarda sık rastlanan bir özellik onların iskemide olduğu gibi streste yüksek bulunmasıdır ve bu şekilde endotelin salınması bir stres cevabının –hem stres bulgularının başlatıcısı hem de güçlendiricisi şeklinde- parçası olabilir. Plazma endotelin düzeylerinin yükseldiği bu klinik durumlar hayvan modellerinde taklit edilebilir ancak bu yüksek düzeylerin primer semptom mu yoksa sekonder semptom mu olduğu veya belirgin sistemik etkiler oluşturmak için yeterli olup olmadığı belli değildir.

3.5.c.5. Depresyon: Depresyonlu hastaların serebrospinal sıvılarındaki endotelin düzeyi nondeprese insanlarınkinin yarısı kadardır (71).

3.5.c.6. Subaraknoid Kanama: Subaraknoid kanama durumunda serebrospinal sıvıdaki ve kandaki endotelin düzeyleri artar (72).

3.5.c.7. Gastrik Lezyonlar: E1 ve E3 ratlarda gastrik lezyonları indükleyebilir ve alkolle indüklenmiş lezyonları artırır. Alkolün etkisi E3 antikorlarıyla inhibe edilebilir (73) bu nedenle endotelinler ülserogeneze katkıda bulunabilirler.

3.5.c.8. İnflamasyon: Gastrik mukoza üzerindeki etkilerine rağmen endotelinler inflamatuvar ekstrasvazasyonu ve bazı inflamatuvar durumları inhibe ederler (74). Bu etkilerinin bir kısmı yoğun vazokonstrüksiyona bağlı olabilir.

3.5.c.9. Pulmoner Hastalık: Endotelinler pulmoner düz kas hücrelerini güçlü şekilde kasarlar, pulmoner orjinli kültür hücrelerinden (makrofaj ve epitelyal hücreler) salınırlar ve bazı hastalarda astım atağı esnasında pulmoner lavaj sıvısında düzeyleri artmıştır (75).

3.5.c.10. Tümörler: Endotelinler tümör büyümesine de katkıda bulunabilirler çünkü kanser dokusundaki düzeyleri yüksektir (76). E1'in kendisi kanseröz hücrelerin büyümesini uyarır.

3.5.d. Endotelin Reseptör Agonist Ve Antagonistleri: Şimdiye kadar 3 ET reseptör alt tipi tanımlanmıştır. Arai ve ark (77) ve Sakurai ve ark (78) E1 için yüksek affinite gösteren bir ET_A reseptörü ve E1 ve 3 için eşit affinite gösteren bir ET_B reseptörü bildirdiler. ET_A reseptörü E1'in vazokonstrüktör etkisi için predominant etkiye sahiptir; endotelial hücrelerde bulunan ET_B reseptörü ise endotel-bağımlı gevşemeye aracılık eder (79). Son olarak bazı düz kas hücrelerinde bulunan ve vazokonstrüksiyona aracılık eden ET_B benzeri bir reseptör in vitro (80)

ve in vivo (14) farmakolojik kanıtlara dayanarak tanımlandı. ET_B reseptörlerin her iki formu sarafotoxin S6C veya BQ-3020 gibi selektif ET_B agonistleri tarafından aktive edilir. Aktivasyonundan kaynaklanan etkiler BQ-123 gibi ET_A selektif antagonistlere duyarsızdır. Karışıklığa yol açmamak için endotel bağımlı gevşeme ve vazokonstrüksiyona aracılık eden ET_B reseptörleri sırasıyla ET_{B1} ve ET_{B2} olarak tanımlanacaktır. IRL 1038 gibi bazı ligandlar ET_{B1} 'in etkilerini inhibe ederken ET_{B2} reseptör stimülasyonunu inhibe edemez yani alt tip seçiciliği gösterir (81).

E1 fokal veya sistemik vazokonstrüksiyon ve belki de hücre proliferasyonu, bronkokonstrüksiyon veya inflamasyonla ilişkili kronik ve akut hastalıklarda bir rol oynayabilir (82). Clozel ve ark oral olarak aktif ilk endotelin reseptör antagonisti, Ro 46-2005'i tanımladılar. Daha sonra Ro 46-2005'in yapısal optimizasyonu ile elde edilen Ro 47-0203 veya 4-tert-butyl-N-[6-(2-hydroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2,2'-bipyrimidin-4-yl]-benzenesulfonamide olarak da adlandırılan bosentanın farmakolojik özelliklerini bildirdiler. Sonuçlar gösterdi ki bosentan her üç endotelin reseptörünü de (ET_A , ET_{B1} ve ET_{B2}) bloke eder, endotelin için sonderece spesifiktir ve oral olarak aktiftir (81).

Streptomyces misakiensis'in kültür ortamından izole edilmiş bir peptidin yapı-fonksiyon çalışmalarından geliştirilen BQ123'ün güçlü, selektif bir ET_A reseptör antagonisti olduğu ve izole domuz koroner arter preparatlarında E1 ile indüklenmiş kasılmaları antagonize ettiği bildirildi (83). Maalesef insan nöroblastomundan elde edilen SK-N-MC hücrelerinde BQ123'ün hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda E1 ile indüklenmiş artışın güçlü ancak nonkompetitif bir antagonisti olduğu görüldü (84).

3.5.d.1. Bosentan: Ro 47-0203 veya 4-tert-butyl-N-[6-(2-hydroxy-ethoxy)-5-(2-methoxy-phenoxy)-2,2'-bipyrimidin-4-yl]-benzenesulfonamide olarak da

adlandırılan bosentan her üç endotelin reseptörünü de (ET_A , ET_{B1} ve ET_{B2}) bloke eder, endotelin için son derece spesifiktir ve oral olarak aktiftir. Bosentan endotelin reseptörlerinin mikst ve kompetitif bir antagonistidir.

Bosentanın inhibitör gücü rekombinant insan reseptörlerinde ve insan ve hayvan kaynaklı doğal reseptörlerde test edildiğinde insan ve hayvan reseptörleri arasında bağlanmasında önemli farklılık olmadığı görüldü. Bu nedenle, bosentanın fonksiyonel inhibitör etkilerini değerlendirmek için hayvan dokularının kullanılması haklı bulundu. Hem bağlanma çalışmalarında hem de fonksiyonel çalışmalarda bosentan ET_A reseptörleri üzerine daha potenti. ET_{B1} ve ET_{B2} reseptörleri için bağlanma affinitesi ET_A reseptörleri için olandan sırasıyla 35 ve 11 kat daha düşüktü ancak fonksiyonel çalışmalarda potens sıralaması iki ET_B reseptörü için ters döndü.

Bosentan insan düz kas hücreleri ve rat mezenşiyal hücrelerindeki ET_A reseptörlerine bağlanmak için I^{125} -işaretli E1 ile eşit güçte yarışır. %90'dan fazla ET_B reseptörü içeren insan plasenta membranları gibi dokularda bosentan, ET_A reseptörü taşıyan hücrelerdekenden 20-30 kat daha düşük potens gösterir.

Bosentanın kendisi kan basıncı üzerine etkili değildir. Yine de hem oral hem de IV uygulamadan sonra big E1'in pressor etkisini belirgin olarak inhibe eder. Yalnızca pressor bir cevaba yol açan big E1'in aksine IV endotelin kan basıncında bir erken azalma ve bir geç ve uzamış artışı uyarır. Bosentan E1'e hem depressör hem de pressör cevabı belirgin olarak inhibe eder. İki zıt etkinin bu dual inhibisyonu nedeniyle E1'in pressör etkisini inhibe etmek için gerekli dozlar big E1'in etkisini inhibe etmek için gerekenden daha yüksektir.

30 mg/kg dozda oral bosentan 0.3 nmol/kg big E1 enjeksiyonunun etkisini 45 dk ve 6 saat sonra sırasıyla %61 ve %65 dolaylarında inhibe eder (81).

3.5.e. Endotelin Ve Crohn Hastalığı Arasındaki İlişki: Wakefield ve ark çoğu submukoza ve muscularis propria'da bulunan ve iskemik hasara neden olarak CH patogenezinde katkıda bulunabilecek vasküler ve perivasküler anormallikler buldular (7). Bu fokal arteritte makrofaj/endotelyal hücre etkileşimleri önemli görünür; makrofajların vasküler endotele yoğun infiltrasyonu ve vasküler endotelyal remnantlar veya kan damarlarıyla granülomların (makrofaj-kaynaklı) ilişkisi vardır.

E1 vasküler düz kasın (VSM) güçlü bir konstrüktörü olan peptid ailesinin bir üyesidir. E1 endotelyal hücreler, VSM, adrenal medüller hücreler, polimorfonükleer lökositler ve makrofajlardan salınan ve prekürsörü olan büyük E1'den köken alır (12). Endotelin immünoreaktivitesi normal insan barsağında nöral dokuda gösterilmiştir (85). E1 inflamatuvar olayda da önemli olabilir çünkü polimorfonükleer lökositler büyük E1'i E1'e çevirir (86) ve lipopolisakkaridle karşılaşmış makrofajlar de novo E1 sentezlerler (87).

