



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL KOLİT MODELİNDE TNF-ALFA
BLOKERLERİNİN
(İNFLİXİMAB VE ETANERCEPT) İNFLAMASYON
SÜRECİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. NAZMİ YAŞAR SAYIM

DANIŞMAN

Prof. Dr. HEDEF ÖZGÜN

AYDIN-2010

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL KOLİT MODELİNDE TNF-ALFA
BLOKERLERİNİN
(İNFLİXİMAB VE ETANERCEPT) İNFLAMASYON
SÜRECİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. NAZMİ YAŞAR SAYIM

DANIŞMAN
Prof. Dr. HEDEF ÖZGÜN

AYDIN-2010

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince bana emeği geçen, her zaman bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Şükrü BOYLU, sayın Prof. Dr. Hedef ÖZGÜN, sayın Prof. Dr. M. Hakan ÇEVİKEL, sayın Prof. Dr. Serdar M. ÖZBAŞ, sayın Doç. Dr. Ahmet Ender DEMİRKIRAN, sayın Doç. Dr. Pars TUNÇYÜREK, sayın Doç. Dr. Ali BOZDAĞ, sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan ERPEK'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin tamamlanmasındaki katkılarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Çiğdem YENİSEY'e ve Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim METEOĞLU'na teşekkür ederim.

Ayrıca uzmanlık eğitimi ve tez çalışmaları döneminde her zaman yanımda bulunan, yorgunlukları, sevinçleri ve üzüntüleri birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma, Genel Cerrahi hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Bu zor eğitim süresince benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her türlü zorluğa birlikte katlandığımız sevgili eşim Ümran SAYIM ile kızlarım Şevval SAYIM ve Ezgi SAYIM'a sonsuz sevgilerimi sunuyorum.

Dr. Nazmi Yaşar SAYIM

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ	I
TABLO LİSTESİ	II
GRAFİK LİSTESİ	III
SİMGE VE KISALTMALAR	IV
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
1. İNFLAMATUAR BARSAK HASTALIKLARI	3
1.1. Epidemiyoloji	3
1.2. Etyopatogenez	4
2. SİTOKİNLER	8
2.1. İnterlökin-6 (IL-6)	9
2.2. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF-alfa)	9
3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)	11
4. ANTİOKSİDATİF SİSTEM	12
4.1. Süperoksit dismutaz (SOD)	14
4.2. Katalaz (CAT)	14
4.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)	14
4.4. Myeloperoksidaz (MPO)	15
4.5. Malondialdehid (MDA)	15
5. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR	16
6. TANI YÖNTEMLERİ	24
6.1. Dışkı analizi	24
6.2. Biyokimyasal testler	24
6.3. Endoskopik incelemeler	24
6.4. Patoloji	25
6.5. Radyolojik incelemeler	25

7. KOMPLİKASYONLAR	26
8. PROGNOZ	27
9. TEDAVİ	28
9.1. Cerrahi tedavi	28
9.2. Medikal tedavi	29
10. DENEYSEL KOLİT MODELLERİ	36
GEREÇ VE YÖNTEM	37
1. GRUPLAR	39
1.1. Cerrahi prosedür	39
2. YÖNTEMLER	41
2.1. Patolojik değerlendirme	41
2.2. Dokuların biyokimyasal analizi	42
2.3. Plazma biyokimyasal analizi	44
2.4. İstatistiksel analiz	45
BULGULAR	46
1. PLAZMA BİYOKİMYA İNCELEMELERİ	47
2. DOKU BİYOKİMYA İNCELEMELERİ	55
3. PATOLOJİK İNCELEME	63
TARTIŞMA	71
SONUÇ VE ÖNERİLER	81
ÖZET	83
ABSTRACT	85
KAYNAKLAR	87

ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil-1: Oksijen metabolizması ürünleri	12
Şekil-2: Oksidatif savunma mekanizmaları	13
Resim-1: Rektal yoldan %0,9 NaCl verilmesi.	38
Resim-2: Rektal yoldan TNBS-E verilmesi.	38
Resim-3: Anestezi altında yapılan orta hat kesisi.	40
Resim-4: Biyokimyasal analiz için intrakardiak kan alınması.	40
Resim-5: Kontrol grubuna ait normal kolon görünümü.	64
Resim-6: Kolit grubuna ait kolonun makroskopik görünümü ve batın içi yapışıklıklar.	65
Resim-7: İlk tedavi grubuna (Grup III, 5 mg/kg infliximab) ait kolon görünümü.	65
Resim-8: İkinci tedavi grubuna (Grup IV, 5 mg/kg etanercept) ait kolon görünümü.	66
Resim-9: Üçüncü tedavi grubuna (Grup V, 5 mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept) ait kolon görünümü.	66
Resim-10: Kolit grubuna ait mukozal ülser görünümü.	68
Resim-11: Tedavi gruplarında birbirine benzer iyileşmekte olan ülser görünümü.	68
Resim-12: Normal kolon mikroskopisi (HEx40).	69
Resim-13: Tam kat nekroz, epitelde iskemik nekroz (Kolit grubu, HEx40).	69
Resim-14: Epitelde nekroz, submukozal alanda ödem, serozal yüzde granülasyon dokusu gelişimi (Kolit grubu, HEx40).	70
Resim-15: Reepitelizasyon bulguları (Tedavi grupları, HEx40).	70

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo I: İBH'de barsak dışı tutulumlar.	17
Tablo II: ÜK ve CH arasındaki benzerlikler ve farklar.	20
Tablo III: ÜK'de Truelove ve Witts aktivite indeksi.	22
Tablo IV: CH'de Harvey-Bradshaw aktivite indeksi.	23
Tablo V: Kolon hasarı için makroskopik skora kriterleri.	41
Tablo VI: Kolon hasarı için mikroskopik skora kriterleri.	42
Tablo VII: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.	46
Tablo VIII: Doku biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.	46
Tablo IX: Patolojik değişkenlerin medyan (%25-75 persantil) değerleri.	47
Tablo X: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin kontrol grubu ile diğer gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesi.	47
Tablo XI: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin kolit grubu ile tedavi grupları arası istatistiksel değerlendirilmesi.	48
Tablo XII: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin tedavi grupları arasındaki istatistiksel değerlendirilmesi.	48
Tablo XIII: Doku biyokimyasal değişkenlerinin kontrol grubu ile diğer gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesi.	56
Tablo XIV: Doku biyokimyasal değişkenlerinin kolit grubu ile tedavi grupları arası istatistiksel değerlendirilmesi.	56
Tablo XV: Doku biyokimyasal değişkenlerinin tedavi grupları arasındaki istatistiksel değerlendirilmesi.	57

GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa No
Grafik 1: Grupların plazma TNF-alfa değerleri.	50
Grafik 2: Grupların plazma IL-6 değerleri.	51
Grafik 3: Grupların plazma GSH değerleri.	52
Grafik 4: Grupların plazma GSH-Px değerleri.	53
Grafik 5: Grupların plazma CAT değerleri.	54
Grafik 6: Grupların plazma SOD değerleri.	55
Grafik 7: Grupların doku TNF-alfa değerleri.	58
Grafik 8: Grupların doku MDA değerleri.	59
Grafik 9: Grupların doku MPO değerleri.	59
Grafik 10: Grupların doku SOD değerleri.	60
Grafik 11: Grupların doku GSH değerleri.	61
Grafik 12: Grupların doku GSH-Px değerleri.	61
Grafik 13: Grupların doku GR değerleri.	62
Grafik 14: Grupların doku CAT değerleri.	63
Grafik 15: Makroskobik hasar skorlarının medyan (%25-75 persantil) değerleri.	64
Grafik 16: Mikroskobik hasar skorlarının medyan (%25-75 persantil) değerleri.	67

SİMGE VE KISALTMALAR

- 5-ASA:** 5-aminosalisilik asit
CAT: Katalaz
CH: Crohn Hastalığı
CRP: C reaktif protein
DNBS: Dinitrobenzen sülfonik asit
DSS: Dekstran sodyum sülfat
EDTA: Ethylene diamine tetra acetic acid
FDA: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
GR: Glutasyon redüktaz
GSH: Glutasyon
GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz
GSSG: Oksitlenmiş glutasyon
HE: Hemotoksilen-Eosin
HLA: İnsan lökosit antijeni
H₂O₂: Hidrojen peroksit
ICAM 1: İntrasellüler adezyon molekülü 1
Ig A, G: İmmünglobulin A, G
IL-1: İnterlökin-1
IL-2: İnterlökin-2
IL-4: İnterlökin-4
IL-5: İnterlökin-5
IL-6: İnterlökin-6
IL-8: İnterlökin-8
IL-10: İnterlökin-10
IL-11: İnterlökin-11
IL-12: İnterlökin-12
İL-13: İnterlökin-13
IL-15: İnterlökin-15
IL-17: İnterlökin-17

IL-18: İnterlökin-18
IL-1 ra: İnterlökin-1 reseptör antagonisti
INF-gama: İnterferon gama
İBH: İnflamatuar barsak hastalığı
MDA: Malondialdehid
MHC: Majör histocompatibility complex
MPO: Myeloperoksidaz
NADPH: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NBT: Nitroblue tetrazolium
NK: Doğal öldürücü (Natural Killer)
NO: Nitrik oksit
NOD 2: Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon 2 geni
OH: Hidroksil radikali
p-ANCA: Perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikoru
PAF: Platelet aktive edici faktör
PGE2: Prostoglandin E2
PMNL: Polimorfonükleer lökosit
SOD: Süperoksit dismutaz
SOR: Serbest oksijen radikalleri
TBA: Thiobarbutiric acid
TGF: Transforming growth faktör
Th: T helper
TMB: 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine
TNBS: 2,4,6 Trinitrobenzen sülfonik asit
TNBS-E: Trinitrobenzen sülfonik asit-etanol
TNF- alfa: Tümör nekroz faktör- alfa
TNFR: Tümör nekroze edici faktör reseptörü
ÜK: Ülseratif kolit
XOD: Xantine oxidase
VCAM 1: Vasküler adezyon molekülü 1

GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH), gastrointestinal sistemi tutan, etiyolojisi tam olarak belirlenmemiş ve hastanın yaşam kalitesini önemli derecede etkileyen sistemik bir hastalıktır. Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığını (CH) içerir. Son yıllarda bu hastalıkların insidansında belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Her iki hastalık da gastrointestinal sistemde inflamasyon oluşturarak doku yıkımına neden olur.

Kolit; barsak mukozasını tutan, barsak fonksiyonlarında değişiklik ve intestinal inflamasyon semptomları oluşturan inflamatuvar bir süreçtir. Kanlı diare, abdominal ağrı, ateş, kilo kaybı gibi semptomlar inflamasyonun ağırlığına göre ortaya çıkar.

İBH'nin patogenezi hala tam olarak anlaşılmış değildir. Ancak bu hastalığın patogenezinde genetik olarak tayin edilen konak duyarlılığı ve barsak mukozasının immun yanıtının önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir.

İBH'de immunopatogenezdaki araştırmalara paralel olarak tedavide de yeni çalışmalar mevcuttur. İBH, belirgin inflamasyonun ortaya çıktığı bir hastalık grubu olduğundan genellikle inflamasyonu azaltmaya veya yok etmeye yönelik ajanlar denenmektedir. İBH'de tümör nekroz faktör alfa (TNF-alfa), interlökin-6 (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinlerin arttığı, özellikle de TNF-alfa'nın inflamasyonda anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. TNF-alfa'nın İBH etyopatogenezindeki rolü ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. TNF-alfa'nın sıçanlara verilmesi ile sıçanlarda vazokonjesyon, lökosit marjinasyonu ve doku hasarı olduğu ve bu etkilerin özellikle gastrointestinal sistemde çok belirgin olduğu gösterilmiştir. İntestinal inflamasyonda mukozal immunolojinin anlaşılması ile son yıllarda İBH'de infliximab'ın kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. FDA'nın önerisi ile 1998 yılından beri CH'de ve 2006 yılından itibaren de ÜK'de kullanılmaktadır. CH'de aktif luminal inflamasyon, remisyon indüksiyonu, enterokutanöz ve perianal fistül varlığında ve ÜK'de orta ya da ciddi aktif hastalıkta günümüzde uygulanan standart tedaviye alternatif olarak uygulanmaktadır. Günümüzde anti-TNF ilaçların kullanımında klinik endikasyonlarını genişletmeye yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir.

İBH'de tüm anti TNF' lerin birbirine karşı etkinliği günümüz çalışmalarıyla birbirine yakın bulunmuştur, ancak yeni ikili ilaç çalışmalarına ihtiyaç vardır. Bu çalışmada sıçanlarda deneysel kolit modelinde oluşan inflamasyonda açığa çıkan bir proinflamatuvar madde olan TNF-alfa üzerinden etkili olan TNF-alfa blokerlerinin (Infliximab ve Etanercept) etkisini incelemek amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1. İNFLAMATUAR BARS AK HASTALIKLARI (İBH)

İBH, etyolojisi tam olarak bilinmeyen barsağın kronik nonspesifik inflamasyonu ile seyreden hastalıklarına verilen isimdir. Bu terim, ÜK ve CH'yi kapsar. ÜK, mukozal ÜK ve idiopatik ÜK olarak da adlandırılır. Aynı şekilde CH, segmenter kolit, regional enterit, terminal ileit, granülamatöz kolit, transmural kolit olarak da adlandırılır (1).

ÜK, rektumdan itibaren proksimale doğru değişik uzunluklarda ama arada sağlam kısım bırakmaksızın kolon mukozasını tutan, remisyon ve alevlenmelerle seyreden bir kronik barsak hastalığıdır. CH ise ağızdan anüse kadar, tüm sindirim kanalını segmenter tarzda ve transmural olarak tutabilen, yine remisyon ve alevlenmelerle seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır.

1.1. EPİDEMİYOLOJİ

ÜK ve CH'nin insidans ve prevalansı coğrafik bölgelere bağlı olarak büyük oranda farklılık göstermektedir. CH ve ÜK'nin insidansı yaklaşık olarak sırasıyla 4-7/100 000 ve 7-15/100 000 olarak bildirilmektedir. Prevalans ise CH için 100-200/100 000 ve ÜK için 150-250/100 000 arasındadır. Her iki hastalık da coğrafik bölge olarak Kuzey Avrupa ülkelerinde, ırk olarak Kafkas ırkında ve etnik köken olarak Yahudilerde fazla görülmektedir. ÜK ve CH en çok 15-30 yaş arasında ortaya çıkarlar. 60-80 yaş arasında ise ikinci piklerini yaparlar. ÜK, kadın ve erkekler arasında benzer sıklıkta rastlanmasına rağmen, CH'ye kadınlarda daha sık rastlanmaktadır. Şehirlerde yaşayanlarda kırsal kesimlerdeki göre daha fazla rastlanır. Keza sosyoekonomik düzeyi yüksek olanlarda düşük olanlara göre görülme oranı daha fazladır. Son yıllarda ÜK görülme sıklığında bir değişiklik olmazken, CH'ye giderek artan sıklıkta rastlandığı dikkati çekmektedir (2).

1.2. ETYOPATOGENEZ

İBH'nin kesin etyolojisi bilinmemekle birlikte son araştırmalar genetik faktörler, immun sistem, enfeksiyöz nedenler, psikososyal nedenler ve çevresel tetikleyici etmenler arasındaki multifaktöriyel etkileşimi sorumlu tutmaktadır. Hastaların özellikle birinci dereceden akrabaları olmak üzere ailelerinde insidansın yüksek olması, monozigot ikizlerde konkordans oranının yüksek olması, ayrıca Yahudilerde artmış İBH insidansı gibi gözlemlere dayanarak yürütölen genetik araştırmalar sonucu 16. ve 12. kromozomlarda hastalık lokusları tanımlanmış olup bir, üç, altı ve yedinci kromozomlarda potansiyel hastalık lokus sahibi olarak gösterilmiştir. İBH' de ilişkisi net olarak tanımlanmış lokuslardan biri 16. kromozomun perisentromerik bölgesinde yer alır ve IBD-1 olarak isimlendirilir. Detaylı çalışmalar, nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon bölgesi 2 (NOD 2) geni ve proteininin İBH ile ilişkisini tanımlamıştır (3,4). Dolayısıyla İBH poligenik bir hastalık olup, genel popölasyona göre görülme riskindeki artış tek gen hastalıklarına göre daha azdır (5). Birinci derece akrabalar arasında İBH bulunan birinin hastalığa yakalanma riski 30-100 kat artar. ÜK'de %10 kadar otozomal dominant geçiş vardır, CH ise otozomal resesif geçiş gösterir. Genetik faktörler CH'nin gelişimi için daha önemlidir. Keza ÜK'nin ciddiyetinin genetik olarak tayin edildiği öne sürölmüş, HLADRB1*0103 ve IL-1 reseptör antagonistinin (IL-1 ra) allel 2'sini taşıyanlarda hastalık daha yaygın ve komplikasyonlu bulunmuştur. ÜK'ye perinökleer boyalı antinötrofil sitoplazmik antikorun (p-ANCA) eşlik ettiği görölmüştür (6).

Sigara içiminin, proteaz ve antiproteaz sistemi dengesini katabolizma düzeyinde bozarak, elastin ve kollagen liflerin yapısını bozduğu bilinmektedir. Luminal antijenler ve mekanik travmalar açısından koruyucu etkisi olan mukozal musinin yapısının sigara içimi ile bozulması sonucunda İBH'yi alevlendirdiği düşünölmektedir (7). Sigara içiminin hücrel ve hümoral etkisinin olduğu ve kolonik mukus üretimini arttırdığı, ayrıca kolonik motiliteyi de azalttığı gösterilmiştir. İn vivo çalışmalarda ise nikotinin ÜK'de baskın olan Th2 fonksiyonlarında azaltıcı etkisi ve CH'de baskın olan Th-1 hücrelerde etkinliğinin olmadığı saptanmıştır (6). Sigara içenlerde ÜK'nin daha az göröldüğü, sigarayı bırakanlarda özellikle iki yıl içinde riskin

yükseldiği bildirilmektedir (8). Ayrıca sigara içenlerde mukozal permeabilite düzenleyici 51 cr-EDTA düzeyleri düşük bulunmuştur (9).

Son araştırmalara dayalı olarak kurulan hipotez ise immun mediatörlerdeki düzensizlik veya bariyer fonksiyonlarında bozukluk gibi nedenlerle sürekli inflamatuvar bakteri ürünleri ile karşı karşıya kalan ve tolerans kaybına uğrayan immun sistemin artık normal baskılamasını yapamayıp, vücudun kendi normal florasına karşı anormal immun cevap geliştirmesi olarak belirtilmektedir. Dolayısıyla çevresel tetikleyici etmenler, bakteriyel ve viral organizmalara ve son yüzyılda gıda üretimi ve tüketiminde meydana gelen belirgin değişimler sonucu kolon mikroflorasındaki olası değişikliklere odaklanmakta, hangi bakteriyel türlerin gastrointestinal kolonizasyon yapacağı konusunda genetik faktörler önem kazanmaktadır (7). İBH hastaları ve hayvan modellerinden elde edilen sonuçlar, genetik olarak yatkın kişilerde, immunolojik toleransta defekt ve mukozal defansta uygunsuzluk nedeniyle spesifik non-patojenik bakteriyel türlere karşı gelişen anormal hücrel immun cevabın İBH patogenezinde yer aldığını göstermektedir (4).

Etiyolojide sorumlu ajan ne olursa olsun İBH doku düzeyinde hasar ile seyretmektedir. Kronik hasarın tek bir olay sonucunda gelişmesinden ziyade multifaktöriyel sebeplerle ortaya çıktığı kabul görmektedir. Öte yandan İBH olan hastalarda normal popülasyona göre daha sıklıkla görülen otoimmun hemolitik anemi gibi otoimmun kökenli hastalıkların mevcudiyeti İBH için otoimmun teorinin ortaya atılmasına neden olmuştur. Primer sklerozan kolanjit gibi ekstraintestinal tutulumların bu hastalıklara eşlik etmesi, immun supresif ajanların tedavide başarılı olması hastalığın otoimmun yanını desteklemektedir (10). İBH'de intestinal permeabilitenin arttığı görülmüş, bu ise genetik nedenlerle bozulmuş olan mukozal immun sistemin lümen içerisinde yer alan proinflamatuvar ve antijenik özellikteki maddelerin sistemik dolaşıma geçebildiği ve otoimmun kökenli hastalıklara neden olabileceği teorisini desteklemektedir (11).

Çeşitli diyetetik faktörlerin İBH'nin ortaya çıkışını kolaylaştırdığı düşünülmüştür, ancak aradaki ilişki kesinleştirilememiştir. Yüksek miktarda yağ asidi içeren besinlerin tüketiminin ve fastfood tipi beslenmenin İBH riskini arttırdığı yönünde bulgular mevcuttur. İBH'nin alevlenmesinde psişik travmaların sık görülmesi, etyolojide bu faktörün de göz ardı edilmemesi gerektiğini

düşündürmektedir. CH'nin oral kontraseptif kullanan kadınlar arasında 1,8-9 kat daha yaygın olduğu görülmüştür (12).

İBH' nin etyolojisinde öne sürülen bir diğer faktör de enfeksiyöz ajanların olayı tetiklemesi olduğu düşünülmektedir. CH'nin alevlenme dönemlerinde sıklıkla Mycobacterium Tuberculosis ve Yersinia Enterocolitica suşları gösterilmiştir. ÜK'de Campylobacter, Shigella, Escherichia coli ve Cytomegalovirus izlenmiştir (13). CH'de görülen granülomların vasküler endotelinde paramyxo virüslere ait partiküller gösterilmiştir. Çocukluğunda kızamık geçirenlerde hatta kızamık aşısı olanlarda CH riskinin arttığı görülmüştür (14).

Bazı genetik ve çevresel faktörler kişiyi İBH'ye eğilimli kılar. Duyarlı hale gelen kişide sindirim kanalı mukozasında inflamasyonu başlatacak tetikleyicilere ihtiyaç vardır. Bu tetikleyiciler başlıca, luminal bakteriler veya ürünleri, diyet antijenleri ve intestinal epitel hücreleri (otoimmün teori) olmak üzere üç gruptur. Duyarlı hale gelmiş kişide tetikleyicilerden biri barsak duvarında inflamasyonu başlatır. Aslında intestinal lümen gerek mikrobiyal gerekse diyetetik yönden büyük bir antijenik yük taşımaktadır. Bu antijenik yük barsak duvarında yerleşmiş bağışıklık sistemini sürekli uyarmakta ve fizyolojik sınırlarda sürekli bir inflamasyon meydana gelmektedir. Bu inflamasyon "down regülasyonu" sağlayıcı mekanizmalarla her defasında sınırlandırılmakta ve neticede barsaklar zarar görmeden olay sonlanmaktadır. İBH'de bu cevap abartılı olmakta down regülasyonun bozukluğuna bağlı sınırlandırılmamaktadır (12).

Barsak duvarındaki inflamasyona immün (mukozal B ve T lenfositler, monositler, makrofajlar, nötrofiller, eosinofiller, bazofiller ve mast hücreleri) ve nonimmün hücreler (epitel hücreleri, mezenkimal hücreler, sinir hücreleri, endotel hücreleri) iştirak eder. İnflamasyon, intestinal permeabilite artışı nedeniyle lümeden kolayca barsak duvarına nüfuz eden tetikleyici ajanın burada antijen sunan hücreler aracılığıyla hemen alttaki lenfoid folliküllerde bulunan T lenfositlerine sunulması ile başlar. Makrofajların ve T helper'ların aktivasyonu birçok sitokin salınmasına yol açar. IL-1, IL-2, TNF-alfa, interferon gamma gibi T helper 1 gibi sitokinler özellikle CH'de daha fazla salgılanarak inflamasyonu alevlendirir. ÜK'de ise IL-4, 5, 6, 10 gibi T helper 2 tipi sitokinler daha fazla salgılanır. Ancak ÜK ve CH'de genellikle hem T helper 1 hem de 2 tipi sitokinler değişik oranlarda artmış bulunur. T helper 2 tipi

sitokinler B lenfositlerini uyararak aşırı miktarlarda IgG salınımına yol açarlar. Normalde intestinal mukozal immün sistemdeki B lenfositleri IgA salgılar. IgA komplemanı uyarmazken IgG komplemanın ve fagositlerin aktivasyonuna yol açarak inflamasyonu daha da alevlendirir. Aktifleşmiş makrofajlardan salınan IL-8 de nötrofilleri aktive eder. Aktifleşen nötrofillerden açığa çıkan reaktif oksijen metabolitleri ile ortamda bulunan inflamatuvar sitokinler barsak epitel hücrelerini hasara uğrattır (3).

Reaktif oksijen metabolitleri, kolon epitelinin apikal kısmında bulunan koruyucu musin tabakasını yıkarak mukozal bariyeri ortadan kaldırmakta, fagositik lökositlerin infiltrasyonuna ve bakteriyel toksinlerin lamina propriaya difüzyonuna neden olmaktadır. Lökosit infiltrasyonu ve aktivasyonu ise reaktif oksijen metabolitlerinin üretimini daha da arttırarak meydana gelen hasara katkıda bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda reaktif oksijen metabolitlerinin ortadan kaldırılmaları ile deneysel kolitte doku hasarının hafifletildiği gösterilmiştir (15). Hücrelerin enerji metabolizmalarının bozulması doku hasarının oluşmasında önemli olabilir. Bu, patogeneizde oksijen radikallerinin yerini ve antioksidan tedavinin de anlamlı bir yaklaşım olduğunu göstermektedir (16).

İnflamasyona mukozada aşırı miktarlarda biriken nitrik oksitin de katkısı vardır. Nitrik oksit (NO), aktive nötrofiller, makrofajlar ve T lenfositler tarafından ortama bolca salınabilmektedir. NO, aktif olarak ortama salındığında, süperoksit anyonları ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturmakta ve bu madde aracılığı ile doku hasarı meydana getirmektedir (17). Yapılan çalışmalarda; İBH'si olan hastalarda ve TNBS-E kolitinde mukozal nitrik oksit sentaz aktivitesinin ve NO miktarının artmış olduğu saptanmıştır. Bu artışın, hasarın boyutu ile de orantılı olduğu görülmüştür (18).

Mukozal hasarın iyileşmesi için İBH'de "transforming growth faktör" (TGF) salınımı artar. Hastalığın aktif dönemlerinde TGF-beta, sessiz dönemlerinde ise TGF-alfa sentezi artmakta; ancak bu durum epitel hiperproliferasyonuna yol açtığından malignite riskinde artışı da beraberinde getirmektedir. Görüldüğü gibi İBH'de hem mukozal inflamasyon süreçlerinde bir aşırıya kaçma, hem de inflamasyonu durdurmaya yönelik defans mekanizmalarında da defektler söz konusudur (12).

İnflamatuar sistemin önemli uyarıcılarından birisi de hücre yüzeyi adezyon molekülleridir. ÜK'de intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve E-selektin düzeylerinin arttığı gösterilmiş ve sadece venöz endotelde bulunan vasküler adezyon molekülü-1'in (VCAM-1) artmaması da bir arteriyel vaskülit olasılığını desteklemektedir (19).

Altta yatan neden ne olursa olsun, ortaya çıkan kolonik hasarda organın yanıtı çeşitli derecelerde mukozal ülserasyon ve erozyon, kolonik sekretuar hücrelerin distorsiyonu, goblet hücrelerinin azalması, mukoza ve submukoza ödemi, inflamatuvar hücre infiltrasyonu kolitin akut döneminde görülen ortak bulgulardır (20).

2. SİTOKİNLER

Sitokinler, protein ya da glikoprotein yapısındadırlar. Hücre büyümesi, doku tamiri ve yeniden yapılanması, immun cevabın düzenlenmesinde hücreler arasındaki iletişimi sağlarlar. Doğal immunitede sitokinler, mononükleer fagositler ve doğal öldürücü (natural killer, NK) hücreler tarafından üretilir. Kazanılmış immunitede ise T hücreler tarafından üretilirler. TNF-alfa, IL-1 ve 6 doğal immun cevapta en önemli sitokinlerdir. Bu sitokinler tek başlarına immun cevabın düzenlenmesinde rol oynamazlar, ancak yardımcı T hücre yanıtına neden olarak edinsel immunitenin gelişimine neden olurlar (21).

Sitokinler farklı hücre tiplerinde farklı etkiler göstermektedirler. Bir sitokin diğerinin sentez ve salgılanmasını arttırarak ya da azaltarak, immun ve inflamatuvar cevabı baskılayabilir veya aktive edebilir. Sitokinler hedef hücrelerde, hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak aynı hücreden sitokin sekresyonu (otokrin), komşu hücrelerde (parakrin) veya uzaktaki hücrelerde (endokrin) aktivasyona neden olabilirler (22).

Sitokinler, etki mekanizmalarına göre proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak ikiye ayrılırlar. Proinflamatuvar sitokinler immun cevabın başlaması ve sürdürülmesi için gereklidirler, inflamasyonun başlangıcında salınırlar. Antiinflamatuvar sitokinler ise inflamasyonun daha ileriki safhalarında salgılanırlar ve inflamatuvar yanıtın kontrolünden sorumludurlar. Proinflamatuvar sitokinler; TNF-alfa, TNF-beta,

IL-1, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, INF-gama, antiinflamatuvar sitokinler; IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, çift etkili sitokinler ise IL-6, TGF-beta olarak sınıflandırılabilir (23).

