

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÜLSERATİF KOLİT VE İRRİTABL BARSAK SENDROMLU
HASTALARDA İNTESTİNAL MAST HÜCRE
DEĞERLENDİRMESİ

Dr. Onur AYDINLI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hülya ÇETİNKAYA

ANKARA

2010

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÜLSERATİF KOLİT VE İRRİTABL BARSAK SENDROMLU
HASTALARDA İNTESTİNAL MAST HÜCRE
DEĞERLENDİRMESİ

Dr. Onur AYDINLI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hülya ÇETİNKAYA

Bu tez, Biofarma İlaç San. ve Tic. A.Ş. tarafından X196 Proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2010


T.C.
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı


Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan

“Ülseratif Kolit ve İrritabl Barsak Sendromlu Hastalarda İntestinal Mast Hücre Değerlendirmesi” başlıklı, Dr.Onur Aydın’ya ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 08 / 03 / 2010

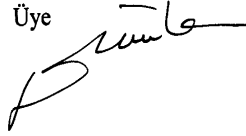

Prof.Dr.Selim KARAYALÇIN
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı
Jüri Başkanı


Prof.Dr.Hülya ÇETINKAYA
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Gastroenteroloji Bilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç.Dr.Nuran TÜRKÇAPAR
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Romatoloji Bilim Dalı

Üye



ÖNSÖZ

1998'den beri Ankara Tıplıyım. Tıp eğitimim boyunca bana emeği olan hocalarıma teşekkür ediyorum. İç hastalıkları bölümünü ve Ankara Tıp İç hastalıklarını sevdiğim için Haziran 2005'te uzmanlık eğitimime başladım ve memnun olarak mezun oluyorum. Emeği geçen hocalarıma teşekkür ederim. Tez konusunun ve hasta gruplarının belirlenmesinde, tezime ilgili her türlü konuda bana destek olan saygı değer hocam Prof. Dr. Hülya Çetinkaya'ya teşekkür ediyorum. Tez çalışmamın en önemli bölümlerinden patoloji preparatlarının hazırlanması, değerlendirilmesi ve örnek preparatların fotoğraflarının çekilmesiyle bizzat ilgilenen ve bana çok desteği olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Arzu Ensari'ye teşekkür ediyorum. Beni yetiştiren, hayatımdaki her safhada bana destek olan anneciğim ve babacığım ve sevgili aileme çok teşekkür ediyorum. Ayrıca sevgisiyle, ilgisiyle bana destek olan sevgili eşim Meftune'ye teşekkür ediyorum. Tezim için gerekli olan maddi bedelin büyük kısmını karşılayan Biofarma İlaç San. ve Tic. A. Ş.'ye teşekkür ediyorum.

Dr. Onur Aydınlı

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	v
Şekiller Dizini	vii
Tablolar Dizini	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalığı	2
2.2. Ülseratif Kolit	2
2.2.1. Epidemiyoloji	2
2.2.2.1. Genetik Faktörler	3
2.2.2.2. Çevresel Faktörler	4
2.2.2. Patogenez	4
2.2.3. Patoloji	6
2.2.4. Yakınmalar ve Klinik Bulgular	6
2.2.5. Laboratuvar Bulguları ve Tanı	7
2.2.6. Tedavi Yaklaşımı	7
2.3. İrritabl Barsak Sendromu	8
2.3.1. Patogenez	8
2.3.2. Tedavi Yaklaşımı	9
2.4. Mast Hücreleri ve Fonksiyonları	9
2.4.1. Mast Hücre Triptazları	10
2.5. İBH Mast Hücre İlişkisi	11
2.6. İBS Mast Hücre İlişkisi	13
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	15
3.1. Hasta Gruplarının Seçimi	15
3.2. Doku Örneklerinin Alınması	16
3.3. İmmünohistokimya Çalışması	16

3.3.1. İmmünohistokimyasal Boya Özellikleri	16
3.3.2. İmmünohistokimyasal Boyama İçin Kullanılan Kontrol	16
3.3.3. İmmünohistokimyasal Boyama	16
3.3.4. Preparatların Değerlendirilmesi	17
3.4. İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR	18
5. TARTIŞMA	22
6. SONUÇLAR	26
ÖZET	28
SUMMARY	29
KAYNAKLAR	30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

ASA: Amino salisilik asit

BBE: Beyin-barsak eksen

CP-İBS: Constipation predominant irritable bowel syndrome

CRP: C-reaktif protein

DAB: Diaminobenzidin

DP-İBS: Diarrhea predominant irritable bowel syndrome

ES: Enfeksiyon sonrası (post enfeksiyöz)

G-CSF: Granülosit koloni uyarıcı faktör

HLA: Human Leukocyte Antigen (İnsan lökosit antijeni)

İBH: İnflamatuvar barsak hastalığı

İBS: Inflammatory bowel syndrome

İFN: İnterferon

İHK: İmmünohistokimya

İL: İnterlökin

İV: İntravenöz

İBS: İrritabl barsak sendromu

İB-İBS: İshal baskın irritable barsak sendromu

KB-İBS: Kabızlık baskın irritable barsak sendromu

PAR-2: Proteaz aktive reseptör 2

RNA: Ribonükleik asit

SD: Standart deviasyon

TGF: Transforme edici büyüme faktörü

Th: T helper

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

TLR: 'Toll' benzeri reseptör

UC: Ulcerative colitis

ÜK: Ülseratif kolit

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. İBS patogeneğinde inflamasyon hipotezi	9
4.1. Hasta gruplarına ait kolon biyopsi örnek resimleri, hematoksilen eozin boyamasıyla, x200 mikroskop büyütmesinde	18
4.2. Hasta gruplarına ait kolon biyopsi örnekleri, mast hücre triptaz immünhisyoşimyasal boyama, x400 mikroskop büyütmesinde.	19
4.3. Hasta gruplarının ortalama intestinal triptaz pozitif mast hücre sayıları \pm standart deviasyon.	20
5.1. Mast hücresi İBS ilişkisi	24

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
2.1. Ülseratif kolitin epidemiyolojik özellikleri	3
4.1. Hasta gruplarının bazı demografik özellikleri ve bazı laboratuvar değerlerine göre dağılımı	21

1. GİRİŞ

Geleneksel olarak mast hücreleri tip 1 aşırı duyarlılık reaksiyonunun anahtar hücre tipi olarak bilinir. Son 20 yıldan beri mast hücrelerinin kronik obstrüktif akciğer hastalığı, Crohn hastalığı (CH), ülseratif kolit (ÜK), karaciğer sirozu, kardiyomiyopati, multipl skleroz ve romatoid artrit gibi birçok alerjik olmayan hastalıkta da rol oynadığına yönelik çalışmalar yayınlanmıştır (1).

Mast hücresiyle inflamatuvar barsak hastalıkları arasındaki ilişki bilim adamlarının araştırma konusu olmuştur. Ülseratif kolitte ve Crohn hastalığında intestinal mast hücre artışı birçok çalışmada gösterilmiştir. Ek olarak irritabl barsak sendromu (İBS) ve bazı kronik ishalli (lenfositik kolit, kollajenöz kolit gibi) vakalarda da mast hücrelerinin rolünü araştıran çalışmalar yapılmıştır.

Bu çalışmada ise aktif ve inaktif ülseratif kolitli, irritabl barsak sendromlu (Roma III kriterlerine göre 2 farklı grup olarak değerlendirildi.) hasta gruplarının intestinal mast hücre sayılarının birbirleriyle ve sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalığı:

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH), barsaklarda inflamasyon veya ülserasyonlarla karakterize organik değişiklikler gösteren bir hastalıktır. Çoğunlukla Crohn hastalığı, ülseratif kolit olarak sınıflandırılır; ayrıca makroskopik anormallik olmaksızın histolojik mukozal inflamasyonla giden mikroskopik kolit formları da mevcuttur. Tanısı; hastanın öyküsü, fizik muayene, endoskopik, histopatolojik ve radyolojik bulgularla beraber konulur. Klasik yakınmalar, rektal kanama, ishal, ateş ve kilo kaybıdır. Sebebi hala bilinmeyen bir hastalıktır, etyopatogenezinde genetik yatkınlık, çevresel faktörler, enfeksiyöz ajanlar, değişken barsak epitel geçirgenliği ve bozulmuş immün yanıt gibi çok sayıda faktör suçlanmaktadır (2).

2.2. Ülseratif Kolit:

Ülseratif kolit, kolon mukozasında sınırlı, tekrarlayıcı (alevlenme ve iyileşme dönemleri olan) inflamasyonla karakterize bir hastalıktır. Hemen daima rektumu tutar, ancak kolonun diğer bölümlerinde de hastalık olabilir. Hastalığın kolondaki yaygınlığına göre ülseratif proktit (rektumla sınırlı), distal kolit/proktosigmoidit (sigmoid kolonun ortasında kadar, 60. cm'ye kadar), sol taraf ÜK (splenik fleksuraya kadar), yaygın (ekstensif) kolit (splenik fleksuradan öte, çekuma ulaşmayan), ve pankolit (çekum dahil tüm kolonda inflamasyon) olarak hastalık derecelendirilmiştir. Buna göre tedavi yaklaşımları planlanır (3).

2.2.1. Epidemiyoloji:

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) yapılmış en geniş epidemiyolojik çalışmalardan birinde ÜK prevalansı 100000'de 238 olarak rapor edilmiştir (4). İnsidans ve prevalansın Asya, Japonya ve Güney Amerika'da daha düşük olduğu; siyah ırka ve İspanyol ırkına göre Yahudi toplumunda ve beyaz ırkta daha yüksek olduğu bilinmektedir (5-7). İnsidansın zamanla değiştiği, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa'da 1950'lerden 1980'lere doğru Crohn hastalığı sıklığının artıp ÜK'le neredeyse eşitlendiği görülmüştür. Ayrıca insidansın kuzeyden güneye doğru

azaldığı, ilkbaharda alevlenmelerin daha sık olduğu bildirilmiştir. Hastalık herhangi bir yaşta olabilir, ancak 15-30 yaş en sık görüldüğü yaş aralığıdır. Cinsiyet farklılığı yoktur (6, 8-11). (Tablo 2.1)

Tablo 2.1. Ülseratif kolitin epidemiyolojik özellikleri. ABD: Amerika Birleşik Devletleri, İL: İnterlökin, HLA: Human Leukocyte Antigen

İnsidans, her 100000'de bir (ABD)	2-14
Prevalans, her 100000'de bir (ABD)	27-246
Coğrafya	Kuzey ülkeleri > Güney ülkeleri
Başlangıç yaşı	15-30
Cinsiyet	Kadın = Erkek
İrk	Beyaz > siyah
Etnik	Yahudi > Yahudi olmayan
Sigara	ÜK için koruyucu
Apendektomi	ÜK için koruyucu olabilir
Olası genetik ilişkiler	Kromozom 3, 5, 7, 19, İL-23 reseptör, HLA-DR2

2.2.1.1. Genetik Faktörler:

Birinci derece akrabasında ÜK olması, kişide genel topluma göre 3-20 kat daha fazla ÜK gelişme riski oluşturur (12-14). İkiz çalışmalarında genetik uygunluk Crohn hastalığında ÜK'ye göre fazla olduğu (15, 16), bir çalışmada uygunluk sıklığının monozigot ikizlerde ÜK'de %6,3 iken CH'de %58,3 olduğu rapor edilmiş (15). İBH riski ile ilişkili gen araştırması yapılmış, 16. Kromozomda NOD2 geni CH ile ilişkili bulunmuş, interlökin (İL)-23'ün reseptörünü kodlayan gen de ÜK ile ilişkili bulunmuş (17). Ayrıca major doku uyum kompleksi de araştırılmış, HLA-DR2 ÜK ile ilişkili bulunmuştur.