Bu bulgular ışığında yola çıkan Murch ve ark 1992 yılında CH'lı bireylerin ince ve kalın barsaklarından alınan doku örneklerinde submukozadaki endotelin immünoreaktivitesinin normal bireylerin ve ülseratif kolitli hastalarınkinden daha yüksek olduğunu gösterdiler (8).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde 220-250 gr ağırlığındaki 28 adet Sprague-Dawley cinsi erkek rat üzerinde yapıldı. Tüm hayvanlar 12 saat ışık ve karanlık döngüsüne uyularak, standart ısı (22°C' de) ve nem oranına sahip odalarda barındırıldı. Tüm cerrahi girişimlerden bir gece önce işlem yapılmayacak dahi olsa tüm hayvanlar aç bırakıldı. Ratlar 4 gruba ayrıldı:

Grup I: Sham ameliyat grubu (n=7),

Grup II: Kontrol grubu (n=7),

Grup III: İodoasetamid'le inflamasyon oluşturulan grup(n=7),

GrupIV: İodoasetamid'le inflamasyon oluşturulup, Bosentan tedavisi uygulanan grup(n=7).

Cerrahi işlemler genel anestezi altında yapıldı. Bunun için; ratlara 5 mg/kg xylasine (Bayer, İstanbul) ve 30 mg/kg ketamine hydrochloride (Parke-Davis, İstanbul) karışımı intramuskuler enjekte edildi. Deney üç aşamada gerçekleştirildi. I. aşamada uygulanan cerrahi işlemden 2 gün önce başlanarak tüm deney boyunca IV. gruptaki ratlara Dr. Clozel'in (Dr. Martine Clozel, Farmakoloji Başkanı, Actelion Ltd., Allschwil, İsviçre) hediye ettiği bosentan %5 arap zankı (Gum arabic, Fluka, Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Almanya) içinde suspans edilerek 60 mg/kg/gün dozunda orogastrik yolla verildi. Böylece enflamasyon başlamadan önce yeterli serum bosentan düzeyi sağlanmış oldu (81). Karışım her gün taze olarak hazırlandı. III. gruptaki ratlara ise taşıyıcı madde olan %5 arap zankı IV. gruptaki hayvanlarla eş zamanlı olarak orogastrik yolla verildi. Orogastrik ilaç uygulamalarından önce hayvanlara hafif eter anestezisi uygulandı.

4.1. Birinci Aşama: I. Gruptaki hayvanlara hiçbir müdahale yapılmadı. Diğer gruplardaki ratlarda genel anestezi sağlandıktan sonra steril şartlarda orta hat

insizyonla laparotomi uygulandı. Treitzdan 10 cm distaldeki 10 cm.lik jejunum ansı proksimal ve distali 2/0 ipeklerle bağlanıp kapalı urve haline getirildikten sonra III. ve IV. gruplardaki ratlarda enflamasyonu indüklemek için Rachmilewitz ve ark.nın (88) tarif ettiği şekilde 0,1 ml %1 metil selüloz (Methyl cellulose, Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Almanya) içinde suspanse edilmiş %2'lik iodoasetamid (Iodoacetamide, Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Almanya) kapalı urve içine enjekte edildi. II. gruptaki ratlarda ise kapalı urve içine 0,1 ml %1 metil selüloz enjekte edildi. Kapalı anslar 30 dk sonra açılıp kapalı ansın üst ve alt uçlarında mezoya 4/0 ipeklerle işaret sütürleri konuldu ve karın ön duvarı tam kat halinde 2/0 ipekle devamlı kilitlemeli olarak sütürize edildi.

4.2. İkinci Aşama: I. prosedürden 3 gün sonra tüm gruplardaki ratlara steril şartlarda ve genel anestezi altında tekrar laparotomi uygulandı. II-IV. gruplarda daha önce kapalı lup haline getirilen barsak segmenti belirlenip, proksimal yarısı rezeke edildi. I. gruptaki ratlarda ise bu segmente denk düşen 5 cm.lik barsak ansı rezeke edildi. Çıkarılan barsak dokusu patolojik inceleme için %10 formalin içinde saklandı. Daha sonra proksimal ve distal barsak ağızları 6/0 prolenle tek tek tam kat sütürize edilerek uç-uca anastomoz yapıldı. Karın ön duvarı tekrar 2/0 ipekle devamlı kilitlemeli olarak sütürize edildi. Böylece II. aşama tamamlanmış oldu.

Her iki cerrahi girişimden sonra ratlara standart rat yemi ve şehir şebekesinden sağlanan içme suyu isteklerine bağlı olarak serbest bırakıldı. Orogastrik ilaç uygulamalarına III. ve IV. gruplarda II. Prosedürden sonra da devam edildi.

4.3. Üçüncü Aşama: II. aşamadan 4 gün sonra ratlar tekrar genel anestezi altında orta hat kesi ile eksplore edildiğinde rastlantısal olarak bazı gruplarda ileri derecede peritonit geliştiği gözlemlendi.

4.3.a. Peritonit Skorlaması: Makroskopik bulgulara dayanarak deneklerdeki peritonitin derecelendirilmesi için Mannheim Peritonitis İndeksi'ndeki (89) (Tablo-10) makroskopik bulgular modifiye edilerek ratlardaki peritonit skorları belirlendi. Modifiye edilen peritonit skorlama sistemi tablo-11'de gösterilmiştir.

Tablo-10: Mannheim Peritonitis İndeksi

Risk Faktörü	Puan
>50 yaş olması	5
Kadın olması	5
Organ yetmezliği varlığı	7
Malignite varlığı	4
Preop peritonit süresi >24 saat	4
Sepsis kaynağı	
Non-kolonik	4
Diffüz jeneralize	6
Eksuda	
Berrak	0
Bulanık	6
Fekal/püylü	12
Toplam Skor	

Anastomoz bölgeleri tespit edilip anastomoz patlama basınçları in vivo olarak ölçüldü. Anastomoz hattından doku hidroksiprolin ölçümü için örnek alındıktan sonra proksimal ve distal barsak segmentleri histopatolojik inceleme için ayrı ayrı flakonlara alındı. Ratlar daha sonra servikal dislokasyonla öldürüldü.

Tablo-11: Modifiye Peritonit Skorlaması

Risk Faktörü	Puan
Yaygınlık	
Yok	0
Fokal	3
Jeneralize	6
Eksuda	
Berrak	0
Bulanık	6
Püy/Barsak içeriği	12
Toplam Skor	

4.3.b. Anastomoz patlama basıncı ölçümü: Yapışıklıklar açılmadan anastomozun 5 cm proksimali enterotomi yapıp barsak içine bir kateter yerleştirildikten sonra 2/0 ipekle bağlanarak kapatıldı. Anastomozun 5 cm distali de 2/0 ipekle bağlanıp kapalı bir lup elde edildi. Barsak segmenti içine yerleştirilen kateter 3 yollu bir musluk sayesinde bir uçta Abbott LC 5000 infüzyon pompasına, diğer uçta ise Abbott tekli transpact basınç transduceri aracılığıyla monitöre (PETAŞ KMA 375 S/N 0013) bağlandı. Karın içi izotonik sıvı ile doldurulduktan sonra infüzyon pompasından 4 ml/dk hızda metilen mavisi lümen içine vermeye başlandı. Basınç monitöründe yükselen basıncın aniden düşmeye başladığı ve karın içinde metilen mavisinin gözlendiği esnadaki basınç değeri anastomoz patlama basıncı olarak kaydedildi. Patlama basınçları deney gruplarından habersiz bir cerrah tarafından ölçüldü.

4.3.c. Örneklerin alınması: Anastomozun 5 cm proksimal ve distalindeki barsak segmenti bir bütün halinde çıkarılıp anastomoz komşuluğundaki proksimal ve distal uçtan beşer mm.lik segmentler bütün halinde örneklenerek bidistile su ile temizlenip alüminyum folyoya sarıldı ve doku hidroksi prolin ölçümlerinin yapılacağı güne kadar -80°C’de saklandı. Geri kalan dokular proksimal ve distal ucu ayrı ayrı flakonlar içinde %10 formalinle tespit edilip ertesi gün kesitleri alınarak parafin bloklara gömüldü.

4.4. Histopatolojik Değerlendirme: Parafine gömülen doku örneklerinden alınan 4-5 µm.lik kesitler hemotoksilen-eozin ile boyandıktan sonra deney gruplarından habersiz bir patolog tarafından ışık mikroskobu altında incelendi. Histolojik incelemede Crohn Hastalığı’nın karakteristik bulgusu olan granülom formasyonunun oluşup oluşmadığına bakıldı. Bunun yanı sıra tüm örnekler Mei ve ark (90) tarafından tanımlanan histopatolojik skora göre değerlendirildi. Histopatolojik skor tablo-12’de gösterilmiştir.

4.5. Doku Hidroksi Prolin Düzeyi Ölçümü: Dondurulmuş doku örnekleri çözüldükten sonra izotonik NaCl ile yıkanıp kurutma kağıdına serilerek kendi halinde bırakıldı. Daha sonra cam tüpler içinde 100°C’de etüvde 72 saat kurutuldu. Kontaminasyon engellenerek kurutulan dokular havan içinde toz haline getirilip kuru ağırlıkları hassas terazide ölçüldü. Toz halindeki dokular 15 ml.lik vidalı kapaklı cam tüpler içerisine konularak üzerine 2 ml 12 N HCl ilave edildi. Daha sonra etüvde 130°C’de 3 saat kaynatılarak hidrolize edildi. Buharlaşma nedeni ile miktarı 1 ml’nin altına düşenler tekrar 12 N HCl ile 1 ml’ye tamamlandı ve 3000 rpm’de 15 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant kısımdan 0,5 ml alınıp üzerine 0,5 ml isopropanol eklenerek 2500 x g’de 10 dakika daha santrifüj edildi. Sonra üstteki 0,3 ml alınarak çalışıldı.