2.1. İnterlökin-6 (IL-6): Kaynağı T ve B hücreleri, makrofajlar, endotelial hücreler, fibroblastlar, hepatositlerdir. Akut travma ve stres sırasında kan düzeyi yükseldiğinden dolayı genellikle sistemik inflamatuvar yanıt veya postoperatif morbidite indikatörü olarak kullanılır. Salgılanmasında majör etkiyi IL-1 ve TNF-alfa sağlar, IL-4, IL-10 ve IL-13 tarafından baskılanır (24). Travmadan sonra 60 dakika içinde dolaşımdaki düzeyi ölçülebilir, 4-6 saatte pik yapar ve dolaşımda kalma süresi on güne kadar uzayabilir. Ulaştığı kan düzeyi direkt doku hasarı ile bağlantılıdır.

IL-1 ve IL-6, travma sırasındaki hepatik akut faz protein yanıtının önemli mediatörleridir ve C reaktif protein (CRP), fibrinojen, haptoglobulin, alfa 1-antitripsin ve kompleman yapımını da artırır. PMNL aktivasyonunu indüklediği gibi yaşlanmış veya disfonksiyonel PMNL'lerin fagositozunu da geciktirebilir. Bu sayede travma sonrası pulmoner ve renal sistemde olduğu gibi travmatik etki açıklanabilir. Ayrıca önemli bir etkisi de B lenfosit diferansiyasyonu ve immunglobulin yapımında ve prostoglandin salınımında artışa neden olmasıdır. Sağlıklı bireylerde IL-6 düzeyleri saptanmazken inflamatuvar olaylarda serum seviyeleri artar (25).

2.2. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF-alfa): TNF geninin, altıncı kromozom üzerinde majör histocompatibility complex (MHC) gen lokusunun içinde HLA class I ve II arasında yer aldığı gösterilmiştir. Benzer biyolojik özelliklerde iki formu saptanmıştır. TNF-alfa (kaşektin) özellikle makrofajlardan, TNF-beta (lenfotoksin) ise özellikle lenfositlerden üretilmektedir (26).

TNF-alfa, İBH patogeneğinde mukozal immün yanıtta önemli rol oynayan proinflamatuvar bir sitokindir. TNF-alfa sentezinin kaynağı monositler, makrofajlar, T hücreleri, PMNL, NK hücreler ve endotelial hücrelerdir. Doku travmasında veya enfeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar yanıtta proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF-alfa, konakçı yanıtının oluşmasında en etkili mediatörlerden birisidir (27). Yapılan klinik çalışmalarda, CH olan kişilerde serum ve gaitadaki TNF-alfa düzeylerinin normal bireylere oranla artmış olduğu gösterilmiştir (28).

TNF-alfa, inflamatuvar sitokinlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi yanıtların oluşumunda belirgin etkiye sahiptir. Akut travmaya yanıt olarak TNF-

alfa salınımı hızlı ve kısa sürelidir. Endotoksin uyarısı ile akut inflamatuvar yanıt gelişimini taklit eden deneylerde TNF'nin monofazik bir eğri izlediği, 90 dakikada pik yapıp dört saat içinde ölçülemeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15-18 dakika olmasına rağmen, TNF'nin kısa süreli ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. İki farklı spesifik transmembran TNF reseptörü (TNFR) vardır. Tip I, p55 apoptozis, sitotoksisite, endotelyal hücrelerdeki adezyon moleküllerinin etkinliğini indükler; Tip II, p75 T hücrelerinin, fibroblastların, NK hücrelerinin proliferasyonunu ve proinflamatuvar sitokin salınımını indükler. TNF üretiminin kısa sürmesi, ortamda regüle edilemeyecek kadar çok TNF-alfa aktivitesinin oluşmasını engelleyen efektif endojen modülatörlerin olduğuna işaret eder. Dolaşımda proteolitik olarak parçalanmış membran TNFR'lerinin (solubl TNF reseptörleri, sTNFR) endojen inhibitörleri saptanmıştır. Bu reseptörlerin kompetitif olarak dolaşımda bulunan fazla TNF'yi sekestre ederek koruyucu rol aldıkları sanılmaktadır.

TNF-alfa ayrıca, stres sırasındaki adale katabolizması ve kaşeksi üzerinde de önemli etkileri olan bir sitokindir. İskelet kas hücresinden mobilize olan aminoasitleri hepatik dolaşımdaki şantlar aracılığıyla enerji metabolizmasında kullanırlar. Kemik iliğinde PMNL salınımında artış, PMNL aktivasyonu, migrasyonu, degranülasyonu ve süperoksit yapımında artma, makrofaj diferansiyasyonunda artış, IL-6'nın indüksiyonu ve akut faz reaktanlarının yapımında artış, yara iyileşmesi ve "remodeling" de endotelyal prokoagülan aktivitesinde ve lökosit adezyonunda, vasküler endotel permeabilitesinde, neovaskülarizasyonda, kollagen sentezinde ve fibroblast proliferasyonunda artma, kemik iyileşmesi sırasında osteoklastik aktivitede artmaya neden olur, endotel hücrelerinde ICAM-1 sentez ve ekspresyonunu artırır. TNF-alfa'nın diğer fonksiyonları arasında; koagülasyon aktivasyonu, PGE2, platelet aktive edici faktör (PAF), glukokortikoidler ve eikozanoidlerin salınımının artırılması sayılabilir (25).

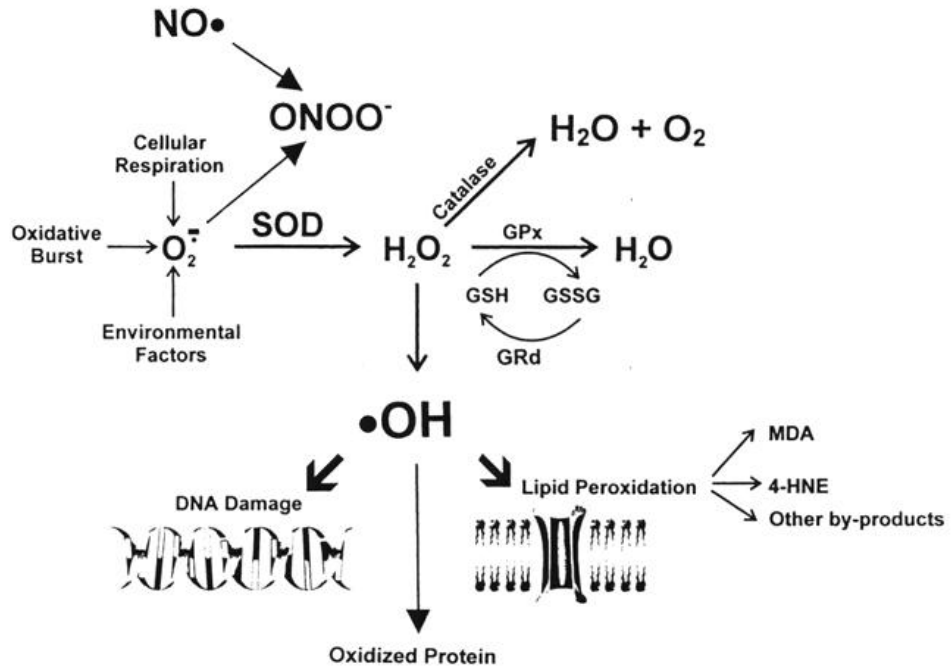
3. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ (SOR)

SOR, bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan elektrik yüklü veya yüksüz reaktif atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemdeki en önemli SOR, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen molekülü, serbest radikaller ve reaktif türler olarak tanımlanan ürünleri yoluyla, hücrelerde esansiyel olan makromolekülleri bozmakta ve böylece fizyolojik etkilerini azaltmaktadır. Devamlı bir şekilde, bu moleküler yıkım sürdüğünde, organellerin yaşamları kısalmakta ve apoptozis veya nekroz yoluyla hücrelerin ölümleri görülmektedir (29).

SOR, çok kısa yaşam süreli ancak yapısındaki dengesizlik nedeniyle çok aktiftir, tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği gösterirler (30). Hücre içinde; küçük moleküllerin otooksidasyonu, enzimler ve proteinler ile mitokondriyal elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri, peroksizom salgılarıyla plazma membranından kaynaklanarak üretilebilir. Hücre dışında ise; aerobik organizmaların oksijen ile redüksiyonu sonucunda, antineoplastik ajanlar, kinolon grubu antibiyotikler, radyasyon, alkol, uyuşturucu maddeler, çevresel ajanlar, anestezipler, aromatik hidrokarbonlar, bazı viral ajanlar ile SOR açığa çıkabilir (31, 32).

SOR'nin plazma membranları ve organellerde doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu, sülfhidril içeren enzimlerin oksidasyonu, enzimlerin inaktivasyonu, polisakkarit depolimerizasyonu ve DNA sarmallarının bölünmesi gibi zararlı etkileri vardır.

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla başlayan bu zincirleme reaksiyon dizisinde, moleküler oksijenin ortama katılmasıyla, zararlı lipid peroksit radikalleri oluşur. Bu radikallerin yan ürünleri olan aldehitler ve hidrokarbon gazları; vasküler permeabilite artışı, ödem, inflamasyon, fosfolipaz aktifleşmesi, kemotaksis ve prostoglandin oluşumuna yol açarak çeşitli patolojik olaylara neden olurlar (30).

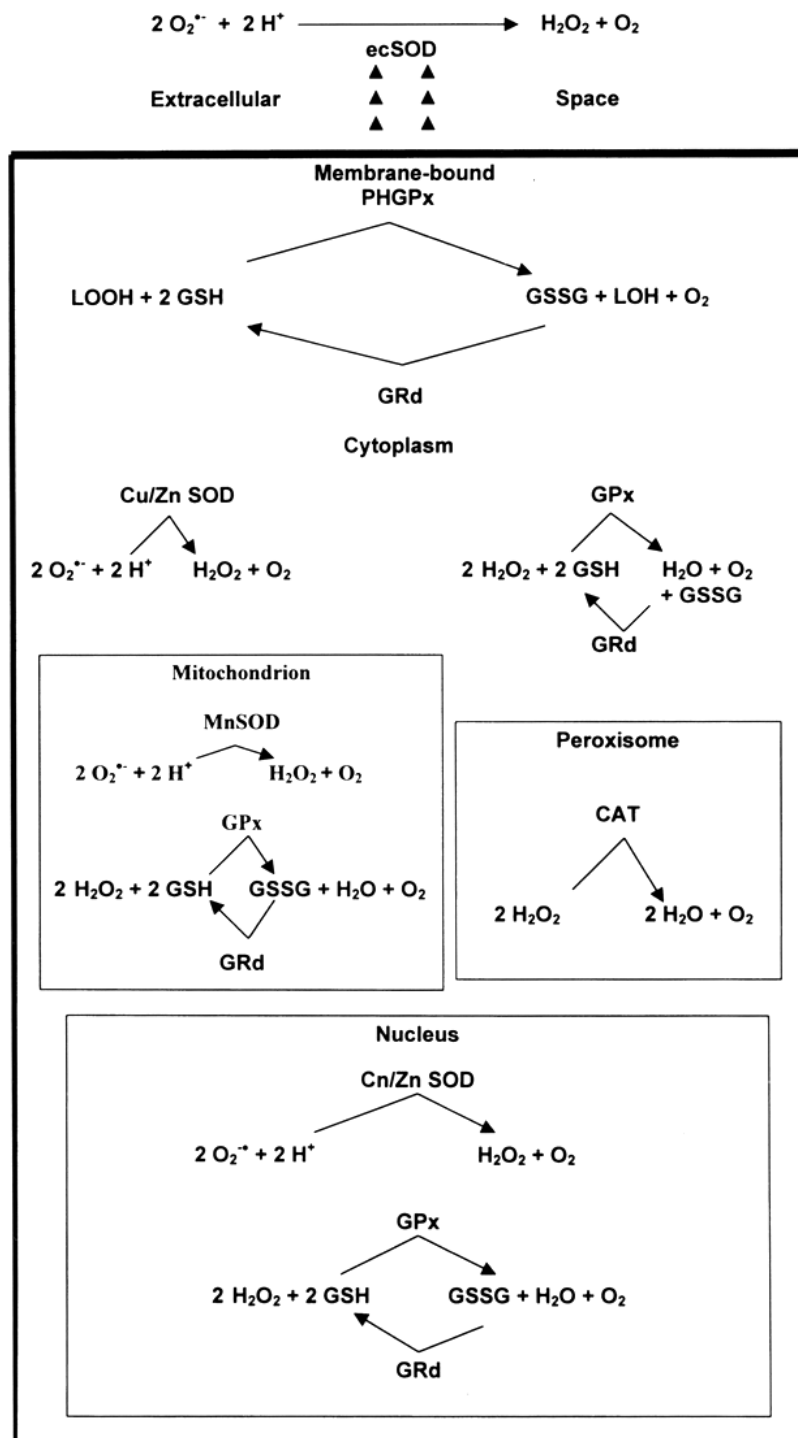


Şekil-1: Oksijen metabolizması ürünleri.

4. ANTIOKSİDATİF SİSTEM

Antioksidanlar ya direkt olarak serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini temizlerler ya da indirekt olarak serbest radikalleri veya onların ara ürünlerini metabolize ederler ve zararsız ürünlere dönüştürürler. Antioksidanlar endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler. Birçok antioksidan enzim yapısında olup, toksik molekülleri ya hücrelere zarar vermeden önce yok ederler ya da onlardan oluşacak olan toksik moleküllerin meydana gelmesini önlerler (29).

Enzimler, hücrenin alt birimlerinde, toksik maddelerden temizlenmesinde çok önemli rol oynamaktadır. Antioksidatif etkileri olan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz (CAT) olup, hücrelerde lokalize olmuşlardır. Şekil 2'de bu katalitik ajanların hücre içinde dağılımı görülmektedir (33).



Şekil-2: Oksidatif savunma mekanizmaları.

4.1. Süperoksit dismutaz (SOD): Oksijenin, hidrojenperoksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Enzimin primer fonksiyonu, hücreleri süperoksit radikalının zararlı etkilerinden korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD, fagosite edilen bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynamaktadır. Bu nedenle SOD, granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. SOD'un birçok durumda oksidatif hasarı azalttığı saptanmıştır (33).

4.2. Katalaz (CAT): Dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalar. Eritrositler yüksek oranda CAT içermekte olup, CAT aktivitesinin %98' den fazlasını sağlarlar. CAT enzim aktivitesinin en yüksek olduğu dokular karaciğer ve böbrek dokularıdır. Enzim, dokularda başlıca mitokondri ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunmaktadır. Bundan başka endoplazmik retikulum ve sitoplazmada da aktivite göstermektedir. CAT, okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksiti direkt olarak suya dönüştürür. Ortamdaki hidrojen peroksit konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda, hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler devreye girerek hidrojen peroksiti ortamdaki uzaklaştırırlar. Aynı etkileri gösteren CAT ve GSH-Px enzimleri, hücre içi yerleşimleri ve etki yerleri bakımından farklılıklar gösterirler. CAT, peroksizomlarda daha etkin iken, GSH-Px başlıca sitozol ve mitokondride etkindir (33).

4.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px): Hidrojen peroksitin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma hidrojen peroksitin artışına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.

GSH-Px ve CAT, katalitik olarak hücrelerden H_2O_2 ve lipid peroksitleri temizlemekte ve böylece hidroksil radikali oluşumunu önlemektedirler. Bu işlem sırasında, GSH-Px, GSH'yi oksitlenmiş ürünlerine yani GSH disülfid yapısına (GSSG) dönüştürmektedir. GR ise, GSSG'yi tekrar GSH'a dönüştürmekte olup, böylece radikal hasarını azaltmakta işe yaramaktadır. GSH-Px'in hücrelerden H_2O_2 çıkarmasının yanı sıra, aynı zamanda peroksinitrit anyonunu azaltma görevi vardır, böylece oksidatif stresi azaltmakta ek bir katalitik fonksiyonu vardır (33).

Bütün aeroblarda, hücrelerde redoks durumlarının sürdürülebilmesi için mutlak surette glutatyonun (γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glycine) indirgenmiş formunda yani

GSH olarak tutulması gerekmektedir. Direkt olarak serbest radikal temizleyicisi olarak görev yapan GSH, aynı zamanda , H₂O₂'in H₂O'ya indirgenmesini ve katalize eden bir enzim olan GSH-Px enziminin ko-substratıdır. Bu sırada lipid hidroperoksidler GSH'yi, disülfid şekline (GSSG) okside ederler. Normalde, GSH/GSSG oranı; 99/ <%1'dir. Eğer bu oran GSSG lehine değişir ise, yani GSSG oranı daha da yükselir ise, bu hücreler için oldukça zararlı olmaktadır. Sitozolik bir enzim olan GR, GSSG'den GSH'nin tekrar elde edilmesi için çok önemlidir (33).

4.4. Myeloperoksidaz (MPO): Fagositik hücrelerde bulunan lizozomal bir enzimdir. Polimorf nötrofil lökositlerin %90'dan fazlasını oluşturan nötrofiller; kompleman fragmanları, HO, reaktif oksijen radikalleri ve sitokinler tarafından aktive edilirler. Dokuya gelen aktive lökositler MPO, elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler hem dokudaki hasarı artırır, hem de daha fazla radikal oluşmasına neden olur. İnflamasyon durumunda MPO extrasellüler ortama salınır. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun göstergesi olarak MPO aktivitesinin ölçülmesi duyarlı bir testtir (34, 35).

MPO aracılıklı antimikrobiyal sistem, çeşitli bakteri, mantar, virüs, mikoplazma, çok hücreli organizmalar ve memeli hücrelerine karşı etkilidir. MPO çeşitli bileşikler okside edebilen bir enzim substrat kompleksi oluşturmak için substratı olan hidrojen peroksit ile birleşir. Oluşan komplekslerin oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla mikroorganizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelir ve bunlar hücre ölümüne yol açar.

4.5. Malondialdehid (MDA): Serbest radikal oluşumunun en önemli patolojik sonuçlarından biri lipid peroksidasyonudur. Serbest oksijen radikalleri, membran fosfolipidlerinin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundan bir hidrojen atomunu kopararak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Peroksit radikali, lipid molekülü ile lipid hidroperokside dönüşüp komşu yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu çıkartarak reaksiyonun devamını sağlar. Bu aşamada; MDA, alkoller, etan, pentan gibi ürünler oluşur (36). MDA, lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir, proteinlerin aminoasit gruplarıyla, fosfolipidlerle ve nükleik asitlerle arasında çapraz bağlar oluşturarak etkisini gösterir. Membran iyon transportunu, akışkanlığını, enzim aktivasyonunu ve deformasyon kabiliyetini bozar, böylece sitotoksositeye, mutajen oluşumuna, membran yıkımına yol açar (37).

5. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR

ÜK'de hedef organ kolondur. Sadece rektum veya rektum ile beraber sigmoid kolon tutulur ise distal tutulumlu ÜK denir. Sadece rektum tutulur ise ülseratif proktit veya hemorajik proktit olarak isimlendirilir. Splenik fleksuraya kadar olan kısım tutulur ise sol kolon tutulumlu; transvers kolon da tutulursa yaygın tutulumlu ÜK, çekuma kadar tüm kolon tutulmuşsa pankolit denir. Vakaların %40-50'sinde distal tutulum, %40'ında sol kolon tutulumu, %20'sinde pankolit görülür. Pankolitli hastaların az bir kısmında, *backwash ileitis* tarzında terminal ileumda inflamasyon meydana gelebilir.

CH'de ise hedef organ tüm sindirim kanalıdır. Ancak en çok terminal ileum ve çekum-sağ kolon bölgesini tutar. Vakaların %30-40'ında yalnız ince barsak, %15-25'inde yalnız kolon tutulumu gözlenmiştir. CH'de en sık görülen tutulum ise %40-55 oranla hem ince barsak hem de kolonun beraber tutulumudur. Bütün bu tutulumların %8-9'unda ağız, %1'inde özefagus, %0,5-5'inde mide-duodenum ve %3-36'sında perianal bölge hastalığa iştirak etmektedir. İBH'de tutulum yerinin bilinmesi; kliniği, ciddiyeti, komplikasyonları, ilaç seçimini etkilediği için önemlidir (12).

İBH'nin %6-47'sinde barsak dışı tutulumlar görülebilir (38). İmmun sistem ile bağlantılı bu bozukluklar iki ana grupta değerlendirilebilir. İlk grupta; intestinal inflamatuvar aktivite ile ilişkili reaktif durumlar yer almaktadır, örneğin; artrit, eritema nodosum, pyoderma gangrenosum, aftöz stomatit, iritis ve üveit gibi. İkinci grupta ise barsak hastalığından bağımsız birçok otoimmün hastalık yer almaktadır. Bu bozukluklar direkt olarak İBH'nin spesifik belirteçlerinden sayılamaz ancak otoimmün kaynaklı İBH'ye eşlik eden hastalıklar olarak değerlendirilmelidir. Bu grupta primer sklerozan kolanjit, primer bilier siroz, ankilozan spondilit, tiroidin otoimmün hastalıkları sıklıkla yer almaktadır. Birçok barsak dışı komplikasyonların ise metabolik ve anatomik bozukluklara bağlı geliştiği ve İBH'ye sıklıkla eşlik ettiği görülmüştür. Bunlar arasında osteoporoz, bilier ve üriner taş, anemi sayılabilir. İBH'de barsak dışı tutulumlar tablo l'de verilmiştir (12).

Tablo I: İBH'de barsak dışı tutulumlar (12).

DERİ	Pyoderma gangrenosum, Eritema nodosum, Sweet Sendromu
AĞIZ	Aftöz ülserler
GÖZ	Episklerit, anterior üveit
EKLEMLER	Artralji, periferik artrit, ankilozan spondilit, sakroileit
HEMATOLOJİK	Anemi, lökositoz, trombositoz, tromboemboli
KARACİĞER	Yağlanma, primer sklerozan kolanjit, otoimmün hepatit, safra taşı
BÖBREK	Böbrek taşı, üreter inflamasyonu, enterovesikal fistül, kronik pyelonefrit, amiloidoz
ÇEŞİTLİ	Çomak parmak, periferik nöropati, hipertiroidi, perikardit, kronik bronşit, bronşiolit, interstisyel pnömoni

İnflamatuvar artropatiler, en sık barsak dışı tutulumlar arasında sayılabilir. %7-25 sıklığında İBH'ye eşlik etmektedir. Spondiloartropatiler; seronegatif otoimmün bozukluklar içinde değerlendirilmelidir, bu grupta ankilozan spondilit, reaktif artrit, psoriatik artrit en sık rastlanan bozukluklar olarak tanımlanabilir. Enteropatik artrit de denilen periferik artrit %10-15 vakada diz, dirsek, kalça, el ve ayak bileği gibi büyük eklemleri tutar, genellikle gezicidir. Genellikle nonerozivdir, eklemlerde radyolojik değişiklikler seyrekler. Periferik artrit kolonik tutulumlu CH'de daha fazladır. Sakroileit, hastaların %12-15'inde görülür. İBH'de eklem tutulumuna genellikle üveit ve eritema nodosum eşlik eder (12).

Hepatobilier bozukluklar İBH'de siktir. Otoimmün patoloji ile net ilişkisi tanımlanamamıştır. Medikal tedaviye bağlı gelişen yan etki olabileceği ileri sürülmüştür. Deneysel çalışmalarda %11-49 sıklığında artmış karaciğer fonksiyon test sonuçları saptanmıştır. En sık otoimmün kaynaklı hepatobilier bozukluk ise primer sklerozan kolanjittir, kronik kolestatik patoloji; intrahepatik ve ekstrahepatik safra kanallarında inflamasyon ve fibrozis ile karakterizedir. Daha sıklıkla erkek hastaları etkiler, primer sklerozan kolanjit hastalarında İBH sıklığı (özellikle ÜK) %70-80 arasında saptanmıştır. ÜK'de ise primer sklerozan kolanjit sıklığı %2-7 iken, CH'de bu insidans %0,7-3,4 olarak bildirilmiştir. Bilinen spesifik antikör olmaması nedeniyle tanı sıklıkla biyopsi ya da kolanjiyografi ile koyulmaktadır. Primer sklerozan

kolanjiti olan İBH'li hastalarda tüm kolon tutulumu, backwash ileitis, düşük intestinal aktivite, kolektomi sonrası artmış poşitis insidansı daha sık olarak bildirilmiştir. Diğer ÜK hastaları ya da tüm popülasyona göre İBH-primer sklerozan kolanjit birlikteliğinde kolonik displazi/karsinom riski on kata kadar artmıştır. Benzer şekilde safra kanal kanseri ve metabolik kemik hastalığı riski de belirgin şekilde artmıştır. Tanı anından sonra primer sklerozan kolanjitte beklenen yaşam süresi 9-12 yıldır ve İBH'nin varlığı ya da ÜK'li hastalarda kolektomi yapılmış olmasının doğal seyire etkili olmadığı bildirilmiştir. Buna ek olarak, karaciğer transplantasyonu sonrasında da kolorektal kanser riskinde azalma söz konusu değildir (39). Ursodeoksikolik asidin hastalığın progresyonunu yavaşlattığı için kullanımının faydalı olduğunu öneren çalışmalar mevcuttur (40).

CH'li hastalarda inflame terminal ileumdan safra tuzlarının malabsorbsiyonuna bağlı %25 oranında safra taşları gelişebilir. İBH'de ciddi ataklara bağlı olarak gelişen malnutrisyon, sepsis, yağlı karaciğerde karaciğer fonksiyon bozukluklarında anormallikler saptanabilir. Ancak remisyon sonrası normale dönebilir (38). İBH'nin seyri sırasında en azından %10'unda karaciğer enzimlerinde bir anormallik ile karşılaşılır. Karaciğerde en sık görülen anormallik yağlanmadır (12).

İBH'de akut ve kronik pankreatit açısından artmış risk söz konusudur. İBH tedavisinde kullanılan birçok ilacın (örneğin salisilat, azatioprin, 6-merkaptopurin, nadiren kortikosteroidler) akut pankreatiti indükleyici özelliği bilinmektedir. İlaçların indüklediği pankreatit tipik olarak ilacın başlanmasını takiben ilk haftalarda gelişmektedir, sıklıkla hafif seyirlidir ve ilacın kesilmesini takiben hızla düzelir. Ayrıca İBH'de idiopatik pankreatit yönünden artmış risk söz konusudur (%1-1,5). CH' li hastaların %40'ında pankreatik antikorlar saptanmıştır. İlk yayınların tersine hem ÜK'de hem de CH'de pankreatit insidansı artmış olarak bildirilmektedir. Hala hastalığın nedeni tam olarak bilinmemektedir. 64 hastalık bir seride antikor pozitif hastaların %27'sinde ekzokrin yetmezlik saptanırken bu oran antikor negatif hasta grubunda %8'dir (38).

Endoskopik retrograd pankreatografi hala kronik pankreatit tanısında en sensitif ve spesifik yöntemdir. Birçok çalışmada İBH'de intrapancreatik kanal değişiklikleri olduğu bildirilmiştir. Pankreatik fonksiyonlar ise sıklıkla korunmuştur. Hala İBH'de kronik pankreatit nedeni açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak pankreatik

dokuya karşı oluşan antikorların ekzokrin yetmezlikte rolünün olduğu düşünülmektedir (38).

İBH'nin cilt tutulumları sıktır. Hastalığın seyri esnasında %10-20 arasında bildirilmiştir. Cilt lezyonları, granümatöz, reaktif, beslenme eksikliğine sekonder olarak üç grupta değerlendirilebilir. Granümatöz kutanöz lezyonlar barsak hastalığı ile aynı histolojik özellikleri gösterir, perianal ve peristomal ülser ve fistüller, oral granümatöz ülserler bunlardan en sık rastlananlardır. Deri tutulumlarından en önemlisi olan pyoderma gangrenosum ÜK'de (%1-10), CH'ye (%1-3) göre daha sıktır. Püstül olarak başlayan, hızla genişleyen, ağrılı, nekrotik, derin ve çoğunlukla multipl ülserler genellikle pretibial bölge, el-ayak sırtı ve gövdede yerleşir. Eritema nodosum genellikle pretibial bölgede kabarık, ağrılı ve kırmızımsı nodüller şeklindedir. Görülme sıklığı %0,5-9 arasında değişir, kadınlar ve ÜK'de daha sık rastlanır. Sweet Sendromu (akut nötrofilik dermatit) kollar, boyun ve yüzde multipl püstül ve papüllerle karakterizedir. Diğer deri bulgularına göre daha nadirdir. Ağız içindeki aftöz ülserler %10 oranında meydana gelir. Anterior üveit, episklerit ve konjunktivit gibi göz tutulumları da %5-8 vakada ortaya çıkar. Anemi, lökositoz ve trombositoz hastalığın aktivite bulgularıdır. Trombositoz, vaskulit, pıhtılaşma faktörlerinin aktivasyonu ve antitrombin III azalması gibi multipl faktörlerin etkisi ile İBH'de %4-5 oranında arteriyel ve venöz trombozlar görülebilir (12).