2.2.1.2. Çevresel Faktörler:

Sigara kullanımıyla ÜK gelişim riski ters orantılı bulunmuştur. Transdermal nikotin bantları ülseratif kolitli hastalara tedavi amaçlı uygulanmış, ancak yakınmalarda kısmi azalma olurken, nesnel bir yanıt alınmamış (18-21). Bazı çalışmalar oral, gebeliği önleyici ilaç kullanımıyla İBH riskinin arttığını (18, 22), bazı çalışmalar ise arttırmadığını göstermiştir (23). Diyetle varlığı veya yokluğuyla ÜK gelişimi arasında ilişki bulunabilmiş özgül bir gıda faktörü tanımlanmamıştır. Yapılan çalışmalar apendektominin ÜK için koruyucu olabileceğini göstermiştir. Bir kohort çalışmasında apendektomi olan bireylerde olmayanlara göre ÜK gelişme riskinin %55 azaldığı rapor edilmiş (24). Ayrıca gastroenterit sonrası ÜK gelişme riskinin arttığı da rapor edilmiştir.

2.2.2. Patogenez:

Patogeneizde iki temel konu ortaya çıkmaktadır:

- 1-) Lüminal bakteri veya bakteri ürünlerine karşı barsak lümeninde doğal ve adaptif immün sistemin bozulmuş regülasyonu,
- 2-) Muhtemelen mukozal bariyer fonksiyonunun değişkenliğine bağlı olarak normalde olmaması gereken şekilde barsaktaki organizmalara karşı immün sistemin anormal yanıtı (25).

Mukozal immün sistemin normal fonksiyon gördüğü durumda barsak lümenindeki maddelere karşı baskılanmış immün yanıt söz konusudur. Buna oral tolerans denir. Çözünbilir antijenler kas içine veya cilt altına verilmek yerine oral verildiğinde antijene özgü yanıtı uyarılır. Bu durumun barsakta nasıl olduğuna yönelik çalışmalarda İL-10, transforme edici büyüme faktörü (TGF β) gibi inflamasyon baskılayıcı sitokinlerin rol oynadığı saptanmış. İBH'de bu immün baskılamanın değişkenliği olduğu için inflamasyon kontrolsüz hale gelmektedir. Antiinflamatuvar sitokin genleri (İL-2, İL-10, TGF β gibi) baskılı farelerde kolit gelişimi rapor edilmiştir. İBH'de aktive olmuş yardımcı (CD4+) T hücrelerin (Th) periferik kanda ve lamina propriada inflamatuvar sitokin salgıladıkları bilinmektedir. Bu hücrelerin 2 temel tipi vardır; Th1 hücreler [interferon gama (İFN γ), tümör nekrozis faktör (TNF) salgılar] transmural granüloamatöz inflamasyonu uyarır ve CH'de bu tip hücrelerin

daha baskın oldu saptanmıştır. Th2 hücreler (İL-4, İL-5, İL-13 salgılar) ise mukozadaki süperfisyal inflamasyonu uyarır, B lenfosit farklılaşmasını düzenler ve ÜK'de bu hücre tipinin baskın olduğu saptanmıştır (26). Sonuçta her iki hastalıkta da proinflamatuvar sitokinlerle antiinflamatuvar sitokinler arasındaki denge bozulur ve inflamasyon ortaya çıkar.

Th17 hücreleri yardımcı T hücrelerle aynı kökenden gelir, barsaktaki immün yanıtta kritik rol oynar ve otoimmünitede merkezi bir rolü olabilir. Th17 hücreleri İL-6, İL-17 ve granüosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) salgılar (27). İL-23 Th17 hücrelerini uyaran sitokindir (28) ve ÜK'de bu sitokinin reseptör mutasyonu saptanmıştır (17, 29-31).

Düzenleyici T hücreleri (Th1, Th3, CD25+) Th1 ve Th2 hücrelerini baskıladıkları, oral toleransla ilişkili olabilecekleri rapor edilen hücre tipleridir ve bunların fonksiyonlarındaki bozuklukların İBH patogenezindeki rolü araştırılmaktadır (32).

Nötrofil gibi bazı inflamatuvar hücreler normal barsak lamina propriasında bulunmaz, ancak İBH'de buldukları tespit edilmiş, ayrıca barsak epitel hücrelerinde lökosit bağlayıcı proteinlerde de artış görülmüş. Bu duruma 'homing' denilmektedir (33-36), bazı trombotik süreçlerin mukozal 'homing' ile ilişkisi gösterilmiştir, bu patolojik süreci engelleyici tedavi araştırmaları devam etmektedir (37).

İntestinal antijen sunan hücreler, ayrıca Th ve düzenleyici T hücreler 'toll' benzeri reseptör (TLR) adıyla bilinen, bakterilerden salgılanan molekülleri tanıyan, patojen olarak tanımlananlar için immün sistemi aktive eden reseptörlere sahiptir (38-41). Bu reseptörler bir yandan oral toleransın sağlanmasında, diğer yandan patojenlere karşı immün yanıtın sağlanmasında rol alır. İBH ile bu reseptör genlerindeki polimorfizmlerin (TLR-1, 2, 3, 5 ve 9 gibi) ilişkisi bulunmuş ve patogenezinde rolü olduğu rapor edilmiş; örneğin aktif ÜK'de TLR-3'ün sayıca azaldığı, TLR-2 ve 4'ün ise sayıca arttığı gösterilmiştir (42).

Bunların dışında intestinal mukus değişkenliği, mukusta aşırı bakteri çoğalması ve barsak geçirgenlik artışı da ÜK patogenezinde rol oynadığı düşünölen faktörlerdir (43-46).

2.2.3. Patoloji:

ÜK mukozal tutulum yapan bir hastalıktır, çoğunlukla rektumu tutar ve proksimale doğru ilerler. Hastaların %40-50'sinin rektum ve sigmoidle sınırlı hastalığı mevcuttur, %30-40'ında sigmoidin proksimaline kadar hastalık mevcutken, ancak %20'sinde tüm kolon tutulumlu hastalık görülür. Bunlarında %10-20'sinde ileum tutulumu olur ('backwash ileitis'). Makroskopik olarak hafif inflamasyonda mukoza eritemli, hafif granöler görünömlüdür. Şiddetli hastalıkta hemorajik, ödemli ve ülsere mukoza görülür. Uzun süreli hastalıkta yalancı (pseudo) polipler, atrofik ve düz barsak mukozası görölebilir. Mikroskopik olarak mukozal vasköler konjesyon, nötrofil, lenfosit, plazma hücresi ve makrofaj infiltrasyonu olabilir. Ayrıca kript absesi oluşumu ÜK'de görülür (26).

2.2.4. Yakınmalar ve Klinik Bulgular:

ÜK'de en sık yakınmalar ishal, rektal kanama, tenezm, mukuslu dışkı ve kramp tarzında karın ağrısıdır. Yakınmaların şiddeti hastalık yaygınlığıyla ilişkilidir. ÜK akut ortaya çıksa da, yakınmalar çoğunlukla haftalar ve aylar sonra oluşur. Özellikle ishal ve kanama çoğunlukla hafif ve aralıklı olduğu için hastalar doktora gitme ihtiyacı hissetmezler.

Proktitli hastalarda tenezm, taze kanlı dışkı, acil dışkılama isteği sık olurken karın ağrısı çoğunlukla olmaz. Distal hastalığı olanlarda proksimal kolon hareketleri yavaş olduğu için kabızlık görölebilir. Hastalık yaygın ve şiddetli olduğunda ateş, kilo kaybı, iştahsızlık, bulantı, kusma ve karın ağrısı görölebilir. Toksik kolitli hastalarda şiddetli kanama ve ağrı, fizik muayenede palpasyona hassasiyet, perküsyonda timpanizm alınabilir. Perfore megakolon peritonit bulguları verir.

ÜK'nin barsak dışı tutulumları da mevcuttur. Eritema nodozum, pyoderma gangrenozum hastalık aktivitesiyle ilişkilili, psöriazis ise ilişkisiz deri bulgularıdır.

Ankilozan spondilit, periferik artrit ve sakroileit sık görülen romatolojik bulgulardır ve hastalık aktivitesiyle ilişkilidir. Konjonktivit, anterior üveit ve episklerit göz bulgularını oluşturur. Hepatosteatoz, kolelitiazis ve primer sklerozan kolanjit de hepatobilier klinik görünümüdür. Bunun dışında nefrotik sendrom, trombo emboli ve osteoporoz gibi birçok klinik tabloya da sebebiyet verebilir (26).

2.2.5. Laboratuvar Bulguları ve Tanı:

Şiddetli hastalık C-reaktif protein (CRP), sedimantasyon, trombosit sayısı gibi akut faz belirteçlerinde artış ve hemoglobulinde düşme ile birlikte. Ayrıca lökositöz, albumin düşüklüğü de olabilir. Proktit ve distal kolitte bu bulguların hiçbiri olmayabilir. Tanı hastanın öyküsü ve yakınmaları, fizik muayene, negatif dışkı kültürü, dışkıda clostridium difficile toksini ve parazit olmaması; ayrıca kolonoskopik değerlendirme ve kolon biyopsisine dayanır (26).

2.2.6. Tedavi Yaklaşımı:

Hastalığın şiddetine göre tedavi belirlenir. Hafif-orta proktit veya proktosigmoiditte oral 5-aminosalisilik asit (ASA) veya suppozituar-lavman şeklinde 5-ASA-steroidle tedaviye başlanır, yanıt alınırsa remisyon sağlanıncaya kadar devam edilir ve sonra dozlar azaltılır; yanıt alınmazsa oral ve rektal ilaç formları birlikte verilir, yine yanıt alınmazsa oral steroid eklenir. Sol taraf kolitinde oral 5-ASA, rektal 5-ASA veya steroidle birlikte verilir, yanıt alınmazsa oral steroid, yanıt alınmazsa 6 merkaptopurin veya azatiopurin eklenir, steroid azaltılır; yine yanıt alınmazsa intravenöz (İV) siklosporin tedaviye eklenebilir, ÜK için anti TNF ilaçlar (infliksımab) kullanımı tartışmalıdır, yine yanıt alınmazsa operasyon gerekebilir. Şiddetli hastalıkta yüksek doz İV steroidle tedavi başlanır, tedaviye yaklaşım yukarıdaki gibidir (3).

ÜK'de bakteriyel enfeksiyonlar da tabloya eşlik edebileceği için dışkı mikroskopi, kültür ve dışkıda clostridium difficile antijeni gönderildikten sonra İV metronidazol ve siprofloksasin tedavisi başlanmalıdır, bu tedaviyle birçok hastada remisyon daha hızlı olmaktadır.

Ayrıca hastaların beslenmesi ve sıvı-elektrolit dengesizliklerinin de düzeltilmesi tedavinin önemli bir kısmını oluşturur. Total parenteral beslenme gereken hastalara verilmez.

Tedavinin amaçların biri de remisyona idamesidir. Hastalığın şiddetine göre oral 5-ASA, azatiopurin, siklosporin veya steroid uzun dönem kullanılması gerekebilir.

2.3. İrritabl Barsak Sendromu:

İrritabl barsak sendromu (İBS), fonksiyonel barsak hastalıkları sınıfında değerlendirilen, toplumda erişkin ve adolesanlarda %10-20 oranında görülen, diğer fonksiyonel hastalıklarla birlikte seyredabilen, azalmış yaşam kalitesi ve yüksek sağlık giderlerine neden olan bir sendromdur. Tanısı bir grup temel yakınmanın varlığında, olası nesnel yapısal hastalıkların olmadığına gösterilmesine dayanır (47). 1978'de yayımlanan Manning kriterleri İBS tanısında kullanılmaya başlanmıştır. Duyarlılığı yüksek, özgüllüğü düşük olan bu kriterler 1989'da geliştirilerek Roma I kriterleri yayımlanmıştır. 1999'da Roma II ve 2006'da Roma III kriterleri olmak üzere 2 kez daha tanı kriterleri düzenlenmiştir. Roma III kriterlerinde İBS; ishal baskın (İB) İBS, kabızlık baskın (KB) İBS, karışık tip İBS ve tiplendirilememiş İBS olarak 4 gruba ayrılmıştır. Semptom başlangıcı 6 aydan uzun olmak üzere en az son 3 aydır, ayda en az 3 gün tekrarlayıcı karın ağrısı veya karında rahatsızlık olması ve bu yakınmanın aşağıdaki durumlardan en az 2'siyle birlikte olması İBS tanısı için gerekli görülmüştür:

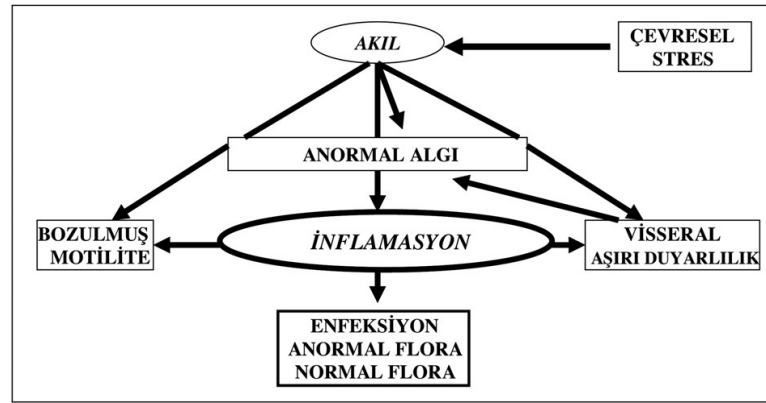
- 1-) Dışkılamayla yakınmanın düzelmesi,
- 2-) Yakınma başlangıcının dışkılama sıklık değişikliğiyle ilişkili olması,
- 3-) Yakınma başlangıcının dışkı görünüşüyle ilişkili olması.