Tablo-12: Mei ve ark.nın tanımladığı histopatolojik skorlama sistemi (90)

Histopatolojik Skor		
1	Akut inflamatuvar hücre infiltrasyonu	0: Yok 1: Hafif 2: Şiddetli
2	Kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu	0: Yok 1: Hafif 2: Şiddetli
3	Fibrin depozisyonu	0: Yok 1: Var
4	Submukozal ödem	0: Yok 1: Fokal 2: Diffüz
5	Epitelyal hücre nekrozu	0: Yok 1: Fokal 2: Diffüz
6	Mukozal ülser	0: Yok 1: Var

Hidroksiprolin tespiti Woessner'in (91) tarif ettiği yöntemle kısmen modifiye edilerek yapıldı. Deney işlemleri esnasında hidroksi prolin standartı kloramin-T, P-dimetil amino benzaldehit, perklorik asit, isopropanol, Na asetat-3H₂O, Na sitrat 5,5 H₂O, 12 N HCl, 1 mM HCL kimyasalları kullanıldı. Numune ve kör tüpleri üzerine reaktifler sıraya göre eklendikten sonra vorteksle karıştırıldı ve 60°C'de su

banyosunda 25 dakika inkübe edildikten sonra 558 nm’de köre karşı okundu.
Sonuçlar mg/gr kuru doku olarak verildi.

4.6. İstatistiksel Yöntem: Ölçürne dayanan veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu. Verilerin gruplar arasında farklılık gösterip göstermediğinin belirlenebilmesi için %95 güven aralığında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve alt grup değerlendirmeleri için Scheffe ve Student-Newman-Keuls testleri kullanıldı.



5. BULGULAR

III. ve IV. grupların her birinde üç rat I. aşamadan sonra öldü. Ölen hayvanların karınları açılıp incelendiğinde barsak anslarının ileri derecede distandü olduğu ve enflamasyonun indüklendiği barsak segmentinde kimyasal harabiyet bulunduğu gözlemlendi. Denek sayılarını tamamlamak için bu iki gruba üçer denek daha eklenip deneye devam edildi. Diğer gruplarda I. aşamadan sonra mortalite olmadı. II. aşamadan sonraki ikinci günde III. Grupta bir hayvan daha öldü. Postmortem incelemede bu ratta anastomozun bütünüyle ayrıldığı görüldü. Deney aşaması sonlandığında III. Grupta 6, diğer gruplarda ise 7 denek vardı.

5.1. İkinci Aşamada Alınan Örneklerin Sonuçları: II. cerrahi girişimde III.

Gruptaki ratların enflamasyonunun indüklendiği barsak segmentlerinde hemoraji, yer yer nekrotik ve ülser alanlar gözlemlendi (Resim-1). IV. Gruptaki ratların barsaklarında böyle bir değişiklik yoktu (Resim-2). Mikroskopik incelemede hiçbir deneğe ait örneklerde CH'nın en önemli histopatolojik bulguları olan kronik inflamasyon ve granülom oluşumuna rastlanmadı. Mikroskopik incelemede inflamasyonun indüklendiği gruplarda nötrofillerin hakim olduğu akut enflamasyon bulguları mevcuttu (Resim-3 ve 4). Bu aşamada rezeke edilen barsak segmentlerinin histopatolojik skorlaması (histopatolojik skor 1) sonucunda grup I ile grup II arasında fark bulunmadığı (0.0 ± 0.0 'e karşılık 0.14 ± 0.38 , $p > 0.5$); grup I ve II grup IV ile karşılaştırıldığında grup IV'teki ortalama histopatolojik skorun (2.00 ± 1.82) anlamlı olarak daha büyük olduğu (her ikisi için $p < 0.05$) ve grup III'ün ortalama histopatolojik skorunun (7.29 ± 1.11) tüm gruplarınkinden anlamlı olarak daha yüksek olduğu (tüm gruplar için $p < 0.001$) gözlemlendi (Tablo-13).

5.2. Üçüncü Aşamada Elde Edilen Sonuçlar:

5.2.a. Histopatolojik Skor: Bu aşamada alınan örneklerin de hiçbirinde CH ile uyumlu mikroskopik bulguya rastlanamadı Anastomoz hattının proksimal bölümünden alınan örneklerde ortalama histopatolojik skorlarda gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Anastomoz hattının distalinden alınan örneklerde grupların ortalama histopatolojik skorları karşılaştırıldığında Grup I ve Grup II'nin tamamen benzer olduğu (1.29 ± 0.49 'a karşılık 1.28 ± 0.29 , $P=1.00$); grup I ve II ile grup III karşılaştırıldığında grup III'teki (Resim-5) ortalama histopatolojik skorun (7.50 ± 1.38) belirgin derecede yüksek olduğu (Grup I ve II için $p<0.001$, grup IV için $p=0.001$) ve grup IV (3.29 ± 2.75) (Resim-6) ile grup I ve II karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı ($p>0.05$) görüldü (Tablo-13).

Tablo-13: Deney gruplarının ortalama histopatolojik skorları, doku OH-prolin düzeyleri, patlama basınçları ve peritonit skorları (ortalama \pm standart sapma)

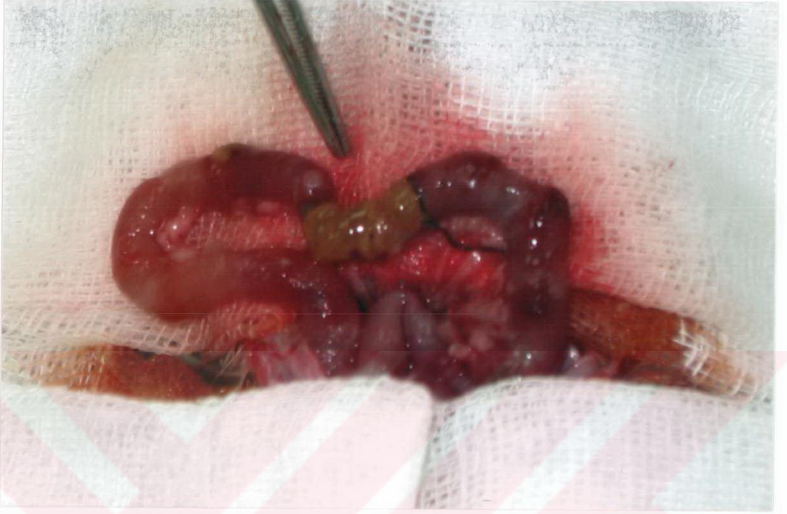
	Grup I (n=7)	Grup II (n=7)	Grup III (n=6)	Grup IV (n=7)
Histopatolojik skor 1	0.0 \pm 0.0	0.14 \pm 0.38	7.29 \pm 1.11	2.00 \pm 1.82
Histopatolojik skor 2	1.00 \pm 0.58	1.14 \pm 0.69	3.50 \pm 2.26	2.00 \pm 2.24
proksimal				
Histopatolojik skor 2	1.29 \pm 0.49	1.28 \pm 0.29	7.50 \pm 1.38	3.29 \pm 2.75
distal				
Doku OH-prolin düzeyi	7.15 \pm 0.70	7.01 \pm 0.57	3.46 \pm 0.65	6.65 \pm 0.64
Patlama basıncı	263.6 \pm 12.2	262.1 \pm 11.1	50.8 \pm 7.4	190.9 \pm 88.6
Peritonit skoru	0.43 \pm 1.13	0.86 \pm 1.46	15.50 \pm 3.99	4.71 \pm 6.68

5.2.b. Doku hidrokspirolin seviyeleri: I. ve II. grupların ortalama doku hidrokspirolin seviyeleri benzerdi (7.15 ± 0.70 mg/gr kuru doku'ya karşılık 7.01 ± 0.57 mg/gr kuru doku, $p > 0.5$). Bu iki grup, grup III ve IV ile karşılaştırıldığında grup III'teki ortalama doku hidrokspirolin düzeyinin (3.46 ± 0.65 mg/gr kuru doku) belirgin düşük olduğu ($p < 0.001$), grup IV'tekinin ise (6.65 ± 0.64 mg/gr kuru doku) anlamlı farklılık göstermediği görüldü ($p > 0.5$). Grup III ve IV kendi aralarında karşılaştırıldığında grup IV'ün ortalama değeri grup III'ünkinden belirgin olarak daha yüksekti ($p < 0.001$) (Tablo-13).

5.2.c. Anastomoz patlama basınçları: Ortalama anastomoz patlama basınçları da grup I ve II'de benzerdi (263.6 ± 12.2 mmHg'ya karşılık 262.1 ± 11.1 mmHg, $p > 0.5$). Bu iki grubun ortalamaları grup III ve grup IV'ün ortalamaları ile karşılaştırıldığında (sırasıyla 50.8 ± 7.4 ve 190.9 ± 88.6 mmHg) belirgin olarak daha yüksek oldukları gözlemlendi ($p < 0.001$). Ancak grup III ve IV'ün ortalama patlama basınçları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında da aradaki fark istatistiksel olarak belirgindi ($p < 0.001$) (Tablo-13).

5.2.d. Peritonit skorları: Grup I ve II'nin ortalama peritonit skorları benzerdi (0.43 ± 1.13 ve 0.86 ± 1.46 , $p > 0.5$) ve bu gruplardaki ortalama peritonit skoru grup IV'ünkinden (Resim-7) (4.71 ± 6.68) istatistiksel olarak farklılık göstermiyordu ($p > 0.05$). Grup III'ün ortalama peritonit skoru (15.50 ± 3.99) ise tüm diğer gruplarınkinden istatistiksel olarak belirgin derecede daha yüksekti (Grup I ve II için $p < 0.001$, grup IV için $p = 0.001$) (Tablo-13, Resim-8).