Retroperitoneal bölgeye ulaşan inflamasyonun üreteri etkilemesi sonucunda, üreterde darlık gelişebilir bu da hidronefroz ile sonuçlanabilir. Keza barsak ile üriner sistemde bir bölge (en sık mesane) arasında fistül meydana gelirse, bu üriner enfeksiyona ve abselere sebep olabilir. İnce barsak tutulumlu CH'de steatore nedeniyle kalsiyum, oksalat yerine yağ asitlerine bağlanır. Lümende biriken oksalat kolondan bol miktarda emilerek böbrekler yoluyla atılmaya çalışılır ve böylece oksalat taşları oluşur. Yine daha çok CH'de olmak üzere sekonder amiloidoz da görülebilir (12). ÜK ve CH'nin semptom ve bulguları arasındaki farklar tablo II'de verilmiştir (41).

Tablo II: ÜK ve CH arasındaki benzerlikler ve farklar (41).

	ÜLSERATİF KOLİT	CROHN HASTALIĞI
PATOLOJİK		
Aralıklı tutulum	-	++
Transmural inflamasyon	-	+++
Derin fissürler ve fistüller	-	++
Birleşen lineer ülserler	-	++
Kript abseleri	+++	+
Fokal granülomlar	-	++
KLİNİK		
Diyare	+++	+++
Rektal kanama	+++	+
Tenesmus	+	+++
Kusma	-	+++
Kilo kaybı, halsizlik	+	+++
Karın ağrısı	+	+++
Perianal hastalık	-	+++
Karında kitle	-	+++
Fistüller	-	+++
ENDOSKOPIK		
Diffüz tutulum	+++	-
Lineer ülserler	-	++
Rektal tutulum	+++	+
Frajil mukoza	+++	+
Kaldırım taşı görünümü	-	+++

ÜK'nin tipik semptomu kanlı-mukuslu ishaldir ve hastaların %90-95'inde görülür. Hasta her seferinde az miktarda olmak üzere sık sık defekasyon yapar, tenesmus vardır. ÜK sadece rektumu tutmuş ise kan dışkının sadece yüzeyindedir, ancak inflamasyon daha proksimale yayılmışsa dışkıyla karışık olacaktır. Postprandial diyare sıktır. Karın ağrısı, ateş, halsizlik ve kilo kaybı meydana gelebilir. Bazen özellikle sadece rektum tutulumlu yaşlı hastalarda, rektal spazmdan dolayı aksine kabızlık görülebilir. Fizik muayenede herhangi bir anormallik saptanamayabileceği gibi, ağrılı bir karın ile sistemik toksisite bulguları (ateş,

taşikardi, solukluk) tespit edilebilir. Çomak parmak, oral kandidiyazis, oral aftöz ülserler, ödem ve barsak dışı tutulumun işaretleri de bulunabilir (12).

CH'de karın ağrısı hastalığın tipik semptomudur. Sağ alt kadranda veya suprapubik bölgede hissedilir, yemekten sonra veya defekasyondan önce ortaya çıkar ve defekasyonla beraber rahatlama olur. İshal %70-90'ında görülür. Rektum tutulumu varsa sık sık, küçük miktarlarda, tenesme birlikte ve kanlı-mukuslu ishal görülür. İntestinal bakteriyel aşırı gelişim, safra asidi diyaresi, intestinal fistüller, yaygın ince barsak tutulumundan dolayı emilimin azalması, geniş rezeksiyonlar nedeniyle kısa barsak sendromu ishali başlıca sebepleridir. Kilo kaybı, halsizlik, iştahsızlık gibi konstitüsyonel semptomlar meydana gelebilir. Fizik muayenede sistemik toksisite bulguları (ateş, taşikardi, solukluk) saptanabilir. Ateş, hastalığın aktivitesi veya karın içi abse gibi enfeksiyöz bir komplikasyonun gelişmesi ile ilgilidir. İntestinal obstrüksiyon varsa bulantı-kusma, karında distansiyon, kramp tarzında karın ağrıları ve barsak seslerinde artış ile birlikte metalik barsak sesleri ortaya çıkacaktır. CH'nin en sık formu ileokolonik tutulum olduğu ve hastalık serozaya kadar uzanan inflamasyona neden olduğu için sağ alt kadranda değişik büyüklüklerde inflamatuvar kitle palpe edilebilir. Dolayısıyla CH, ateş, karın ağrısı, sağ alt kadranda palpabl kitle gibi akut appendisit andıran bulgular ile karşımıza çıkabilir. Karın ön duvarında entero-kutanöz bir fistülün ağzı, perine bölgesinde ise fistül ağızları, abse ve anal fissür gibi perianal tutulumun işaretleri tespit edilebilir. Bunun yanı sıra fizik muayenede barsak dışı tutulumlara ait bulgular da saptanabilir (12).

ÜK'nin klinik formları tekrarlayan remisyon ve alevlenmelerle karakterli kronik intermitant, devamlı hafif aktivasyon bulguları ile karakterli kronik devamlı ve şiddetli, tek bir atak ile karakterli akut fulminant form olmak üzere üç tiptir.

CH'nin klinik formları da inflamatuvar, obstrüktif-stenozan ve fistülizan-penetrant olarak üçe ayrılır. İnflamatuvar formda ishal, karın ağrısı ve ateş ön plandaki bulgulardır. Stenozan formda ise intestinal obstrüksiyon bulguları tabloya hakimdir ve bunlar genellikle tekrarlayıcıdır. İntestinal obstrüksiyonun sebebi inflamasyondan ileri gelen ödem ve spazm olabileceği gibi, tekrarlayan alevlenmelerle gerçek fibrozisin gelişmesine bağlı striktür de olabilir. İntestinal obstrüksiyona sebze ve meyvelerin çiğ olarak yendiği yaz aylarında daha fazla rastlanır.

CH'nin transmural inflamasyonu, mukozadan serozaya kadar uzanan bir ucu lümeninde ve açık, bir ucu serozada veya serozanın dışında ancak kapalı ince küçük yollar meydana getirir. Fistülizan-penetrant formda bu ince yolların kapalı tarafındaki inflamasyon, temas ettiği her yere yayılabilir. Böylece inflamasyon, yeni kapalı (örneğin retroperitoneum) veya açık (ince barsak, kolon, üreter, mesane, vajina veya cilt) alanlara ulaşır, iki farklı alanı birleştiren fistül hatları meydana gelir. İleumdan retroperitoneuma açılan fistül psoas adalesini tutarak psoas absesine sebep olabilir, böylece karın ağrısı kalça, uyluk ve diz yoluyla sağ bacadan aşağıya doğru yayılabilir. Transmural inflamasyon genellikle fistül ve kapalı perforasyonlara yol açar, serbest perforasyon vakalarının ancak %1-2'sinde rastlanır. Bunun nedeni olarak ta serozadaki inflamatuvar yapışıklıkların adeta yapışkan bir örtü görevi görmesi gösterilmektedir (12).

İBH'de hastalığın aktif olup olmadığının belirlenmesi, tedavinin düzenlenmesi ve prognozun tayini açısından önem taşımaktadır. Aktivite klinik, endoskopik, histopatolojik ve laboratuvar bulgularına dayanılarak tayin edilir.

ÜK'de klinik aktivite tayininde birçok aktivite indeks formülleri vardır. Bunlardan eski olmakla birlikte en sık kullanılanı Truelove ve Witts aktivite indeksidir ve tablo III'de verilmiştir (12).

Tablo III: ÜK'de Truelove ve Witts aktivite indeksi (12).

	HAFİF	ORTA	CİDDİ
İshal sayısı	<4	4-6	>6
Dışkıda kan	Yok, çok az	Az-orta	Fazla
Ateş	Yok	<37,5	>37,5
Nabız dakika sayısı	Normal	Normal-hafif yüksek	>90
Hemoglobin	Normal-biraz düşük	Orta	<7,5 g/dl
Sedimentasyon	<30 mm/h	Hafif yüksek	>30 mm/h

CH için en çok kullanılan aktivite indeksi Harvey-Bradshaw indeksidir (Tablo IV'de verilmiştir). CH aktivite indeksi dışkılama sayısı, karın ağrısı, genel

durum, barsak dışı tutulumlar, abdominal kitle, antidiyareik ilaç kullanımı, hematokrit ve kilo kaybından oluşan sekiz değişken dikkate alınarak hesaplanır (12). Bunun sonucunda hesaplanan skor 5 puandan yüksek ise hastalık aktif durumda, 5 puandan düşük ise remisyonda olarak değerlendirilir.

Tablo IV: CH'de Harvey-Bradshaw aktivite indeksi (12).

GENEL DURUM	
Çok iyi	0
Hafif rahatsız	1
Kötü	2
Çok Kötü	3
Çok Çok Kötü	4
KARIN AĞRISI	
yok	0
hafif	1
orta	2
ciddi	3
DIŞKILAMA SAYISI	Her biri 1 puan
ABDOMİNAL KİTLE	
yok	0
şüpheli	1
belirgin	2
belirgin ve ağırlı	3
KOMPLİKASYONLAR (artralji, üveit, eritema nodosum, pyoderma gangrenosum, fistül vb.)	Her biri 1 puan

Endoskopik ve histolojik aktivite ÜK'de klinik aktivite ile nispeten paralellik gösterirken, CH'de aralarında pek bir ilişki bulunmamaktadır. Bu nedenle ÜK için geliştirilmiş birçok endoskopik aktivite indeksi mevcutken, CH için geliştirilmiş tek endoskopik aktivite indeksi bulunmaktadır. ÜK için endoskopik aktiviteyi değerlendirirken mukozanın granüler görünümü, vaskülaritesi, frajilitesi, spontan kanama ve mukoza yüzeyinde eksudasyon-erozyon-ülserasyon varlığı dikkate alınır. CH endoskopik aktivite indeksinde ise yüzeysel-derin ülserlerle, ülserli ve ülsersiz stenotik alanlar değerlendirilir. CH için geliştirilmiş bir histolojik aktivite indeksi

bulunmamaktadır. ÜK'de ise histolojik aktivite tayininde mukozadaki akut inflamatuvar hücreler, kript abseleri ve epitelyum hasarının derecesi kullanılmaktadır (12).

Laboratuvar aktivite değerlendirmesinde kanda anemi, lökositoz, trombositoz, hipoalbuminemi ile birlikte sedimantasyon hızı, C-reaktif protein, alfa-1 glikoprotein, alfa-2 makroglobulin, lökosit elastazı ve çeşitli inflamatuvar sitokinlerde artış hastalığın aktif olduğunu düşündürür. Aynı şekilde dışkıda alfa-1 antitripsin klirensinde, laktoferrinde, lökosit elastazında, Teknesyum-99m işaretli nötrofillerin ekskresyonunda ve çeşitli inflamatuvar sitokinlerde artış, yine hastalığın aktivitesini gösterir. Ancak bu testlerin çoğu araştırma amaçlı kullanılmaktadır, klinikte en sık tam kan sayımı, sedimantasyon hızı, C-reaktif protein ölçümleri kullanılmaktadır (12).

6. TANI YÖNTEMLERİ

6.1. Dışkı analizi: İBH'de inflamatuvar diyare görülmektedir. ÜK'de dışkı ya makroskopik olarak kanlı, mukuslu, cerahatlidir veya dışkının direkt mikroskopik analizinde lökositlerin bulunduğu saptanır. CH'de rektum tutulumu yoksa kanlı dışkılama görülmez, ancak bazen derin kolonik ülserlerden dolayı rektal kanama görülebilir, dışkı analizlerinde ise lökositlerle beraber sıklıkla yağ lobülleri saptanır. Akut ortaya çıkan hastalıkta akut enfeksiyöz diyare ihtimali yönünden dışkı kültürü, Clostridium difficile tayini gerekebilir (12).

6.2. Biyokimyasal testler: Biyokimyasal testler hastalığın tanısının konmasından ziyade aktivitenin değerlendirilmesinde kullanılırlar. Anemi genellikle kronik hastalık veya demir eksikliği anemisi tipindedir, CH'de bazen megaloblastik anemi görülebilir. Hepatobilier tutulum açısından alkalen fosfataz, gama glutamil transferaz, aspartat ve alanin aminotransferaz ve bilirubin seviyeleri saptanır. Serolojik testlerden p ANCA ÜK'de %50-85'inde, CH olanlarda %10-40 oranında pozitif olarak bulunan bir otoantikordur. Anti-Saccharomyces cerevisiae antikoru CH'de yüksek oranda pozitif olarak saptanır (12).

6.3. Endoskopik incelemeler: İBH'de kolonoskopi tanı, ayırıcı tanı, hastalığın tutulum yeri, aktivitesi, kanser gelişiminin saptanması gibi tanısal amaçların yanı sıra polipektomi veya striktürlerin dilatasyonu gibi tedavi amacıyla da yapılır. Bu nedenledir ki tanı yöntemleri içinde yeri oldukça büyüktür.

ÜK'de kolonoskopik değerlendirme sırasında ilk bulgu mukozanın normal vasküler paterninin kaybı, ödemli ve eritemli görünümünün ortaya çıkmasıdır. Bunu granülaritenin gelişmesi ve mukus-cerahatten oluşan bir eksudanın yer yer yüzeyi örtmesi izler. Endoskopun teması ile oldukça frajil olan mukoza kanar, daha ciddi hastalıkta yüzeyel-küçük ülserasyonlar belirir, haustral yapı silinir. Genellikle silindirik şekilli pseudopolipler de görülebilir. Bütün bu anormal görünüm rektumdan başlar ve arada sağlam bölge bırakmaksızın devam eder.

CH'de ise ilk bulgu normal görünümlü mukozada multipl, birkaç milimetre çevresinde ödemli dokudan halo bulunan, ayrı ayrı, küçük, aftöz ülserlerdir, yuvarlak veya lineer görünümlü olabilirler. Barsağın eksenine paralel ve dik yerleşimli ülserler non-ülser mukoza adacıklarını çevreleyerek kaldırım taşı görünümünü ortaya çıkarırlar. Ödem, eritem, granülarite gibi anormallikler daha nadirdir ve geç dönemlerde görülürler. Tutulum bölgelerinde ülserli ve ülersiz stenotik alanlar görülebilir. Lezyonlu segmente değişik uzunlukta ve tamamen normal bir barsak segmenti komşuluk eder. CH'de üst gastrointestinal sistemin tutulumunun değerlendirilmesi için mutlaka kolonoskopi ile birlikte gastroskopi de yapılmalıdır (42).

6.4. Patoloji: ÜK'de barsağın mukoza ve submukozası etkilenir, fulminant vakalarda muskularis propria da hasarlanmıştır. Mononükleer hücre infiltrasyonuna, aktiviteyle paralellik gösteren nötrofil infiltrasyonu eşlik eder, nötrofiller kript lümenlerini doldurmuştur (kript abseleri). Yüzey epitelinin ülserasyonu ile birlikte goblet hücre kaybı meydana gelir. CH'de ise inflamasyon transmuraldir, ancak yine de histolojik anormallikler lamina propria ve submukozada görülür. Yoğun mononükleer hücrelerden çok az nötrofillerden ibaret bir iltihabi hücre infiltrasyonu vardır. Kript abseleri çok seyrekdir. Granülomlar %10-50 vakada görülür, genellikle submukozaldır ve hemen daima kazeifikasyon nekrozu göstermezler (43).

6.5. Radyolojik incelemeler: Endoskopik incelemelerin yaygınlaşması ile sindirim kanalının baryumlu grafilerle görüntülenmesi azalmıştır. Ancak CH düşünüldüğünde ince barsak pasaj grafisi mutlaka yapılması gerekmektedir. Kolon grafisine ise darlık nedeniyle endoskopik değerlendirmenin tamamlanamadığı zaman daha sık olarak başvurulmaktadır. Ciddi aktiviteli hastalarda kolon grafileri toksik megakolonu tetiklediğinden çekilmemelidir. Fistülden şüphelenilen durumlarda baryumlu grafiler kullanılmaktadır. Kolon grafisinde ÜK'nin ilk dönemlerinde kenar keskinliği kaybolur,

mukozadaki erozyon ve ülserasyonlar görülebilir. Kronik hastalıkta kolonun kısalması, haustraların kaybolması ve fleksuraların da alçalmasıyla “kurşun boru” manzarası ortaya çıkar. Pseudopoliplerce dolum defektleri oluşturulur. Darlıklar genellikle simetriktir ve “ip bulgusu” oluştururlar, ancak düzensizse malignite akla gelmelidir. CH’de nodüler görünüm “kaldırım taşı” manzarası olarak ifade edilir. Kolonun dışına taşmış baryum, komşu organlara uzanan fistüllerin varlığında veya abse kavitelerinde görülür. CH’deki “gül diken” görünümü, penetran transmural ülserasyonların varlığını gösterir. Ayakta direkt karın grafileri ciddi aktiviteli İBH’de mutlaka çekilmeli, diafragma altı serbest hava aranmalı, transvers kolon çapı ölçülmeli, ileus bulguları değerlendirilmelidir (12).

7. KOMPLİKASYONLAR

ÜK’nin lokal komplikasyonları arasında perforasyon, toksik megakolon, striktür, perianal lezyonlar, masif kanama, pseudopolipler, displazi ve kolon kanseri yer alır. Perianal lezyonlar, fibröz striktür ve masif kanama çok nadirdir. Pseudopolipler genellikle silindirik-parmak şekilli, nadiren sesil inflamatuvar poliplerdir. Sonradan epitelize olan granülasyon dokusundan ibarettirler, premalign değillerdir. Perforasyon genellikle toksik megakolona eşlik eder ve ilk ciddi atakta görülür. Hastalık ilerledikçe fibrozis ve skarlaşma arttığı için perforasyon riski azalır.

Toksik megakolon genellikle pankolitli vakalarda ve hastalığın başlangıç dönemlerindeki akut ciddi ataklar sırasında meydana gelir. ÜK atağı sırasında kolonik motiliteyi baskılayan antikolinergik ve narkotik analjeziklerin kullanılması, lavman opaklı kolon grafisi ve total kolonoskopi yapılması toksik megakolonu presipite edebilir. Toksik megakolon mortalitesi yüksek, çok ciddi bir klinik tablodur. Mortalite %2-44 arasında değişir. Tedavide ağızdan beslenme kesilir, nazogastrik sonda yerleştirilerek dekompresyon yapılır ve intravenöz sıvılarla sıvı-elektrolit dengesi sağlanmaya çalışılır. İntravenöz yüksek doz steroid ve antibiyotikler başlanır. Tedaviye yanıt vermeyen hastalarda total kolektomi gerekebilir.

ÜK’de hastalık yaşı 8-10 yılı aştığında kolon kanseri gelişme riski, normal popülasyondakinin üzerine çıkar ve hastalık yaşı arttıkça katlanarak yükselir. Risk hastalık yaşı 18 olanlarda %1,4, 20 olanlarda %7,2 ve 30 olanlarda %16,5’dir.

CH ile ilgili lokal komplikasyonlar fistül, abse, obstrüksiyon ve perianal hastalıktır. CH'de toksik megakolon ve serbest perforasyona nadiren rastlanır. Fistül sıklığı %20-40 arasındadır, en çok enteroenterik ve enterokutanöz tipte görülürler. Fistüller sıklıkla striktürün proksimalindeki yüksek basınçlı bölgede gelişirler. Bazı vakalarda hem striktürün hem de fistülün ortadan kaldırılması için cerrahi uygulamak gerekir. Karın içi abseler %15-20 hastada gelişir. Abse bazen ileopsoas ve retroperitoneal alana yayılabilir. Abse gelişen hastalarda karın ağrısı, ateş, lökositoz ve bazen abdominal kitle saptanır. Uygun geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi ve radyolojik perkutan drenaj ile inflamasyon soğutulduktan sonra, genellikle tutulan barsak segmentinin rezeksiyonu gerekir. CH'de obstrüksiyon, akut inflamasyon nedeniyle mukozal kalınlaşmadan veya önceki inflamasyonlara bağlı muskuler hiperplazi ve fibrozisten ileri gelir. İnflamasyona bağlı darlıklar tıbbi tedaviden yararlanırken, fibröz striktürlerde dar segment kısa ise endoskopik balon dilatasyon veya cerrahi striktüroplasti, dar segment uzun ise rezeksiyon uygulanabilir (12).

8. PROGNOZ

ÜK'de vakaların %80'i kronik intermitant, %10-15'i kronik devamlı, %5-10'u da akut fulminant formdadır. Hastalığın kolonik tutulum uzunluğu arttıkça ciddiyeti ve cerrahi girişim ihtimali de artar. Keza genç hastalardaki seyir, yaşlılara göre daha ciddidir. On yıllık survey normal popülasyonda %100 kabul edildiğinde, distal tutulumlu ÜK'de %98, pankolitli vakalarda ise %93' dür. Yani ÜK'nin prognozunun CH'den daha iyi olduğu söylenebilir. On yıl içinde ÜK'li hastaların %25'inde cerrahi girişim gerekecektir. ÜK'de hastalık yaşının ilerlemesi, tutulum yerinin uzaması, hastalığın erken yaşta başlamış olması ve primer sklerozan kolanjitin eşlik etmesi kolorektal kanser gelişme riskini artırır.

CH'de tam anlamıyla iyileşme olmaz. Hayat kalitesinin normale yakın seyrettiği remisyon dönemlerini, morbidite riskinin arttığı alevlenme dönemleri izler. CH'li hastaların %70'inin hayatının bir döneminde cerrahi girişim ihtiyacı olacaktır. Postoperatif nüks eden hastaların %25-30'unda beş yıl içinde ikinci bir operasyon gerekecektir. CH, kolon ve ince barsak adenokarsinomu riskini artırır. Mortalite ve

morbiditenin, hastalığın 20 yaşın altında başladığı kişilerde daha fazla olduğu görülmüştür (12).

9. TEDAVİ

İBH'de tedavi hastalığın şiddet, yaygınlık derecesi ve komplikasyonların varlığına göre düzenlenir. Tedavi genellikle ömür boyu sürer. Tedavide amaç semptomların kaybolması, mukozal iyileşme ile belirlenen remisyonun sağlanması, remisyonun devamı ve rekürrensün önlenmesidir. Tedavi iki başlık altında incelenebilmektedir:

9.1. Cerrahi tedavi: ÜK tedavisinde cerrahi endikasyonlar medikal tedaviye cevap vermeyen aktif hastalık, kanser riski, tolere edilemeyecek düzeyde barsak dışı tutulumların varlığı, perforasyon riski taşıyan ya da perfore olmuş toksik megakolon ve aşırı kanamadır. Sadece kalın barsak tutulumu olduğundan proktokolektomi intestinal hastalık için kür sağlar. ÜK cerrahi tedavisinde günümüzde altın standart total proktokolektomi+ileal poş-anal anastomozdur (restoratif proktokolektomi). Restoratif proktokolektomi sonrasında saptırıcı ileostomi de hemen hemen rutin olarak önerilmektedir.

CH'de cerrahi sadece komplikasyonların tedavisi için uygulanır, nükslerin sıklığı nedeniyle küratif tedavide yeri yoktur. Postoperatif komplikasyon riskini arttıran, acil cerrahi girişim gerektiren şiddetli komplikasyonların oluşumunu beklemeden elektif cerrahi tercih edilmelidir. Cerrahi kararı hastalığın barsaktaki yerine, ağırlığına ve komplikasyonun ciddiyetine göre verilir. CH bulunan kişilerin yaklaşık %70'inde yaşamlarının bir döneminde cerrahi gerekecektir. Bunun bazı nedenleri bulunmaktadır;

- * İlaç tedavisine yanıt olmaması,
- * Barsakta darlık oluşması,
- * Abse ve fistül gelişimi,
- * Çocuklarda büyümenin yavaşlaması; besinlerin emilimindeki bozukluk ve kortizonlu ilaçlar çocuklarda ve gençlerde büyümenin yavaş olmasına ve ergenliğin gecikebilmesine neden olabilirler. Bu durumda hastalıklı barsağın çıkartılması gerekli olabilmektedir.

* Kanser gelişimi,

* Acil durumlar; ciddi kanama, perforasyon, toksik megakolon veya ileus (44).

9.2. Medikal tedavi: İBH ataklarında destek tedavisi başlangıç tedavisi olarak önemlidir. Sıvı tedavileri, antikolinerjikler, ishal önleyici ilaçlar ve stresin tedavisi bazı hastalarda yakınmaların iyileşmesine neden olur. Bu tedaviler, daha spesifik tedavilere geçilmeden hastalığın doğal remisyona girmesini sağlayabilir. İBH tedavisinde kullanılan ilaçlar genellikle kombinasyonlar halinde kullanılır, tedavi rejimleri aktif hastalıkta remisyona sağlayıcı tedavi ve remisyondaki hastada nüksü önleyici idame tedavisi olarak ikiye ayrılabilir. İBH tedavisinde kullanılan ilaçlar:

Antiinflamatuvarlar: Sülfasalazin, 5-ASA bileşikleri (olsalazin, mesalamin, balsalazide),

İmmunosupresifler: Eski jenerasyon kortikosteroidler (prednisolon, metilprednisolon), yeni jenerasyon kortikosteroidler (budenosid, betametazon, tiksokortol), azatioprin, 6-merkaptopurin, metotreksat, siklosporin, takrolimus, mikofenolat (12),

İmmunomodülatörler: T hücre aktivasyon inhibitörleri: CD-40 Ligand, Anti CD-4 antikorları, Anti CD-3 antikorları,

Antiinflamatuvar sitokinler: IL-10, IL-11,

Proinflamatuvar sitokin inhibitörleri:

*TNF antagonistleri: İnfliximab, CDP571, certolizumab, delmitide, etanercept, onercept, adalimumab,

*PPARs inhibitörleri: Rosiglitazone,

*Proinflamatuvar sitokin reseptör inhibitörleri: Anti IL-6 reseptör,

*T helper-1 polarizasyon inhibitörleri: Anti IL-2r antikorları (daclizumab, basiliximab), anti IL-12, anti IL-18, anti IFN-gama (fontolizumab)

*Adezyon molekül inhibitörleri: Natalizumab, MLN02, alicaforsen (45),

Antibiyotikler: Metronidazol, siprofloksasin

Nutrisyonel ajanlar: Total parenteral beslenme, elementer diyetle enteral beslenme, kısa zincirli yağ asitleri

Destekleyici ajanlar: Folik asit, kalsiyum, D vitamini, B-12 vitamini, kolestiramin, loperamid,

Diğer: Transdermal nikotin, heparin, zileuton (5-lipooksijenaz inhibitörü), balık yağı, lidokain, ketotifen, klorokin, hidroklorokin, hiperbarik oksijen, intravenöz immunglobulin, lökoferez (12).

Sülfasalazin, sülfapiridine diazo bağı ile bağlanmış 5-aminosalisilik asid (5-ASA)' den ibarettir. Bu bileşikteki sülfapiridin taşıyıcı olup yan etkilerden sorumludur, esas etkili ve aktif kısım 5-ASA'dır. 5-ASA'nın etki mekanizmaları arasında NK hücrelerinin, antikor sentezinin, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarının ve nötrofil fonksiyonlarının inhibisyonu ile serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi yer alır. 5-ASA ağız yoluyla direkt verildiğinde, hemen tamamı üst sindirim kanalından emilir ve kana geçer, oysa etkisini sindirim kanalındaki inflamasyonlu bölgeye ulaşıp diffüze olarak gösterir. Sülfasalazin ağız yoluyla alındığında çekuma ulaşıncaya bakteriyel azoredüktaz enzimi aracılığıyla sülfapiridin ve 5-ASA arasındaki azo bağı parçalar ve aktif bileşik 5-ASA açığa çıkar. Sülfasalazin alanların %25-30'unda doza bağlı (bulantı, kusma, iştahsızlık, folat malabsorbsiyonu, baş ağrısı, saç dökülmesi) veya aşırı duyarlılığa bağlı (raş, hemolitik anemi, agranülositoz, toksik hepatit, pankreatit ve oligo-azospermi) yan etkileri görülebilir. Sülfasalazin kullananlara, folik asit emilimini engellediği için, günde 0,4-1 mg folik asit eklenmesi önerilir. Sülfasalazin için remisyon sağlayıcı doz 3-6 g/gün, idame dozu 2-3 g/gün'dür (46).

5-ASA preparatlarında taşıyıcı sülfapiridin elimine edilerek sülfasalazinin yan etkileri düzeltilmiştir. Olsalazine, azo bağı ile birleştirilmiş iki molekül 5-ASA içerir, sülfasalazin gibi aktif hale geçmesi için azoredüktaz gereklidir, en önemli yan etkisi sekretuar dairedir (%17). Asacol, claversal, mesasal, salofalk gibi çeşitli pH sensitif preparatlar geliştirilmiştir. Amaç 5-ASA'yı spesifik bir pH değerinde çözünecek şekilde resinle kaplamaktır. Bu resin pH 6 da çözünür, bu nedenle 5-ASA distal ileum ve kolonda açığa çıkar. Pentasa, zaman ayarlı salınan etilsellüloz bileşiği ile paketlenmiş 5-ASA preparatıdır, %50'si ince barsakta, %50'si kolonda açığa çıkar. Balsalazid, inert bir taşıyıcı moleküle azo bağı ile bağlı 5-ASA bileşiğidir, aktive olması için azoredüktaz gereklidir, kolondaki inflamasyona etkilidir. 5-ASA bileşikleri için remisyon sağlayıcı doz 2-4 g/gün, idame dozu 1-2 g/gün'dür (46).