2.3.1. Patogenez:

Sendroma özgül bir fizyolojik veya psikolojik anormallik bulunamasa da İBS'de anormal barsak hareketleri, organ (viseral) aşırıduyarlılığı, psikolojik disfonksiyon ve duygusal stresle birliktelik birçok çalışmada gösterilmiştir. Bunun haricinde düşük dereceli inflamasyon İBS'nin patogenezinde ilgi odağı olan bir konudur. E. Quigley İBS'nin olası patogenezinde inflamasyonun merkezi rolü üzerinde durmuştur (şekil

2.1). Buna göre bakteriyel veya viral enfeksiyonlar, bozulmuş barsak florası veya normal floraya anormal immun yanıt mukozal inflamasyona yol açabilir, bu inflamasyon motiliteyi ve viseral algıyı bozarak (barsak-beyin arası etkileşimlerle) İBS kliniğine neden olabilir (48).

Birçok çalışmada, İBS’de mast hücresi, lenfosit, enterokromaffin hücre gibi değişik inflamatuvar hücre tiplerinde ve bunların salgıladığı sitokinlerde artış tespit edilmiştir.



Şekil 2.1. İBS patogenezinde inflamasyon hipotezi (E.Quigley, World J Gastroenterol 2006; 12: 1-5'ten uyarlanmıştır.)

2.3.2. Tedavi Yaklaşımı:

Tedavi yaklaşımı yakınmalara yönelik diyet, yaşam tarzı değişiklikleri, ilaçlar; ayrıca psikolojik yönden değerlendirme, aktif bir patoloji varsa tedavisi şeklindedir. Hastalara tekrar edebilen bir hastalıklarının olduğu, ancak endişe edilecek bir durumun olmadığı bildirilmelidir.

2.4. Mast Hücreleri ve Fonksiyonları:

Mast hücreleri kemik iliğinde kök hücrelerden farklılaşarak vücuttaki birçok organ ve dokuya dağılır ve gittikleri dokularda büyüme faktörlerinin etkisiyle olgunlaşır. Allerjik hastalıklardaki rolü yıllardır bilinmektedir.

Mast hücreleri tüm vaskülarize organlar ve bağ dokusunda bulunur. Sayıları ve yoğunlukları, yabancı organizma ve antijenlere cevap verebilmeleri için en çok dermis, barsak mukoza ve submukozası, konjonktiva, pulmoner alveoller ve hava yolları ile kalbin atrial apendiksindedir (49-55).

Mast hücre sayısı psöriazis, romatoid sinovit, inflamatuvar barsak hastalıkları, pulmoner fibrozis, kanser, aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar ve kardiyomiyopati gibi inflamasyonla ilişkili çok çeşitli hastalıklarda normale göre artmış olarak bulunmuştur (56-66).

Diğer mukozal yüzeylerdekine benzer şekilde mast hücreleri, barsaktaki lüminal antijenlere karşı alerjik yanıtın ve doğal koruyucu immün yanıtların bir parçasıdır. Barsaktaki mast hücreleri beyin-barsak ekseninin (BBE) uç elemanı olarak çalışır. BBE, periferik (enteral ve otonom) sinir sistemiyle bağlantılı merkezi sinir sistemindeki birçok düzenleyici çekirdekten oluşur. BBE'nin rollerinden biri, stresli olayların algısı ve/veya deneyimi ile ilgili bilgiyi beyinden barsaklara iletmektir (67).

Stresle BBE aktive olunca mast hücrelerinin bünyesindeki granüller boşalır. Bu granüllerden histamin, serotonin, nötral proteazlar (triptazlar, kimazlar, katepsin G, renin ve karboksipeptidaz A gibi...), proteoglikanlar (heparin, kondrotin sülfat gibi...) lipid medyatörler (prostoglaninler, lökotrienler, trombosit aktive edici faktör gibi...) ve bazı sitokinler [interlökinler, tümör nekrozis faktör (TNF) gibi...] salgılanabilir.

2.4.1. Mast Hücre Triptazları:

Triptazlar insan mast hücresinde en fazla bulunan proteazdır, hücre proteinlerinin %20'sini oluşturur (68-70). Triptazlar diğer granüositlere göre en fazla mast hücresinde bulunur. Matür triptaz neredeyse mast hücresine özgü bir ürün olması ve

histamine göre daha uzun yarılanma ömrü olması sebebiyle mast hücresi degranülasyonu için yararlı bir biyolojik belirteçtir (71). İn vitro olarak tespit edilen fonksiyonları; fibrinojen ve fibrinogenez inhibisyonu (72), doku matriks metalloproteinaz aktivasyonu (73), fibroblast proliferasyonu ve hücre kültürlerinde prokollajen için mRNA (ribonükleik asit) sentezini uyarmak (74, 75), eozinofiller için kemotaktik aktivite (76), bronşiyal epitel hücrelerinde interlökin 8 ve adhezyon moleküllerinin sentezini arttırmaktır (77).

Triptazlar ayrıca epitel hücrelerinde proteaz aktive reseptör 2 (PAR-2)'yi aktive ederek sıkı bağlantı proteinlerinin düzenlenmesine ve barsak epitelinde hücre dışı (parasellüler) yollar aracılığıyla geçirgenlik artışına neden olabilir (78). Bu geçirgenlik artışları submukozadaki immün sistemi bakteriyel ürünlere ve gıda antijenlerine karşı aktive edebilir (79, 80).

2.5. İBH Mast Hücre İlişkisi:

Triptazların PAR-2 reseptörlerini aktive ederek barsak geçirgenliğini artırması klinik olarak çok önemlidir, çünkü artmış mukozal geçirgenlik ve aktive olmuş mukozal immün sistem İBH'de mukozal inflamasyon için iki önemli unsurdur (67). PAR-2 reseptörleri sadece barsak epitelinde değil, ayrıca barsaktaki afferent sinir uçlarında ve mast hücrelerinde de gösterilmiştir. PAR-2 reseptörlerin bu noktalardaki aktivasyonu sinir uçlarından proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına ve nörojenik inflamasyona sebep olabilir (81) veya pozitif bir geri besleme yaratarak barsaktaki mast hücrelerinin salgılarını arttırabilir (82, 83).

İBH'nin, yatkın bireylerin barsak lümenlerindeki normal proinflamatuvar faktörlere anormal immün yanıt sonucu geliştiğine inanılmaktadır (84). Barsak bariyer bütünlüğünün bozulması, İBH patogenezinde kabul görmüş bir durumdur. Birçok genetik ve çevresel faktörün etkileşmesi sonucunda başlayan inflamatuvar süreçler ve kısır döngüler kontrolsüz inflamasyona ve doku yıkımına neden olur. Ancak

inflatuvar süreci başlatacak bakteriyel antijenler gibi lüminal faktörler mutlaka barsak bariyerini geçmelidir (85-88). Barsak mukozasındaki mast hücrelerinin degranüle olmasının ve stresle BBE'nin aktive olmasının, İBH patogeneğinde gerekli barsak geçirgenlik artışı ve mukozal inflamasyonun gerçekleşmesinde rolü olabilir.

İnflatuvar barsak hastalıklarında mast hücresi çok sayıda çalışmada değerlendirilmiştir. 1980'de Dvorak ve arkadaşları Crohn hastalarından alınan ileum biyopsilerinde artmış mast hücre sayısı saptamışlar (89). Nolte ve arkadaşları 1990'da Crohn hastalığı olan kişiler ve kontrol grubuna göre ülseratif kolitli hastalarda intestinal mast hücre sayısının daha fazla olduğunu rapor etmişler (62). King ve arkadaşları ise aktif ÜK mukozasında normal kolona göre azalmış mast hücre sayısı rapor etmişler (90). Ayrıca Farhadi ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre anlamlı mast hücre artışı saptamamışlar (91). Yakın zamanda Nishida ve arkadaşları İBH'li hastaların kolon biyopsilerinde lamina propriada makrofajlardan fazla sayıda mast hücrelerini bulduklarını bildirmişler. Bu bulgu, mast hücrelerinin salgıladıkları sitokinlerle makrofajları uyararak mukozal inflamasyonun tetikleyici hücresi olmalarının bir göstergesi olarak yorumlanmış (92).

Farklı sitokinlerin antikorlarıyla İBH'de intestinal mast hücresi değerlendirilmiştir. Akira Andoh ve arkadaşları kimaz monoklonal antikorunu kullanarak Crohn hastalığı olan ve ÜK'li hasta gruplarının kolon biyopsilerinde mast hücre sayılarını karşılaştırmışlar. Aktif ve inaktif Crohn hastalığı grubunda kontrole göre anlamlı artış saptanırken, aktif ÜK grubunda kontrole göre anlamlı düşüş görülmüş (93). Lilja ve arkadaşları TNF alfa antikoruyla Crohn hastalığı olan hastaların barsak biyopsilerinde benzer bir çalışma yapmış ve artmış mast hücre rapor etmiş (94)

Çalışmaların sonuçları arasında bazı farklılıklar, çelişkiler olsa da İBH'de stresin, BBE aktivasyonunun ve mukozadaki mast hücrelerinin tetiklediği immün

mekanizmaların birbirleriyle yakından ilişkili olduğu konusunda bir genel kabul mevcuttur.

2.6. İBS Mast Hücre İlişkisi:

Beyin-barsak ekseninin uç elemanı olarak düşünülen mast hücrelerinin fonksiyonel barsak hastalıklarında da önemli rol oynaması sürpriz değildir. İritabl barsak sendromuyla intestinal mast hücre ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. 1962'de Hiatt ve Katz adlı araştırmacılar 4 spastik kolonlu hasta ile 5 sağlıklı kontrol grubundan alınan kolon rezeksiyon örneklerinde muskularis propriada mast hücre sayısına bakmışlar ve ilk defa kontrol grubuna göre İBS'de kolonda mast hücre sayısında artış olduğunu göstermişler (95).