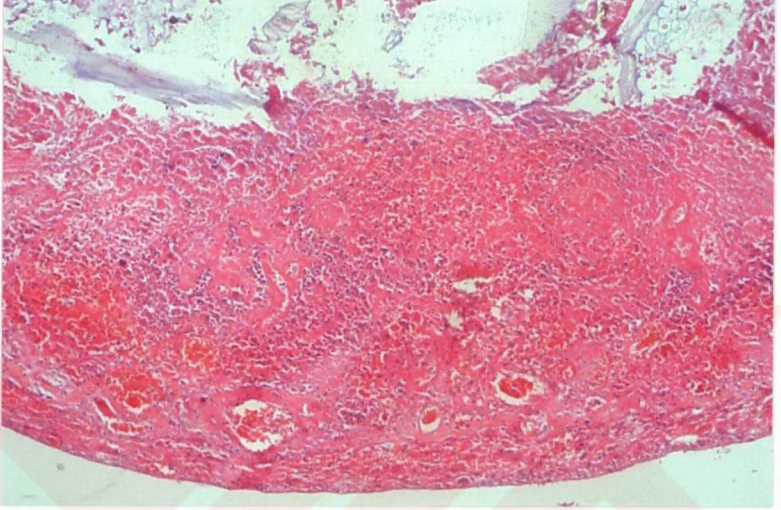
Resim-1: III. Grupta İodoasetamidle indüklenen inflamasyona bağlı ince barsakta makroskopik olarak görülen hemoraji, nekroz ve ülser



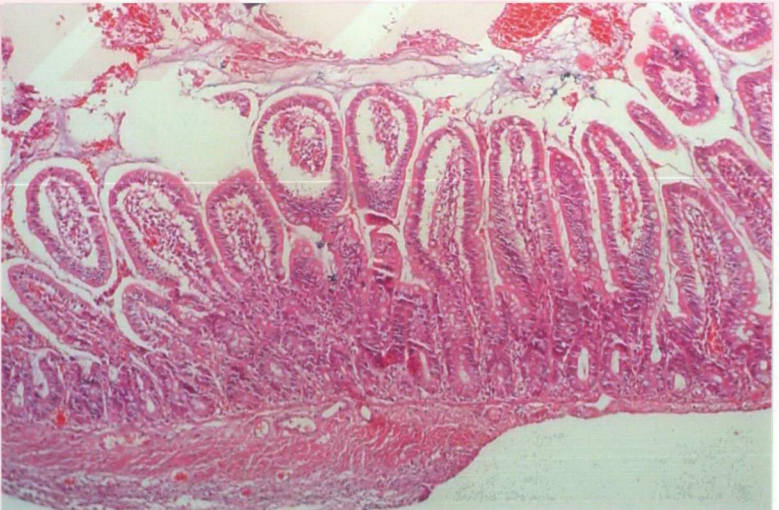
Resim-2: IV. Grupta iodoasetamid enjekte edilen barsak segmenti makroskopik olarak normal görünmekte



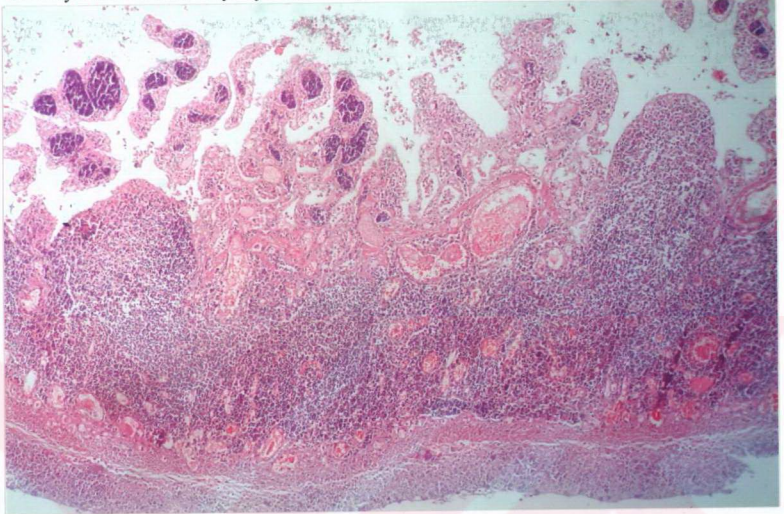
Resim-3: Grup III'teki bir deneğin ikinci aşamada alınan ince barsağında belirgin konjesyon, kanama, ülserasyon ve yaygın nekroz görülmekte (Hematoksilen-eozin, x100).



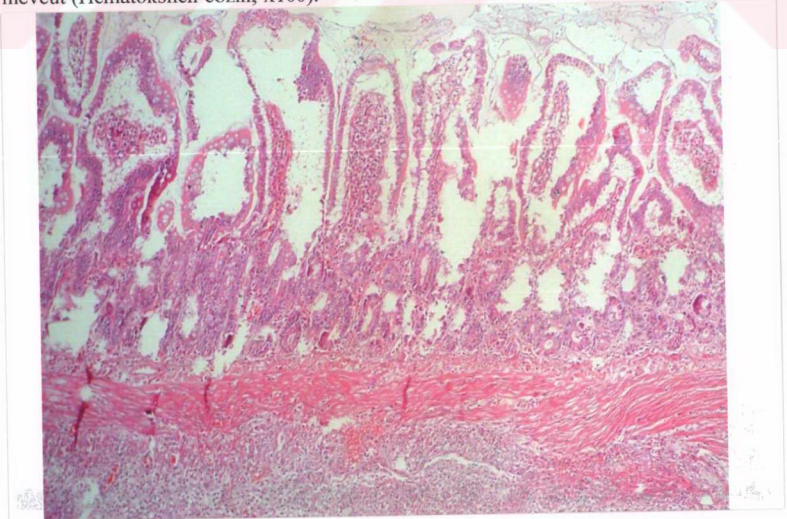
Resim-4: Grup IV'teki bir deneğin ikinci aşamada alınan ince barsağında lamina propriada hafif iltihabi infiltrasyon ve ödem mevcut (Hematoksilen-eozin, x100).



Resim-5: Grup III'teki bir deneğin üçüncü aşamada alınan anastomoz hattının distalindeki ince barsağında yoğun iltihabi reaksiyon, belirgin konjesyon ve ülserasyon ile mukozada yer yer nekroz gözlenmekte (Hematoksilen-eozin, x100).



Resim-6: Grup IV'teki bir deneğin üçüncü aşamada alınan anastomoz hattının distalindeki ince barsağında lamina propria'da hafif iltihabi infiltrasyon ve ödem mevcut (Hematoksilen-eozin, x100).



Resim-7: Grup IV'teki bir deneğin üçüncü aşamadaki eksplorasyonunda makroskopik olarak peritonit bulgusu olmadığı görülmekte



Resim-8: Grup III'teki bir deneğin üçüncü aşamadaki eksplorasyonunda görülen genelize peritonit



6. TARTIŞMA

CH'nin etyolojisi hala bilinmemektedir. Ancak eldeki kanıtlar genetik yatkınlık, immünolojik faktörler ve çevresel etkenler, özellikle de bakteriler, arasındaki etkileşmelerin CH'nin patogenezeine katkıda bulunduğunu destekler. Hastalığın etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamadığı için CH'nin bütününi yansıtmaktan uzak olan deneysel modeller ancak olası erken olayların belirlenmesine, çeşitli bileşenler arasındaki etkileşmenin anlaşılmasına ve muhtemel yeni tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesine imkan tanır. İnce barsakta deneysel olarak CH benzeri inflamasyon oluşturulabilen birkaç model vardır: trinitrobenzen sulfonik asit (TNBS)/etanol, indometazin veya iodoasetamid ile indüklenen inflamasyon modelleri, HLA-B27 transgenik veya IL-10 knock out fare genetik modelleri ve mikrovasküler iskemi modeli. Ancak CH'nin karakteristik bulgularından olan granülom oluşumu sadece TNBS, iodoasetamid ve mikrovasküler iskemi modellerinde gösterilmiştir (88, 92).