Kortikosteroidler İBH'de remisyonu sağlamada en yaygın kullanılan ilaçlardır. Kortikosteroidler fosfolipaz A2 inhibisyonu yapmaları nedeniyle, prostoglandin ve lökotrienlerin düzeyini azaltarak etki ederler, ayrıca hümoral ve

hücrel immun yanıtlar üzerine de immunsupresif etkilidir. Hastalığın şiddetine göre oral, parenteral veya topikal kullanılır. Ciddi ataklarda genellikle 40-60 mg/gün prednisolon başlanır, cevap alındıkça her 5-7 günde bir 5 mg azaltılmalıdır. Yan etkileri nedeniyle uzun süre kullanımları kısıtlıdır, bu nedenle tedaviye dirençli vakalarda ve idame tedavisi amacıyla kullanılmazlar. Kısa dönem yan etkileri glukoz intoleransı, akne, aydede yüzü, uykusuzluk, iştah artması, psikoz ve peptik ülserdir. Steroidlerin bilinen yan etkilerini azaltmak için karaciğerde ilk geçiş metabolizmasına uğrayan yeni jenerasyon kortikosteroidler (en yaygın kullanılanı budenosid) geliştirilmiştir (46).

Siklosporin A hücre içinde siklofilin ile kalsinörini inhibe eden bir kompleks oluşturur ve dönüşümlü olarak IL-2 gen transkripsiyonunu inhibe ederek, lenfositlerin özellikle de T helper lenfositlerin aktivasyonunu baskılamış olur. T supresor lenfositler, B lenfositler ve makrofajlar genellikle etki alanı dışındadır. Siklosporin %80 oranında lipoproteinlere bağlandığından safraya sekrete edilir, serumdaki seviyesini düzenli tutabilmek için enterohepatik dolaşımın da normal olması gerekir. Karaciğer sitokrom p450 sistemi ile metabolize ve inaktive edilir. Nefrotoksisite, hepatotoksisite, dişeti hiperplazisi, tremor, parestezi, konvülziyon ve lenfoproliferatif hastalıklar en sık görülen yan etkileridir. Kortikosteroide yanıt alınamayan ülseratif kolit ataklarında ve fistüllü CH vakalarında kullanılabilir, ancak altı aydan uzun kullanımı önerilmemektedir (12, 47).

Takrolimus, "Streptomyces tsukubaensis" tarafından üretilen bir makrolid antibiyotiktir ve siklosporinden daha güçlü bir immunsupresiftir. Siklosporin gibi kalsinörin inhibisyonu yaparak T hücre aktivasyonunu inhibe eder. Siklosporine cevap alınamadığında veya baştan siklosporin yerine verilebilir (12, 47).

Mikofenolat, mikofenolik asidin 2-morfolinoetil esteridir. Mikofenolik asid, inozin monofosfat dehidrogenazın güçlü, selektif, kompetitif olmayan ve geri dönüşlü bir inhibitörüdür. Böylelikle guanozin nükleotid sentezinin de novo yolunu inhibe eder. Mikofenolat, azatioprinin daha güçlü bir alternatifi gibidir ve kronik aktif veya perianal tutulumlu CH'de etkili olduğu görülmüştür (12).

6-Merkaptopurin ve azatioprin kromozom kırıklarına neden olan ve bu yüzden lenfositler gibi hızlı çoğalan hücrelerin çoğalmasını azaltarak etki eden immunsupresif maddelerdir. Her iki ilaç da ksantin oksidaz sistemi ile metabolize

edilir ve bu nedenle allopurinol ile birlikte uygulandıklarında düşük dozda ve dikkatli kullanılmalıdır. Kortikosteroidlere göre yan etkileri azdır. Görülen başlıca toksik etki kemik iliği supresyonuna bağlıdır. Genetik yatkınlık nedeniyle %3 olguda tedavinin ilk haftaları içinde belirgin lökopeni gelişebilir. Doz azaltılması ya da ilacın geçici kesilmesi ile tablo düzelir. Hastaların %10-15'inde ilk birkaç hafta içinde idiosinkratik bir reaksiyon sonucu bulantı ve kusma ortaya çıkar. %2-5 sıklıkla pankreatit görülebilir, bu durumda azatioprinin tekrar başlanmaması gerekir. 5-ASA'ya ve steroidlere dirençli ÜK hastalarında remisyonu ve hastaların yarısından fazlasında kullanılan steroidin kesilmesini ya da dozunun azaltılıp en düşük seviyeye indirilmesini sağlayabilirler, fistüllü CH'de de kullanılabilirler. Ayrıca steroid veya siklosporinle sağlanmış olan remisyunun en az iki yıl idamesini sağlarlar. Ancak tedavinin etkisi en az üç aylık kullanımdan sonra ortaya çıkmaktadır. Azatioprin 2-2,5 mg/kg/gün, 6-merkaptopurin ise 1,5 mg/kg/gün dozunda kullanılır (46,47).

Antibiyotiklerden metronidazol ve siprofloksasin mevcut tedaviye tek veya kombine olarak eklendiklerinde aktif CH'nin remisyona girmesini kolaylaştırırlar, fistüllü veya intraabdominal abseli CH tedavisinde de kullanılırlar. Etkilerinin barsaktaki bakteri florasını azaltarak antijenik yükü azaltmaları ile olduğu düşünülmektedir. ÜK'de antibiyotiklerin yeri CH kadar olmasa da, son zamanlarda siprofloksasinin ÜK'nin remisyona girmesini kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Metronidazol ve siprofloksasin ÜK'de yapılan restoratif proktokolektomi sonrasında karşılaşılan poşit tedavisinde de kullanılmaktadır (12).

Transdermal nikotin, heparin, zileuton (5-lipooksijenaz inhibitörü), balık yağı, lidokain, ketotifen, klorokin, hidroksiklorokin, hiperbarik oksijen, intravenöz immunglobulin, lökoferez gibi çeşitli tedavi yaklaşımları İBH'nin her iki formunda da genellikle küçük hasta gruplarında kullanılmış, başarılı sonuçlar alındığı bildirilmişse de yaygın kullanım alanı bulamamışlardır (12).

Total parenteral ve enteral beslenme rejimleri aktif CH'de remisyunun sağlanmasında yardımcı oldukları gibi; fistül, darlık ve malabsorbsiyon gibi komplikasyonlar meydana geldiğinde zorunlu olarak kullanılırlar. Genel olarak, aktif ÜK'li hastalar liften fakir diyeti iyi tolere ederler. Total parenteral beslenme ile barsağı tam dinlenmeye almak, kolon lümenindeki kısa zincirli yağ asitlerini azaltması nedeniyle etkili değildir. Kısa zincirli yağ asitleri diyetdeki sindirilmemiş liflerin kolon

bakterileri tarafından fermentasyonu ile oluşurlar ve in vitro ortamda kolonositler tarafından glukoz veya keton cisimcikleri yerine enerji kaynağı olarak kullanılırlar. ÜK'li hastada eğer operasyona hazırlanmıyorsa en iyi beslenme şekli enteraldir. Günde iki kez uygulanan konsantre kısa zincirli yağ asidinin lavman preparatları, aktif proktosigmoiditli ÜK hastalarının tedavisinde kullanılmaktadır. Klinik remisyona girmiş CH'de anlamlı darlıkları yok ise özel bir diyet kısıtlaması gerekmez, belirgin darlıkları olanlara, mısır, yer fıstığı, havuç ve kereviz gibi fazla miktarda absorbe edilmeyen lif içeren gıdalar yasaklanmalıdır. Terminal ileum hastalığı veya rezeksiyonu 100 cm'den kısa olanlarda safra tuzu malabsorbsiyonu olmasına rağmen safra tuzu havuzu azalmaz, safra tuzları kolona geçer ve kolera tarzı ishal yapar. Bu hastalar safra tuzunu sekestre eden kolestiramine cevap verirler. 100 cm'den uzun terminal ileum hastalığı veya rezeksiyonu olanlarda, karaciğer safra tuzu kaybını kompanse edemez ve yağ malabsorbsiyonu gelişir. Bu hastalar düşük yağlı diyet, orta zincirli trigliseridler, yağda eriyen vitaminler ve vitamin B 12 eklenmesi ile tedavi edilir (46).

TNF-alfa lipopolisakkaritlerin uyardığı makrofajlardan salınan bir proteindir. "Kaşektin" olarak ta bilinen TNF-alfa'nın patojenik şok ve endotoksemiye bağlı doku hasarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda normal hücrelere de az miktarda da olsa etkisinin olduğu birçok deneysel çalışmada gösterilmiştir. Örneğin vasküler endotelial hücrelere direkt toksik etkisi mevcuttur. TNF-alfa'nın diğer etkileri arasında; insan fibroblastlarının büyümesinin uyarılması, PMNL'lerin ve osteoklastların aktivasyonu, IL-1, PGE2'nin indüksiyonu ve kollagenaz yapımının uyarılması sayılabilir (44).

İnfliximab, TNF-alfa'nın hem çözünebilen hem de transmembranöz formlarına yüksek affinite ile bağlanan, ama lenfotoksin alfa'ya (TNF-beta) bağlanamayan bir kimerik insan-mürin monoklonal antikorudur. Çok sayıda in vitro incelemede infliximabın TNF-alfa'nın fonksiyonel aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. İnfliximab, yapısal insan TNF-alfa ekspresyonu sonucunda poliartrit gelişen transgenik farelerde hastalığı engeller; hastalığın ortaya çıkmasından sonra uygulandığında, erozyonlu eklemlerin iyileşmesini sağlar. In vivo olarak infliximab, insan TNF-alfa'sı ile stabil kompleksler oluşturur, bu süreç TNF-alfa'da biyoaktivite kaybıyla paralel gider. İntravenöz infüzyonu takiben yarılanma ömrü on gün civarındadır. Doz bağımlı maksimum konsantrasyonu 5 mg/kg infliximab infüzyonunu

takiben 118 mikrogram/ml (C max) olarak saptanmıştır. Dolaşımdan temizlenmesi 10 ml/h hızındadır. 12 hafta sonrasında kanda saptanamayacak kadar düşük konsantrasyondadır. Akut inflamasyonda infliximab, CRP ve IL-6 seviyelerini hızla düşürür, lökosit migrasyonunu azaltır (47, 48).

İntestinal mukoza biyopsisi ile elde edilen lamina propria mononükleer hücrelerin incelenmesiyle, infliximab tedavisinin TNF-alfa ve interferon-gama ekspresyonu yapabilen hücrelerin sayısında azalmaya yol açtığı görülmüştür. Yapılan ilave histolojik çalışmalar infliximabın, inflamatuvar hücrelerin ince barsakların tutulan bölgelerine infiltrasyonunu ve bu bölgelerdeki inflamasyon belirteçlerini azalttığını göstermiştir (49).

İntestinal inflamasyonda mukozal immunolojinin anlaşılması ile son yıllarda İBH'de infliximabın kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. FDA'nın önerisi ile 1998 yılından bu yana CH'de ve 2006 yılından bu yana da ÜK'de kullanılmaktadır. CH'de aktif luminal inflamasyon remisyona indüksiyonu, enterokutanöz ve perianal fistül varlığında, ÜK'de orta ya da ciddi aktif hastalıkta günümüzde uygulanan standart tedaviye alternatif olarak uygulanmaktadır (49). Ancak 896 ÜK hastasında yapılan 34 çalışmanın meta-analizinde tüm hastaların %39'unda uzun dönem remisyona (dokuz ay) sağlanmıştır (50).

Luminal İBH' nin kontrolü için; 0, 2 ve 6. haftalarda 5mg/kg dozunda intravenöz infliximab uygulanması önerilmektedir. Bu yolun tek infüzyondan çok daha etkili olduğu görülmüştür. Ancak genel prensip ilk infüzyondan sonra yanıt alınamayan hastalarda ikinci infüzyonun denenmesi, bundan sonra da yanıt alınamadığı görülür ise sonraki dozun tekrarlanmaması şeklindedir.

Accent I ve II çalışmalarında her sekiz haftada bir infliximab ile tedavi edilen hastaların %30-50'sinde remisyona sağlanmıştır. İlaça yanıt alınamamasının nedeni, immün genetiğe bağlı ilacın hızla temizlenmesi veya diğer proinflamatuvar moleküllerin hızlı artışı olabilir. Yanıt alınamayan durumlarda infliximabın dozunun artırılarak uygulanması gündeme gelmiştir. Accent I çalışmasında, luminal CH'de dozun 10 mg/kg'a artırılması ile 5 mg/kg infliximab uygulanan ve yanıt alınamayan hastaların %90'nın tedaviye yanıt verdiği görülmüştür. Benzer şekilde Accent II çalışmasında 5 mg/kg infliximab ile yanıt alınamayan fistüllü CH'li hastalarda %59 başarılı yanıt alınmıştır (48). Spondiloartropati, artralji, pyoderma gangrenosum gibi

ekstraintestinal hastalık bulguları üzerinde de etkili olduğuna dair veriler bulunmaktadır (51). İnfliximab, cilt veya gözdeki semptomların giderildiği ana kadar verilir sonrasında da immunsupresyon yapılabilir. Eklem problemlerinde ise genel yaklaşım her sekiz haftada bir infliximabın tekrarlanması şeklinde olmalıdır. Barsak dışı tutulumların remisyonunu sürdürmek için tedavide uzun dönem infliximab gerekirse de bunun gelecekte yapılacak çalışmalarla İBH'deki gibi etkinliğinin ortaya konması gerekmektedir (49, 52).

İnfliximab tedavisinde geç dönemde tüberküloz gibi fırsatçı enfeksiyonların geliştiği bildirilmiştir (48). CH tedavisi yapılırken infliximabın kullanıldığı hastalarda lenfoma nadiren görülmüş olmasına rağmen bu ilacın malignite oranlarını arttırdığına yönelik henüz elimizde net bir kanıt bulunmamaktadır (53).

İBH'de TNF-alfa monoklonal antikörlerinin (infliximab) kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu olumlu sonuçlara rağmen infliximab kullanan hastaların bir kısmında "human anti-chimeric antibody" oluşması ve bu hastalarda tedaviye karşı direnç oluşması bu tedavinin negatif yönüdür (54). Bunu önlemek için son yıllarda %100 insandan elde edilmiş TNF-alfa monoklonal antikörler üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Etanercept, genetik mühendisliği ile oluşturulmuş bir füzyon proteini olup, birbirinin aynı iki rekombinant insan TNF reseptör p75 monomerinin, insan IgG1 Fc bölgesi ile füzyonu sonucu oluşturulmuştur. Tamamen bir insan proteini olduğundan, infliximabdan daha az immunojenik etki yapacağı öngörüsü ile üretilmiştir (55). Etanercept, halen romatoid artrit, psoriazise bağlı artrit, ankilozan spondilit ve plak psoriazisinde kullanılmak üzere onay almıştır. Ancak İBH tedavisinde kullanımı henüz onaylanmamıştır. Etanerceptin CH'de kullanımına ilişkin bir randomize kontrollü deney ve bir açık pilot çalışmada toplam 43 hasta yer almıştır. Etanercept haftada iki kez subkutan, 8 veya 12 hafta boyunca uygulanmıştır. Yan etki görülme oranı placebo (%50) ve etanercept (%74) gruplarında birbirinden farklı bulunmamıştır. En sık görülen yan etkiler arasında baş ağrısı ve enjeksiyon bölgesinde reaksiyonlar, bitkinlik, hafif anemi ve karın ağrısı yer almıştır. Bu çalışmalarda yaşamı tehdit eden veya ciddi yan etkiler bildirilmemiştir (56, 57).

10. DENEYSEL KOLİT MODELLERİ

İBH'nin etyopatogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi için pek çok deneysel kolit modeli geliştirilmiştir. Uygun hayvan modeli; barsağın morfolojik değişikliklerini, inflamasyonu, semptom ve bulguları, patofizyolojiyi sergileyecek nitelikte ve insan İBH seyrine benzer ya da özdeş olmalıdır. Aynı zamanda önerilen deney modelinde kullanılan deneğin immun sistem ve genetik özelliklerinin iyi tanımlanmış olması gerekmektedir. İBH'de hayvan modelleri beş grupta değerlendirilmektedir:

1. Gene knockout (KO) modeli; IL-2 KO/IL-2r alfa KO, IL-10 KO, T hücre reseptör mutant, TNF-3 tanımlanmamış bölge KO, Trefoil faktör defektli rat,
2. Transgenik fare ve rat modeli; IL-7 transgenik, sinyal transdüser ve aktive edici transkripsiyon-4 transgenik, HLA B27 transgenik,
3. Spontan kolit modeli; C3H/HejBir, SAMP1/Yit,
4. İndüklenebilir kolit modeli; Asetik asit ile indüklenen, iodoasetamid ile indüklenen, indometazin ile indüklenen, 2, 4, 6 Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) ile indüklenen, Okzasolon koliti, Dekstran sodyum sülfat (DSS) koliti, Peptidoglikan-polisakkarit koliti,
5. Adoptive transfer modeli; sıcak şok proteini 60'a spesifik CD T hücre transferi, CD45RB transferi olarak alt gruplarda tanımlanmıştır (58).

TNBS (2, 4, 6 Trinitrobenzen sülfonik asit) kolit modeli: 10-30 mg TNBS' nin %37 etanol içinde rektal yoldan uygulanmasını takiben denek hayvanında kolit modeli oluşturulur (59). Hasar bir haftada pik yapar ancak en az sekiz hafta devam edebilir. İnflamatuar hücreler eksternal kas ve serozayı infiltre ederek mukozada granülom oluşumuna neden olur. %3 denek, kolit gelişimi esnasında kaybedilebilir. Etanol veya TNBS tek başına uygulandığında geçici, nongranülomatöz kolit oluşturur. Enemayı takiben verilen TNBS ise inflamasyonu reaktif etme özelliğine sahiptir. Etanol ile verildiğinde ise etanolün yaptığı mukozal bariyer hasarını takiben TNBS absorbe edilerek kronik granülomatöz hastalığa neden olur (60).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.12.2008 tarih ve B.30.2.ADÜ.0.06.00.00/124-HEK/2008/055 sayılı izniyle, Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında yürütülmüştür.

Çalışmada ağırlıkları 190-280 gr arasında değişen, ortalama yaşları dört ay olan 50 adet dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Her grupta 10 sıçan mevcuttu. Deney süresince ışık düzeni 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ayarlandı, sıçanlar onarlı gruplar halinde kafeslere yerleştirildiler ve yaklaşık 21 derece oda sıcaklığında barındırıldı. Araştırma süresince dinlendirilmiş musluk suyu ve standart pelet yem ile beslendiler. Deneyden 24 saat öncesinden aç bırakılan sıçanlar için suya serbest erişim sağlandı. Sıçanlara anestezi, intramuskuler Ketamine hydrochloride (Ketalar, Parke Davis ve Eczacıbaşı, İstanbul) 50 mg/kg dozunda ve Xylazine hydrochloride (Rompun, Bayer Health Care) 5 mg/kg enjekte edilerek sağlandı.

Deneysel kolit oluşturmak için 25 mg TNBS (P2297, picrylsulfonic acid solution 10 ml, purum, Switzerland) ve %37 etanol karışımı kullanıldı. Bu yöntemle göre anestezi altındaki sıçanlara sekiz French poliüretan kanül rektal yoldan sekiz cm içeri itildi. Bu kanülden 0,8 ml/sıçsn TNBS-E (25 mg TNBS ve %37etanol) karışımı verilerek kolit oluşturuldu. Daha sonra sıçanlar, verilen maddenin geri kaçmasını engellemek için 30 saniye süre ile kuyruktan kaldırılarak baş aşağı tutuldu ve sonrasında trandelenburg pozisyonunda anesteziden çıkana kadar bekletildi (59).



Resim-1: Rektal yoldan %0,9 NaCl verilmesi.



Resim-2: Rektal yoldan TNBS-E verilmesi.

1. GRUPLAR

Grup 1: Kontrol (sham) grubu olup, anestezi altındaki sıçanlara kateterizasyonu takiben 0,8 ml %0,9 NaCl verildi. Sonrasında ikinci ve altıncı günlerde subkutan 0,1 ml %0,9 NaCl uygulandı.

Grup 2: Kolit grubu olup, anestezi altındaki sıçanlara kateterizasyonu takiben 0,8 ml TNBS-E karışımı verilerek kolit oluşumu indüklendi, sonrasında ikinci ve altıncı günlerde subkutan 0,1 ml %0,9 NaCl uygulandı.

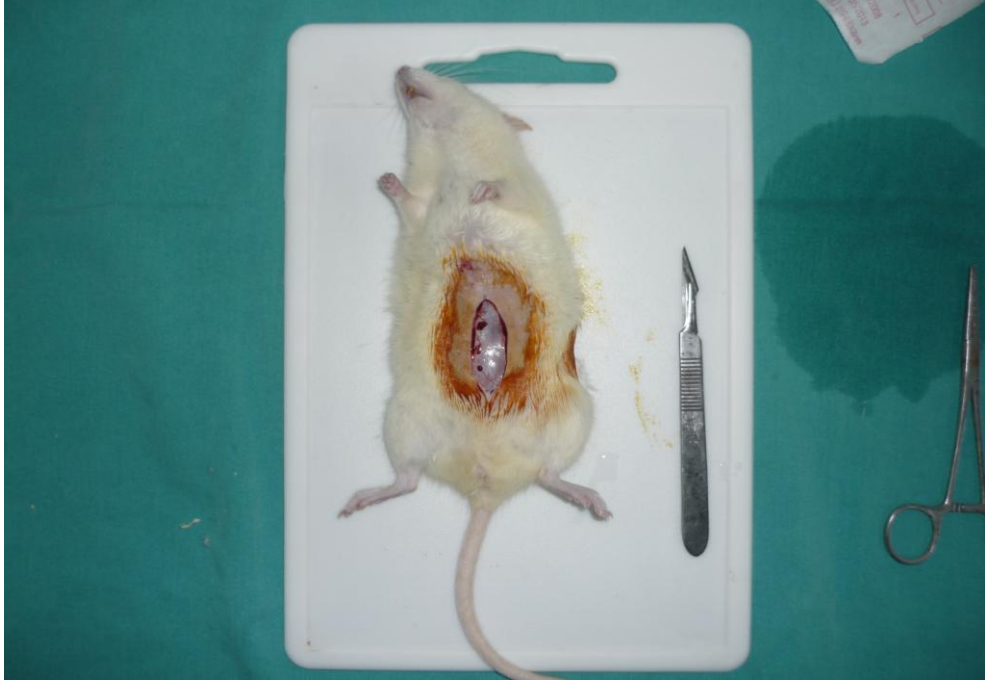
Grup 3: İlk tedavi grubu olup, anestezi altındaki sıçanlara kateterizasyonu takiben 0,8 ml TNBS-E karışımı verilerek kolit oluşumu indüklendi, sonrasında ikinci ve altıncı günlerde 0,1ml/5 mg/kg infliximab (Remicade, Schering-plough, İtalya) subkutan olarak uygulandı.

Grup 4: İkinci tedavi grubu olup, anestezi altındaki sıçanlara kateterizasyonu takiben 0,8 ml TNBS-E karışımı verilerek kolit oluşumu indüklendi, sonrasında ikinci ve altıncı günlerde 0,1 ml/5 mg/kg etanercept (Enbrel, Wyeth, İngiltere) subkutan olarak uygulandı.

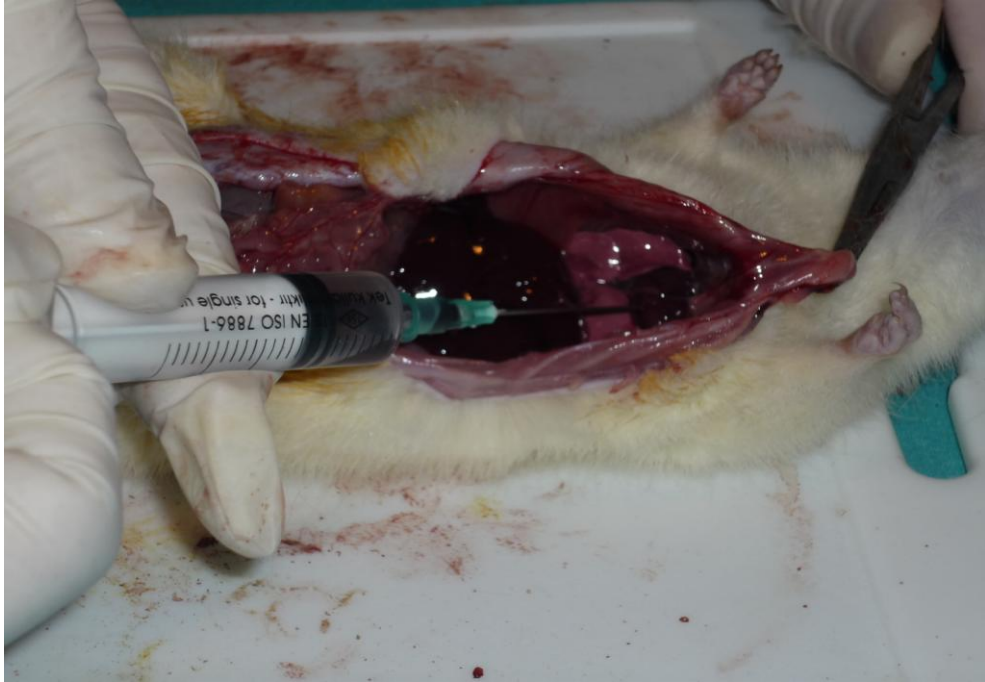
Grup 5: Üçüncü tedavi grubu olup, anestezi altındaki sıçanlara kateterizasyonu takiben 0,8 ml TNBS-E karışımı verilerek kolit oluşumu indüklendi, sonrasında ikinci ve altıncı günlerde 0,1 ml/5 mg/kg infliximab (Remicade, Schering-plough, İtalya)+0,1 ml/5 mg/kg etanercept (Enbrel, Wyeth, İngiltere) kombinasyonu subkutan olarak uygulandı.

1.1. Cerrahi prosedür: Kolit indüksiyonunu takiben yedinci günde tüm ratlara 50 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg xylazin kombinasyonu ile sağlanan anestezi sonrası orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı, eksplorasyon gerçekleştirildi. İntrakardiyak TNF-alfa, IL-6, GSH, GSH-Px, CAT, SOD çalışılmak üzere yaklaşık beş ml kan örneği alındı. Takiben rektum distalde mümkün olan en aşağı seviyeden transekte edildi ve yaklaşık 10 cm'lik kolon segmenti çıkarıldı. Çıkarılan her kolon segmentinin proksimaldeki 2 cm'lik kısmı (longitudinal olarak açılıp %0,9 NaCl ile hafifçe temizlenerek) kesilip, ependorf tüplere konarak biyokimyasal analiz (TNF-alfa, MDA, MPO, SOD, GSH, GR, GSH-Px, CAT) için ayrılmıştır. Geriye kalan kolon segmenti formol içerisinde patolojik değerlendirme için saklanmıştır. Deney sonunda sıçanlar

anestezi altındayken intrakardiak kan alınmak suretiyle vasküler kollaps oluşturularak sakrifiye edildi.



Resim-3: Anestezi altında yapılan orta hat kesisi.



Resim-4: Biyokimyasal analiz için intrakardiak kan alınması.

2. YÖNTEMLER

2.1. Patolojik değerlendirme: Histopatolojik inceleme Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda yapıldı. Kolon rezeksiyon materyali patolojik inceleme için %10'luk formaldehit içerisinde tespit edilip rutin takip işlemi sonucunda parafin bloklara gömülmüştür. Bloklardan hazırlanan beş mikron kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskobu ile değerlendirilmiştir. Kolit indüksiyonunu takiben yedinci günde sakrifiye edilen sıçanlardan elde edilen kolon rezeksiyon materyalindeki makroskopik hasar değerlendirilmesi için tablo V'deki (61), mikroskopik hasar değerlendirilmesi için tablo VI'daki (62) skorum kriterleri kullanıldı.

Tablo V: Kolon hasarı için makroskopik skorum kriterleri (61).

PUAN	KRİTER
0	Hasar yok
1	Hiperemi
2	Hiperemi ile birlikte duvar kalınlaşması
3	Duvar kalınlaşması olmadan soliter ülser saptanması
4	İki veya daha fazla ülser veya inflamasyon alanı saptanması
5	İki veya daha fazla alanda ağır ülser ve inflamasyon saptanması veya tek bir alanda 1 cm'den daha uzun ülser veya inflamasyon alanı saptanması
6-10	Kolondaki hasarın 2 cm'den daha uzun olduğu durumlarda her fazla 1 cm için puanlamaya bir puan eklenmiştir.

Tablo VI: Kolon hasarı için mikroskopik skorlama kriterleri (62).