G. Barbara ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, İBS'li hastaların kolon biyopsilerinde kontrol grubuna göre daha fazla mast hücresi, barsak lümeninde daha fazla histamin ve triptaz salgısı, mast hücresi-sinir hücresi arası mesafenin de daha kısa olduğunu rapor etmişler (96). Park JH ve arkadaşları ishal baskın İBS'li grupla kontrol grubunda terminal ileum, kolon ve rektum biyopsilerinde immünohistokimyasal boyamayla mast hücresi saymışlar, psikolojik stres ve depresyon yönünden değerlendirmişler ve her iki gruptaki bireylere barostat testiyle en yüksek tolere edilebilir barsak basınç ölçümü yapmışlar. Çalışma sonucunda İB-İBS'li grupta psikolojik stres daha fazla, mukozal mast hücre sayıları anlamlı olarak fazla ve tolere edilebilir en yüksek barsak genişleme basıncı anlamlı olarak düşük bulunmuş (97). Benzer şekilde Piche T. ve arkadaşları da İBS'li hastalarda kolon mukozasında mast hücre sayısındaki artışla depresyon/yorgunluk arasında anlamlı ilişki bulmuşlar (98). Guilarte M. ve arkadaşları İB-İBS'li hastalarla sağlıklı gönüllü kontrol grubunda jejunum biyopsilerinde immünohistokimyasal boyamayla jejunal mukozal mast hücre sayısı değerlendirmesi ve jejunum sıvısında triptaz konsantrasyonu araştırması yapmış; sonuç olarak kontrol grubuna göre İB-İBS'li grupta mukozal mast hücre sayısı ve triptaz konsantrasyonu anlamlı olarak fazla bulunmuş (99). Lee KJ ve arkadaşları enfeksiyon sonrası (ES) İBS'li ve enfeksiyon sonrası olmayan İBS'li (İB-

İBS, KB-İBS ve karışık tip İBS) hasta gruplarında rektal biyopsilerde mast hücre, enterokromafin hücre ve T lenfosit sayılarını değerlendirmiş; ES-İBS'li grupta diğer gruplara göre bu üç hücre tipinde anlamlı artış saptamışlar, ES olmayan İBS'li grupta ise; İB-İBS'lilerde sadece mast hücre artışı saptanmış, KB-İBS ve karışık tip İBS'li gruplarda kontrol grubuna göre 3 hücre tipinde de anlamlı artış saptamamışlar (100).

Bu çalışmada aktif ÜK, inaktif ÜK, İB-İBS ve KB-İBS, karışık tip İBS tanıları olan hastaların sağlıklı kontrol grubuyla ve birbirleriyle karşılaştırmalı olarak intestinal mast hücre sayıları değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Hasta Gruplarının Seçimi:

Çalışmaya toplam 72 hasta dahil edildi. Sağlıklı kontrol grubu herhangi bir gastrointestinal yakınması olmayan, yaşı 50'nin üzerinde olup, kanser taraması amacıyla kolonoskopi yapılan ve kolonoskopide makroskopik olarak polip, ödem dışında herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamış 10 hastadan oluşturuldu.

İB-İBS grubu Roma III kriterlerini karşılayan, ishal yakınması en az 6 aydır olan 13 hastadan oluştu. Bu hasta grubuna kronik ishal etyolojisine yönelik anamnez, fizik muayene ve laboratuvar değerlendirmeleri sonucunda herhangi bir organik sebep bulunamadı. Hastaların hepsi sulu-cıvık, kansız, yağsız dışkılama tariflediler. İshalin herhangi bir gıda ile ilişkisi olmadığı öğrenildi. Hastaların hiçbirinde kilo kaybı, ateş, titreme gibi yakınmalar yoktu. Tam kan sayımı, biyokimya, sedimantasyon, CRP değerleri normal geldi. Dışkı mikroskopisi normal, dışkı kültürü negatif, dışkıda clostridium antijen negatif geldi. Ek olarak çölyak hastalığına yönelik anti endomisyum, anti gliadin, anti transglutamidaz immünglobulin A ve G'ler negatif geldi. Serum gastrin düzeyleri normaldi. Yapılan üst gastrointestinal endoskopi ve kolonoskopilerde makroskopik olarak anormal bulgu saptanmadı. Endoskopiler sırasında alınan duodenum biyopsilerinde çölyak hastalığını düşündürecek bulgu veya amiloid birikimi rapor edilmedi, kolon biyopsilerinde ise ödemli kolon dışında herhangi bir patolojik bulgu saptanmadı.

24 hastadan oluşan diğer İBS grubunu ise ROMA III kriterlerine göre kabızlık baskın veya karışık tip (hepsinin biyopsi alındığı dönemde barsak yakınması kabızlık, karın ağrısı ve karın şişkinliğiydi) İBS tanısı konulan hastalar oluşturdu. Bu grupta da İBS tanısı İB-İBS grubunda olduğu gibi anamnez, fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri sonucunda organik bir patolojinin olmadığı gösterilerek konuldu.

Ülseratif kolit grubunu yine anamnez, fizik muayene ve laboratuvar (kolonoskopi ve biyopsi değerlendirmesi dahil) sonucu ülseratif kolit tanısı olan ve bu tanıyla mesalazin, azothiopurin veya kortikosteroid gibi ilaçlarla tedavi gören 20 hasta oluşturdu.

3.2. Doku Örneklerinin Alınması:

Yukarıda ifade edilen hasta gruplarından kolonoskopi sırasında kolonun değişik yerlerinden (rektum, sigmoid kolon, transvers kolon, inen kolon veya çıkan kolon) tanı amaçlı olarak alınan biyopsiler çalışmada kullanıldı.

3.3. İmmünohistokimya (İHK) Çalışması:

3.3.1. İmmünohistokimyasal Boya Özellikleri:

Çalışmada mast hücre triptaz fare monoklonal antikoru (Novocastra, AA1 kopyası) kullanıldı.

3.3.2. İmmünohistokimyasal Boyama İçin Kullanılan Kontrol:

Mast hücre triptaz antikoru için mide (gastrit) dokusu kontrol doku olarak kullanıldı.

3.3.3. İmmünohistokimyasal Boyama:

Ventana i-View DAB (diaminobenzidin) Detection kiti kullanılarak, mast hücre triptaz antikoru Ventana Benchmark XT İHK otomatik boyama makinasında 1/150 dilüsyonda, 4 dakika proteaz 1 ile 'pretreatment' yapılarak 32 dakika inkübasyonla boyama yapıldı.

3.3.4. Preparatların Değerlendirilmesi:

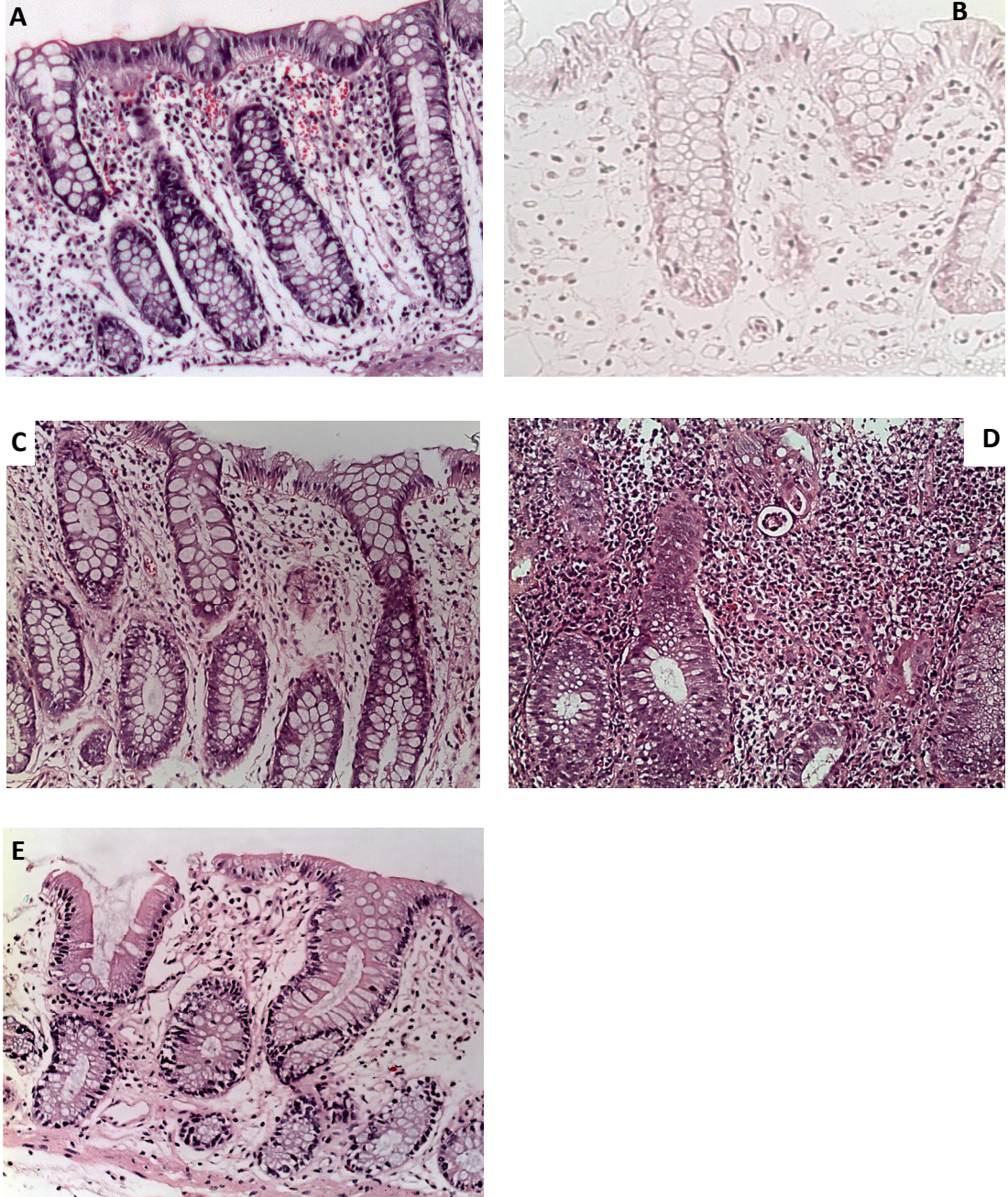
Her preparat, 400 mikroskop büyütmesinde, mast hücre yoğunluğunun en fazla olduğu 5 farklı büyütme alanında ('hot spot') lamina propriadaki triptaz pozitif mast hücrelerin sayılması Şeklinde değerlendirildi. Ancak yaklaşık 5 biyopsi materyalinin boyutları 5 büyük büyütme alanının sayımına izin vermeyecek kadar kk olduğundan aynı sayım yalnızca 3 alanda yapılabildi. Sonuçlar her olgu için ortalama mast hücre triptaz pozitif mast hücre sayısı hesaplanarak kaydedildi.

3.4. İstatistiksel Analiz:

5 grubun intestinal triptaz pozitif mast hücre sayılarının değerlendirilmesinde öncelikle tek yönlü varyant analizi yapılmıştır. Sonra hangi grupların birbirinden farklı olduğunun tespiti için Bonferroni oklu karşılaştırma testi yapılmıştır. İntestinal mast hücre sayısıyla yaş, cinsiyet, serum CRP, lökosit sayısı arasındaki ilişki Spearman'ın korelasyon katsayısı hesaplanarak değerlendirilmiştir. Bu testler 'Statistical Package for Social Sciences for Windows Version 15.0' (SPSS Inc; Chicago IL, USA) programıyla yapılmıştır.