Rachmilewitz ve ark'nın (88), ince barsağa 0.1 ml %2 iodoasetamid verdikten sonra 7. günde 14 ratın 10'unda serozada bir çok epiteloid hücre ve granülomlar gözlendiğini bildirmelerine rağmen bu çalışmada iodoasetamidle enflamasyonun indüklendiği III. Grupta (n=6) indüksiyonun 7. gününde alınan örneklerde granülom oluşumuna rastlanmadı. Alınan barsak örneklerinde makroskopik olarak ülser ve nekrotik alanlar gözlenmesine rağmen mikroskopik incelemede CH'nin karakteristiği olan granülom formasyonu saptanmadığı için bu çalışma CH'nı taklit etmekten uzaktı. İodoasetamidle indüklenen inflamasyon akut bir inflamasyon olmaktan öteye geçmiyordu. Bu nedenle çalışma sonucunda iodoasetamidle indüklenmiş ince barsağın CH modelinde rezeksiyon anastomoz sonrası bositanın yara iyileşmesine olumlu katkıda bulunacağı şeklindeki H₁ hipotezimizi sınavacak bir deney modeli

oluşturamadık. Ancak II. prosedürde alınan barsak örneklerinin histopatolojik skorlaması (histopatolojik skor 1) dikkate alındığında ön-tedavi şeklinde verilen bosentanın iodoasetamidle oluşturulan akut enflamasyona bağlı doku hasarını tam olarak engellemese bile (Grup I ve Grup II ile karşılaştırıldığında $p<0.05$) önemli ölçüde azalttığı (Grup III ile karşılaştırıldığında $p<0.001$) gözlemlendi. Hatta enflamasyon oluşturulduktan 7 gün sonra alınan distal örneklerde (histopatolojik skor 2 distal) bosentanla ön-tedavi grubundaki doku hasarının non-inflame gruplardakinden anlamlı farklılık göstermediği (Grup I ve II ile karşılaştırıldığında $p>0.05$) ve Grup III'tekinden ise belirgin olarak daha az olduğu ($p=0.001$) gözlemlendi. Benzer olarak, Hogaboam ve ark rektal yolla uygulanan TNBS ile oluşturulmuş rat kolit modelinde kolit indüksiyonundan iki gün önce verilmeye başlanan oral bosentanın doza bağımlı olarak doku hasarını engellediğini bildirdiler (93). Bu çalışmada da histolojik olarak granulom formasyonu gösterilemedi ve akut iltihabi hücre infiltrasyonunun öğeleri olan granulositlerin aktivitesini gösteren myeloperoksidaz aktivitesi ölçüldü. Sonuçta Hogaboam ve ark mikst endotelin reseptör antagonisti olan bosentanın akut enflamasyonu ve buna bağlı gelişen doku hasarını baskıladığını gösterdiler.

E1 endotelial hücreler, damar düz kası, adrenal medulla hücreleri, polimorfonükleer lökositler ve makrofajlardan salınan ve prekürsörü olan büyük E1'den köken alır. Polimorfonükleer lökositler büyük E1'i E1'e çevirirler (86). Aktive edilmiş monosit veya makrofajlardan salınan IL-1 kültüre endotelial hücrelerden endotelin üretimini artırır (94). TNBS/etanol ile indüklenmiş kolit modelinde IL-1'in arttığı ve bu sitokinin barsak inflamasyonunun bir mediatörü olduğu gösterilmiştir (95).

Ayrıca endotelinin midede de damarsal ve mukozal lezyonları uyurabileceği bilinmektedir (73). E1 doku ödemine yol açan inflamatuvar yanıtı uyurabilir; proinflamatuvar özelliğindedir. Bunu destekleyen kanıtlardan ikisi Filep ve ark'nın (96) ratlara intravenöz uygulanan E1'in bronş, dalak, böbrek, mide ve duodenumda albumin ekstravazasyonunu; Boros ve ark'nın (97) ise ileal submukozadaki postkapiller venüllerde lökosit yuvarlanması ve damar duvarına yapışmasını artırdığını gösteren çalışmalarıdır. Her iki çalışmada da ET_A reseptörünün blokajı ile bu etkiler ortadan kalktı. İnflamasyon alanında toplanan lökositlerden salınan lizozomal enzimler ve oksijen metabolitleri doku hasarına neden olabileceği gibi bu savunma sisteminin intravasküler kompartmanda uyarılmasının da vasküler endotelial hücre hasarı ve ölümüne neden olabileceği gösterilmiştir (98). CH'nda görülen granuloamların çoğunun damar duvarından gelişmesinin (7) olası nedeni bu olabilir. Bu nedenlerle bizim çalışmamızda oluşturulan kimyasal ince barsak inflamasyonunda E1 düzeyinin artması muhtemeldir. Artan E1 düzeyi barsak damar yatağında lökosit aktivasyonuna, buna bağlı endotel hasarına, ekstravazasyon artışına ve sonuçta doku hasarına neden olmuş olabilir. Bu iddia doku E1 düzeyi ölçümleri yapılmadan doğrulanamaz ancak endotelin reseptör blokajı ile doku hasarının önüne geçilebilmesi bu iddiayı destekler niteliktedir. Hogaboam ve ark da bosentanın birkaç mekanizma ile inflame kolonda doku hasarını ve granulosit infiltrasyonunu azalttığı görüşünü savundular. Bu mekanizmalardan ilki; bosentan inflame alanda vasküler endotele granulosit adherensini ve peşinden infiltrasyonunu doğrudan önleyerek koruma sağlayabilirdi. İkincisi; endotelin ile indüklenmiş vazokonstriksiyonun güçlü bir inhibitörü olarak bosentan distal kolonda zedelenme ile sonuçlanan mikrosirkülatuar bozuklukları önleyerek koruyucu etki gösterebilirdi. Üçüncüsü; bosentanla endotelin antagonizması, kolitin diğer nedensel vazoaktif faktörlerinin

endotelin ile uyarılmış sentezi ve salınımı üzerindeki düzenleyici etkisi üzerinden, doku hasarını indirekt olarak önleyebilirdi (93).

Yara iyileşmesi koagülasyon, inflamasyon, anjiogenezisi de içeren fibroplazi ve yeniden düzenleme (remodeling) fazlarından oluşur. Bu fazların hepsinde hücre-hücre etkileşimlerinde tüm bağlantıları topluca sitokinler olarak adlandırılan interlökinler, tümör nekroz faktörü ve platelet kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor, PDGF), dönüştüren büyüme faktörü (transforming growth factor, TGF), epidermal büyüme faktörü (epidermal growth factor), fibroblast büyüme faktörü (fibroblast growth factor, FGF) ve damar endotel hücre büyüme faktörü (vascular endothelial cell growth factor, VEGF) gibi büyüme faktörleri ile sağlanır. Epitelizasyon, kontraksiyon ve bağ dokusu matriksi depolanması tüm iyileşme olaylarına katılan üç temel biyolojik mekanizmadır. Bağ dokusu matriksi depolanması barsak anastomozu hattında yara kapanmasında temel öneme sahiptir. Bu olayda fibroblastlar yaralanma bölgesinde toplanırlar ve yeni bir bağ dokusu matriksi üretirler. Tüm yumuşak dokularda ekstraselüler matriksin ana bileşeni kollajendir. Kollajen prolin, hidroksiprolin ve glisinden zengin üçlü bir helikal yapıdan oluşur (99). Bu nedenle barsak anastomozunun iyileşmesi ile ilgili çalışmalarda kollajen birikiminin bir göstergesi olarak anastomoz hattı hidroksiprolin düzeyi ölçümü kullanılır. Yine bu çalışmalarda anastomoz kuvvetinin bir göstergesi olarak mekanik bir test şeklinde anastomoz patlama basıncı ölçümleri yapılmaktadır (100).

Bu çalışmada bosenanla ön-tedavi yapılan gruptaki ortalama anastomoz hattı doku hidroksiprolin seviyesinin noninflame gruplardakinden farklı olmadığı ($p>0.5$) ancak grup III'teki ortalama hidroksiprolin düzeyinden belirgin olarak daha yüksek olduğu ($p<0.001$) gözlemlendi. Anastomoz patlama basınçları dikkate alındığında ise

bosentanla ön-tedavi yapılan grubun ortalama değeri noninflame gruplarından anlamlı şekilde düşük olmasına ($p < 0.001$) rağmen bosentan verilmeyen inflamasyon grubununkinden (grup III) belirgin olarak daha yüksekti ($p < 0.001$). Kısaca akut inflamasyon indüklenmeden endotelin reseptörlerinin bloke edilmesi inflame dokudaki yara iyileşmesini artırdı.

Literatürde endotelinin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerine dair kafa karıştırıcı bilgiler mevcuttur. E1'in akciğer, kalp ve karaciğerde doku hasarına cevap olarak fibrozisle iyileşmeyi uyardığına dair kanıtlar vardır (10,101,102). Bu çalışmalarda fibrozisin ET_A ve mikst endotelin reseptör blokajı ile engellenebileceği gösterilmiştir. Bu deneysel çalışmaları destekleyen klinik çalışmalar da vardır. Akimoto ve ark insanlarda gastrik ülserin iyileşme ve skar dönemlerinde doku endotelin düzeylerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (103). Kanazawa ve ark da aktif CH'nda plazma E1 ve VEGF düzeylerinin yüksek olduğunu ve E1 düzeyleri ile anjiyogenik mitojen olan VEGF arasında pozitif korelasyon bulunduğunu bildirdiler (104). Anjiyogenezis özellikle yara iyileşmesi, kronik inflamasyon, solid tümör oluşumu gibi inflamatuvar bozukluklarda inflamasyon alanına inflamatuvar hücreler, besinler ve oksijen taşınmasını artırarak inflamatuvar durumun devamlılığında rol oynar. McCartney ve ark'nın (105) insan İBH'ndaki endotelin düzeyleri ile ilgili gözlemleri Kanazawa ve ark'nınki ile taban tabana zıttı. Onlar E1 ve E2 seviyelerinin insan İBH'nda düşük olduğunu ancak deneysel TBNS kolitinde yüksek olduğunu bildirdiler. Ancak bu çalışmada hastalığın aktivitesi hakkında bilgi verilmemişti. Bu farklılığın sebebi her iki çalışmada doku örnekleri alınan hastaların aktivitelerinin farklı olması olabilir. Spinella ve ark ise E1'in anjiyogenezise etkisini vurgulayarak overyan kanser hücre hatlarında E1 tedavisinin VEGF mRNA transkripsiyonunu artırdığını ve bu etkinin ET_A reseptör blokajı ile engellendiğini gösterdiler (106).