	0	1	2
Nötrofil infiltrasyonu Epitel Lamina propria Muskularis mukoza Submukoza Muskularis propria Seroza	Yok	Hafif	Belirgin
Fibrin depolanması Mukoza Submukoza	Yok	Var	
Submukozal nötrofil marjinasyonu	Yok	Var	
Submukozal ödem	Yok	Yama tarzında	Yaygın
Epitel nekrozu	Yok	Lokal	Yaygın
Epitel ülseri	Yok	Var	

2.2. Dokuların biyokimyasal analizi: Doku örnekleri, proteaz inhibitörü olan 0.2 μ M phenylmethanesulphonyl fluoride (PMSF) ve 1 mM Ethylenediamin tetra acetic acid (EDTA) içeren 50 mM fosfat tamponunda (pH 7.4) (1/10 g/ml) olacak şekilde 4 °C'de homojenize edildi. MPO ve GSH çalışılması için örnek ayrıldıktan sonra, homojenat 10.000 rpm beş dakika santrifüj edildi ve üstteki supernatant eşit olarak ependorflara ayrılarak diğer parametrelerin bakılabilmesi için -85° C'de donduruldu.

Katalaz (CAT) aktivite ölçümü: Doku örneklerinde CAT aktivitesi Aebi'nin yöntemine göre saptandı (63). Fosfat tamponu (50 mM pH:7.4) olacak şekilde, potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) ve disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄.2H₂O) ile

hazırlandı. H₂O₂ (30 mM) olarak hazırlandı. Tampon ile dilüe edilmiş örneğe, H₂O₂'li tamponun eklenmesi ile başlayan absorbans değişimi, spektrofotometrede 240 nm'de izlenerek, 15 saniyedeki absorbans değişimi ölçüldü ve hesaplama yapıldı. Sonuçlar U/g yaş doku olarak verildi.

GSH ölçümü: Doku örneklerinde GSH, Beutler ve arkadaşlarının yöntemine göre ölçüldü (64). Presipite edici solüsyon; metafosforik asit, disodyum EDTA ve sodyum klorür (NaCl) kullanılarak hazırlandı. Disodyum fosfat solüsyonu; di sodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄) ile hazırlandı. DTNB solüsyonu; [5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)] ve sodyum sitrat ile hazırlandı. GSH standardı; (reduced glutathione) kullanılarak 1-60 mg/dl'lik standartlar olarak hazırlandı. Standartlar ve örnekler spektrofotometrede 412 nm'de köre karşı okutuldu. Sonuçlar mg/ g yaş doku olarak verildi.

GSH-Px ölçümü: Doku örneklerinde GSH-Px aktivitesi, Kakkar ve arkadaşlarının yöntemine göre minör modifikasyonla saptandı (65). GSH-Px reaksiyon karışımı; 75 mmol fosfat tamponu (pH 7.0), 60 mmol GSH, 30U/ml GR, 15 mmol Na₂EDTA içermektedir. Küvet 37 °C'ye ayarlanan spektrofotometreye kondu. Küvetin içine reaksiyon karışımı konarak gerektiği kadar, dilüe edilmiş hemolizat eklendi. Reaksiyon H₂O₂ (%30) ile başlatıldı ve NADPH'daki absorbansın azalması 340 nm'de üç dakika izlendi. Non enzimatik reaksiyon hızı kör çalışılarak hesaplandı ve elde edilen sonuçlardan çıkartıldı. Sonuçlar mU/g yaş doku olarak verildi.

GR ölçümü: Doku örneklerinde GR aktivitesi, Racker ve arkadaşlarının yöntemine göre saptanmıştır (66). Reaksiyon karışımı; 50 mmol/L Tris tamponu, Ph 7.6, 100 µmol/L EDTA, 4 mmol/L GSSG (oksitlenmiş glutatyon), 120 µmol/L NADPH ile hazırlandı. Reaksiyon karışımı küvetlere kondu ve uygun ortamda eritrositlerden hazırlanmış hemolizat konarak reaksiyon başlatıldı. 340 nm'de 37°C'de NADPH'ın oksidasyonunun izlenmesi yoluyla GR düzeyleri saptandı. Örnek yerine su kullanılarak, aynı şekilde kör çalışılarak elde edilen sonuç, örneklerden elde edilen sonuçtan çıkartıldı. Reaksiyon 3 dakika izlendi. Sonuçlar U/g yaş doku olarak verildi.

SOD ölçümü: Doku örneklerinde SOD ölçümü, Sun ve arkadaşlarının yöntemine göre saptandı (67). Doku süpernatantı kloroform, etanol ile iyice çalkalandı ve örnekler içindeki SOD 12.000 g'de 1 saat santrifüjlendikten sonra ekstrakte edildi. SOD deney çözeltisi; 0.3 mmol/L xantine, 0.6 mmol/L EDTA, 150 µmol/L nitroblue

tetrazolium (NBT), amonyum sülfat (NH₄SO₄), 20167 U/L xantine oxidase (XOD) içermekteydi. Bu çalışma çözeltisine örnekler eklendikten sonra 25 °C'de su banyosunda , XOD çözeltisi eklendi. Reaksiyon bakır klorür (Cu₂Cl) eklenerek durduruldu. Ayrıca kör çözeltisi hazırlandı. Deney sonunda oluşan renk 560 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. SOD standardı (Cu,ZnSOD porcine erythrocytes) ile, 0-270 ng/tüp ve % inhibisyon değerleri karşılıklı gelecek şekilde oluşturuldu. Her örnek için elde edilen inhibisyon değeri, grafik kullanılarak SOD değeri saptandı. SOD düzeyleri ng/g yaş doku olarak verildi.

MPO ölçümü: Doku örneklerinde MPO aktivitesi Suzuki ve arkadaşlarının yöntemine göre saptandı (68). Yöntem sentetik bir substrat olan 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine (TMB)'in MPO yoluyla yıkılımının ölçülmesine dayanmaktadır. Belli miktardaki doku homojenatı 7.000 rpm beş dakika santrifüj edildi. Üstteki kısım atıldı ve alttaki kalan doku kısmı deterjanlı tampon ile çözüldü (160 mM potassium phosphate buffer, pH 5.4, 1% hexadecyltrimethylammonium bromide, HETAP). Reaksiyon H₂O₂'in 37 °C'de reaksiyon karışımına eklenmesi yoluyla başlatıldı. MPO'nun katalizlediği reaksiyonda TMB oksidasyona uğramakta olup, reaksiyon sırasında absorbans artışı 655 nm'de 15 saniye ölçülmekte ve 1 dakikadaki MPO aktivitesi hesaplanmaktadır. MPO aktivitesi U/g yaş doku olarak verilmektedir.

MDA ölçümü: Doku örneklerinde MDA ölçümü Ohkawa'nın yöntemine göre yapıldı (69). %8,1'lik laurilsulfate (SDS, Sigma, Kat. No. L-4390), %20'lik asetik asit (MERCK, Kat. No. K23815056), %0,67'lik TBA (2-Thiobarbutiric acid, Sigma, Kat. No.T-5500) çözeltileri kullanıldı. MDA standardı olarak, malonaldehit bis-(dimetil asetal) (Aldrich, Kat. No. 10,838-3) kullanılarak, 1-40 nmol'lük standartlar hazırlandı. Örneklerdeki absorbanslar spektrofotometrede, 532 nm'de köre karşı okundu ve sonuçlar standart cihaz tarafından otomatik olarak hesaplandı ve µmol/L olarak verildi.

TNF-alfa ölçümü: Doku homojenatında TNF-alfa düzeyleri rat ELİSA kiti kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar pg/g yaş doku başına verildi.

2.3. Plazma biyokimyasal analizi: Kan örnekleri 3000 devirde beş dakika santrifüj edildi ve plazma numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan plazmalar analiz dönemine kadar (-) 80 derecede saklandı. Plazma TNF-alfa ve IL-6 düzeyleri rat spesifik ELİSA kiti kullanılarak değerlendirildi. Standart rekombinant TNF-alfa, IL-6

eğrileri kullanarak TNF-alfa ve IL-6 konsantrasyonları hesaplandı. Değerler pg/ml olarak ifade edildi.

2.4. İstatistiksel analiz

Kan ve doku biyokimyasal değişkenleri ile patolojik değerlendirme sonucu elde edilen değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin (kan ve doku biyokimyasal değişkenleri) tanımlayıcı istatistikleri ortalama \pm standart sapma olarak gösterildi ve gruplara göre karşılaştırmada Tek Yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Post-hoc test olarak Tukey testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin (patolojik değişkenler) tanımlayıcı istatistikleri medyan (%25-%75 persantil) olarak gösterildi ve gruplara göre karşılaştırmada Kruskal-Wallis ANOVA testi kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmeler "SPSS 13.0 for Windows" istatistiksel programı kullanılarak yapıldı. p değeri 0,05 altında ise aradaki fark anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada her biri on sıçandan oluşan beş grup mevcuttu. Çalışma esnasında ölen veya herhangi bir sebeple çalışma dışı bırakılan denek olmadı. Deneklerde değerlendirilen biyokimyasal değişkenlerin (plazma ve doku) ortalama ve standart sapmaları tablo VII, VIII'de, patolojik değişkenlerin medyan (%25-75 persantil) değerleri ise tablo IX'da verilmiştir.

Tablo VII: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V
TNF-alfa	23,26±8,31	57,19±41,34	33,10±23,22	16,07±3,00	16,28±4,08
IL-6	25,96±19,95	126,76±155,37	42,65±18,43	14,02±9,97	35,99±36,16
GSH	2,53±1,29	4,54±0,96	2,77±0,76	2,95±0,90	2,37±0,58
GSH-Px	389,72±97,01	214,03±90,64	326,10±53,77	378,88±72,62	293,04±30,10
CAT	49,32±14,11	81,84±32,67	55,13±19,36	44,51±14,40	51,43±18,02
SOD	10,47±2,49	8,77±2,45	10,25±1,52	12,36±1,74	12,34±4,65

Tablo VIII: Doku biyokimyasal değişkenlerinin ortalama ve standart sapmaları.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V
TNF-alfa	847,16±278,20	5692,13±2958,98	871,30±123,46	1914,61±1135,80	1629,47±582,25
MDA	19,05±6,91	24,72±6,24	13,31±3,83	16,31±3,54	17,96±5,57
MPO	65,92±31,83	335,97±256,82	25,80±23,33	85,58±79,91	115,29±113,51
SOD	15,06±0,95	14,42±1,09	14,50±0,61	14,09±0,92	14,63±1,43
GSH	1,18±0,35	1,17±0,21	1,18±0,33	1,23±0,47	1,67±0,73
GSH-Px	3006,90±446,01	2101,99±814,93	2055,98±1587,74	1868,64±1098,73	2944,72±1827,74
GR	372,94±47,73	150,90±43,34	225,45±115,68	204,33±65,10	212,90±71,12
CAT	10,64±7,53	7,58±4,12	17,45±8,06	16,03±12,15	27,62±15,97

Tablo IX: Patolojik değişkenlerin medyan (%25-75 persantil) değerleri.

	GRUP I	GRUP II	GRUP III	GRUP IV	GRUP V
Makroskopik hasar skoru	0	7 (6-7,25)	4,5 (4-5)	3,5 (3-4)	4 (3-4,25)
Mikroskopik hasar skoru	4,5 (3-5,25)	18 (18-19)	17 (16,75-18)	14,5 (12,75-17)	16 (15-17)

1. PLAZMA BİYOKİMYA İNCELEMELERİ

Plazmada alışılan biyokimyasal değişkenlerin gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesi tablo X, XI, XII’de verilmiştir.

Tablo X: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin kontrol grubu ile diğer gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesi.

	GRUP I-II	GRUP I-III	GRUP I-IV	GRUP I-V
TNF-alfa	p=0,011	NS	NS	NS
IL-6	p=0,03	NS	NS	NS
GSH	p=0,000	NS	NS	NS
GSH-Px	p=0,000	NS	NS	NS
CAT	p=0,011	NS	NS	NS
SOD	NS	NS	NS	NS

NS= $p > 0,05$, istatistiksel olarak anlamlı değil (non significant).

Tablo XI: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin kolit grubu ile tedavi grupları arası istatistiksel değerlendirilmesi.

	GRUP II-III	GRUP II-IV	GRUP II-V
TNF-alfa	NS	p=0,002	p=0,002
IL-6	NS	p=0,15	NS
GSH	p=0,001	p=0,003	p=0,000
GSH-Px	p=0,021	p=0,000	NS
CAT	NS	p=0,003	p=0,025
SOD	NS	NS	NS

NS= $p>0,05$, istatiksels olarak anlamlı değil (non significant).

Tablo XII: Plazma biyokimyasal değişkenlerinin tedavi grupları arasındaki istatistiksel değerlendirilmesi.

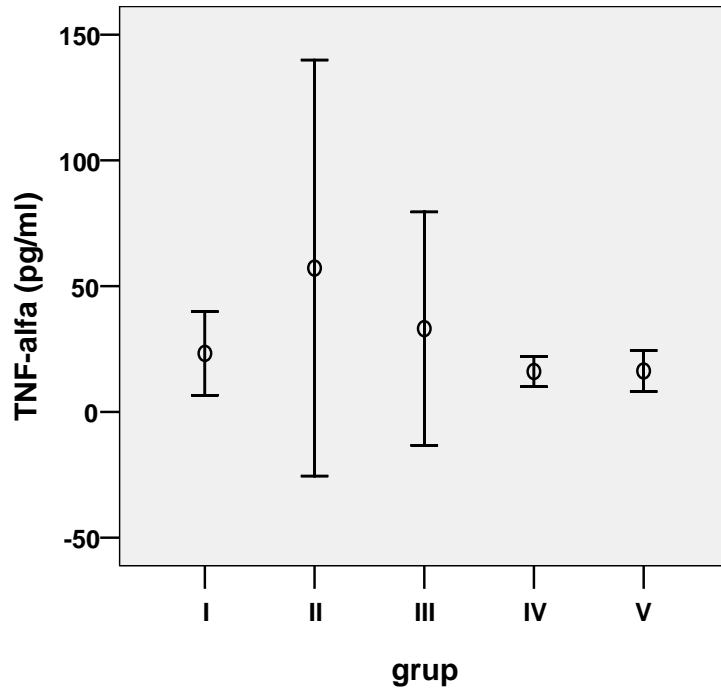
	GRUP III-IV	GRUP III-V	GRUP IV-V
TNF-alfa	NS	NS	NS
IL-6	NS	NS	NS
GSH	NS	NS	NS
GSH-Px	NS	NS	NS
CAT	NS	NS	NS
SOD	NS	NS	NS

NS= $p>0,05$, istatiksels olarak anlamlı değil (non significant).

Grup I-II: Kontrol grubu ile kolit oluşturulup tedavi verilmeyen grubun,
Grup I-III: Kontrol grubu ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab verilen grubun,
Grup I-IV: Kontrol grubu ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grubun,
Grup I-V: Kontrol grubu ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab+0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grubun,
Grup II-III: Kolit oluşturulup tedavi verilmeyen grup ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab verilen grubun,
Grup II-IV: Kolit oluşturulup tedavi verilmeyen grup ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grubun,
Grup II-V: Kolit oluşturulup tedavi verilmeyen grup ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab+0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grubun,
Grup III-IV: Kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab verilen grup ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grubun,
Grup III-V: Kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab verilen grup ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab+0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grubun,
Grup IV-V: Kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grup ile kolit oluşturulup 0,1 ml/5 mg/kg infliximab+0,1 ml/5 mg/kg etanercept verilen grubun istatistiksel değerlendirilmesi verilmiştir.

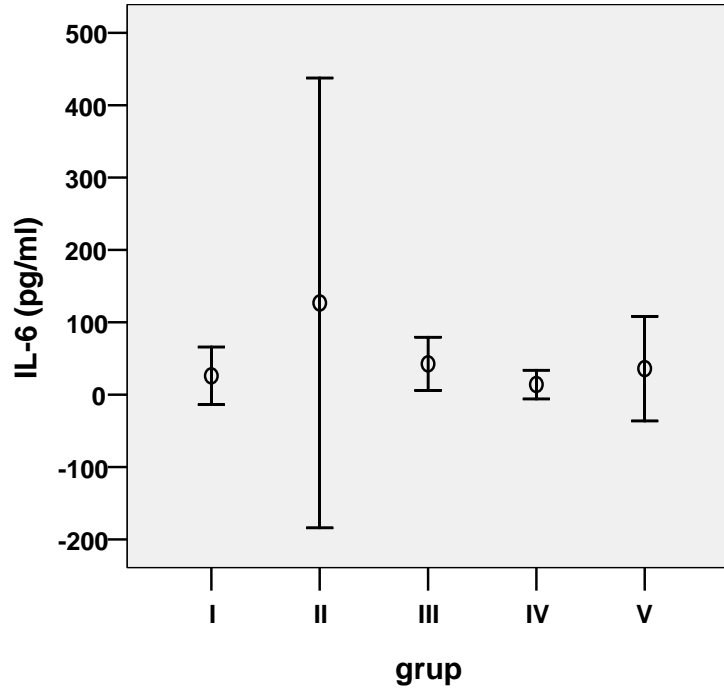
TNF-alfa: TNF-alfa değerleri karşılaştırıldığında grup II'nin (kolit grubu) TNF-alfa değerlerinin diğer tüm gruplardan yüksek olduğu ve tedavi grupları olan grup III, IV ve V'te azaldığı saptandı ($p < 0,05$; Grafik 1). Gruplar arası değerlendirmede; grup II'de, grup I'e göre belirgin derecede yüksek değerler saptandı ve bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0,011$). Ayrıca TNF-alfa değerlerinin grup IV ve V'te grup II'ye göre belirgin olarak azaldığı saptandı. Bu değerler de istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır ($p = 0,002$). Grup II ve III arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

Grafik 1: Grupların plazma TNF-alfa değerleri.



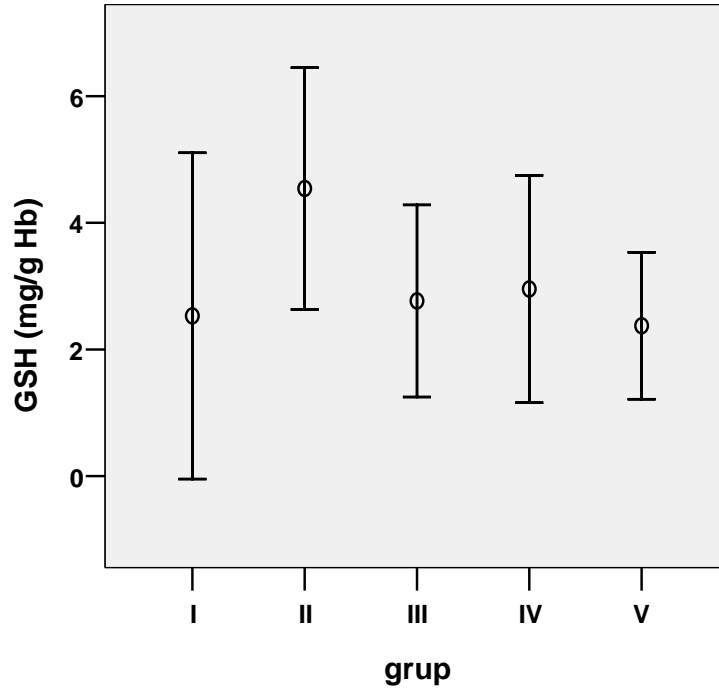
IL-6: IL-6 değerleri karşılaştırıldığında Grup II'de (kolit grubu) Grup I'e (kontrol grubu) göre belirgin olarak arttığı ve tedavi grupları olan Grup III, IV, V'te ise Grup II'ye göre belirgin azaldığı gözlendi. En düşük IL-6 değerleri IV. gruba (0,1 ml/5mg/kg etanercept) aitti ($p < 0,05$; Grafik 2). Gruplar arası değerlendirmede grup II'de IL-6 değerlerinin grup I'e göre belirgin olarak yükseldiği ($p = 0,030$) ve grup IV'te grup II'ye göre azaldığı ($p = 0,015$) saptandı. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır. Grup II-III ve II-V arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

Grafik 2: Grupların plazma IL-6 değerleri.



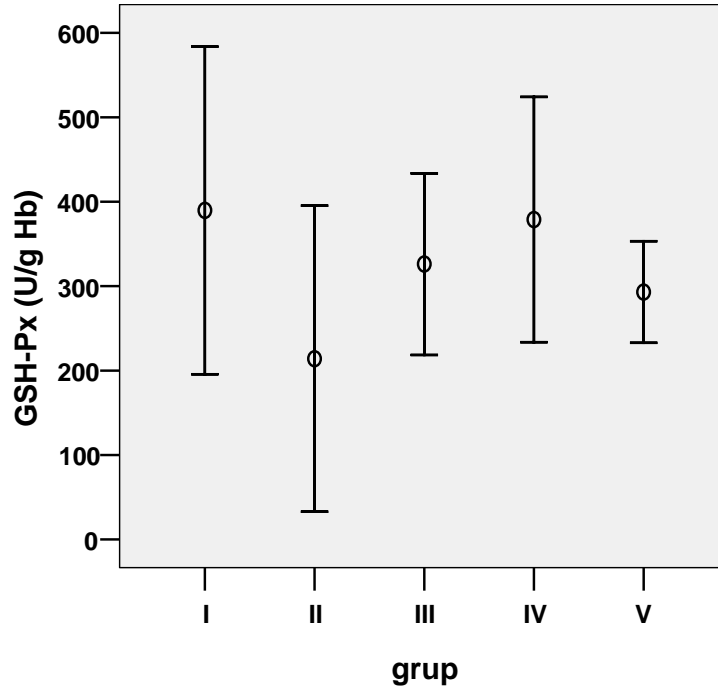
GSH: II. grubun (kolit grubu) GSH değerleri diğer gruplardan yüksekti ve tedavi gruplarında (Grup III, IV, V) GSH düzeyleri azalmıştı ($p < 0,05$; Grafik 3). Gruplar arası karşılaştırmada grup III, IV ve V'te GSH değerlerinin grup II'ye göre belirgin azaldığı gözlendi ($p = 0,001$, $p = 0,003$, $p = 0,000$). Bu değerler istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıdır. Tedavi grupları (grup III, IV, V) arasında ise anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Grafik 3: Grupların plazma GSH değerleri.



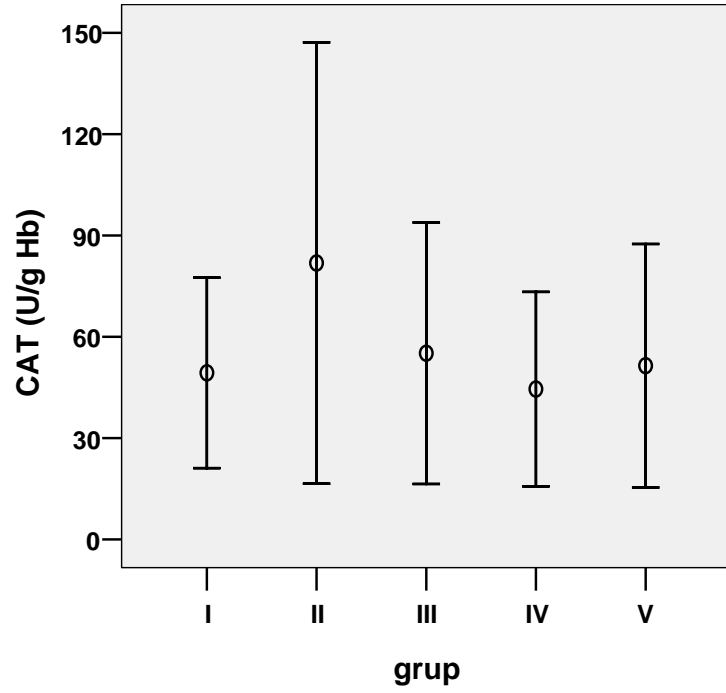
GSH-Px: II. grubun (kolit grubu) GSH-Px değerleri diğer gruplara göre düşüktü ve tedavi gruplarında GSH-Px değerleri II. gruba göre yükselmişti. En yüksek GSH-Px değerleri I. gruba (kontrol grubu) aitti ($p < 0,05$; Grafik 4). Gruplar arası karşılaştırmada grup II'de GSH-Px değerlerinin grup I'e (kontrol grubu) göre belirgin azaldığı ($p = 0,000$), grup III ve IV'te ise grup II'ye göre arttığı saptandı ($p = 0,021$, $p = 0,000$). Bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır. Grup V'te GSH-Px değerleri yükselmiş olmasına rağmen grup II ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

Grafik 4: Grupların plazma GSH-Px değerleri.



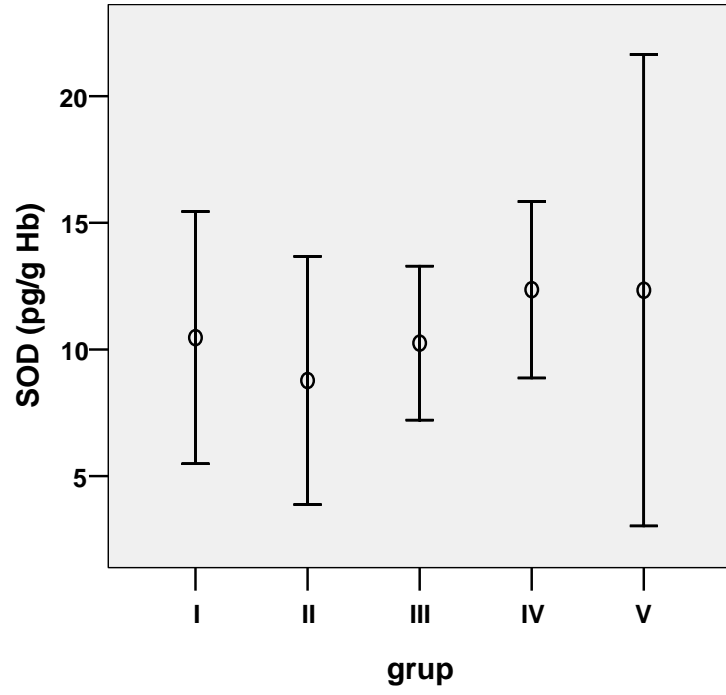
CAT: II. grubun (kolit grubu) katalaz değerleri kontrol grubuna göre belirgin yüksekti ve tedavi gruplarının katalaz değerleri II. gruba göre azalmıştı. En düşük katalaz değerleri IV. gruba (0,1 ml/5 mg/kg etanercept) aitti ($p < 0,05$; Grafik 5). Gruplar arası karşılaştırmada grup II'de katalaz değerlerinin grup I'e göre belirgin yükseldiği görüldü ($p = 0,011$). Grup IV ve V'te ise grup II'ye göre katalaz değerlerinin azaldığı saptandı ($p = 0,003$, $p = 0,025$). Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır. Grup II ve III arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

Grafik 5: Grupların plazma CAT değerleri.



SOD: II. grubun (kolit grubu) SOD değerleri kontrol grubuna göre azalmıştı, tedavi gruplarındaki SOD değerlerinin ise II. gruba göre yükseldiği saptandı ($p < 0,05$; Grafik 6). Gruplar arası değerlendirmede grup II'de SOD değerlerinin grup I'e göre azaldığı, grup III, IV ve V'te ise yükseldiği gözlemlendi ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$).

Grafik 6: Grupların plazma SOD değerleri.



2. DOKU BİYOKİMYA İNCELEMELERİ

Doku örneklerinde çalışılan biyokimyasal değişkenlerin gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesi tablo XIII, XIV, XV'te verilmiştir.

Tablo XIII: Doku biyokimyasal değişkenlerinin kontrol grubu ile diğer gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesi.

	GRUP I-II	GRUP I-III	GRUP I-IV	GRUP I-V
TNF-alfa	p=0,000	NS	NS	NS
MDA	NS	NS	NS	NS
MPO	p=0,001	NS	NS	NS
SOD	NS	NS	NS	NS
GSH	NS	NS	NS	NS
GSH-Px	NS	NS	NS	NS
GR	p=0,000	p=0,001	p=0,000	p=0,000
CAT	NS	NS	NS	p=0,011

NS= $p > 0,05$, istatistiksel olarak anlamlı değil (non significant).

Tablo XIV: Doku biyokimyasal değişkenlerinin kolit grubu ile tedavi grupları arası istatistiksel değerlendirilmesi.

	GRUP II-III	GRUP II-IV	GRUP II-V
TNF-alfa	p=0,000	p=0,000	p=0,000
MDA	p=0,001	p=0,016	NS
MPO	p=0,000	p=0,002	p=0,013
SOD	NS	NS	NS
GSH	NS	NS	NS
GSH-Px	NS	NS	NS
GR	NS	NS	NS
CAT	NS	NS	p=0,001

NS= $p > 0,05$, istatistiksel olarak anlamlı değil (non significant).