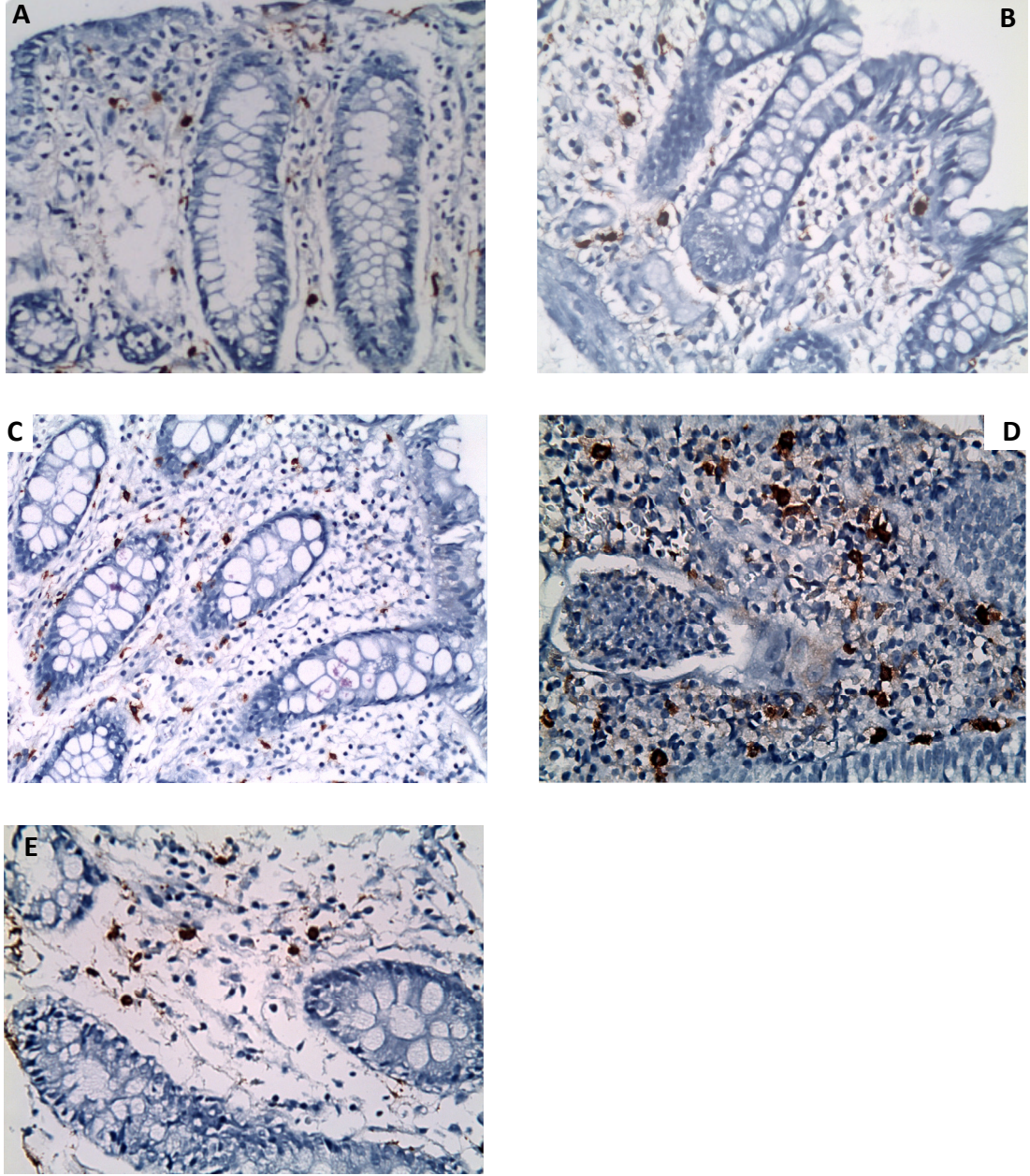
4. BULGULAR

Hasta gruplarına ait örnek kolon biyopsi resimleri aşağıda gösterilmiştir. (Şekil 4.1)



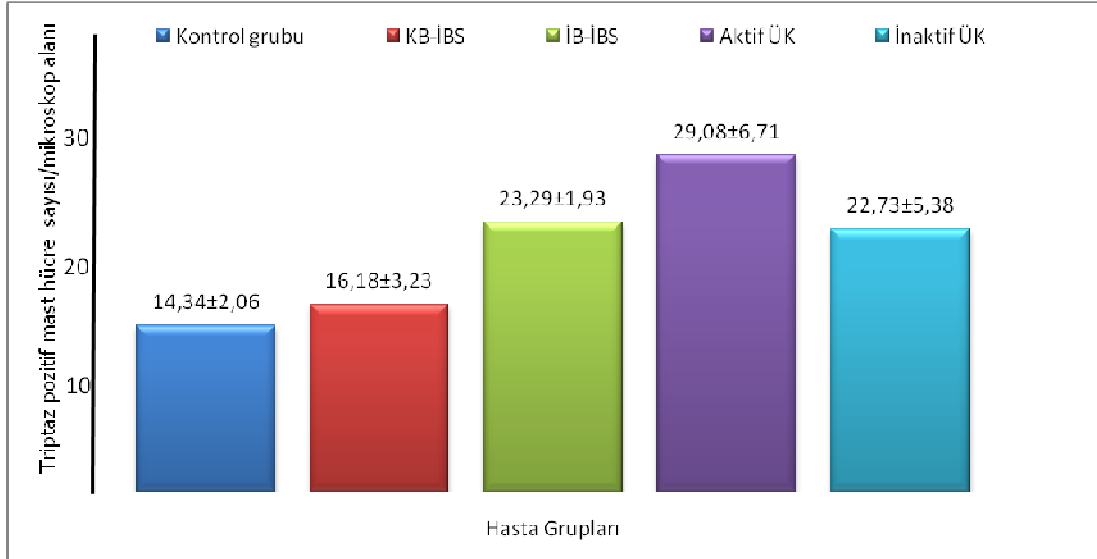
Şekil 4.1. Hasta gruplarına ait örnek kolon biyopsi fotoğrafları, hemotoksilen-eozin boyama, x200 mikroskop büyütmesi; A: Sağlıklı kontrol, B: KB-İBS, C: DB-İBS, D: Aktif ÜK, E: İnaktif ÜK

Hasta gruplarına ait örnek mast hücre triptaz immünohistokimyasal boyalı preparatlar aşağıda gösterilmiştir. (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. Hasta gruplarına ait örnek kolon biyopsi fotoğrafları, mast hücre triptaz immünohistokimyasal boyama, x400 mikroskop büyütmesi; A: Sağlıklı kontrol, B: KB-İBS, C: DB-İBS, D: Aktif ÜK, E: İnaktif ÜK

Çalışmaya dahil olan sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin ortalama \pm standart deviasyonu $14,34 \pm 2,063$ olarak hesaplandı (Şekil 4.3). Mast hücre sayısı yönünden KB-İBS grubuyla anlamlı fark saptanmazken ($p>0,05$), İB-İBS, aktif ÜK ve inaktif ÜK gruplarından anlamlı olarak daha az mast hücresi (sırasıyla $p<0,001$ $p<0,001$ ve $p<0,01$) hesaplandı. Bu gruptaki kolon biyopsileri hemotoksilen eozin boyamasıyla ödemli kolon olarak yorumlandı. İB-İBS grubunda mast hücre sayısı ortalaması $23,29 \pm 1,93$ olarak hesaplandı. Bu grupta sağlıklı kontrol grubu ve KB-İBS grubundan anlamlı olarak fazla (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$), aktif ÜK grubundan anlamlı olarak az ($p<0,01$) mast hücre sayısı hesaplanırken, inaktif ÜK grubuyla anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu gruptaki kolon biyopsilerinin 10'u ödemli kolon, 2'si minimal iltihap ve 1'i normal kolon olarak yorumlandı. KB-İBS grubunda mast hücre sayısı ortalaması $16,183 \pm 3,23$ olarak hesaplandı. Bu grubun aktif ÜK ve inaktif ÜK gruplarına göre anlamlı olarak daha az mast hücresi ortalaması olduğu görüldü (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,01$). KB-İBS grubundaki kolon biyopsilerinin 12'si ödemli kolon, 8'i normal kolon, 4'ü minimal iltihaplı kolon olarak yorumlanmıştır.



Şekil 4.3. Hasta gruplarının ortalama intestinal mast hücre sayıları \pm standart deviasyon

Aktif ÜK grubunda mast hücre ortalaması $29,08 \pm 6,71$ olarak hesaplandı ve tüm gruplara göre anlamlı mast hücre artışı saptandı, kolon biyopsilerinin 10'u difüz aktif kolit, 6'sı fokal aktif kolit olarak yorumlandı. İnaktif ÜK grubunda ise mast hücre ortalaması $22,73 \pm 5,38$ hesaplandı. Bu gruptaki kolon biyopsilerinin 3'ü ödemli kolon, 5'i normal kolon ve 1'i minimal iltihaplı kolon olarak yorumlandı.

Hasta gruplarının yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, ayrıca biyopsi alınan zamandaki CRP düzeyi, lökosit sayısı (tablo 4.1) ile intestinal mast hücre sayıları arasındaki ilişki, istatistiksel olarak Spearman'ın korelasyon katsayısı hesaplanarak değerlendirildi, anlamlı ilişki bulunamadı. CRP düzeyi ve lökosit sayısı sağlıklı kontrol grubu, İB-İBS, KB-İBS gruplarında zaten normaldi. Ancak ÜK gruplarında bu değerlerde belirgin yükseklik mevcuttu. Mast hücre sayısı ÜK grubunda CRP'yle %30,2 oranında doğru orantılı ilişki bulunurken bu oran istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,316 > 0,05$). Aynı grupta kanda lökosit sayısı ile intestinal mast hücre sayısı arasındaki ilişki hesaplandı, %0,8'lik ters orantı saptandı, bu da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,979 > 0,05$).

Tablo 4.1. Hasta gruplarının bazı demografik özellikleri ve bazı laboratuvar değerlerinin dağılımı

	Yaş Ortalaması	Cinsiyet		CRP normal (<3mg/L) olanların sayısı	CRP yüksek (>3mg/L) olanların sayısı	Lökosit sayısı normal ($4-9 \times 10^9/L$) olanlar	Lökosit sayısı $>9 \times 10^9/L$ olanların sayısı
		Erkek sayısı	Kadın sayısı				
Kontrol Grubu	58 (50-73)	4	6	10	-	9	1
İB-İBS	51.69 (28-73)	6	7	13	-	12	1
KB-İBS	50.16 (22-82)	9	15	21	3	22	2
Aktif ÜK	46,31 (24-64)	11	5	6	10	11	5
İnaktif ÜK	46 (28-60)	4	5	5	4	2	7

5. TARTIŞMA

Mast hücreleri kemik iliğinden pluripotent kök hücrelerden üretilir (101). Kana geçtikten sonra mast hücre öncüleri özellikle bağ dokusunun olduğu birçok organa dağılır ve yerleşir. Olgunlaşmaları yerel büyüme faktörlerinin etkisiyle gittikleri dokuda tamamlanır. Yıllardır mast hücreleri tip 1 aşırı duyarlılık reaksiyonlarının önemli bir elemanı olarak kabul görüyordu (102, 103), ancak günümüzde artritler, multipl skleroz, bülloz penfigoid, kardiyomiyopatiler, inflamatuvar barsak hastalıkları gibi birçok hastalıkta rol aldıkları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (103).

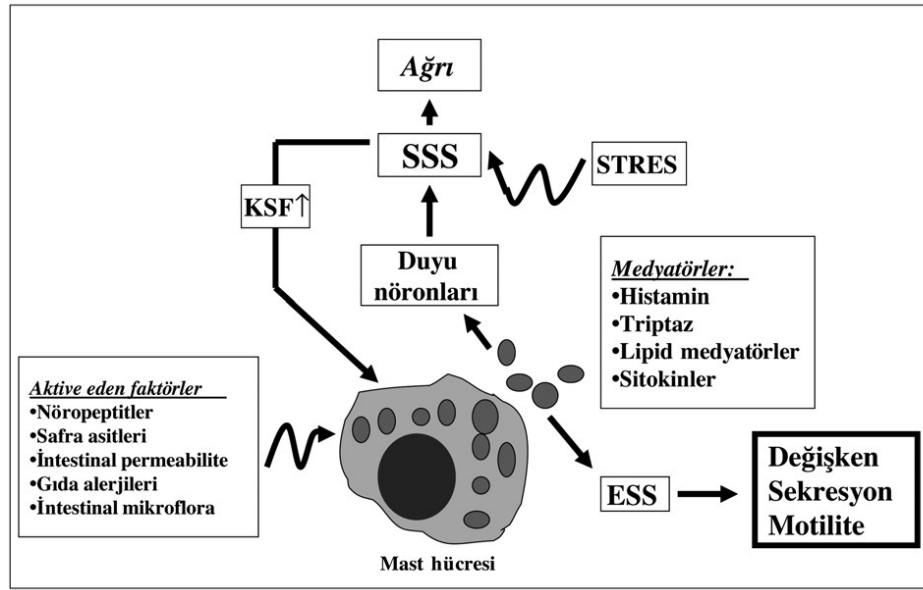
Triptazlar mast hücresi granüllerinde en fazla bulunan proteindir ve mast hücre degranülasyonunda salınan proteazların miktar olarak çoğunluğunu oluşturur. Triptazların mast hücresinden çoğunlukla inflamasyon sırasında salındığı bilinmektedir. Nötrofil aktivasyonu, eozinofil aktivasyonu, vasküler geçirgenlikte artış, anjiogenezis uyarımı, artrit gelişiminin uyarımı, tümör hücre proliferasyonu gibi birçok biyolojik etkileri saptanmıştır. Ancak bu işlevlerin hastalık patogenezindeki etkisi henüz bilinmemektedir (103).