ET_A reseptörlerinin over kanserinde anjiogenezisi ve tümör büyümesini artırdığı bilgisine dayanarak yola çıkan Rosano ve ark da ET_A reseptör antagonisti atrasentanın paclitaxelle birlikte kullanıldığında additif antitümör ve antianjiogenik etkiler gösterdiğini bildirdiler (107). Egidy ve ark da 30 gün boyunca bosentanla tedavi edilmiş ratlarda kolon adenokanser yoğunluğunun azaldığını gösterdiler (108).

Öte yandan King-van Vlack ve ark intra arteriyel E1 uygulaması ile gine domuzlarının ince barsaklarında submukozal terminal mikrodamarların akımının damar çapındaki değişiklikten bağımsız olarak azaldığını gösterdiler (109). Doku hipoksisinde beklenen cevap kanın oksijen taşıma kapasitesinin ve doku oksijen up-take'inin artması iken up-take'in azaldığını gördüler. Bu gözleme zıt bir rapor da Iglarz ve ark'ndan geldi. Iglarz ve ark (110) sağ femoral arteri bağlanan ratlarda bosentanın iskemik bacakdaki damar yoğunluğunu artırdığını E1 tedavisinin ise etkisiz olduğunu; iskemik olmayan bacakta ise ne bosentan ne de E1'in damar yoğunluğuna etkili olduğunu ve VEGF yolağının ve NO sentezinin bloke edilmesinin bosentanın artırdığı anjiogenezisi tamamen durdurduğunu bildirdiler.

Bu çalışmada bosentanın yara iyileşmesini nasıl olup artırdığını açıklayabilecek bir kanıt yoktur. Görünen odur ki literatür bilgileri de bunun mekanizmasını açıklamak için yetersiz hatta çelişkilidir. Bu sebeple bosentanın bu etkisinin mekanizmasını açıklayabilmek için başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın en hayret verici sonucu bosentanla ön-tedavi verilen grupta peritonit şiddetinin noninflame kontrollere yakın azalmasıydı (Grup I ve II'ye karşı Grup IV, p>0.05). Peritoneal kavitede inflamatuvar cevaba katkıda bulunan hücreler makrofajlar, nötrofiller, komşu kapiller endotelial hücreler ve mezotelial hücrelerdir (111). Bunların ilk üçü endotelinin kaynağıdır (86). Aynı zamanda E1 lökosit migrasyonunu artırır (97). Dolayısıyla bir feedback etkisi söz konusudur. Peritoneal

savunma sistemi bakteriyel kontaminasyonu lokalize etmeye ve hapsetmeye çalışır. İmmün hücrelerin (makrofajlar ve muhtemelen mast hücreleri) aktivasyonunu ve peritoneal mezotelin değişmesini hiperemi ve sıvı eksüdasyonu izler. Histamin ve diğer permeabilite artırıcı maddeler bu cevaba aracılık ederler. E1'in de bronş, dalak, böbrek, mide ve duodenumda albumin ekstravazasyonuna neden olduğu bilinmektedir (96). Endotelin peritona komşu kapiller endotelde permeabilite artışına neden olarak eksüda oluşumuna katkıda bulunabilir. Gerçekten de fekal peritonite bağlı sepsiste plazmadaki E1 düzeyinin arttığı ve fekal peritonitte peritoneal sıvıdaki büyük E1 ve aktif endotelinin plazmadakinden daha yüksek olduğu gösterilmiştir (112,113). Lunblad ve ark (113) sepsisli ratlarda E1 seviyesinin mortalite ile ilişkili olduğunu bildirmelerine rağmen ölümün nedeninin bu peptidin etkileriyle mi yoksa salgılanan sitokinlerin sistemik etkileriyle mi ilişkili olduğu bilinmemektedir. Bu noktada önümüzde çözemediğimiz iki problem durmaktadır: inflamasyona cevabın iki ucu keskin mediatörleri içinde endotelinin yeri nereye yakındır ve onun etkisinin sonuçlarını ne veya neler belirler? Krejci ve ark fekal peritonitin neden olduğu septik şokta bosentan tedavisinin kardiyak indeksi ve pankreas, mide ve kalın barsak gibi splanknik organlarda ve periferik dokularda mikrosirkülasyonu artırdığını bildirdiler (114). Bu, endotelinin nonspesifik antagonizmasının sepsiste artmış metabolik ihtiyacı karşılayabileceğinin kanıtıdır ve endotelinlerin septik durumlardaki artışının inflamatuvar sürece katkıda bulunabileceğine dair kanıtları destekler niteliktedir. Endotel ve mast hücrelerinin birlikte kültüre edildiği bir deneysel modelde ise Metsarinne ve ark aktive edilmiş mast hücrelerinin bir yandan E1 mRNA ekspresyonunu artırırken öte yandan endotelden salınan E1'i yaktığını göstermişlerdir (115). Yani endotelinin peritonit patogenezindeki olası rolünün kontrol noktalarından birisi aktive olmuş mast hücreleridir. Şimdiki çalışmada bosentanla ön-tedavi yapılan

grupta eksüdasyonda azalma gözleendiği için nonspesifik endotelin reseptör blokajının mezotele komşu kapiller endotelden ekstravazasyonu azaltıcı etki gösterdiği söylenebilir. Daha sonraki çalışmalarda plazma ve peritoneal sıvıda endotelin düzeyi ile birlikte histamin gibi mast hücre degranulasyon ürünlerinin düzeylerinin ölçülmesi bu yolda mast hücrelerinin yerini daha net ortaya koyabilir.

Özetle Rachmilewitz ve ark'nın (88) tanımladığı iodoasetamidle indüklenen CH modeli tekrarlanabilir bir model değildir. Endotelin reseptörlerinin nonspesifik antagonisti bosentanla bloke edilmesi iodoasetamidin indüklediği barsak enflamasyonunun şiddetini azaltır, enflame barsak dokusunda yara iyileşmesini artırır ve peritonit şiddetini azaltır. Bosentanın bu etkilerinin mekanizmalarını belirleyebilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Loftus EV, Sandborn JW. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin N Am* 2002; 31: 1-20
2. Yapp TR, Stenson R, Williams GT et al. Crohn's disease incidence in Cardiff from 1930. An update for 1991-1995. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 907-11
3. Loftus Jr. EV, Silverstein MD, Sandborn WJ et al. Ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota, 1940-1993: Incidence, prevalence and survival. *Gut* 2000; 46: 336-43
4. Yang H, McElree C, Roth M-P et al. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: Differences between Jews and non-Jews. *Gut* 1993; 34: 517-24
5. Andersson RE, Olaison G, Tysk C et al. Appendectomy is followed by increased risk of Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2003; 124: 40-6
6. Plevy S. The immunology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin N Am* 2002; 31: 77-92
7. Wakefield AJ, Sankey EA, Dhillon AP, Sawyerr AM, More L, Sim R, Pittilo RM, Rowles PM, Hudson M, Lewis AA, et al. Granulomatous vasculitis in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1991;100:1279-87.
8. Murch SH, Braegger CP, Sessa WC, MacDonald TT. High endothelin-1 immunoreactivity in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Lancet* 1992; 339: 381-85
9. Crohn Hastalığı. Akyüz A, Bilsel Y. Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D editörlüğünde. Tasarım Ofset, İstanbul, 2003. sayfa 621-43
10. Rockey DC, Chung JJ. Endothelin antagonism in experimental hepatic fibrosis. Implications for endothelin in the pathogenesis of wound healing. *J Clin Invest*. 1996;98:1381-8.

11. Tzanidis A, Lim S, Hannan RD, See F, Ugoni AM, Krum H. Combined angiotensin and endothelin receptor blockade attenuates adverse cardiac remodeling post-myocardial infarction in the rat: possible role of transforming growth factor beta(1). *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33:969-81.
12. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-5.
13. Warner TD, Mitchell JA, DeNucci G, Vane JR. Endothelin-1 and endothelin-3 release EDRF from isolated perforated arterial vessel of the rat and rabbit. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13:S85-S88.
14. Clozel M, Gray GA, Breu V, Loffler BM, Osterwalder R. The endothelin ET_B receptor mediates both vasodilatation and vasoconstriction in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 186: 867-73.
15. Shanahan F. Inflammatory bowel disease: immunodiagnostics, immunotherapeutics and eotherapeutics. *Gastroenterology* 2001; 120: 622-35
16. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603
17. van Heel DA, McGovern DPB, Jewell DP. Crohn's disease: genetic susceptibility, bacteria, and innate immunity. *Lancet* 2001; 357: 1902-4
18. Beutler B. Autoimmunity and apoptosis: the Crohn's connection. *Immunity* 2001; 15: 5-14
19. Jobin C, Sartor RB. NF-kB signalling protein as therapeutic targets for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 206-13
20. Shanahan F. Crohn's disease. *Lancet* 2002; 359: 62-9

21. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. *J Int Med* 2002; 252: 475-96
22. Cottone M, Rosselli M, Cama C ve ark. Smoking habits and recurrence in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1994; 106: 643-8
23. Miller LG, Goldstein G, Murphy M, Ginns LC. Reversible alterations in immunoregulatory T cells in smoking: analysis by monoclonal antibodies and flow cytometry. *Chest* 1982; 82: 526-9
24. Cope GF, Heatley RV, Kelleher JK. Smoking and colonic mucus in ulcerative colitis. *BMJ* 1986; 293: 481
25. Madretsma S, Wolters LM, van Dijk JP, Tak CJ, Feyerabend C, Wilson JH, Zijlstra FJ. In-vivo effect of nicotine on cytokine production by human non-adherent mononuclear cells. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 1017-20
26. Duchmann R, May E, Heike M, Knoille P, Neurath M, Meyer zum Buschenfelde KH. T cell specificity and cross reactivity towards enterobacteria, bacteroides, bifidobacterium, and antigens from resident intestinal flora in humans. *Gut* 1999; 44: 812-8
27. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A ve ark. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 4-54
28. Elson CO. Commensal bacteria as targets in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 254-7
29. Sartor RB. Pathogenesis and immune mechanisms of chronic inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: S5-11
30. Boirivant M, Marini M, Di Felice G ve ark. Lamina propria T cell in Crohn's disease and other gastrointestinal inflammation show defective CD2 pathway-induced apoptosis. *Gastroenterology* 1999; 116: 557-65

31. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* 1998; 115: 182-205
32. Schreiber S, Heinig T, Thiele HG, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995; 108: 1434-44
33. Sartor RB. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiological and clinical considerations. *Gastroenterology* 1994; 106: 533-9
34. Deventer SJH. A place for TACE. *Gut* 2002; 51: 5-6
35. Brynskov J, Foegh P, Pedersen G ve ark. Tumour necrosis factor α converting enzyme (TACE) activity in the colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2002; 51: 37-43
36. Gordon MS, McCaskill-Stevens WJ, Battiato LA ve ark. A phase I trial of recombinant human interleukin-11 (neumega rhIL-11 growth factor) in woman with breast cancer receiving chemotherapy. *Blood* 1996; 87: 3615-24
37. Keith JC Jr, Albert LM, Ferranti TJ et al. Recombinant human interleukin-11 (rhIL-11) decreases inflammatory bowel disease in HLA-B27 transgenic rats. *Gastroenterology* 1995; 108: 846
38. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları. Boztaş G. Kolon Rektum ve Anal Bölge Hastalıkları. Alemdaroğlu K, Akçal T, Buğra D editörlüğünde. Tasarım Ofset, İstanbul, 2003. sayfa 583-90
39. Dubinsky MC, Lamothe S, Yang HY ve ark. Pharmacogenomics and metabolite measurement of 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000; 118: 705-13
40. Lennard L. TPMT in the treatment of Crohn's disease with azathioprine. *Gut* 2002; 51: 143-6

41. Borody TJ, Leis S, Warren EF, Surace R. Treatment of severe Crohn's disease using antimycobacterium triple therapy – approaching a cure? *Digest Liver Dis* 2002; 34: 29-38
42. Hogaboam CM, Vallance BA, Kumar A ve ark. Therapeutic effects of interleukin-4 gene transfer in experimental inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 1997; 100: 2766-76
43. Deusch K, Mauthe B, Reiter C, Reithmuller G, Classen M. CD4-antibody treatment of inflammatory bowel disease: one year follow-up. *Gastroenterology* 1993; 104: 691
44. Emmrich J, Seyfarth M, Liebe S, Emmrich F. Anti-CD6 antibody treatment in inflammatory bowel disease without a long CD⁺-cell depletion. *Gastroenterology* 1995; 108: 815
45. Schreiber S, Fedorak RN, Nielsen OH ve ark. Safety and efficacy of recombinant human interleukin 10 in chronic active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 1462-72
46. Fedorak RN, Gangl A, Elson CO ve ark. Recombinant human interleukin 10 in the treatment of patients with mild to moderately active Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000; 119: 1473-82
47. Sands BE, Bank S, Sninsky CA ve ark. Preliminary evaluation of safety and activity of recombinant human interleukin 11 in patients with active Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 58-64
48. Sands BE, Winston BD, Salzberg B, Safdi M, Barish C, Wruble L, Wilkins R, Shapiro M. Randomized, controlled trial of recombinant human interleukin-11 in patients with active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:399-406.

49. Van Dullemen HM, van Deventer SJH, Hommes DW ve ark. Treatment of Crohn's disease with anti-tumour necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* 1995; 109: 129-35
50. McCabe RP, Woody J, van Deventer SJH ve ark. A multicenter trial of cA2 anti-TNF chimeric monoclonal antibody in patients with active Crohn's disease. *Gastroenterology* 1996; 110: 962
51. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJH ve ark. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumour necrosis factor α for Crohn's disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 1029-35
52. Hommes D, van Den Blink B, Plase B ve ark. Inhibition of stres-activated MAP kinases induces clinical improvement in moderate to severe Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 7-14
53. Yacyshyn BR, Bowen-Yacyshyn MB, Jewell L ve ark. A placebo-controlled trial of ICAM-1 antisense oligonucleotide in the treatment of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1998; 114: 113-42
54. Marriot JB, Westby M, Cookson S ve ark. CC-3052: a water soluble analog of thalidomide and potent inhibitor of activation-induced TNF-alpha production. *J Immunol* 1998; 161: 4236-43
55. Sandborn WJ, Present DH, Isaacs KL ve ark. Tacrolimus for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease: a randomized, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 2: 380-8.
56. Neurath MF, Wanitschke R, Peters M, Krummenauer F, Meyer zum Büschenfelde K-H, Schlaak JF. Randomized trial of mycophenolate mofetil versus azathioprine for treatment of chronic active Crohn's disease. *Gut* 1999; 44: 625-8

57. Collins S. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implication for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology* 1996; 111: 1683-99
58. Hollander D. Inflammatory bowel disease and brain-gut axis. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 183-190.
59. Wolff BG. Surgery for distal small bowel, colonic, and anorectal Crohn's disease. In eds: Pemberton JH, Zuidema GD, Yeo CJ. *Surgery of the alimentary tract*. W.B. Saunders Co. 2002, Pennsylvania. 5th Edition. Volume IV. pp: 105-116
60. Krause U, Ejerblad S ve Bergman L. Crohn's disease: A long term study of the clinical course in 186 patients. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20: 516-24
61. Fazio VW, Marchetti F, Church JM et al. Effect of resection margins on the recurrence of Crohn's disease in the small bowel: A randomized controlled trial. *Ann Surg* 1996; 224: 563-71
62. McLeod RS, Wolff BG, Steinhart AG, Carryer PW, O'Rourke K, Andrews DF, Blair JE, Cangemi JR, Cohen Z, Cullen JB, et al. Prophylactic mesalamine treatment decreases postoperative recurrence of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1995; 109: 404-13.
63. Douglas SA, Hiley CR. Endothelium-dependent mesenteric vasorelaxant effects and systemic actions of endothelin (16-21) and other endothelin-related peptides in the rat. *Br J Pharmacol* 1991; 104: 311-20.
64. Tschirhart EJ, Drijfhout JW, Pelton JT, Miller RC, Jones CR. Endothelins: functional and autoradiographic studies in guinea pig trachea. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 258: 381-7.
65. Sakurai T, Yanagisawa M, Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13: 103-8.

66. Lin WW, Lee CY, Chuang DM. Comparative studies of phosphoinositide hydrolysis induced by endothelin-related peptides in cultured cerebellar astrocytes, C6-glioma and cerebellar granule cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 168: 512-9.
67. Koizumi S, Kataoka Y, Niwa M, Kumakura K. Endothelin-triggered brain damage under hypoglycemia evidenced by real-time monitoring of dopamine release from rat striatal slices. *Neurosci Lett* 1991; 134: 219-22.
68. Reiser G. Endothelin and a Ca²⁺ ionophore raise cyclic GMP levels in a neuronal cell line via formation of nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 722-6.
69. Kon V, Yoshioka T, Fogo A, Ichikawa I. Glomerular actions of endothelin in vivo. *J Clin Invest* 1989; 83: 1762-7.
70. Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, Fujino M, Imada A. Endothelin in myocardial infarction. *Nature* 1990; 344: 114.
71. Hoffman A, Keiser HR, Grossman E, Goldstein DS, Gold PW, Kling M. Endothelin concentrations in cerebrospinal fluid in depressive patients. *Lancet* 1989; 2:1519.
72. Suzuki H, Sato S, Suzuki Y, Takekoshi K, Ishihara N, Shimoda S. Increased endothelin concentration in CSF from patients with subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurol Scand* 1990; 81: 553-4.
73. Morales RE, Johnson BR, Szabo S. Endothelin induces vascular and mucosal lesions, enhances the injury by HCl/ethanol, and the antibody exerts gastroprotection. *FASEB J* 1992; 6: 2354-60.
74. Chander CL, Moore AR, Desa FM, Howat D, Willoughby DA. The local modulation of vascular permeability by endothelial cell derived products. *J Pharm Pharmacol* 1988; 40: 745-6.

75. Mattoli S, Soloperto M, Marini M, FasoLi A. Levels of endothelin in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with symptomatic asthma and reversible airflow obstruction. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 88: 376-84.
76. Yamashita J, Ogawa M, Inada K, Yamashita S, Matsuo S, Takano S. A large amount of endothelin-1 is present in human breast cancer tissues. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1991; 74: 363-9.
77. Arai H, Hori S, Aramori I, Ohkubo H, Nakanichi S. Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 1990; 348: 730-2.
78. Sakurai T, Yanagisawa M, Takuwa Y, Miyazaki H, Kimura S, Goto K, Masaki T. Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 1990; 348: 732-5.
79. Randall MD, Douglas SA, Hiley CR. Vascular activities of endothelin-1 and some alanyl substituted analogues in resistance beds of the rat. *Br J Pharmacol* 1989; 98: 685-99.
80. Harrison VJ, Randriantsoa A, Schoeffter P. Heterogeneity of endothelin-sarafotoxin receptors mediating contraction of pig coronary artery. *Br J Pharmacol* 1992; 105: 511-3.
81. Clozel M, Breu V, Gray GA, Kalina B, Loffler BM, Burri K, Cassal JM, Hirth G, Muller M, Neidhart W, Ramuz H. Pharmacological characterization of bosentan, a new potent orally active nonpeptide endothelin receptor antagonist. *J Pharmacol Experiment Therapeutics* 1994; 270: 228-35.
82. Miller RC, Pelton JT, Huggins JP. Endothelins-from receptors to medicine. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 54-60.