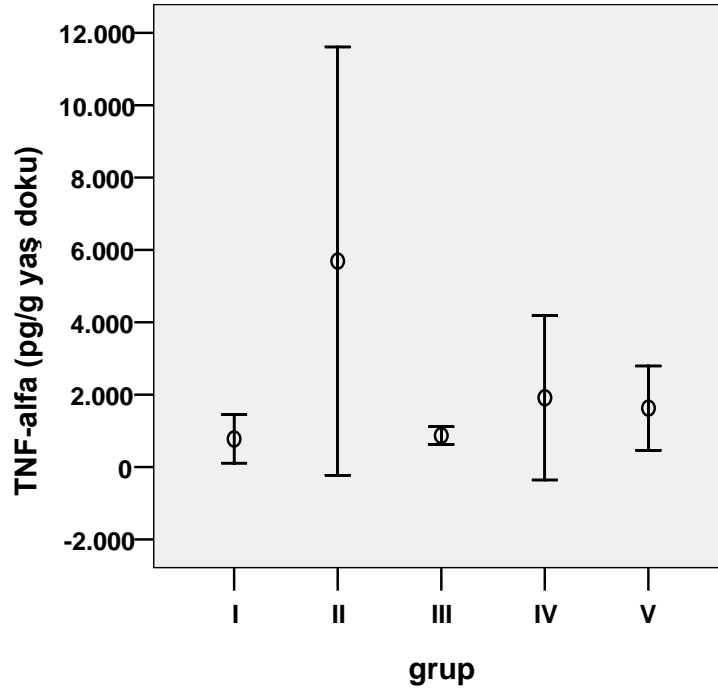
Tablo XV: Doku biyokimyasal değişkenlerinin tedavi grupları arasındaki istatistiksel değerlendirilmesi.

	GRUP III-IV	GRUP III-V	GRUP IV-V
TNF-alfa	NS	NS	NS
MDA	NS	NS	NS
MPO	NS	NS	NS
SOD	NS	NS	NS
GSH	NS	NS	NS
GSH-Px	NS	NS	NS
GR	NS	NS	NS
CAT	NS	NS	NS

NS= $p>0,05$, istatistiksel olarak anlamlı değil (non significant).

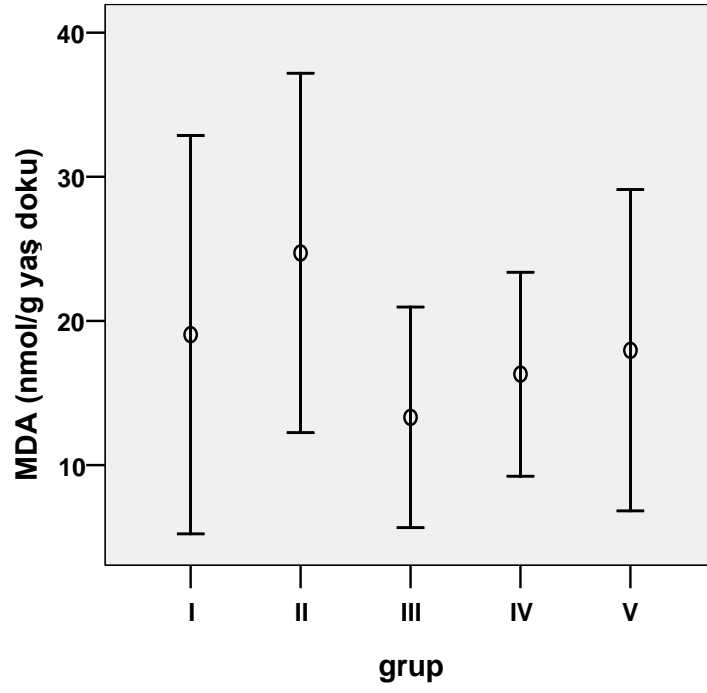
TNF-alfa: En yüksek TNF-alfa değerleri II. gruba (kolit grubu) aitti. Tedavi gruplarında TNF-alfa değerleri II. gruba göre belirgin azalmıştı. En düşük TNF-alfa değerleri I. grup (kontrol grubu) ve III. grupta (0,1 ml/5 mg/kg infliximab) saptandı ($p<0,05$; Grafik 7). Gruplar arası karşılaştırmada Grup II'de TNF-alfa değerlerinin kontrol grubuna göre belirgin yükseldiği ve Grup III, IV ve V'te ise Grup II'ye göre belirgin azaldığı saptandı ($p=0,000$). Bu değerler istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bulundu.

Grafik 7: Grupların doku TNF-alfa değerleri.

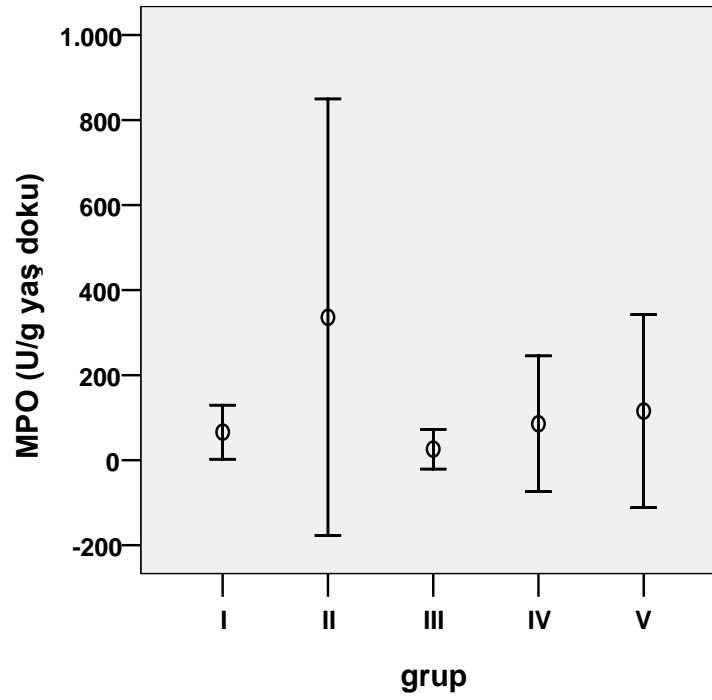


MDA ve MPO: II. grubun MDA ve MPO değerleri diğer tüm gruplardan yüksekti. En düşük MDA ve MPO değerleri III. gruba (0,1 ml/5 mg/kg infliximab) ait olarak saptandı ($p < 0,05$; Grafik 8-9). Gruplar arası karşılaştırmada MDA değerlerinin grup II'de grup I'e göre yükseldiği görüldü ancak istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). Grup III ve IV'te ise MDA değerleri grup II'ye göre azalmıştı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p = 0,001$, $p = 0,016$). Grup II ve V arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0,05$). MPO değerleri de grup II'de kontrol grubuna göre belirgin artmıştı ve aralarında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark vardı ($p = 0,001$). Grup III, IV ve V'te ise MPO değerleri kolit grubuna göre belirgin azalmıştı ve sırasıyla her bir tedavi grubuyla kolit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p = 0,000$, $p = 0,002$, $p = 0,013$).

Grafik 8: Grupların doku MDA değerleri.

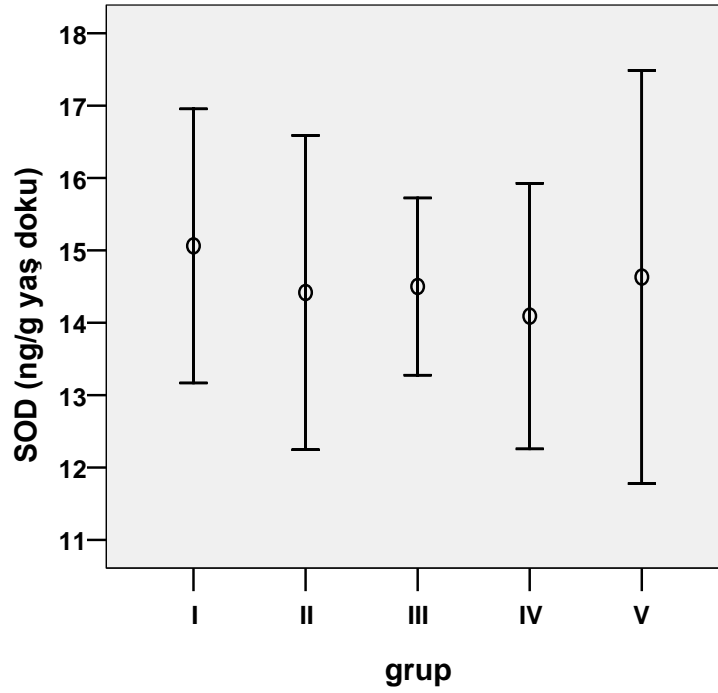


Grafik 9: Grupların doku MPO değerleri.



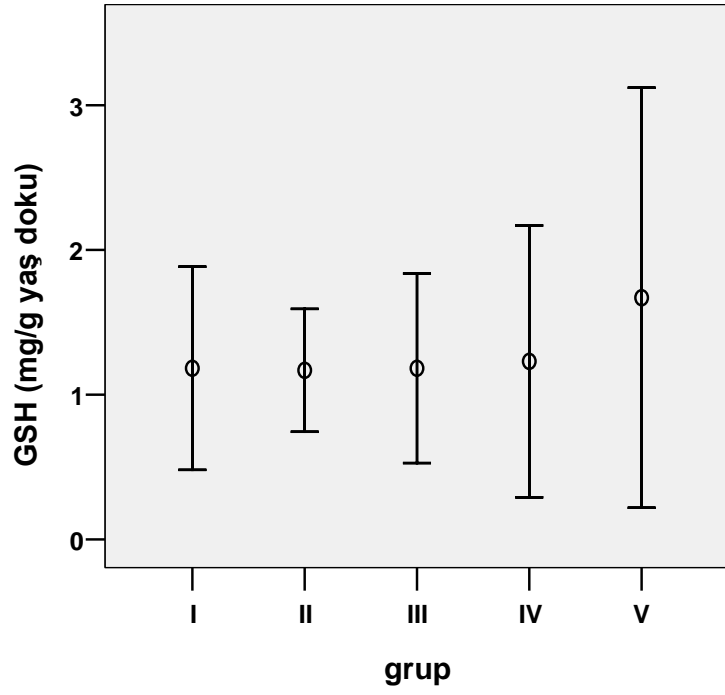
SOD: Doku örneklerindeki SOD değerleri tüm gruplarda birbirine yakındı, gruplar arası anlamlı fark yoktu ($p>0,05$; Grafik 10).

Grafik 10: Grupların doku SOD değerleri.

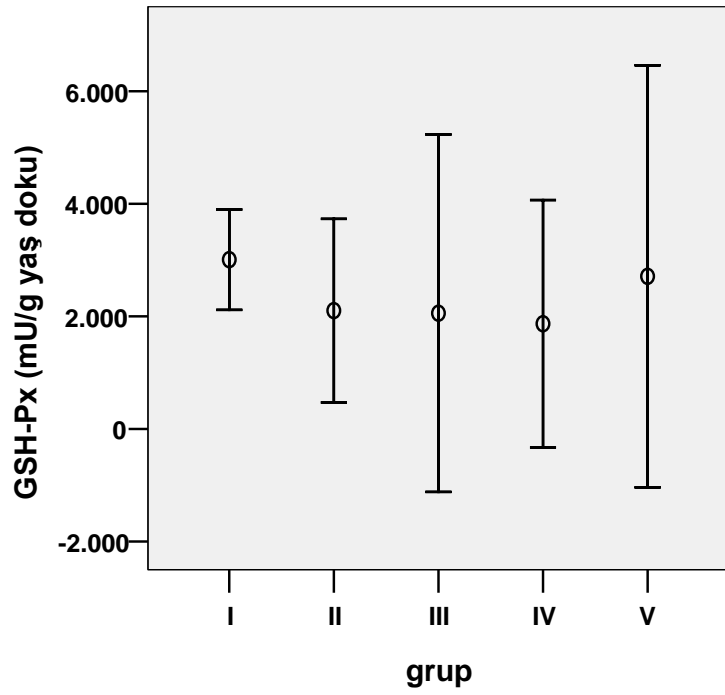


GSH ve GSH-Px: Doku örneklerindeki GSH değerleri tüm gruplarda birbirine yakındı ($p>0,05$; Grafik 11). GSH-Px değerleri incelendiğinde en yüksek GSH-Px değerlerinin grup I'de (kontrol grubu), en düşük GSH-Px değerlerinin ise grup IV'te (0,1 ml/5 mg/kg etanercept) olduğu saptandı. II. grupta (kolit grubu) GSH-Px değerlerinin I. gruba (kontrol grubu) göre azaldığı ancak gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olmadığı gözlemlendi ($p>0,05$; Grafik 12).

Grafik 11: Grupların doku GSH değerleri.

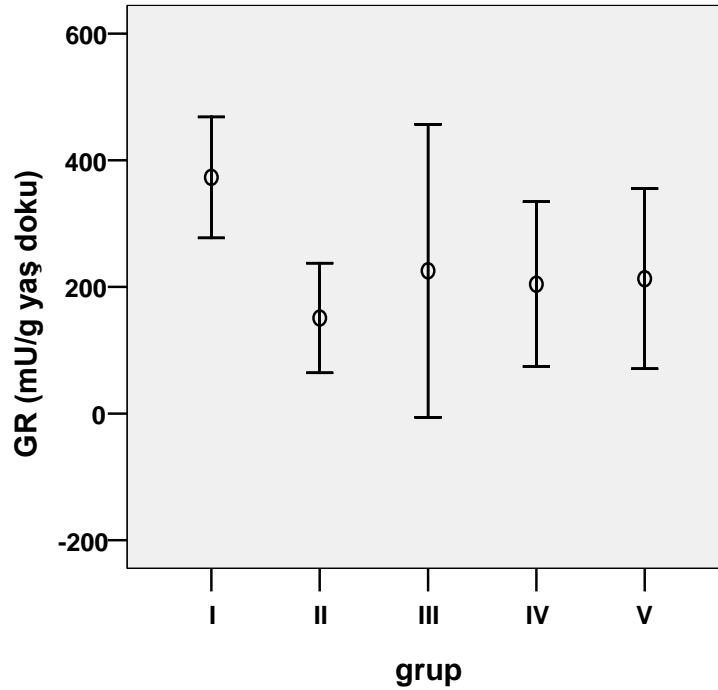


Grafik 12: Grupların doku GSH-Px değerleri.



GR: Doku örneklerindeki GR değerleri incelendiğinde en düşük değerlerin II. grupta (kolit grubu) olduğu, tedavi gruplarındaki GR değerlerinin II. gruba göre belirgin yükseldiği saptandı ($p<0,05$; Grafik 13). Gruplar arası değerlendirmede grup II'de GR değerleri grup I'e göre belirgin azalmıştı ve aralarında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark mevcuttu ($p=0,000$). Grup III, IV ve V'te GR değerleri grup II'ye göre yükselmiş olmasına rağmen tedavi gruplarıyla kolit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

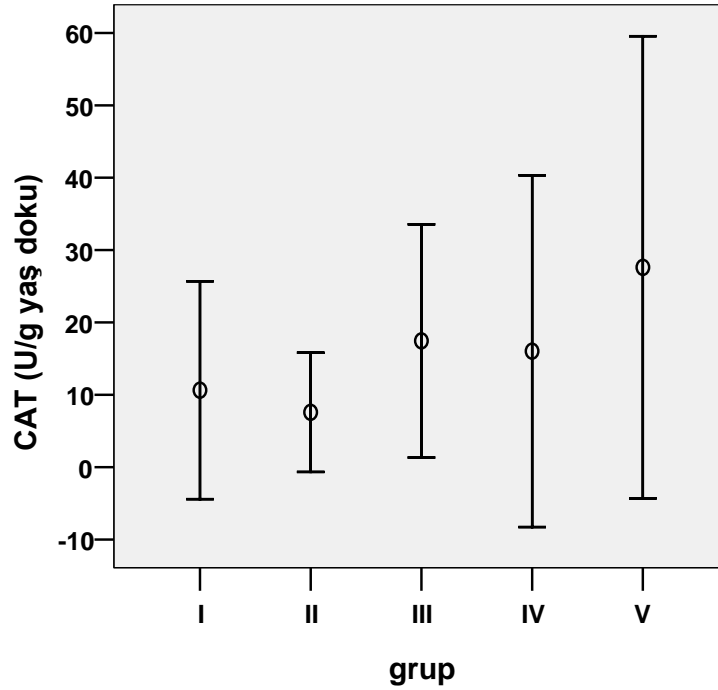
Grafik 13: Grupların doku GR değerleri.



CAT: Doku örneklerindeki katalaz değerleri karşılaştırıldığında en düşük değerlerin II. grupta (kolit grubu), en yüksek değerlerin ise V. grupta (0,1 ml/5 mg/kg infliximab+0,1 ml/5 mg/kg etanercept) olduğu saptandı. Grup II'deki katalaz değerleri grup I'e (kontrol grubu) göre azalmış, tedavi gruplarındaki (grup III, IV, V) katalaz değerleri ise grup II'ye (kolit grubu) göre belirgin olarak yükselmişti ($p<0,05$; Grafik 14). Gruplar arası değerlendirmede grup II (kolit grubu) ile grup V (0,1 ml/5 mg/kg infliximab+0,1 ml/5 mg/kg etanercept) arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark

bulundu ($p=0,001$). Ancak diğeri tedavi grupları (grup III ve IV) ile kolit grubu (grup II) arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

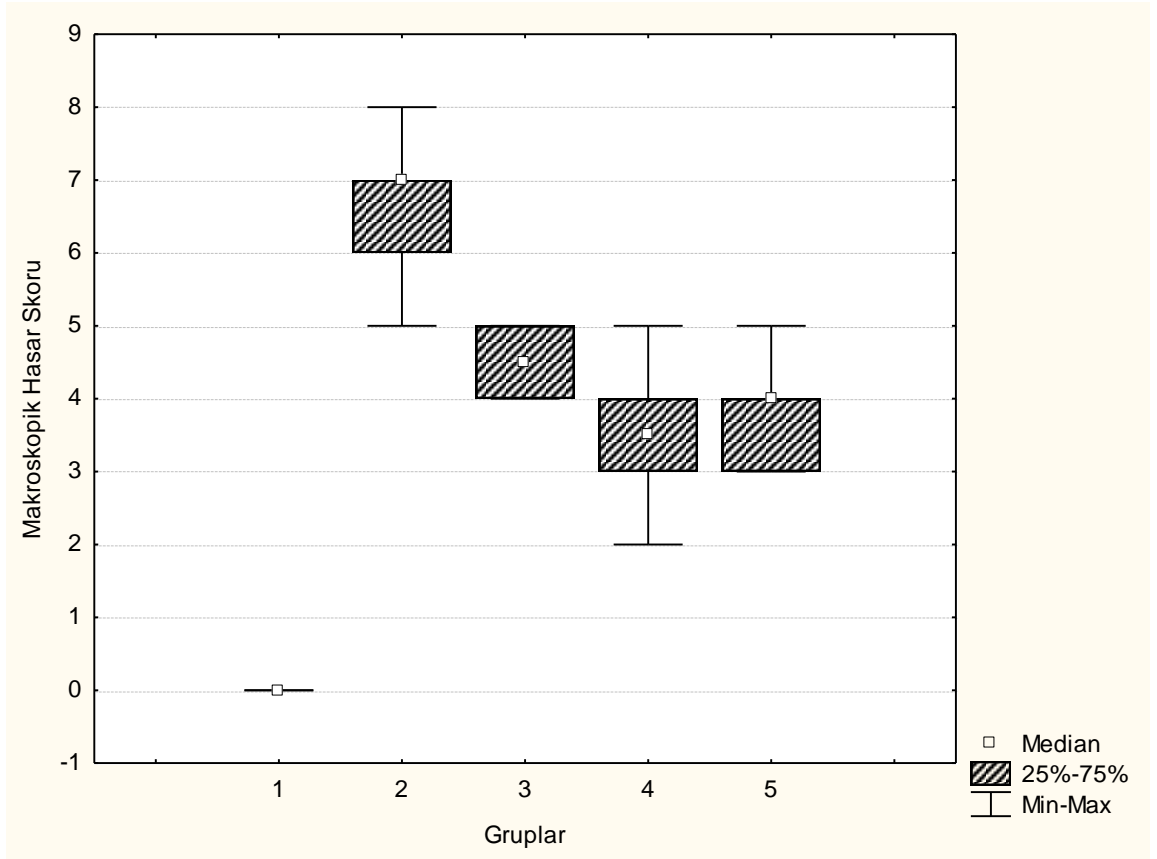
Grafik 14: Grupların doku CAT değerleri



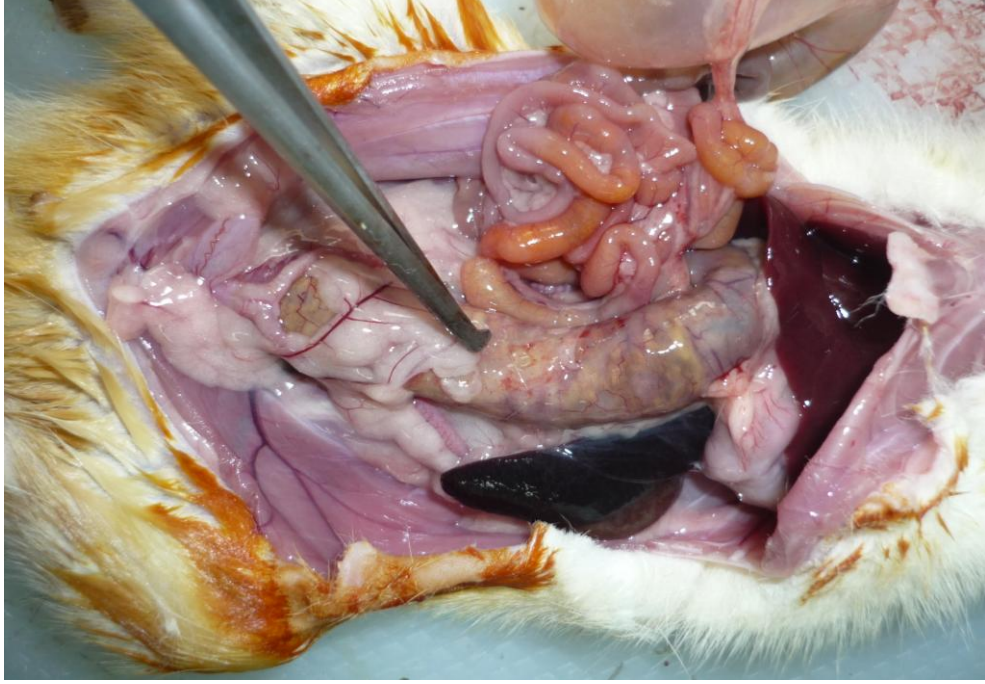
3. PATOLOJİK İNCELEME

Kolon örneklerinin makroskopik skorlaması kontrol grubu (Grup I) ile karşılaştırıldığında makroskopik skorların Grup II,III, IV ve V'te belirgin olarak yüksek olduğu, bununla birlikte tedavi gruplarında Grup II'ye göre skorların belirgin olarak düştüğü görüldü (Grafik 15). Gruplara göre karşılaştırmada Grup I ve II arasında ileri derecede anlamlı fark mevcuttu ($p=0,000$). Ayrıca Grup II ile Grup IV ve V arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Grup I ve III arasında ileri derecede anlamlı fark mevcut iken ($p<0,001$), Grup III ile diğeri tedavi grupları (Grup IV ve V) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). Benzer şekilde grup IV ve V arasında da anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Grafik 15: Makroskobik hasar skorlarının medyan (%25-75 persantil) değerleri.



Resim-5: Kontrol grubuna ait normal kolon görünümü.



Resim-6: Kolit grubuna ait kolonun makroskobik görünümü ve batin içi yapışıklıklar.



Resim-7: İlk tedavi grubuna (Grup III, 5 mg/kg infliximab) ait kolon görünümü.



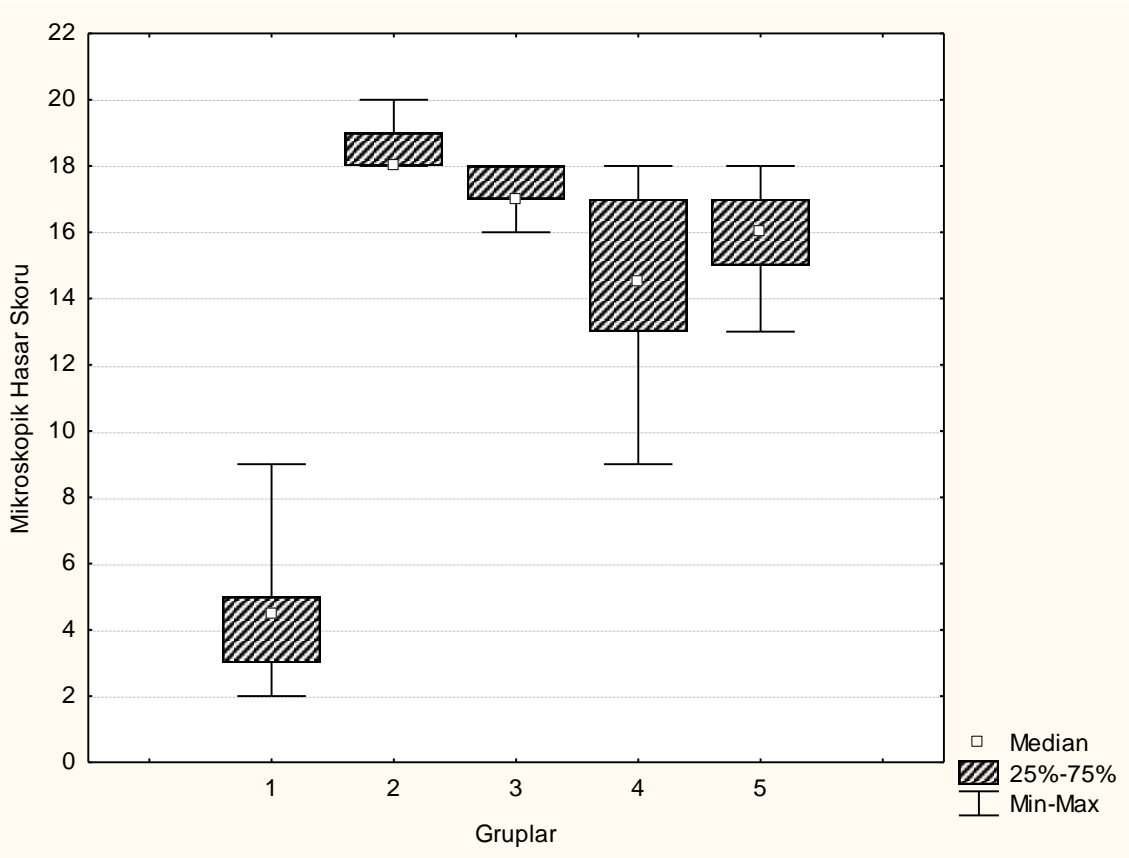
Resim-8: İkinci tedavi grubuna (Grup IV, 5 mg/kg etanercept) ait kolon görünümü.



Resim-9: Üçüncü tedavi grubuna (Grup V, 5 mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept) ait kolon görünümü.

Kolon örneklerinin mikroskopik skorları kontrol grubu (grup I) ile karşılaştırıldığında mikroskopik skorların grup II, III, IV ve V'te belirgin olarak yüksek olduğu bulundu. Bununla birlikte her üç tedavi grubunda mikroskopik skorlar grup II'ye göre azalmıştı (Grafik 16). Gruplara göre karşılaştırmada grup I ve II arasında ileri derecede anlamlı fark mevcuttu ($p=0,000$). Ayrıca grup II ile grup IV ve V arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Grup I ve III arasında ileri derecede anlamlı fark mevcut iken ($p<0,001$), grup III ile diğer tedavi grupları (grup IV ve V) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). Benzer şekilde grup IV ve V arasında da anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$).

Grafik 16: Mikroskopik hasar skorlarının medyan (%25-75 persantil) değerleri.





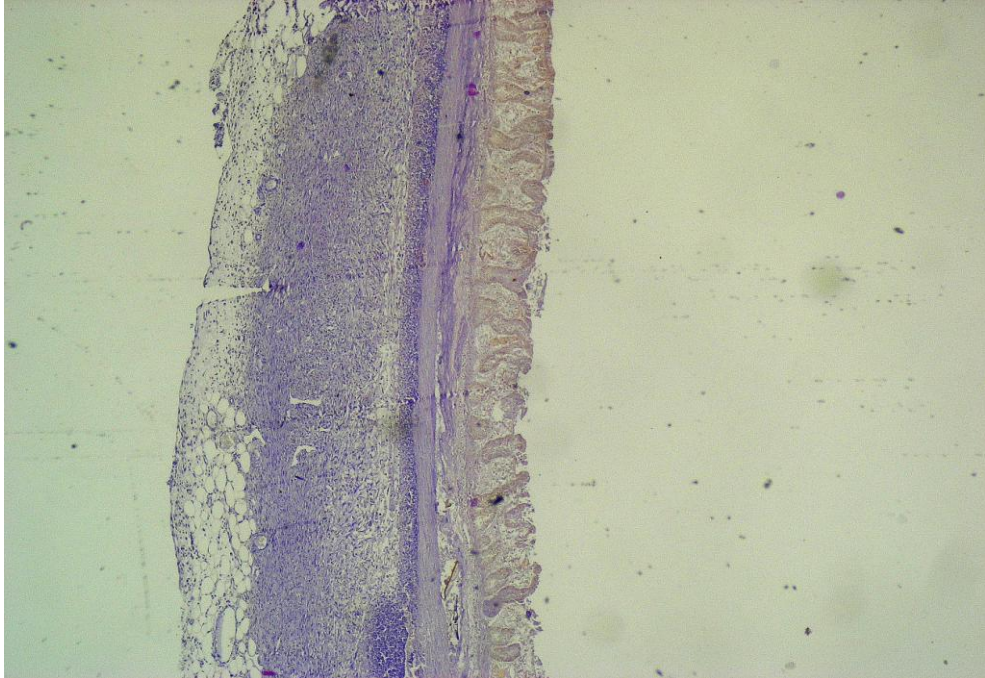
Resim-10: Kolit grubuna ait mukozal ülser görünümü.