İnflamatuvar barsak hastalıklarında intestinal mast hücre artışı uzun yıllardır bilinmektedir. Dvorak arkadaşları Crohn hastalığı olan bireylerde (89), Nolte ve arkadaşları ülseratif kolitli hasta gruplarında intestinal mast hücre sayısının arttığını saptamışlar (62). Yakın zamanda Nishida ve arkadaşları ülseratif kolitte kolon biyopsilerinde lamina propriada mast hücre sayısının makrofajlardan fazla olduğunu, bu durumun lenfositik ve kollajenöz kolitte olmadığını rapor etmişler. Lamina propriada mast hücrelerin daha fazla olması, mast hücrelerinin proinflamatuvar sitokinleriyle makrofajları uyardığını gösterir bir bulgu olduğu düşünülmüş (92). Raitel M. ve arkadaşları intestinal mast hücre triptaz salgısının ülseratif kolitte Crohn hastalığı ve kontrol grubuna göre artmış olduğunu göstermişler (104). Ayrıca kimaz,

TNF- α gibi mast hücrelerinden salgılanan sitokinlerin antikorlarıyla da Crohn hastalığı ve ülseratif kolitli hasta gruplarının biyopsilerinde mast hücre sayısı değerlendirilmiş ve kontrol gruplarına göre artış saptanmış (93, 94). Bizim çalışmamızda da aktif ve inaktif ülseratif kolitli vakalarda intestinal mast hücre sayısının kontrol grubuna göre artmış olduğu saptandı. Aktif ÜK grubunun mast hücre ortalaması $29,08 \pm 6,71$ olarak hesaplandı ve tüm gruplara göre anlamlı mast hücre artışı saptandı. İnaktif ÜK grubunda mast hücre sayı ortalaması $22,73 \pm 5,38$ hesaplandı; sağlıklı kontrol grubuna ve KB-İBS grubuna göre anlamlı olarak fazla ($p < 0,001$) bulunurken, İB-İBS grubuna göre anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

İmmün sistemin ve inflamasyonun gastrointestinal fonksiyonlar üzerine etkisi araştırma konusu olmuştur. İBS'de düşük dereceli inflamasyonun varlığı uzun süredir bilinmektedir. Chadwick ve ark. Roma kriterlerine uyan 77 İBS'li hastayı 28 asemptomatik bireyle karşılaştırmış, her iki gruba da kolonoskopik biyopsi sonrası geleneksel histolojik ve immunhistokimyasal inceleme yapmışlar. İBS'li grubun 35/77'sinde normal histolojik bulgular saptanırken immunhistokimyasal olarak kontrol grubuna göre intraepitelyal lenfositte 1.8 kat, lamina propriada CD3(+) T hücrede 2 kat, CD25(+) T hücrede 6.5 kat artış saptanmış. İBS'li grubun 31/77'sinde histolojik olarak mikroskopik kolitis saptanırken kontrol grubuna göre anlamlı mast hücre ve nötrofil artışı görülmüş, 8/77'sinde lenfositik kolitisle uyumlu bulgulara rastlanmış (105). S. Dunlop ve arkadaşları, enfeksiyon sonrası İBS ve enfeksiyon sonrası olmayan İBS'li hasta gruplarında kolon biyopsilerinde lamina propriada kontrol grubuna göre daha fazla T lenfosit saptamışlar (106). G. Barbara ve arkadaşları 44 İBS'li hastayla (Roma II kriterlerine uygun) 22 sağlıklı bireyde kolon biyopsisi almışlar, mast hücresi araştırmışlar, mast hücrelerinden sentezlenen histamin-triptaz düzeyini ve elektron mikroskopuyla mast hücresi-sinir hücresi arası mesafeyi ölçmüşler. Çalışma sonunda İBS'li grubun %70'inde kontrol grubuna göre anlamlı mast hücre artışı, mukozal histamin-triptaz artışı, degranüle mast hücre artışı, ayrıca mast hücre sinir hücresi arası mesafenin de anlamlı olarak daha yakın olduğunu tespit etmişler (96).

G. Barbara mast hücre İBS ilişkisini şu şekilde yorumlamıştır: Hastadaki psikolojik stres kortikotropin salıncı faktör (KSF) salgısını arttırarak mast hücre sayısını ve aktivasyonunu uyarır, ayrıca nöropeptitler, safra asitleri, intestinal geçirgenlik artışı, gıda alerjileri ve intestinal mikroflora değişiklikleri yine mast hücre aktivasyonuna neden olur. Mast hücrelerden salınan histamin, triptaz, lipid medyatörler ve sitokinler, bir taraftan intestinal sinir sistemini etkileyerek değişken motilite ve sekresyona neden olurken, diğer taraftan duyuşal nöronlar aracılığıyla visceral hiperaljeziye neden olurlar (107). (Şekil 5.1)



Şekil 5.1. Mast hücresi İBS ilişkisi, KSF: kortikotropin salıncı faktör, SSS: santral sinir sistemi, ESS: enteral sinir sistemi (G. Barbara ve ark. Neurogastroenterol Motil 2006; 18: 6-17'den uyarlanmıştır.)

İBS'de mast hücre değerlendirmesi daha çok enfeksiyon sonrası İBS ve İB-İBS'de yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalarda İB-İBS ve ES-İBS hastaların intestinal mast hücre sayısı kontrol grubuna göre artmış olarak bulunmuş. Çalışmamızda İBS'nin 2 farklı alt tipini sağlıklı kontrol grubuyla ve ülseratif kolitli gruplarla karşılaştırmalı olarak değerlendirmiş olduk. İB-İBS'de ortalama intestinal mast hücre sayısı $23,29 \pm 1,93$ olarak hesaplandı, KB-İBS ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla ($p < 0,001$), aktif ÜK grubuna göre anlamlı olarak az ($p < 0,01$) mast hücre görülürken, inaktif ÜK grubundan anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$). KB-İBS grubunda ise ortalama intestinal mast hücre sayısı $16,183 \pm 3,23$ olarak hesaplandı, kontrol

grubuna (ortalama mast hücre sayısı $14,34 \pm 2,063$) göre sayısal olarak biraz yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Böylece İBS'nin iki farklı alt tipinden birinde mast hücresi artmış, diğerinde ise normal düzeyde olduğu ortaya konuldu. Bu sonuç, bu 2 alt tipin patogenezinin en azından mast hücresi yönünden farklı olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda ayrıca hastaların intestinal mast hücre sayılarıyla yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri ve biyopsi alındığı zamanki CRP, lökosit sayıları gibi laboratuvar değerleri arasındaki ilişki araştırıldı, ancak anlamlı ilişki bulunmadı. ÜK grupları haricindeki 3 grupta zaten CRP, lökosit sayısı normal aralıktaydı. ÜK grubunda bu değerler normalden yüksekti. CRP ile intestinal mast hücre sayısı arasında %30,2'lik doğru orantılı ilişki saptandı, ancak bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,316$). Yine lökosit sayısı ile intestinal mast hücre sayısı arasında anlamlı ilişki bulunamadı. Bu sonuç intestinal mast hücre sayısının sistemik inflamasyondan çok, barsaktaki yerel inflamasyon derecesiyle ilişkili olduğunu gösterebilir.

6. SONUÇLAR

1-) Sağlıklı kontrol grubundaki bireylerin mast hücre sayısı ortalamaları $14,34 \pm 2,063$ olarak hesaplandı. Mast hücre sayısı yönünden KB-İBS grubuyla anlamlı fark saptanmazken ($p>0,05$), İB-İBS, aktif ÜK ve inaktif ÜK gruplarından anlamlı olarak daha az mast hücresi (sırasıyla $p<0,001$ $p<0,001$ ve $p<0,01$) hesaplandı. Bu gruptaki kolon biyopsileri hemotoksilen eozin boyamasıyla ödemli kolon olarak yorumlandı.

2-) İB-İBS grubunda mast hücre sayısı ortalaması $23,29 \pm 1,93$ olarak hesaplandı. Bu grupta sağlıklı kontrol grubu ve KB-İBS grubundan anlamlı olarak fazla (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$), aktif ÜK grubundan anlamlı olarak az ($p<0,01$) mast hücre hesaplanırken, inaktif ÜK grubuyla anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Bu gruptaki kolon biyopsilerinin 10'u ödemli kolon, 2'si minimal iltihap ve 1'i normal kolon olarak yorumlandı.

3-) KB-İBS grubunda mast hücre sayısı ortalaması $16,183 \pm 3,23$ olarak hesaplandı. Bu grubun aktif ÜK ve inaktif ÜK gruplarına göre anlamlı olarak daha az mast hücresi ortalaması olduğu görüldü (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,01$). KB-İBS grubundaki kolon biyopsilerinin 12'si ödemli kolon, 8'i normal kolon, 4'ü minimal iltihaplı kolon olarak yorumlanmıştır.

4-) Aktif ÜK grubunda mast hücre ortalaması $29,08 \pm 6,71$ olarak hesaplandı ve tüm gruplara göre anlamlı mast hücre artışı saptandı, kolon biyopsilerinin 10'u difüz aktif kolit, 6'sı fokal aktif kolit olarak yorumlandı.

5-) İnaktif ÜK grubunda ise mast hücre ortalaması $22,73 \pm 5,38$ hesaplandı.

6-) Hasta gruplarının yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri, ayrıca biyopsi alınan zamandaki CRP düzeyi, lökosit sayısı ile intestinal mast hücre sayıları arasındaki ilişki bulunamadı.

7-) Mast hücrelerin İBH ve İBS patogenezinde rol oynadıkları bilinmektedir. Bu konudaki bilgilerimiz arttıkça yeni tedavi seçenekleri doğacaktır.

8-) İBS'nin İB-İBS grubunda intestinal mast hücresi sayısı kontrol grubuna göre artarken, diğer iki İBS tipinde artmamış olması, bu iki alt tipin patogenezinin farklı olabileceğini düşündürmüştür.

ÖZET

Ülseratif Kolit ve İrritabl Barsak Sendromlu Hastalarda İntestinal Mast Hücre Değerlendirmesi

Aydınlı O, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Ankara, 2010. Mast hücrelerinden salgılanan triptazın birçok immün mekanizmanın gerçekleşmesinde aktif rolü olduğu bilinmektedir. İnflamatuvar barsak hastalıkları ve fonksiyonel barsak hastalıklarında intestinal mast hücre artışı olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada, immünohistokimyasal mast hücre triptaz boyamasıyla aktif ve inaktif ÜK ve İBS'nin değişik tiplerindeki hasta gruplarının intestinal mast hücre sayılarını birbirleriyle ve kontrol grubuyla karşılaştırmalı olarak değerlendirdik. Bu amaçla Roma III kriterlerine uygun 13 İB-İBS'li, 24 KB-İBS veya karışık tip İBS'li, 16 aktif ÜK'li, 9 inaktif ÜK'li ve 10 asemptomatik sağlıklı kontrol grubu hastadan alınan kolon biyopsi örnekleri kullanıldı. Triptaz immün pozitif hücreler monoklonal insan triptaz antikorunu kullanılarak immünohistokimyasal analizle tanımlandı. Mikroskopta 400 büyütmede, her preparatta 5 alanda mukozal mast hücre sayılması şeklinde değerlendirildi ve aritmetik ortalamaları alındı. Sonuç olarak aktif ÜK grubunda $29,08 \pm 6,71$ (ortalama intestinal mast hücre sayısı \pm standart deviasyon) ile tüm gruplardan fazla sayıda mukozal mast hücresi saptandı ($p<0,01$). İnaktif ÜK grubunda $22,73 \pm 5,38$ ile aktif ÜK'dan daha az ($p<0,01$), KB-İBS ve sağlıklı kontrol grubuna göre daha fazla mast hücre saptanırken ($p<0,01$), İB-İBS grubuyla anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). DB-İBS grubunda $23,292 \pm 1,93$ mast hücre sayılırken KB-İBS ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla mast hücresi hesaplandı ($P<0,001$). KB-İBS grubunda ise kontrol grubuna göre mast hücre sayısı yönünden farklılık saptanmadı ($P>0,05$). Ek olarak hastaların endoskopik biyopsi alındığı zamanki CRP ve lökosit sayılarıyla yaş, cinsiyet gibi demografik özellikleri intestinal mast hücre sayılarıyla karşılaştırıldı, ancak anlamlı ilişki bulunamadı. Sonuç olarak mast hücreleri ÜK ile İB-İBS patogeneğinde rol oynayan önemli bir inflamatuvar hücre tipi olarak gözükmektedir. KB-İBS'ye ve kontrol grubuna göre İB-İBS'de daha fazla intestinal mast hücre olması İBS'nin bu iki alt tipinde farklı immünolojik mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: İrritabl barsak sendromu, mast hücresi, triptaz, ülseratif kolit