83. Ihara M, Fukuroda T, Saeki T, Nishikibe M, Kojiri K, Suda H, Yano M. An endothelin receptor (ETA) antagonist isolated from *Streptomyces misakiensis*. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 178: 132-7.
84. Hiley CR, Cowley DJ, Pelton JT, Hargreaves AC. BQ-123, cyclo(-D-Trp-D-Asp-Pro-D-Val-Leu), is a non-competitive antagonist of the actions of endothelin-1 in SK-N-MC human neuroblastoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992; 184: 504-10.
85. Inagaki H, Bishop AE, Escrig C, Wharton J, Allen-Mersh TG, Polak JM. Localization of endothelinlike immunoreactivity and endothelin binding sites in human colon. *Gastroenterology* 1991; 101: 47-54.
86. Sessa WC, Kaw S, Hecker M, Vane JR. The biosynthesis of endothelin-1 by human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1991;174:613-8.
87. Ehrenreich H, Anderson RW, Fox CH, Rieckmann P, Hoffman GS, Travis WD, Coligan JE, Kehrl JH, Fauci AS. Endothelins, peptides with potent vasoactive properties, are produced by human macrophages. *J Exp Med* 1990; 172: 1741-48.
88. Rachmilewitz D, Okon E, Karmeli F. Sulphydryl blocker induced small intestinal inflammation in rats: a new model mimicking Crohn's disease. *Gut* 1997;41:358-65.
89. Linder MM, Wacha H, Feldmann U, Wesch G, Streifensand RA, Gundlach E. The Mannheim peritonitis index. An instrument for the intraoperative prognosis of peritonitis. *Chirurg* 1987; 58: 84-92.
90. Mei Q, Yu JP, Xu JM, Wei W, Xiang L, Yue L. Melatonin reduces colon immunological injury in rats by regulating activity of macrophages. *Acta Pharmacol Sin* 2002;23:882-6.

91. Woessner JF. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this amino acid. *Arch Biochem Biophys* 1961;93:440-7.
92. Osborne MJ, Hudson M, Piasecki C, Dhillon AP, Lewis AAM, Pounder RE, Wakefield AJ. Crohn's disease and anastomotic recurrence: microvascular ischemia and anastomotic healing in an animal model. *Br J Surg* 1993;80:226-9.
93. Hogaboam CM, Muller MJ, Collins SM, Hunt RH. An orally active non-selective endothelin receptor antagonist, bosentan, markedly reduces injury in a rat model of colitis. *Eur J Pharmacol* 1996;309:261-9.
94. Yoshizumi M, Kurihara H, Morita T, Yamashita T, Oh-hashii Y, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, Yazaki Y. Interleukin 1 increases the production of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;166:324-9.
95. Rachmilewitz D, Simon PL, Schwartz LW, Griswold DE, Fondacaro JD, Wasserman MA. Inflammatory mediators of experimental colitis in rats. *Gastroenterol* 1989;97:326-37.
96. Filep JG, Clozel M, Fournier A, Foldes-Filep E. Characterization of receptors mediating vascular responses to endothelin-1 in the conscious rat. *Br J Pharmacol* 1994;113:845-52.
97. Boros M, Massberg S, Baranyi L, Okada H, Messmer K. Endothelin-1 induces leukocyte adhesion in submucosal venules of the rat small intestine. *Gastroenterology* 1998; 114: 103–114.
98. Weiss SJ, Young J, Lobuglio AF, Slivka A, Nimeh NF. Role of hydrogen peroxide in neutrophil-mediated destruction of cultured endothelial cells. *J Clin Invest* 1981;68:714-21.

99. Cohen IK, Diegelmann RF, Yager DR, Wornum IL, Graham M, Crossland MC. Wound care and wound healing. Principles of surgery 7th ed. In (eds) Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC. McGraw-Hill International edition, 1999. pp:263-96.
100. Bülbüller N, Doğru O, Yekeler H, Çetinkaya Z, İlhan N, Kırkıl C. Effect of melatonin on wound healing in normal and pinealectomized rats. *J Surg Res*. 2005;123:3-7.
101. Hocher B, Schwarz A, Fagan KA, Thöne-Reineke C, El-Hag K, Kusserow H, Elitok S, Bauer C, Neumayer HH, Romdan DM, Theuring F. Pulmonary fibrosis and chronic lung inflammation in ET-1 transgenic mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23:19-26.
102. Hafizi S, Wharton J, Chester AH, Yacoub MH. Profibrotic effects of endothelin-1 via the ET_A receptor in cultured human cardiac fibroblasts. *Cell Physiol Biochem* 2004;14:285-92.
103. Akimoto M, Hashimoto H, Maeda A, Shigemoto M, Yamashita K. Roles of angiogenic factors and endothelin-1 in gastric ulcer healing. *Clinical Science* 2002;103:S450-4.
104. Kanazawa S, Tsunoda T, Onuma E, Majima T, Kagiya M, Kikuchi K. VEGF, basic-FGF, and TGF- β in Crohn's disease and ulcerative colitis: a novel mechanism of chronic intestinal inflammation. *Am J Gastroenterol* 2001;96:822-28.
105. McCartney SA, Ballinger AB, Vojnovic I, Farthing MJG, Warner TD. Endothelin in human inflammatory bowel disease: comparison to rat trinitrobenzenesulphonic acid-induced colitis. *Life Sci* 2002;71:1893-1904.

106. Spinella F, Rosano L, Di Castro V, Natali PG, Bagnato A. Endothelin-1 induces vascular endothelial growth factor by increasing hypoxia-inducible factor-1 α in ovarian carcinoma cells. *J Biol Chem* 2002;277:27850-5.
107. Rosano L, Spinella F, Salani D, Di Castro V, Venuti A, Nicotra MR, Natali PG, Bagnato A. Therapeutic targeting of the endothelin A receptor in human ovarian carcinoma. *Cancer Research* 2003;63:2447-53.
108. Egidy G, Juillerat-Jeanneret L, Jeannin JF, Korth P, Bosman FT, Pinet F. Modulation of human colon tumor-stromal interactions by the endothelin system. *Am J Pathol* 2000;157:1863-74.
109. King-VanVlack CE, Mewburn JD, Chapler CK, MacDonald PH. Hemodynamic and proinflammatory actions of endothelin-1 in guinea pig small intestine submucosal microcirculation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G940-8.
110. Iglarz M, Silvestre JS, Duriez M, Henrion D, Levy BI. Chronic blockade of endothelin receptors improves ischemia-induced angiogenesis in rat hindlimbs through activation of vascular endothelial growth factor-NO pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1598-603.
111. Solomkin JS, Wittman DW, West MA, Barie PS. Intraabdominal infections. *Principles of surgery* 7th ed. In (eds) Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC. McGraw-Hill International edition, 1999. pp:1515-50.
112. Lundblad R, Giercksky KE. Effect of volume support, antibiotic therapy, and monoclonal antiendotoxin antibodies on mortality rate and blood concentrations of endothelin and other mediators in fulminant intra-abdominal sepsis in rats. *Crit Care Med*. 1995;23:1382-90.

113. Lundblad R, Giercksky KE. Endothelin concentrations in experimental sepsis: profiles of big endothelin and endothelin 1-21 in lethal peritonitis in rats. *Eur J Surg* 1995;161:9-16.
114. Krejci V, Hildebrand LB, Erni D, Sigurdsson GH. Endothelin receptor antagonist bosentan improves microcirculatory blood flow in splanchnic organs in septic shock. *Crit Care Med* 2003; 31:203-10.
115. Metsarinne KP, Vehmaan-Kreula P, Kovanen PT, Saijonmaa O, Baumann M, Wang Y, Nyman T, Fyhrquist FY, Eklund KK. Activated mast cells increase the level of endothelin-1 mRNA in cocultured endothelial cells and degrade the secreted peptide. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:268-73.



8. ÖZGEÇMİŞ

1973 Elazığ doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1990-1991 eğitim yılında Boğaziçi Üniversitesi Yabancı Diller Yüksek Okulu'nda İngilizce eğitimi aldım. 1992 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde başladığım tıp eğitimini 1998 yılında tamamladıktan sonra 1999 yılı sonuna kadar Elazığ'da çeşitli birinci basamak sağlık kuruluşlarında sağlık hizmeti verdim. 1999 Nisan TUS'nda Ankara Yüksek İhtisas Hastanesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği'nde uzmanlık eğitimi yapmaya hak kazanmama rağmen çeşitli nedenlerle bu hakkımdan vazgeçtim. 1999 Eylül TUS sonucunda yerleştirildiğim Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyodiagnostik Anabilim Dalı'ndaki görevime 15 Aralık 1999 tarihinde başladım ve bu göreve 7 ay devam ettikten sonra 2000 Nisan TUS ile aynı fakültenin Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda eğitim görmeye hak kazandım. Bu klinikteki görevime hala devam etmekteyim.