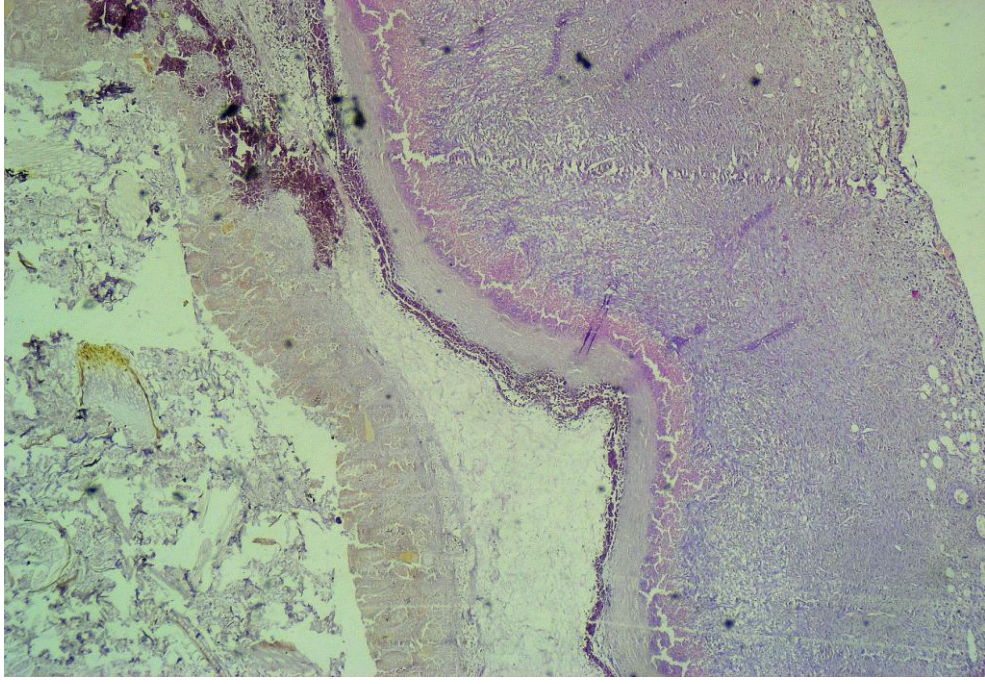
Resim-11: Tedavi gruplarında birbirine benzer iyileşmekte olan ülser görünümü.



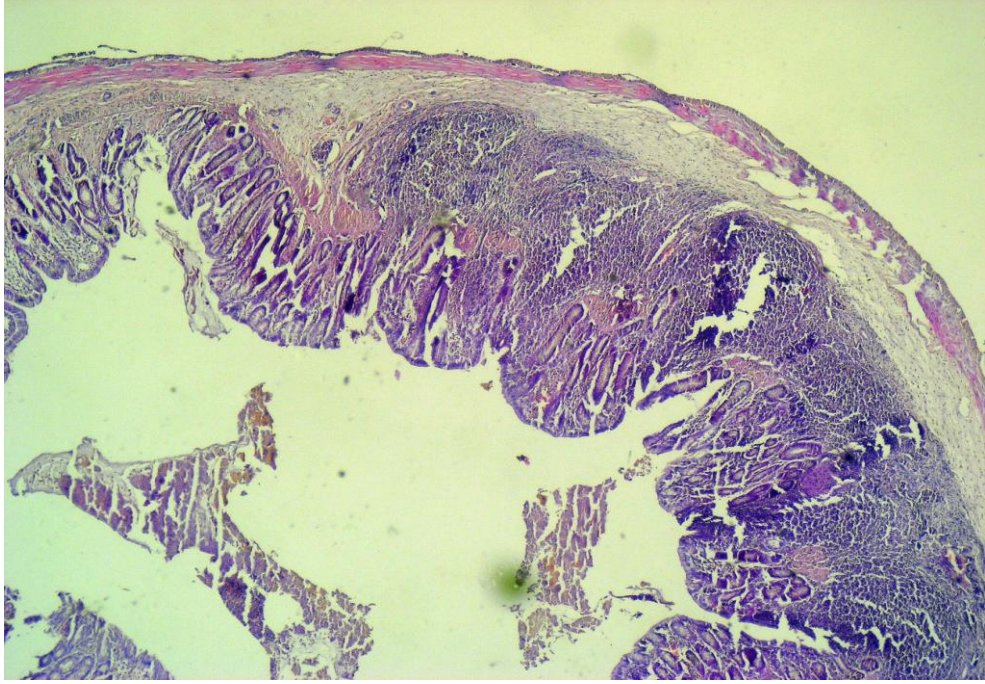
Resim-12: Normal kolon mikroskobisi (HEEx40).



Resim-13: Tam kat nekroz, epitelde iskemik nekroz (Kolit grubu, HEEx40).



Resim-14: Epitelde nekroz, submukozal alanda ödem, serozal yüzde granülasyon dokusu gelişimi (Kolit grubu, HEx40).



Resim-15: Reepitelizasyon bulguları (Tedavi grupları, HEx40).

TARTIŞMA

İBH, gastrointestinal sistemi tutan, kronik, akut alevlenme ve relapslarla seyreden, hastanın yaşam kalitesini belirgin düzeyde etkileyen hastalıklardır. Son yıllarda bu hastalıkların insidansında belirgin bir artış dikkati çekmektedir. Çeşitli toplumlarda farklı insidans oranları verilmektedir. Yaklaşık olarak oran 50/100000 kabul edilmekte, buna göre ülkemizde 350000, dünyada üç milyon kişiyi etkilemektedir. İlk olarak 1930'larda başlayan epidemiyolojik çalışmalar hastalığın 1970'lere doğru hızla arttığını göstermiştir (70).

İBH'nin etyopatogenezi tam olarak bilinmemektedir, buna rağmen günümüzde kabul gören teori immunolojik bir takım defekt ya da kusurları olan bireylerde multifaktotiyel sebeplerle hastalığın ortaya çıktığıdır (71). Etyopatogenezin aydınlatılmasında çeşitli kolit modelleri kullanılmıştır. Birçok hayvan modelinde İBH'nin akut inflamasyon sürecini temsil eden özellikler ön plana çıkmıştır ancak İBH'nin asıl belirleyici karakteristiğini akut değişikliklerden ziyade sıklıkla kronik değişiklikler oluşturmaktadır. Bu yüzden TNBS kullanarak oluşturduğumuz kolit modelinde İBH'nin hem akut hem de kronik değişiklikleri oluşturulabilmiştir (20). Ayrıca TNBS ile oluşturulan akut inflamatuvar yanıt, diğer kolit modellerinden asetik asit ile oluşturulan kolite göre daha az şiddetlidir. Bundan dolayı da TNBS ile oluşturulan kolit modelinde farmakolojik çalışmalar daha kolay yapılabilir (72). TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modelinin geçerliliği daha önceki araştırmalarda da gösterilmiştir. TNBS modelinde etanol yardımı ile kolon epitelinde hasar oluşturularak haptenin lamina propriaya girmesi sağlanır ve antijen gibi hareket ederek dokuya bağlanır (59). TNBS-E'ye bağlı kostik hasarın oluşturduğu kolon hasarı ve inflamasyonun yanı sıra bu modelin immun komponent modeli oluşturduğuna yönelik birçok kanıt mevcuttur. Bu modelin başka avantajları da tekrarlanabilir ve kolit tedavisinde kullanılan ajanların etkinliğini ortaya koymada yeterli olmasıdır (20, 61). TNBS-E uygulamasından sonra maksimum hasarın yedi ile ondört gün içinde olduğu bildirildiğinden, çalışmamızda sıçanları rektal TNBS-E uygulamasından yedi gün sonra sakrifiye ederek değerlendirmeye aldık (73). Araştırmamızda kontrol grubu hariç diğer dört gruba TNBS-E verildi ve TNBS-E verilen grupların hepsinde kolit ile uyumlu makroskopik ve mikroskopik değişiklikler saptandı ($p < 0,05$).

Son dönem çalışmalar İBH'de immunolojik hiperaktivasyona neden olan bir mukozal bağışıklık defekti üzerine odaklanmaktadır. Bu defekt çevresel ajanlara ve antijenlere karşı başlayan kontrol dışı immun reaksiyonlara neden olmaktadır. Ortaya çıkan kontrol dışı immun yanıt sonucu lenfosit proliferasyonu, sitokinlerin salınımı, aşırı nötrofil üretimine neden olur ve sonuçta hücre hasarı gelişir. İmmun sistem aktivasyonu sonucu TNF-alfa, IL-1, IL-6 aşırı artışı olur (74). İnflamatuvar sitokinler, özellikle TNF-alfa İBH etyopatogenezinde önemli rol oynamaktadır. Bu sebeple son yıllarda İBH'de TNF-alfa blokerlerinin kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır.

TNF-alfa monoklonal antikoları (İnfliximab) ve solubl TNF reseptörleri (Etanercept), hem solubl hem de membrana bağlı TNF'yi bağlamaları ve böylece onların fonksiyonlarını bloke etmelerine karşın, etki mekanizmaları açısından aralarında önemli farklar vardır. TNF-alfa monoklonal antikoları sadece TNF-alfa'yi bağladığı için TNF-alfa ve ona bağlı sitokinlerin aktivitelerini baskırlar. Solubl reseptörler ise TNF-alfa'nın yanı sıra makrofajlar ve T hücrelerinden salgılanan lenfotoksin-alfa veya eski adıyla TNF-beta'yı da bağlarlar. Diğer bir fark, monoklonal antikolar TNF-alfa'nın, hem TNFR₁ (55 kDa; p55) hem de TNFR₂ (75 kDa; p75) reseptörlerine bağlanmasını önleyerek her iki reseptörün de fonksiyonunu bloke etmektedir. Solubl reseptörler ise sadece bir reseptörün özelliklerine sahip olacak şekilde üretilmektedir (etanercept-p75). Olasılıkla bu iki reseptörün immun sistemdeki fonksiyonları farklıdır. Diğer önemli bir unsurda, bu ilaçların membrana bağlı TNF'lere bağlanmada ve buna bağlı gelişen reaksiyonlarda farklılıklar olmasıdır. Hücre dışı mesafede olan bir TNF-alfa'nın solubl reseptör veya monoklonal antikolar ile bağlanması için affinitenin, IgG tipinin, solubl reseptörlerin p75 veya p55 olmasının önemi yoktur. Membrana bağlı TNF-alfa ile bağlanma ise farklıdır. Solubl ve membran TNF-alfa'larının TNFR₂ reseptörüne ve dimerik yapıdaki solubl TNF reseptörü etanercepte bağlanması hızlı ve reversibldir. Monoklonal antikor olan infliksimab ise membran TNF-alfa'ları ile daha stabil bir kompleks oluşturmaktadır (75). Etanercept gibi çözülen dimerik reseptörler, monomerik reseptörlere kıyasla TNF'ye daha yüksek bir affinite gösterirler ve kendi hücre reseptörlerine bağlanan TNF'nin çok daha güçlü kompetitif inhibitörleridir. Bunlara ilaveten, dimerik reseptör yapısında immunglobulinlerin Fc bölgesinin füzyon yapılar olarak kullanılması, etanerceptin serum yarılanma ömrünü uzatmaktadır. İBH'de TNF-alfa monoklonal

antikorlarının (infliximab) kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu olumlu sonuçlara rağmen infliximab kullanan hastaların bir kısmında “human anti-chimeric antibody” oluşması ve bu hastalarda tedaviye karşı direnç oluşması bu tedavinin negatif yönüdür (54). Bunu önlemek için son yıllarda %100 insandan elde edilmiş TNF-alfa monoklonal antikorlar üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Etanercept bir insan proteini olduğundan, infliximabdan daha az immunojenik etki yapacağı öngörüsü ile üretilmiştir (55). Günümüzde anti TNF-alfa ilaçların kullanımında klinik endikasyonları genişletmeye yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Bu sebeple çalışmamızda, sıçanlar üzerinde oluşturduğumuz deneysel kolit modelinde farklı etki mekanizmasına sahip iki TNF-alfa blokerinin (infliximab ve etanercept) inflamasyon üzerine etkilerini inceledik.

TNF-alfa İBH’de, inflamatuvar yanıtın önemli bir mediatörüdür. Kolit oluşturulmuş sıçanların kolonik dokularından alınan örneklerde tedavi edilmemiş sıçanlara göre belirgin olarak artmış TNF-alfa seviyeleri saptanmış ve bu sıçanlara TNF-alfa sentez inhibitörlerinin verilmesiyle seviyelerde düşme olduğu tespit edilmiştir (76). Karmeli ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, oluşturulan kolit modelinde siklooksijenaz-2 inhibitörlerinin (nimesulid, vs) inflamasyon sürecine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarında inflamasyon belirteci olarak TNF-alfa ve IL-1 bakılmıştır. Sonuç olarak kolit modelinde inflamasyonun serum TNF-alfa ve IL-1 düzeylerinde anlamlı bir artışa yol açtığı ve siklooksijenaz-2 inhibitörleri ile bu artışta gerileme sağlandığı bildirilmiştir (77). Nakai ve arkadaşlarının bir çalışmasında ise TNBS ile oluşturulan kolit modelinde TNF-alfa reseptörünün rolü araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre kolit oluşturulan grupta kontrol grubuna göre serum TNF-alfa düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmadığı ancak TNF-alfa mRNA ekspresyonunun kolonda anlamlı düzeyde artmış olduğu vurgulanmıştır. TNF-alfa düzeyinde anlamlı artış olmaması da lokal inflamasyonun belki de serum TNF-alfa düzeylerini etkilememiş olmasına bağlanmıştır (78). Triantafillidis ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sıçanlarda oluşturulan kolit modelinde infliximabın 5/10/15 mg/kg dozlarında antiinflamatuvar etkinliği araştırılmıştır. TNF-alfa düzeyleri değerlendirildiğinde tüm tedavi verilen gruplarda anlamlı bir azalma ($p<0,05$) saptanır iken 5 mg/kg Infliximab verilen grupta doku TNF-alfa düzeyleri diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur (79). Bizim çalışmamızda ise kolit oluşturulan grupta

plazma ve doku TNF-alfa düzeylerinin anlamlı düzeyde yükseldiği ($p<0,05$) ve tüm tedavi gruplarında TNF-alfa düzeylerinin gerilediği görüldü. Doku TNF-alfa düzeylerinde tüm tedavi gruplarıyla kolit grubu arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$), plazma TNF-alfa sonuçlarına bakıldığında TNF-alfa düzeyleri gerilemiş olmasına rağmen Grup III (5 mg/kg infliximab) ile kolit grubu arasında anlamlı fark bulunamadı ($p>0,05$). TNFR₁ ve TNFR₂'nin ekstraselüler kısımları benzerdir fakat sitoplazmik bölgeleri farklıdır. Bundan yola çıkarak, TNFR₁ ve TNFR₂ nin farklı yollar aracılığı ile sinyal ilettiği düşünülür. TNFR₂, TNF-alfa'nın TNFR₁'e bağlanmasını artırıcı etki gösterebilir veya alternatif olarak TNF-alfa aracılı inflamatuvar cevabı baskılamak için zıt etkili düzenleyici olarak rol alabilir (80, 81). TNFR₂ üzerinden etkili bir solubl TNF reseptörü olan etanercept ile özellikle plazma TNF-alfa düzeylerinin daha anlamlı gerilemesi bu mekanizmayı düşündürmektedir. Sonuçlarımız literatür ile uyumlu olarak TNF-alfa'nın önemli bir inflamasyon belirteci olduğunu ve TNF-alfa blokerleri tedavisi ile gerilediğini göstermiştir.

İBH'de proinflamatuvar sitokinlerden IL-6 da artmış olarak bulunmaktadır. Funakoshi ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ÜK ve CH'li hastalarda IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF-alfa mRNA'nın artmış ekspresyonunu bariz olarak göstermişlerdir (82). Guimbaud ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ÜK'de dört proinflamatuvar sitokin (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-8) üretiminde artma olduğunu tespit etmişlerdir (83). Bizim çalışmamızda kolit oluşturulan grupta plazma IL-6 düzeylerinin anlamlı şekilde arttığı görüldü ($p<0,05$). Sonuçlarımız literatür ile uyumluydu. Tüm tedavi gruplarında plazma IL-6 düzeyleri belirgin olarak gerilemiş olmasına rağmen kolit grubu ile karşılaştırıldığında Grup IV (5 mg/kg etanercept) ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,05$).

Son yıllarda T hücrelerinin deneysel kolit oluşumundaki inflamasyonun patogenezinde anahtar rol oynadığı görülmüştür. CD4 (+) hücrelerin intestinal mukozaya inflamatuvar bölgeler oluşturacak şekilde göçü sözkonusudur. Artmış CD4 nötrofil ve makrofaj sayısı ile birlikte MPO aktivitesi de paralellik gösterir. Bu hücrelerin fonksiyon göstergesi olarak ta bilinen MPO düzeyleri birçok çalışmada inflamasyon aktivitesinin belirteci olarak kullanılmıştır (84). Domek ve arkadaşları yaptıkları çalışmada deneysel kolit modelinde İBH patogenezinin araştırılmışlar ve nötrofil infiltrasyon ve aktivasyonunun önemli rol oynadığını, bunun da dokudaki MPO

düzeyi ile belirlendiğini öne sürmüşlerdir (85). MPO hasarlı doku ve inflamasyonun iyi bir göstergesi olarak bilinmektedir ve nötrofillerde daha fazla bulunan bir enzimdir. Tenikoff ve arkadaşlarının çalışmasında, kolit modelinde lyprinol tedavisinin etkinliği araştırılmıştır. Kolonik inflamasyona sekonder MPO düzeylerinde anlamlı bir artış bildirilmiş ancak lyprinol tedavisiyle MPO düzeyinde değişiklik saptanmamıştır (86). Yine benzer bir çalışmada deneysel kolit modelinde bakılan MDA ve MPO değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artış gösterdiği bildirilmiştir. Melatonin tedavisi ile de bu değerlerde gerileme sağlanmıştır (87). Masukawa ve arkadaşları kolit modeli oluşturdukları sıçanlarda deneyin beşinci gününde kolit gruplarına göre tedavi uygulanan gruplarda MPO aktivitelerinin anlamlı olarak gerilediğini izlemişlerdir (88). Iba Y ve arkadaşları bir çalışmalarında dextran sodyum sülfat ile oluşturulmuş deneysel kolit modelinde saptanan MPO aktivitesinin 11 gün boyunca yüksek kaldığını bildirmişlerdir (89). Bu veriler ışığında kolit çalışmalarındaki MPO düzeyi ölçümünün beş ile yedinci günler arasında yapılması gerektiği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda TNBS-E ile kolit oluşturuldu ve yedinci gün sakrifiye edilen sıçanlardan alınan kolonik doku örneklerindeki MPO düzeyleri değerlendirildi. Çalışma sonuçlarımıza göre MPO düzeyleri, kolit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdi ($p=0,001$). Kolit grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında, MPO düzeyleri tüm tedavi gruplarında anlamlı bir şekilde gerilemişti ($p<0,05$). Tedavi grupları arasında istatistiksel anlamlı fark olmamasına ($p>0,05$) rağmen MPO düzeylerinde en belirgin gerileme Grup III'e (5 mg/kg Infliximab) aitti. TNF-alfa'nın hem vasküler endotel üzerine direkt etkisi, hem de lökositleri içine alan indirekt mekanizmalar yoluyla vasküler geçirgenliği artırdığı düşünülür. Böylece lökositlerin inflamasyon bölgesinde toplanmasını ve aktivasyonunu artırır (90). Oruç ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada infliximabın akut ödematöz pankreatitte özellikle nötrofil aktivitesini baskılayarak antiinflamatuvar rol oynadığı gösterilmiştir (91). Çalışmamızda nötrofil sekestrasyonunun göstergesi olan MPO düzeylerinin tüm tedavi gruplarında anlamlı olarak gerilemesi, infliximab ve etanerceptin benzer olarak sağladığı TNF-alfa inaktivasyonuna bağlı olduğu düşünülmüştür. Bu sonuçlar MPO düzeylerinin inflamatuvar belirteçlerden biri olduğunu ve anti TNF ajanlarla düzeylerinin gerilediğini

göstermiştir. Dolayısıyla anti TNF ajanların kolit grubunda nötrofillerin aktivasyonunu azalttığını düşündürmektedir.

MDA lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir, membran iyon transportunu, akışkanlığını, enzim aktivasyonunu ve deformasyon kabiliyetini bozar. Böylece sitotoksositeye, mutajen oluşumuna ve membran yıkımına yol açar (37). Oluşturulan kolit modellerinde inflamasyon belirteci olarak MDA'nın güvenilirliği birçok çalışmada irdelenmiştir. Triantafillidis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sıçanlarda kolit oluşturularak TNF-alfa ve MDA düzeyleri bakılmıştır. İnfliximab tedavisi ile doku TNF-alfa ve MDA düzeylerinde düşme sağlanmış, ayrıca 5 mg/kg infliximab tedavisinin 10 mg/kg infliximab tedavisine göre hem TNF-alfa düzeylerinde hem de histopatolojik yanıtlarda daha anlamlı bir iyileşme sağladığı bildirilmiştir (79). Bizim çalışma sonuçlarımız değerlendirildiğinde, kolit grubunda kontrol grubuna göre doku MDA değerleri yükselmiş olmasına rağmen anlamlı bir artış saptanmadı ($p>0,05$). Ancak 5 mg/kg infliximab ve 5 mg/kg etanercept verilen gruplarda (Grup III ve IV) kolit grubuna göre anlamlı bir gerileme mevcuttu ($p<0,05$). İstatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına rağmen MDA düzeyleri kolit grubunda yükselmiş olduğundan inflamasyonun belirteçlerinden biri olarak düşünülebilir. Ayrıca çalışma sonuçlarımız infliximab ve etanerceptin 5 mg/kg dozunda MDA düzeylerini azaltıcı etkisi olduğunu ve lipid peroksidasyonunu azaltarak kolonik inflamasyon ve hasarın gerilemesinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Parsiyel hepatektomiden kısa bir süre önce verilen antioksidan maddelerin SOR'ni toplayarak karaciğerde lipid peroksidasyonunu engellediği ve karaciğer rejenerasyonunu iyi yönde etkilediği bildirilmiştir (92). Bu bilgiler ışığında, infliximab ve etanercept uygulamasının teorik olarak karaciğerdeki lipid peroksidasyon sürecini etkilemenin yanında serbest oksijen radikallerine yönelik fizyolojik yanıtı da regüle ettiğini fark etmekteyiz. Bunun dayanağı olarak tüm tedavi gruplarında (infliximab, etanercept, infliximab+etanercept) ortaya çıkan katalaz yüksekliği gösterilebilir.

Tüm aerobik canlılar metabolizmaları sırasında fizyolojik olarak oksidatif strese maruz kalırlar. Vücutta oluşan H_2O_2 , O_2 gibi serbest radikaller daha toksik metabolitlere dönüşerek özellikle DNA, lipidler ve proteinler gibi hedeflere saldırırlar ve metabolik olayları bozarlar (93). Ancak organizma bu reaktif ajanları nötralize edebilen birçok savunma mekanizmasına sahiptir. "Antioksidan savunma sistemi" adı

verilen bu sistemin en önemli komponenti glutatyondur. Glutasyon serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasara karşı korumaktadır. Birçok çalışmada eksojen verilen GSH'nin hücre içi GSH seviyelerini artırdığı ve oksidatif hasarı engellediği gösterilmiştir. GSH oksidatif yaralanmalarda majör koruyucu etkilidir (94). Bizim çalışmamızda doku örneklerinde GSH düzeyleri tüm gruplarda anlamlı fark taşımamasına rağmen ($p>0,05$), plazma GSH düzeyi kolit grubunda anlamlı şekilde yükselmiştir ($p<0,05$). Tüm tedavi gruplarında ise plazma GSH düzeyleri anlamlı şekilde gerilemiştir ($p<0,05$). En belirgin gerileme Grup V'te (5 mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept) yer almaktadır ve ileri derecede anlamlıdır ($p=0,000$). Doku örneklerinde GSH düzeylerinin tüm gruplarda birbirine yakın olması yine doku örneklerinde çalışılan GR ile birlikte değerlendirildiğinde bir anlam taşıyabilir. Bilindiği gibi GSH, strese ve zamana bağlı olarak düzeyi artan bir parametredir. Direkt olarak serbest radikal temizleyicisi olarak görev yapan GSH, aynı zamanda , H_2O_2 'in H_2O 'ya indirgenmesini ve katalize eden bir enzim olan glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enziminin ko-substratıdır. Bu sırada lipid hidroperoksidler GSH' yi, disülfid şekline (GSSG) okside ederler. Normalde, GSH/GSSG oranı; 99/ <1'dir. Eğer bu oran GSSG lehine değişir ise, yani GSSG oranı daha da yükselir ise, bu hücreler için oldukça zararlı olmaktadır. Sitozolik bir enzim olan glutasyon redüktaz (GR), GSSG'den GSH'nin tekrar elde edilmesi için çok önemlidir (33). Bütün aeroblarda, hücrelerde redoks durumlarının sürdürülebilmesi için mutlak surette glutasyonun (γ -L-glutamyl-L-cysteinyl-glycine) indirgenmiş formunda yani GSH olarak tutulması gerekmektedir. Bizim çalışmamızda da doku örneklerinde GR kolit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde gerilemiş ($p<0,05$), tüm tedavi gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı fark olmamasına karşın düzeyleri yükselmiştir. Bu durum inflamasyon ve hücre hasarı durumunda GR'nin, GSSG'den GSH'nin tekrar elde edilmesi için kullanıldığı şeklinde yorumlanabilir. Doku örneklerindeki GSH düzeylerinin birbirine yakın olması bu teoriyi düşündürmektedir.

İntrasellüler veya ekstrasellüler kaynaklı SOR, lipid peroksidasyonuna neden olarak lipid peroksit radikalleri oluşturur. Bunlar da inflamasyonun oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar (30). Antioksidanlar SOR'un zararlı etkilerinden koruyucu bileşiklerdir. En önemli enzimatik antioksidanlar CAT, SOD, GSH-Px'dir. Bu enzimler

doğal savunma sisteminin birer parçasıdır. İnflamatuar süreçte SOR'un oluşturduğu hasara karşı direncin artmasında rol oynarlar. Deneysel kolit modellerinde mukozadaki antioksidan aktivitede azalma görölmüştür (95). İBH'de salınan SOR, kolonik inflamasyon sırasında endojen antioksidan sistemi bozarak oksidatif hasarlanmaya yol açar.

Yapılan çalışmalarda inflamasyon sırasında pozitif yüklü lipozomların mukozaya tutunduğu, bunun da SOD'nin salınımına neden olduğu bildirilmiştir (96). SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimler SOR kaynaklı hasarlanmaya karşı doğal hücre savunma sisteminin bir parçasıdır. İnsan kolonundaki antioksidan aktivite karaciğerdeki aktiviteyle karşılaştırıldığında düşük olduğu gösterilmiştir. CH hastalarının inflame kolonunda ve kolitli sıçanların kolonik epitelinde bakır, çinko, SOD konsantrasyon ve aktivitesi azalmıştır. Lipozomal SOD hücre membranına daha iyi bağlandığından oksidatif strete etkisi artar (96). Bizim çalışmamızda kolonik doku örneklerinde tüm gruplarda birbirine yakın sonuçlar elde edilirken, istatistiksel olarak anlamlı fark taşımasına rağmen plazma SOD düzeyleri kolit grubunda kontrol grubuna göre azalmış ve tüm tedavi gruplarında yükselmiştir ($p>0,005$). İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın tedavi gruplarındaki değerlerin yükselmesi dikkat çekicidir.

GSH-Px, fagositik hücrelerin zarar görmesini önleyen, eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidanlardandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma şiddetli hücre hasarına yol açar. Deneysel kolit modellerinde sıçanlarda antioksidan aktivitede azalma gözlenmiştir (95). TNBS-E ile oluşturduğumuz kolit modelinde, GSH-Px değerleri incelendiğinde; plazma GSH-Px düzeylerinin kolit grubunda kontrol grubuna göre azaldığı görüldü. Bu istatistiksel olarak ileri derecede anlamlıydı ($p=0,000$). Grup III ve IV'te ise (5 mg/kg infliximab ve 5 mg/kg etanercept) kolit grubuna göre anlamlı derecede yükselme mevcuttu. Grup V'te (5mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept) anlamlı fark olmamasına rağmen GSH-Px düzeyleri kolit grubuna göre yükselmişti. Kolonik doku örneklerindeki GSH-Px seviyeleri karşılaştırıldığında anlamlı fark olmamasına rağmen kolit grubunda GSH-Px düzeylerindeki azalma dikkat çekiciydi. Bu sonuçlar genel olarak GSH-Px'in oluşturulan kolit modelinde antioksidan etkinliğinin azaldığını, anti TNF ajanların antioksidan etkiyi arttırarak inflamasyonu ve hücre hasarını azaltabileceğini düşündürmüştür.