SUMMARY

Evaluation of Intestinal Mast Cells the Patients with Ulcerative Colitis and Irritable Bowel Syndrome

Aydınlı O, Ankara University Faculty of Medicine, Thesis in Internal Medicine, Ankara, 2010. Mast cell-derived tryptase is known that has active roles to induce lots of immunologic mechanisms. Increasing intestinal mast cells in inflammatory bowel diseases and functional bowel disorders has been shown in many studies. In this study, we immunohistochemically investigated intestinal tryptase positive mast cells in patients with active ulcerative colitis (UC), inactive UC and different forms of irritable bowel syndrome (IBS). With this purpose, colonic biopsy specimens from 13 patients with Rome III fulfilled diarrhea predominant (DP)-IBS, 24 patients with constipation predominant (CP)-IBS or mixt type IBS, 16 patients with active UC, 9 patients with inactive UC and 10 healthy asymptomatic persons were used. The tryptase immunopositive cells were identified by immunohistochemical analysis using a monoclonal antihuman tryptase antibody. Mast cells were counted in 5 different microscope fields (x400) per biopsy specimen, then arithmetic means were calculated. In active UC group, the most mast cell counts was calculated with mean \pm standart deviation of $29,08 \pm 6,71$ ($p < 0,01$). In inactive UC patients, mean mast cell count was $22,73 \pm 5,38$ that was lower than active UC ($p < 0,01$), more than KP-IBS and healthy controls ($p < 0,001$), but no statistically difference from DP-IBS ($p > 0,05$). In DB-IBS group, mean mast cell count was $23,292 \pm 1,93$ that was more than CP-IBS and healthy controls ($p < 0,001$). In CP-IBS group mean mast count wasn't different than control group ($p > 0,05$). In addition, the patients' demographic characteristics like age and gender and laboratory findings like CRP and leucocyte counts were compared with intestinal mast cell counts, but no statistically association was found. In conclusion, mast cells are thought that has an important cell type in pathogenesis of ulcerative colitis and DP-IBS. According to CP-IBS and control group, mean intestinal mast cell count higher in DP-IBS suggested that different forms of IBS may have different pathogenetic mechanisms.

Key words: Irritable bowel syndrome, mast cell, tryptase, ulcerative colitis

KAYNAKLAR

- 1-) Shao-Heng He. Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterology* 2004; 10(3): 309-318
- 2-) Sylvie Bradesi, James A. McRoberts, Peter A. Anton, Emeran A. Mayer. Inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: separate or unified? *Current Opinion in Gastroenterology* 2003; 19: 336-342
- 3-) Peppercorn MA, Farrell RC, Rutgeerts P, Ginsburg CH. Medical management of ulcerative colitis. *Uptodate.com* eylül 2009
- 4-) Kappelman MD, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Ollendorf D, Bousvaros A, Grand RJ, Finkelstein JA. The Prevalence and Geographic Distribution of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1424.
- 5-) Sonnenberg A, McCarty DJ, Jacobsen SJ. Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. *Gastroenterology* 1991; 100: 143.
- 6-) Calkins BM, Lilienfeld AM, Garland CF, Mendeloff AI. Trends in incidence rates of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1984; 29: 913.
- 7-) Roth MP, Petterson FM, McElree C, Feldman E, Rotter JI. Geographic origins of Jewish patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1989; 97: 900.

8-) Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, van Blankenstein M. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* 1996; 39: 690.

9-) Trallori G, Palli D, Saieva C, Bardazzi G, Bonanomi AG, d'Albasio G, Galli M, Vannozzi G, Milla M, Tarantino O, Renai F, Messori A, Amorosi A, Pacini F, Morettini A. A population-based study of inflammatory bowel disease in Florence over 15 years (1978-92). *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 892.

10-) Miller DS, Kieghley AC, Langman MJ. Changing patterns in the epidemiology of Crohn's disease. *Lancet* 1974; 2: 691.

11-) Stowe SP, Redmond SR, Stormont JM, Shah AN, Chessin LN, Segal HL, Chey WY. An epidemiologic study of inflammatory bowel disease in Rochester, New York. Hospital incidence. *Gastroenterology* 1990; 98: 104.

12-) Roth, MP, Petterson, FM, McElree, C, Vadheim CM, Panish JF, Rotter JJ. Familial empiric risk estimates of inflammatory bowel disease in Ashkenazi Jews. *Gastroenterology* 1989; 96: 1016.

13-) Monsen U, Brostrom O, Nordenvall B, Sörstad J, Hellers G. Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22: 214.

14--) Yang H, McElree C, Roth MP, Shanahan F, Targan SR, Rotter JI. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews. *Gut* 1993; 34: 517.

15-) Tysk C, Lindberg E, Järnerot G, Flodérus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988; 29: 990.

16-) Thompson NP, Driscoll R, Pounder RE, Wakefield AJ. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study. *BMJ* 1996; 312: 95.

17-) Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barnada MM, Rotter JI, Nicolae DL, Cho JH. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314: 1461.

18-) Vessey M, Jewell D, Smith A, Yeates D, McPherson K. Chronic inflammatory bowel disease, cigarette smoking, and use of oral contraceptives: findings in a large cohort study of women of childbearing age. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; 292: 1101.

19-) Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 1462.

20-) Sandborn WJ, Tremaine WJ, Offord KP, Lawson GM, Petersen BT, Batts KP, Croghan IT, Dale LC, Schroeder DR, Hurt RD. Transdermal nicotine for mildly to moderately active ulcerative colitis. *Ann Intern Med* 1997; 126: 364.

21-) Pullan RD, Rhodes J, Ganesh S, Mani V, Morris JS, Williams GT, Newcombe RG, Russell MA, Feyerabend C, Thomas GA, Sawe U. Transdermal nicotine for ulcerative colitis. *N Engl J Med* 1994; 330: 811.

22-) Lesko SM, Kaufman DW, Rosenberg L, Helmrich SP, Miller DR, Stolley PD, Shapiro S. Evidence for an increased risk of Crohn's disease in oral contraceptive users. *Gastroenterology* 1985; 89: 1046.

23-) Lashner BA, Hanauer SB. The absence of an association between oral contraceptive use and ulcerative colitis in patients (letter). *Gastroenterology* 1991; 100: 1784.

24-) Andersson RE, Olaison G, Ekblom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis (letter). *N Engl J Med* 2001; 345: 223.

25-) Snapper SB, Podolsky DK, Rutgeers P, Stiehm ER, Ginsburg CH. Immune and microbial mechanisms in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Uptodate.com* eylül 2009

26-) Anthony S. Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L. Kasper, Stephen L. Hauser, Dan L. Longo, HJ. Larry Jameson, Joseph Loscalzo. Harrison's Principles of Internal Medicine 16 th Edition, 2006, sayfa 1777

27-) Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol* 2007; 25: 821.

28-) Diveu C, McGeachy MJ, Cua DJ. Cytokines that regulate autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 2008; 20: 663.

29-) Tremelling M, Cummings F, Fisher SA, Mansfield J, Gwilliam R, Keniry A, Nimmo ER, Drummond H, Onnie CM, Prescott NJ, Sanderson J, Bredin F, Berzuini C, Forbes A, Lewis CM, Cardon L, Deloukas P, Jewell D, Mathew CG, Parkes M, Satsangi J. IL23R Variation Determines Susceptibility But Not Disease Phenotype in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 1657.

30-) Baldassano RN, Bradfield JP, Monos DS, Kim CE, Glessner JT, Casalunovo T, Frackelton EC, Otieno FG, Kanterakis S, Shaner JL, Smith RM, Eckert AW, Robinson LJ, Onyiah CC, Abrams DJ, Chiavacci RM, Skraban R, Devoto M, Grant SF, Hakonarson H. Association of Variants of the Interleukin-23 Receptor Gene With Susceptibility to Pediatric Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 972.

31-) Oliver J, Rueda B, Lopez-Nevot MA, Gómez-García M, Martín J. Replication of an Association Between IL23R Gene Polymorphism With Inflammatory Bowel Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 977.

32-) Boden EK, Snapper SB. Regulatory T cells in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24: 733.

33-) Butcher EC, Picker LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996; 272: 60.

34-) Malizia G, Calabrese A, Cottone M, Cottone M, Raimondo M, Trejdosiewicz LK, Smart CJ, Oliva L, Pagliaro L. Expression of leukocyte adhesion molecules by mucosal mononuclear phagocytes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991; 100: 150.

35-) Koizumi M, King N, Lobb R, Benjamin C, Podolsky DK. Expression of vascular adhesion molecules in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 840.

36-) Salmi M, Granfors K, MacDermott R, Jalkanen S. Aberrant binding of lamina propria lymphocytes to vascular endothelium in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 1994; 106: 596.

- 37-) Souto JC, Martinez E, Roca M, Mateo J, Pujol J, González D, Fontcuberta J. Prothrombotic state and signs of endothelial lesion in plasma of patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1883.
- 38-) Pasare C, Medzhitov R. Toll-like receptors: balancing host resistance with immune tolerance. *Curr Opin Immunol* 2003; 15: 677–82.
- 39-) Kabelitz D. Expression and function of toll-like receptors in T lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 39–45.
- 40-) Sutmuller R, Garritsen A, Adema GJ. Regulatory T cells and toll like receptors: regulating the regulators. *Ann Rheum Dis* 2007; 66 (Suppl. 3): iii91–5.
- 41-) Conroy H, Marshall NA, Mills KH. TLR ligand suppression or enhancement of Treg cells? A double-edged sword in immunity to tumours. *Oncogene* 2008; 27: 168–80.
- 42-) Megan E. Himmel, Gijs Hardenberg, Ciriaco A. Piccirillo, Theodore S. Steiner, Megan K. Levings. The role of T-regulatory cells and Toll-like receptors in the pathogenesis of human inflammatory bowel disease. *Immunology* 2008 October; 125(2): 145-53.
- 43-) Podolsky DK, Isselbacher KJ. Composition of human colonic mucin. Selective alteration in inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 1983; 72: 142.
- 44-) Schultz C, Van Den Berg FM, Ten Kate FW, Tytgat GN, Dankert J. The intestinal mucus layer from patients with inflammatory bowel disease harbors high numbers of bacteria compared with controls. *Gastroenterology* 1999; 117: 1089.

- 45-) Hollander D. Crohn's disease--a permeability disorder of the tight junction? *Gut* 1988; 29: 1621.
- 46-) Wyatt J, Vogelsang H, Hubl W, Waldhöer T, Lochs H. Intestinal permeability and the prediction of relapse in Crohn's disease. *Lancet* 1993; 341: 1437.
- 47-) George F. Longstreth, W. Grant Thompson, William D. Chey, Lesley A. Houghton, Fermin Mearin, Robin C. Spiller. *Functional Bowel Disorders. Gastroenterology* 2006; 130: 1480-91.
- 48-) Quigley EM. Changing face of irritable bowel disease. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1-5.
- 49-) Dvorak AM. The fine structure of human basophils and mast cells. In: *Mast Cells, Mediators, and Disease*, Holgate, ST (Eds), Kluwer Academic Publishers, London 1988.
- 50-) Eady RA, Cowen T, Marshall TF, Plummer V, Greaves MW. Mast cell population density, blood vessel density and histamine content in normal human skin. *Br J Dermatol* 1979; 100:623.
- 51-) Strobel S, Miller HR, Ferguson A. Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixing and staining techniques. *J Clin Pathol* 1981; 34: 851.
- 52-) Irani AA, Butrus SI, Tabbara KF, Schwartz LB. Human conjunctival mast cells: distribution of MCT and MCTC in vernal conjunctivitis and giant papillary conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 34.
- 53-) Baddeley SM, Bacon AS, McGill JI, Lightman SL. Mast cell distribution and

neutral protease expression in acute and chronic allergic conjunctivitis. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 41.