CAT eritrositlerde yüksek oranda bulunan antioksidan bir enzimdir. Deneysel kolit modelinde CAT düzeyleri ve aktivasyonu azalmaktadır. Bizim çalışmamızda da kolonik doku örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın CAT düzeyleri kolit grubunda kontrol grubuna göre azalmıştır. Yine istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen Grup III (5 mg/kg infliximab) ve Grup IV'te (5 mg/kg etanercept) CAT düzeyleri hem kolit grubuna hem de kontrol grubuna göre yükselmiştir. Grup V'te ise (5 mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept) hem kolit grubu hem de kontrol grubuna göre CAT düzeylerinde anlamlı bir yükselme söz konusudur ($p=0,011$). Plazma CAT düzeyleri incelendiğinde; antioksidan aktivitenin artmasına bağlı olarak kolit grubunda kontrol grubuna göre CAT seviyeleri anlamlı şekilde yükselmiştir ($p=0,011$). Tedavi gruplarıyla kolit grubu karşılaştırıldığında tüm tedavi gruplarında CAT düzeylerinin gerilediğini görmekteyiz. Grup IV (5 mg/kg etanercept) ve Grup V'teki (5 mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept) gerileme istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Bu sonuçlar genel olarak literatür ile uyumludur.

Literatürde bildirilmiş birçok çalışmada TNBS-E ile oluşturulan kolit modellerinde kolonda makroskopik ve mikroskopik değişiklikler saptanmıştır (20, 72, 77, 79, 86, 97). Ancak anti TNF tedavisi sonrasında kolonda gelişen histopatolojik düzelme hakkında bilgiler kısıtlıdır. Triantafillidis ve arkadaşlarının çalışmasında, deneysel kolit oluşturulan sıçanlarda infliximab tedavisine yanıt araştırılmıştır. 5 ve 10 mg/kg dozunda infliximab tedavisiyle her iki grupta da anlamlı histopatolojik düzelme kaydedilmiştir. İnfliximab dozları yönünden değerlendirildiğinde ise 5 mg/kg dozuyla hem inflamasyon belirteçlerinde hem de histopatolojik hasarda daha anlamlı bir düzelme saptanmıştır (79). İBH tedavisinde de infliximab dozuyla ilgili genel yaklaşım 0, 2, 6. haftalarda tekrarlanan 5 mg/kg doz uygulaması şeklindedir (52). Bir başka benzer çalışmada TNBS-E ile oluşturulan kolit modelinde, kolit grubunda kontrol grubuna göre kolonda anlamlı makroskopik ve mikroskopik değişiklikler saptanmıştır. İnfliximab tedavisi verilen kolit grupları, tedavi verilmeyen kolit grubu ile karşılaştırıldığında, makroskopik ve mikroskopik değişikliklerde anlamlı bir gerileme olduğu görülmüştür. Ayrıca infliximabın kolit tedavisindeki yararlı etkisinin doz bağımlı olduğu, 5 mg/kg infliximab dozunun histopatolojik düzelmede daha etkin olduğu öngörülmüştür (98). Walter ve arkadaşlarının yakın tarihli bir çalışmasında, DNBS ile kolit oluşturulmuş farelerde infliximab ve etanercept'in erken dönem serum TNF-alfa,

makroskopik kolon hasarı ve enterosit apopitozisi üzerine etkileri incelenmiştir. Tedavi gruplarına kolit indüksiyonundan bir saat önce 5 mg/kg infliximab intraperitoneal ve 5 mg/kg etanercept subkutan uygulanmıştır. Her grupta 25 fare olacak şekilde tüm gruplar kolit indüksiyonundan üç ve altı saat sonra sakrifiye edilmişlerdir. Serum TNF-alfa düzeyleri infliximab tedavi grubunda üçüncü ve altıncı saatlerde anlamlı olarak gerilerken, etanercept tedavi grubunda sadece altıncı saatte anlamlı gerileme bulunmuştur. Makroskopik hasar skorları üçüncü saatte tüm gruplarda benzerken, altıncı saatte her iki tedavi grubunda da anlamlı olarak gerilemiştir. İmmunohistokimyasal değerlendirmede ise her iki anti TNF tedavisinin enterosit apopitozisini baskılamada eşit derecede etkili olduğu bulunmuştur (99). Bizim çalışmamızda da TNBS-E ile oluşturduğumuz kolit modelinde literatür ile uyumlu olarak hem makroskopik hem de mikroskopik hasar skorlarında kontrol grubu ile kolit grubu arasında ileri derecede anlamlı fark mevcuttu ($p=0,000$). Tüm tedavi gruplarında hem makroskopik hem de mikroskopik hasar skorlarında gerileme gözlenirken Grup IV (5 mg/kg etanercept) ve Grup V'te (5 mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept) elde edilen skorlar istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu sonuçlar anti TNF tedavinin kolondaki histopatolojik düzelmeye etkili olduğunu düşündürmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda, deneysel olarak TNBS-E ile oluşturulan kolit modelinde anti TNF ajanların (infiximab ve etanercept) inflamasyon üzerine etkisi, sitokin yanıtı, oksidatif stres ve histopatolojik değerlendirme sonuçlarıyla incelenmiş ve aşağıdaki sonuçlar ortaya konmuştur.

1. TNBS-E ile deneysel olarak anlamlı şekilde kolit oluşumu sağlanmıştır. Proinflamatuvar sitokinler olan TNF-alfa ve IL-6'nın kolit oluşumu sonucunda belirgin olarak arttığı, plazma IL-6 düzeylerinin 5 mg/kg etanercept tedavisi ile, TNF-alfa düzeylerinin ise 5 mg/kg etanercept ve 5 mg/kg infiximab+5 mg/kg etanercept tedavisi ile belirgin olarak azaldığı görülmüştür. Doku TNF-alfa düzeylerinin ise her üç tedavi grubunda da belirgin olarak gerilediği, 5 mg/kg infiximab, 5 mg/kg etanercept ve 5 mg/kg infiximab+5 mg/kg etanercept tedavisinin doku TNF-alfa seviyelerini düşürmede etkili olduğu izlenmiştir.
2. Nötrofil sekestrasyonunun bir göstergesi olan MPO'nun kolit oluşumuna sekonder kolonik doku düzeylerinin yükseldiği ve her üç tedavi grubunda da kolit grubuna göre anlamlı olarak gerilediği bulunmuştur.
3. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA'nın kolonik doku düzeyleri yükselmiş ancak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte 5 mg/kg infiximab ve 5 mg/kg etanercept tedavisi ile MDA düzeylerinin anlamlı olarak gerilediği saptanmıştır.
4. Oksidatif strese sekonder antioksidan yanıt parametreleri incelendiğinde plazma GSH ve CAT düzeylerinin kolit grubunda belirgin olarak arttığı gözlenmiştir. Plazma GSH düzeyleri her üç tedavi grubunda da anlamlı olarak gerilerken, CAT düzeylerinin 5 mg/kg etanercept ve 5 mg/kg infiximab+5 mg/kg etanercept grubunda anlamlı gerilediği bulunmuştur. GSH'ın kolonik doku düzeylerinde tüm gruplarda birbirine yakın değerler bulunurken, CAT düzeylerinin 5 mg/kg infiximab+5 mg/kg etanercept tedavisi ile kolit grubuna göre belirgin yükseldiği izlenmiştir. Plazma GSH-Px düzeyleri ise kolit grubunda belirgin olarak azalmış, 5 mg/kg infiximab ve 5 mg/kg etanercept tedavisi ile belirgin olarak artmıştır.
5. Tüm tedavi gruplarında kolitin makroskopik ve mikroskopik değerlendirilmesi açısından hasar skorlarında gerileme olmasına rağmen 5 mg/kg etanercept ve 5

mg/kg infliximab+5 mg/kg etanercept tedavisi verilen gruplarda histopatolojik düzelmenin daha anlamlı olduğu saptanmıştır.

Bu sonuçlar doğrultusunda anti TNF ajanların kolit tedavisinde belirgin olumlu etkilerinin bulunduğu, bir füzyon proteini olan etanercept'in anti TNF tedavide iyi bir alternatif olabileceği görölmüştür. Çalışmamızın kolit tedavisi ile ilgili yapılacak gelecekteki çalışmalara ışık tutacağını umuyoruz.

DENEYSEL KOLİT MODELİNDE TNF-ALFA BLOKERLERİNİN (İNFLİXİMAB VE ETANERCEPT) İNFLAMASYON SÜRECİNE ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, TNBS-E ile kolit oluşturulan sıçanlarda anti TNF ajanların (infiximab ve etanercept) inflamasyon üzerine etkinliğinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Bu deneysel çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun izniyle, Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda yürütüldü. Çalışmada ağırlıkları 190-280 gr arasında değişen 50 adet dişi Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar; Grup I: Kontrol grubu, Grup II: TNBS-E ile kolit oluşturulan grup, Grup III: TNBS-E ile kolit oluşturulup 5 mg/kg infiximab verilen tedavi grubu, Grup IV: TNBS-E ile kolit oluşturulup 5mg/kg etanercept verilen tedavi grubu, Grup V: TNBS-E ile kolit oluşturulup 5 mg/kg infiximab+5 mg/kg etanercept verilen tedavi grubu olarak beş gruba ayrıldı. Kolit oluşturmak için 25 mg TNBS ve %37 etanol karışımı rektal yoldan uygulandı. Tedavi gruplarında ilaçlar ikinci ve altıncı günlerde subkutan uygulandı. Denekler yedinci gün sakrifiye edildi. Plazma biyokimyasal analiz (TNF-alfa, interlökin-6, glutatyon, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperosit dismutaz), doku biyokimyasal analiz (TNF-alfa, malondialdehit, myeloperoksidaz, süperosit dismutaz, glutatyon, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, katalaz) ile histopatolojik değerlendirme için kan ve kolonik doku örnekleri alındı.

Bulgular: Çalışmamızda doku TNF-alfa ve myeloperoksidaz düzeyleri her üç tedavi grubunda da (infiximab, etanercept, infiximab+etanercept) anlamlı olarak geriledi ($p<0,05$). Plazma TNF-alfa düzeyleri etanercept ve infiximab+etanercept tedavisi ile anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$). Etanercept tedavisi plazma interlökin-6 düzeylerini anlamlı olarak azalttı ($p<0,05$). Plazma glutatyon düzeyleri her üç tedavi grubunda da anlamlı olarak gerilerken, plazma katalaz düzeyleri etanercept ve infiximab+etanercept tedavisi ile anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$). Etanercept ve infiximab+etanercept tedavisi alan grupların histopatolojik skorlarında anlamlı düzelme mevcuttu ($p<0,05$).

Sonuç: Anti TNF ajanların kolit tedavisinde belirgin olumlu etkilerinin bulunduğu, etanercept'in anti TNF tedavide iyi bir alternatif olabileceği görölmüştür. Gelecekte yapılacak çalışmalarla etanercept'in klinik uygulamada kullanımı düşünölebilir.

Anahtar kelimeler: TNBS-E koliti, inflamatuvar barsak hastalığı, infliximab, etanercept.

THE EFFECTS OF TNF-ALPHA BLOCKERS (INFLIXIMAB AND ETANERCEPT) ON INFLAMMATION PROCESS IN EXPERIMENTAL COLITIS MODEL

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study is to evaluate the effects of anti-TNF agents (infliximab and etanercept) on inflammation in colitis model produced by TNBS-E in rats.

Material and Methods: This experimental study was carried out in Experimental Animals Research Laboratory of Medical Faculty by the permission of Adnan Menderes University Animal Experiments Ethics Committee. In this study, 50 female Wistar-albino rats weighing between 190-280 gr were used. Rats were divided into five groups as follows; Group I: control group, Group II: TNBS-E colitis group, Group III: TNBS-E colitis treated with 5 mg/kg infliximab, Group IV: TNBS-E colitis treated with 5mg/kg etanercept, Group V: TNBS-E colitis treated with both 5 mg/kg infliximab and 5 mg/kg etanercept. A mixture of 37% ethanol and 25 mg TNBS was given by rectal route to create colitis. Drugs in the treatment group were administered subcutaneously in the second and sixth days. The subjects were sacrificed on the seventh day. Blood and colonic tissue samples were taken for biochemical analysis (TNF-alpha, interleukin-6, glutathion, glutathion peroxidase, catalase, superoxide dismutase in plasma and TNF-alpha, malondialdehyde, myeloperoxidase, superoxide dismutase, glutathion, glutathion reductase, glutathion peroxidase, catalase in tissue) and histopathologic evaluation.

Results: In our study, tissue TNF-alpha and myeloperoxidase levels significantly decreased in all three treatment groups (infliximab, etanercept, infliximab+etanercept) ($p<0,05$). Plasma TNF-alpha levels significantly decreased in etanercept and infliximab+etanercept treatment groups ($p<0,05$). Etanercept treatment significantly reduced plasma interleukin-6 levels ($p<0,05$). While plasma glutathion levels in all three treatment groups decreased significantly, plasma catalase levels also decreased by etanercept and infliximab+etanercept treatments ($p<0,05$). Histopathological scores of etanercept and infliximab+etanercept treatment groups showed significant improvement ($p<0,05$).

Conclusion: It has been shown that anti-TNF agents have significant effects on experimental colitis and etanercept may be a good alternative in anti-TNF treatment. Further studies may help to demonstrate the effects of etanercept in clinical practice.

Key words: TNBS-E colitis, inflammatory bowel disease, infliximab, etanercept.

KAYNAKLAR

- 1- Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC: Kolon, rektum ve anüs: Principles of surgery, Türkçesi. Yedinci baskı. Geçim IE (ed) Ankara 1999; 1283-1403.
- 2- Feagan B, Rishmond Sy. Epidemiology of inflammatory bowel disease. In: The clinician's guide to inflammatory bowel disease. Lichenstein GR (Ed). Slack, USA: 2003; 1-6.
- 3- Hanauer SB. Inflammatory bowel disease: Epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. Inflammatory Bowel Diseases 2006; 12: 3-9.
- 4- Ince MN, Elliott DE. Immunologic and molecular mechanisms in inflammatory bowel disease. Surg Clin N Am 2007; 87: 681-696.
- 5- Madsen KL. Inflammatory bowel disease: Lessons from the IL-10 deficient Mouse. Clinical and Investigative Medicine 2001; 24: 250-259.
- 6- Ardizzone S, Bianchi Porro G. Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment. Journal of internal medicine 2002; 252: 475-496.
- 7- Blumberg RS, Strober W. Prospects of research in inflammatory bowel disease. JAMA 2001; 285: 643-647.
- 8- Lindberg E, Tysk C, Anderson K, Jarnerot G. Smoking and inflammatory bowel disease. A case control study 1988; Gut 29: 352-357.
- 9- Prytz H, Benoni C, Tagesson D. Does smoking tighten the gut? Scand J Gastroenterol 1989; 24: 1084-1088.
- 10- Retsky JE, Kraft SC. The extraintestinal manifestations: Inflammatory Bowel Disease. Shorter EG (ed) Williams and Wilkins 1995; 474-491.
- 11- Olson CO, McCabe RP. The immunology of inflammatory bowel disease: Inflammatory Bowel Disease. Kirsner JB, Shorter RG (eds) Williams and Wilkins 1995, 203-251.
- 12- Ökten A. İnflamatuvar barsak hastalıkları. Gastroenterohepatoloji. Birinci baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 2001; S. 189-211.
- 13- Sartor RB. Microbial factors in the pathogenesis of Crohn's disease, ulcerative colitis and experimental intestinal inflammation: Inflammatory Bowel Disease. Williams and Wilkins 1995; 96-124.

- 14-** Ekblom A, Wakefield AJ, Zack M, Adami HO: Perinatal measles infection and subsequent Crohn diseases. *Lancet* 1994; 344: 508-510.
- 15-** Grisham MB, Granger DN. Neutrophil-mediated mucosal injury-role of reactive oxygen metabolites. *Dig Dis Sci* 1988; 33(Suppl): 6-15.
- 16-** McKenzie SJ, Baker MS, Buffinton GD, Doe WF. Evidence of oxidant-induced injury to epithelial cells during inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 1996; 98: 136-141.
- 17-** Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1620-25.
- 18-** Rachmilewitz D, Karmeli F, Okon E, Bursztyn M. Experimental colitis is ameliorated by inhibition of nitric oxide synthase activity. *Gut* 1995; 37: 247-255.
- 19-** Nielsen OH, Brynskov J, Vainer B: Increased mucosal concentrations of soluble intracellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), sE-selectin and interleukin-8 in active ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1780-1785.
- 20-** Olson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995; 109: 1344-1367.
- 21-** Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Crit Care Med* 2000; 28: 3-12.
- 22-** Thijs LG, Hack CE. Time course of cytokine levels in sepsis. *Intensive Care Med* 1995; 21: 56-63.
- 23-** Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin* 2000; 16: 193-213.
- 24-** Meissner M. Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Current Opin Crit Care* 2005; 11: 473-480.
- 25-** Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC. Travmaya sistemik yanıt: Principles of Surgery, Türkçesi. Yedinci baskı. Geçim IE (ed) Ankara 1999; 3-55.
- 26-** Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, Koller BH, Geraghty DE, Orr HT, Strominger JL, Spies T. Linkage map of the human histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 8535-8539.

- 27-** Sandborn WJ, Hanauer SB. Antitumor necrosis factor therapy for inflammatory bowel disease: a review of agents, pharmacology, clinical results and safety. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5: 119-133.
- 28-** Murch SH, Lamkin VA, Savage MO. Serum concentrations of released tumor necrosis factor-alpha in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 1991; 32: 913-917.
- 29-** Halliwell B, Gutteridge JMC, *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third Edition. USA 1999; Oxford University Press.
- 30-** Freeman BA, Crago JD. Biology of the disease free radicals and tissue injury. *Lab. Invest* 1982; 47: 412-26.
- 31-** Duthie GG, Arthur JR, James WP. Effects of smoking and vitamin E and blood antioxidant status. *Am. J. Klin. Nur.* 1991; 53 (4): 1061-63.
- 32-** Erden M, Yüce K, Kiper H, Çolak Ö, Aktaş Ö. Böbrek transplantasyonunda peroksit redükte glutatyon ve glutatyon enzim aktivitelerinin araştırılması. *T. J. Med. Sci.* 1991; 15; 1-7.
- 33-** Free radicals, oxidative stress and antioxidants. Pathological and physiological significance. NATO ASI Series. Life Sciences Vol. 296. Edited by Tomris Özben. 1998; Plenum Press, New York, USA.
- 34-** Nauseef WM. Insights into myeloperoxidase biosynthesis from its inherited deficiency. *Mol Med* 1998; 76: 661-668.
- 35-** Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assay of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology* 1984; 87: 1344-50.
- 36-** Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 1995; 41: 1819-1828.
- 37-** Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clinica Chimica Acta* 2007; 380: 50–58.
- 38-** Gionchetti P. Extraintestinal manifestations and complications in inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology* 2006; 12: 4819-4831.
- 39-** Danese S, Semeraro S, Papa A, Roberto I, Scaldaferrri F, Fedeli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology* 2005; 11: 7227-7236.

- 40-** Stiehl A. Ursodeoxycholic acid therapy in treatment of primary sclerosing cholangitis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1994; 204: 5-61.
- 41-** Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CJ, Plum F, Smith LH: İnflamatuar barsak hastalıkları: *Cecil Essentials of Medicine*, Türkçesi. Üçüncü baskı. Philadelphia 1995; 299–305.
- 42-** Classen M, Tytgat G NJ, Lightdale CJ. Inflammatory bowel disease. *Gastroenterological endoscopy*. Birinci baskı. Stuttgart 2002; 575-597.
- 43-** Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Gastrointestinal sistem: Basic pathology*, Türkçesi. İkinci baskı, İstanbul. 1995; 473–523.
- 44-** Corman ML. Ulcerative colitis, crohn's disease and indeterminate colitis. *Colon and rectal surgery*. Besinci baskı. New York 2005; 1319-1536.
- 45-** Ardizzone S, Porro GB: Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Drugs* 2005; 65: 2253-2286.
- 46-** Fazio VW, Church JM, Delaney CP. Current therapy in colon and rectal surgery, Türkçe Çevirisi, İstanbul, 2006, 211-219, 257-261.
- 47-** Satsiangi J, Sutherland LR, Eds. *Inflammatory bowel diseases*. Churchill and Livingstone, 2003.
- 48-** Rutgeerts P, Assche VG, Vermeire S. Review article: infliximab therapy for inflammatory bowel disease seven years on. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2006; 23: 451-463.
- 49-** Yamamoto-Furusho JK. Innovative therapeutics for inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1893-1896.
- 50-** Gisbert JP, Gonzalez-Lama Y, Mate J. Systematic review: Infliximab therapy in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 19-37.
- 51-** Su CG, Judge TA, Lichtenstein GR. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clin. North Am.* 2002 Mar; 31(1): 307-27. Review.
- 52-** Siemanowski B, Regueiro M. Efficacy of infliximab for extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Current Treatment Options in Gastroenterology* 2007; 10: 178–184.

- 53-** Wolfe F, Michaud K. Lymphoma in rheumatoid arthritis: the effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy in 18,572 patients. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1740- 1751.
- 54-** Targan, S.R, et ai. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337(15): 1029-35.
- 55-** Sandborn WJ, Targan SR. Biologic therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 1592-1608.
- 56-** Sandborn WJ, Hanauer SB, Katz S, et al. Etanercept for active Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebocontrolled trial. *Gastroenterology* 2001; 121: 1088-1094.
- 57-** D'Haens G, Swijsen C, Noman M, et al. Etanercept in the treatment of active refractory Crohn's disease: a singlecenter pilot trial. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2564-2568.
- 58-** Jurjus AR, Khoury NN, Reimund JM. Animal models of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2004; 50: 81-92.
- 59-** Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803.
- 60-** Souba WW, Wilmore DW. Surgical models of inflammatory bowel disease, *Surgical Research, Birinci baskı, Academic Press, California* 2001, 547-555.
- 61-** Wallace JL, MacNaughton WK, Morris GP, Beck PL. Inhibition of leukotriene synthesis markedly accelerates healing in a rat model of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1989; 96: 29-36.
- 62-** Millar AD, Rampton DS, Chander CL, Claxson AWD, Blades S, Coumbe A, Panetta J, Morris CJ, Blake DR. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* 1996; 39: 407-415.
- 63-** Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 1984; 105: 121-125.
- 64-** Beutler E, Durgun O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 51: 882-888.

- 65-** Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci* 1998; 94: 623-632.
- 66-** Racker E. Glutathione reductase (liver and yeast). In : *Methods in Enzymology*, vol 2, Colowick SP, Kaplan NO (Editors), pp 722-729, Academic Press, New York, 1955.
- 67-** Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
- 68-** Suzuki K, Ota H, Sasagawa S, Sakatani T, Fujikura T. Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal. Biochem.* 1983; 132: 345-352.
- 69-** Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979; 95: 351-358.
- 70-** Calkins BM, Mendelhoff AI. The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel disease. In: Kirsner JB, Shorter RG (eds). *Inflammatory bowel disease*. Williams and Wilkins, Baltimore 1995; 31-68.
- 71-** Wojcys R. Liver involvement and its course in experimental colitis in rats. *Hepato-Gastroenterology* 1997; 44: 1193-1195.
- 72-** Allgayer H, Descryver K, Stenson WF. Treatment with 16,16-dimethyl prostaglandin E2 before and after induction of colitis with trinitrobenzene sulfonic acid in rats decreases inflammation. *Gastroenterology* 1989; 96: 1290–1300.
- 73-** Yamada T, Marshall S, Specian RD, Grisham MB. A comparative analysis of two models of colitis in rats. *Gastroenterology* 1992; 102: 1524–1534.
- 74-** Bullard KM., Rethenberg DA. Colon, rectum and anus. In: Brunickardi FC, Anderson DK, Billier TR, Dunn DL, Hunten JG, Pollock RE (ed). *Schwartz's Principles of Surgery* (8 th ed). Mc Graw Hill Companies, New York. 2005; 1055-117.
- 75-** Remicade (infliximab) [package insert]. Horsham (PA): Centocor Inc; 2006.
- 76-** Dubigeon BC, Collin X, Grimaud N, Robert JM, Le Baut G, Petit JY. Effects of tumour necrosis factor-alpha synthesis inhibitors on rat trinitrobenzene sulphonic acid-induced chronic colitis. *Eur Pharmacol* 2001; 431: 103-110.

- 77-** Karmeli F, Cohen P, Rachmilewitz D. Cyclo-oxygenase-2 inhibitors ameliorate the severity of experimental colitis in rats. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12: 223-231.
- 78-** Nakai M, Sudo K, Yamada Y, Kojima Y, Kato T, Saito K, Moiwaki H, Seishima M. The role of the tumor necrosis factor receptor in 2,4,6-Trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice. *Digestive Diseases and Sciences* 2005; 50: 1669-1676.
- 79-** Triantafyllidis JK, Papalois AE, Parasi A, Anagnostakis E, Burnazos S, Gikas A, Merikas EG, Douzinas E, Kragianni M, Sotiriou H. Favorable response to subcutaneous administration of infliximab in rats with experimental colitis. *World of Gastroenterol* 2005; 11: 6843-6847.
- 80-** Tartaglia LA, Pennica D, Goeddel DV. Ligand passing: the 75-kDa tumor necrosis factor(TNF) receptor recruits TNF for signaling by 55-kDa TNF receptor. *J Biol Chem* 1993; 268:18542-8.
- 81-** Peschon JJ, Torrance DS, Stocking KL, et al. TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J Immunol* 1998;160: 943-52.
- 82-** Funakashi K, Sugimura K, Anezaki, et al. Spectrum of cytokines gene expression in intestinal mucosal lesions of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Digestion* 1998; 59(1): 73-8.
- 83-** Guimbaud R, Bertrand V, Chauvelot-Moachon L, Quartier G, et al. Network of inflammatory cytokines and correlation with disease activity in ulcerative colitis. *AJG* 1998, 93(12): 2397-404.
- 84-** Pfeiffer CJ, Qui BS. Recombinant human interleukin 11 decreases trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis in rats. *Gastroenterology* 1995; 108: 88-93.
- 85-** Domek MJ, Iwata F, Blackma H. Antineutrophil serum attenuates dextran sulfate sodium induced colonic damage in rat. *Scand J. Gastroenterology* 1995; 30: 1089-94.
- 86-** Tenikoff D, Murphy KJ, Le M, Howe PR, Howarth GS. Lyprinol (stabilised lipid extract of New Zealand green-lipped mussel). a potential preventative treatment modality for inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2005; 40: 361-365.

- 87-** Necefli A, Tulumluoglu B, Giris M, Barbaros U, Gündüz M, Olgaç V, Güloğlu R, Toker G. The effect of melatonin on TNBS-induced colitis. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1538- 1545.
- 88-** Masukawa T, Iba Y, Sugimoto Y, Kamei K. Possible role mucosal mast cells in the recovery process of colitis induced by dextran sulfate sodium in rats. *Int. Immunopharmacology* 2003; 3: 485-91.
- 89-** Iba Y, Sugimoto Y, Kaemei C. Participation of mast cells in colitis inflammation induced by dextrane sulfate sodium. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002; 24: 15-18.
- 90-** Ming WJ, Bersani L, Mantovani A. Tumor necrosis factor is chemotactic for monocytes and polymorphonuclear leukocytes. *J Immunol* 1987;138:1469-74.
- 91-** Oruç N, Özütemiz Ö, Yükselen V, Nart D, Çelik HA, Yüce G, Batur Y. İnfliximab: A new therapeutic agent in acute pancreatitis? *Pancreas* 2004; 28: 1-8.
- 92-** Rikiyama T, Suzuki M, Unno M, Fukuhara K, Uchiyama T, Matsuno S. Kupffer cell-mediated inhibition of liver regeneration after combined hepatectomy and pancreatectomy. *J Gastrointest Surg.* 1999 Nov-Dec; 3(6): 654-61.
- 93-** Sikka SC. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci* 1996; 1: 78-86.
- 94-** Konukoğlu D, Akçay T. Glutatyon metabolizması ve klinik önemi.1995 cilt:15 sayı:4. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.*
- 95-** Blau S, Kohen R, Bass P, Rubinstein A. Relation between colonic inflammation severity and total low molecular weight antioxidant profiles in experimental colitis. *Dig. Dis. Sci.* 2000; 45: 1180.
- 96-** Juteh T, Nalar M, Baranholz Y, Rubinstein A. Local treatment of experimental colitis in the rat by negatively charged liposomes of catalase TMN and SOD. *Journal of Drug Targeting* 2006; 14 (3): 155-163.
- 97-** Brand HS, Maas MAV, Bomsa A, Van Ketel RJ, Speelman RA, Chamuleau FM. Experimental colitis in rats induces low-grade endotoxemia without hepatobiliary abnormalities. *Dig Dis Sci* 1994; 34: 1210-1215.
- 98-** Azılı C. TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modelinde İnfliximab'ın ekstraintestinal tutulumlar üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, 2007.

99- Walter F, Carmelo M, Carmela C, Giuseppe C, Giuseppe L, Salvatore C, Emanuela M. Infliximab and etanercept are equally effective in reducing enterocyte apoptosis in experimental colitis. *International Journal of Medical Sciences* 2008; 5 (4): 169-180.