54-) Schulman ES, MacGlashan DW Jr, Peters SP, Schleimer RP, Newball HH, Lichtenstein LM. Human lung mast cells: purification and characterization. *J Immunol* 1982; 129: 2662.

55-) Sperr WR, Bankl HC, Mundigler G, Klappacher G, Grossschmidt K, Agis H, Simon P, Laufer P, Imhof M, Radaszkiewicz T, Glogar D, Lechner K, Valent P. The human cardiac mast cell: localization, isolation, phenotype, and functional characteristics. *Blood* 1994; 84: 3876.

56-) Goodfield M, Hull SM, Holland D, Roberts G, Wood E, Reid S, Cunliffe W. Investigations of the active edge of plaque psoriasis: vascular proliferation precedes changes in epidermal keratin. *Br J Dermatol* 1994; 131: 808.

57-) Naukkarinen A, Harvima IT, Aalto ML, Horsmanheimo M. Mast cell tryptase and chymase are potential regulators of neurogenic inflammation in psoriatic skin. *Int J Dermatol* 1994; 33: 361.

58-) Harvima IT, Naukkarinen A, Paukkonen K, Harvima RJ, Aalto ML, Schwartz LB, Horsmanheimo M. Mast cell tryptase and chymase in the developing and mature psoriatic lesion. *Arch Dermatol Res* 1993; 285: 184.

59-) Gotis-Graham I, McNeil HP. Mast cell responses in rheumatoid synovium, association of the MCTC subset with matrix turnover and clinical progression. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 479.

60-) de Paulis A, Marinò I, Ciccarelli A, de Crescenzo G, Concardi M, Verga L,

Arbustini E, Marone G. Human synovial mast cells. I. Ultrastructural in situ and in vitro immunologic characterization. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1222.

61-) Fox CC, Lazenby AJ, Moore WC, Yardley JH, Bayless TM, Lichtenstein LM. Enhancement of human intestinal mast cell mediator release in active ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1990; 99: 119.

62-) Nolte H, Spjeldnase N, Kruse A, Windelborg B. Histamine release from gut mast cells from patients with inflammatory bowel diseases. *Gut* 1990; 31: 791.

63-) Church, MK, Levi-Schaffer, F. The human mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 155.

64-) Ryan, JJ, Huff, TF. Biology of Mast Cells. In: Middleton's Allergy: Principles and Practice, 6th Ed, Adkinson, NF, Yunginger, JW, Busse, WW, et al (Eds), Mosby, St Louis, MO 2003. Sayfa 333.

65-) Maurer M, Wedemeyer J, Metz M, Piliponsky AM, Weller K, Chatterjea D, Clouthier DE, Yanagisawa MM, Tsai M, Galli SJ. Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature* 2004; 432: 512.

66-) Levick, SP, Loch, DC, Taylor, SM, Janicki, JS. Arachidonic acid metabolism as a potential mediator of cardiac fibrosis associated with inflammation. *J Immunol* 2007; 178: 641.

67-) Ashkan Farhadi, Jeremy Z Fields, Ali Keshavarzian. Mucosal mast cells are pivotal elements in inflammatory bowel disease that connect the dots: Stress,

intestinal hyperpermeability and inflammation. *World J Gastroenterol* 2007 June 14; 13(22): 3027-3030

68-) Schwartz LB, Irani AM, Roller K, Castells MC, Schechter NM. Quantitation of histamine, tryptase, and chymase in dispersed human T and TC mast cells. *J Immunol* 1987; 138: 2611.

69-) Irani AA, Schechter NM, Craig SS, DeBlois G, Schwartz LB. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4464.

70-) Schwartz LB. Effector cells of anaphylaxis: mast cells and basophils. *Novartis Found Symp* 2004; 257: 65.

71-) Caughey GH. Tryptase genetics and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 1411.

72-) Schwartz LB, Bradford TR, Littman BH, Wintroub BU. The fibrinogenolytic activity of purified tryptase from human lung mast cells. *J Immunol* 1985; 135: 2762.

73-) Gruber BL, Marchese MJ, Suzuki K, Schwartz LB, Okada Y, Nagase H, Ramamurthy NS. Synovial procollagenase activation by human mast cell tryptase dependence upon matrix metalloproteinase 3 activation. *J Clin Invest* 1989; 84: 1657.

74-) Gruber BL, Kew RR, Jelaska A, Marchese MJ, Garlick J, Ren S, Schwartz LB, Korn JH. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis.

J Immunol 1997; 158 :2310.

75-) Ruoss SJ, Hartmann T, Caughey GH. Mast cell tryptase is a mitogen for cultured fibroblasts. J Clin Invest 1991; 88 :493.

76-) Walls AF, He S, Teran LM, Buckley MG, Jung KS, Holgate ST, Shute JK, Cairns JA. Granulocyte recruitment by human mast cell tryptase. Int Arch Allergy Immunol 1995; 107: 372.

77-) Cairns JA, Walls AF. Mast cell tryptase is a mitogen for epithelial cells. Stimulation of IL-8 production and intercellular adhesion molecule-1 expression. J Immunol 1996; 156: 275.

78-) Cenac N, Chin AC, Garcia-Villar R, Salvador-Cartier C, Ferrier L, Vergnolle N, Buret AG, Fioramonti J, Bueno L. PAR2 activation alters colonic paracellular permeability in mice via IFN-gamma-dependent and -independent pathways. J Physiol 2004; 558: 913-925

79-) Anton PA. Stress and mind-body impact on the course of inflammatory bowel diseases. Semin Gastrointest Dis 1999; 10: 14-19

80-) Levenstein S, Prantera C, Varvo V, Scribano ML, Andreoli A, Luzi C, Arca M, Berto E, Milite G, Marcheggiano A. Stress and exacerbation in ulcerative colitis: a prospective study of patients enrolled in remission. Am J Gastroenterol 2000; 95: 1213-1220

81-) Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH, Tognetto M, Amadesi S, Ennes HS, Trevisani M, Hollenberg MD, Wallace JL, Caughey GH, Mitchell SE, Williams LM, Geppetti P, Mayer EA, Bunnett NW. Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism. Nat Med 2000; 6: 151-158

- 82-) Cenac N, Coelho AM, Nguyen C, Compton S, Andrade-Gordon P, MacNaughton WK, Wallace JL, Hollenberg MD, Bunnett NW, Garcia-Villar R, Bueno L, Vergnolle N. Induction of intestinal inflammation in mouse by activation of proteinase-activated receptor-2. *Am J Pathol* 2002; 161: 1903-1915
- 83-) He SH, He YS, Xie H. Activation of human colon mast cells through proteinase activated receptor-2. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 327-331
- 84-) Papadakis KA, Targan SR. Current theories on the causes of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28: 283-296
- 85-) Hollander D. Permeability in Crohn's disease: altered barrier functions in healthy relatives? *Gastroenterology* 1993; 104: 1848-1851
- 86-) Hollander D, Vadheim CM, Brettholz E, Petersen GM, Delahunty T, Rotter JJ. Increased intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their relatives. A possible etiologic factor. *Ann Intern Med* 1986; 105: 883-885
- 87-) Hilsden RJ, Meddings JB, Sutherland LR. Intestinal permeability changes in response to acetylsalicylic acid in relatives of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1996; 110: 1395-1403
- 88-) May GR, Sutherland LR, Meddings JB. Is small intestinal permeability really increased in relatives of patients with Crohn's disease? *Gastroenterology* 1993; 104: 1627-1632
- 89-) Dvorak AM, Monahan RA, Osage JE, Dickersin GR. Crohn's disease: transmission electron microscopic studies. II. Immunologic inflammatory response. Alterations of mast cells, basophils, eosinophils and the microvasculature. *Hum Pathol* 1980; 11: 606-619

- 90-) King T, Biddle W, Bhatia P, Moore J, Miner PB Jr. Colonic mucosal mast cell distribution at line of demarcation of active ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 1992; 37: 490-495
- 91-) Farhadi A, Keshavarzian A, Van de Kar LD, Jakate S, Domm A, Zhang L, Shaikh M, Banan A, Fields JZ. Heightened responses to stressors in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1796-1804
- 92-) Nishida Y, Murase K, Isomoto H, Furusu H, Mizuta Y, Riddell RH, Kohno S. Different distribution of mast cells and macrophages in colonic mucosa of patients with collagenous colitis and inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 678-682
- 93-) Akira Andoh, Yasuyuki Deguchi, Osamu Inatomi, Yuki Yagi, Shigeki Bamba, Tomoyuki Tsujikawa and Yoshihide Fujiyama. Immunohistochemical study of chymase-positive mast cells in inflammatory bowel disease. *Oncology Reports* 16: 103-107, 2006
- 94-) Lilja I, Gustafson-Svard C, Franzen L, Sjobahl R. Tumor necrosis factor-alpha in ileal mast cells in patients with Crohn's disease. *Digestion* 2000; 61: 68-76
- 95-) Hiatt R, Katz J. Mast cells in inflammatory conditions of the gastrointestinal tract. *Am J Gastroenterol* 1962; 37: 541-548.
- 96-) Barbara G, Stangellini V, De Giorgio R, Cremon C, Cottrell GS, Santini D, Pasquinelli G, Morselli-Labate AM, Grady EF, Bunnett NW, Collins SM, Corinaldesi R. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004; 126: 693-702.
- 97-) Park JH, Rhee PL, Kim HS, Lee JH, Kim YH, Kim JJ, Rhee JC. Mucosal mast cell counts correlate with visceral hypersensitivity in patients with diarrhea

predominant irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006 Jan; 21(1 Pt 1): 71-8.

98-) Piche T, Saint-Paul MC, Dainese R, Marine-Barjoan E, Iannelli A, Montoya ML, Peyron JF, Czerucka D, Cherikh F, Filippi J, Tran A, Hébuterne X. Mast cells and cellularity of the colonic mucosa correlated with fatigue and depression in irritable bowel syndrome. *Gut.* 2008 Apr; 57(4): 468-73. Epub 2008 Jan 14.

99-) Guilarte M, Santos J, de Torres I, Alonso C, Vicario M, Ramos L, Martínez C, Casellas F, Saperas E, Malagelada JR. Diarrhoea-predominant IBS patients show mast cell activation and hyperplasia in the jejunum. *Gut.* 2007 Feb; 56(2): 203-9. Epub 2006 Sep 27.

100-) Lee KJ, Kim YB, Kim JH, Kwon HC, Kim DK, Cho SW. The alteration of enterochromaffin cell, mast cell, and lamina propria T lymphocyte numbers in irritable bowel syndrome and its relationship with psychological factors. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Nov; 23(11): 1689-94.

101-) Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Physiol Rev.* 1997 Oct; 77(4): 1033-79.

102-) Galli SJ, Nakae S, Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol.* 2005 Feb; 6(2): 135-42.

103-) Jenny Hallgren, Gunnar Pejler. Biology of mast cell tryptase. An inflammatory mediator. *FEBS J.* 2006 May; 273(9): 1871-95.

104-) Raithel M, Schneider HT, Hahn EG. Effect of substance P on histamine secretion from gut mucosa in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 496-503

105-) Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, Wilson I. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 122: 1778-83.

106-) Dunlop SP, Jenkins D, Spiller RC. Distinctive clinical, psychological and histological features of postinfective irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1578-83.

107-) Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Corinaldesi R. Functional gastrointestinal disorders and mast cells: implications for therapy. *Neurogastroenterol motil* 2006; 18: 6-17.