

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DENEYSEL KİMYASAL KOLİT MODELLERİNDE
İNTESTİNAL İNFLAMASYONUN DERECESİNİN
BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Havva Yasemin ÇİNPOLAT

BOLU

2016

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DENEYSEL KİMYASAL KOLİT MODELLERİNDE
İNTESTİNAL İNFLAMASYONUN DERECESİNİN
BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK BULGULAR İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Havva Yasemin ÇİNPOLAT

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Güler BUĞDAYCI

BOLU

2016

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, mesleğimde en iyi beceri ve başarıyı kazanmamı sağlayan, tez danışmanım olduğu andan itibaren konunun araştırılmasında, belirlenmesinde, deney ve yazım aşamasında desteğini her zaman yanımda hissettiğim çok değerli ve sevgili hocam Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Prof. Dr. Güler BUĞDAYCI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde emeği olan, bilgi ve birikimlerini paylaşan, desteğini esirgemeyen değerli ve kıymetli hocam Doç. Dr. Buket KIN TEKÇE'ye,

Tez çalışmalarım sırasında bilgi, tecrübe ve yardımlarından dolayı değerli hocalarım Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Neriman ŞENGÜL'e ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Hesna Müzeyyen ASTARCI'ya,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, her zaman yardımlarıyla yanımda olan asistan arkadaşım Dr. Hamdi OĞUZMAN'a ve içten dostluğu için Dr. Duygu TEKİN'e teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemi sağlayan, maddi manevi her türlü desteği esirgemeyen, daima gurur duyup onlara layık olmaya çalışacağım canım aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Bugüne kadar her konuda olduğu gibi tezimde de yardımını esirgemeyen, her daim yanımda olan, varlığı ile huzur ve mutluluk bulduğum en yakın arkadaşım, biricik eşim Dr. Ertunç ÇİNPOLAT'a yürek dolusu sevgilerimle...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	İİİ
ABSTRACT.....	V
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalığı.....	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Etiyoloji	4
2.1.3.1. Genetik Faktörler	5
2.1.3.2. Çevresel Faktörler	5
2.1.4. Patogenez	6
2.1.5. Klinik	9
2.1.6. Laboratuvar Bulguları.....	12
2.1.7. Endoskopik Bulgular	13
2.1.8. Histopatolojik Bulgular.....	16
2.1.9. Tanı	19
2.1.10. Tedavi	19
2.2. Deneysel Kolit Modelleri	20
2.2.1. Gen ‘Knock out’ (KO) Modeli	20
2.2.2. Transgenik Fare ve Rat Modeli	21
2.2.3. Spontane Kolit Modeli.....	21
2.2.4. Adoptif Transfer Modeli.....	21
2.2.5. İndüklenebilir Kolit Modeli	21
2.2.5.1. TNBS ile İndüklenen Kolit Modeli.....	23
2.2.5.2. Asetik Asit ile İndüklenen Kolit Modeli.....	25
2.3. İBH’nda İncelenen Biyokimyasal Belirteçler	26
2.3.1. Serum Amiloid A (SAA)	26
2.3.2. Myeloperoksidaz (MPO)	27
2.3.3. Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α).....	28
2.3.4. İnterlökin 33 (IL-33) ve İnterlökin 1 Reseptör İlişkili Protein (ST2).....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Etik Kurul Onayı	32
3.2. Deney Hayvanları.....	32
3.3. Kolit İndüksiyonunda Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması	32
3.4. Kolit İndüksiyonu.....	32
3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması	33
3.6. Kullanılan Cihazlar ve Kalite Kontrolü.....	36
3.7. Doku Homojenizasyonu	36
3.8. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü	36
3.8.1. SAA Ölçümü.....	36
3.8.2. MPO Ölçümü.....	37

3.8.3. TNF- α Ölçümü.....	37
3.8.4. IL-33 Ölçümü	37
3.8.5. ST2 Ölçümü.....	38
3.8.6. Doku Proteini Ölçümü.....	38
3.9. Histopatolojik Değerlendirme	38
3.10. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Ağırlıkların Değerlendirilmesi	40
4.2. Biyokimyasal Ölçümlerin Değerlendirilmesi.....	41
4.3. Histopatolojik Değerlendirme	45
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ	63
7. KAYNAKLAR	64
TABLolar	75
ŞEKİLLER.....	76
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	79

ÖZET

Deneyssel kimyasal kolit modellerinde intestinal inflamasyonun derecesinin biyokimyasal ve histopatolojik bulgular ile değerdendirilmesi.

İnflamatuvar barsak hastalığı, barsakların kronik inflamasyonu ile seyreden etiyojisi bilinmeyen intestinal bir patolojidir. Etiyopatogenezini aydınlatmak amacıyla deneyssel kolit modelleri kullanılmaktadır. Çalışmalarda sıklıkla asetik asit ve trinitrobenzen sulfonik asit (TNBS) ile indüklenen kolit modelleri kullanılmaktadır. Asetik asit akut etkili bir kolit oluştururken TNBS kronik etkili koliti indüklemektedir. Bu çalışmada, asetik asit ve TNBS bir arada kullanılarak akut ve kronik etkiye sahip yeni bir deneyssel kolit modeli oluşturulması ve diğer modeller ile karşılaştırılarak inflamasyonun şiddetinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 56 adet Wistar albino cinsi erkek rat kontrol, asetik asit, TNBS ve kombine olmak üzere rastgele dört gruba ayrılmış ve kolit indüksiyonunu takiben 3. ve 7. günlerde sakrifiye edilmiştir. Deney başlangıcında ve sonunda ağırlıkları kaydedilmiştir. Plazma örneklerinde serum amiloid A (SAA) ve myeloperoksidaz (MPO), kolon dokusu örneklerinde tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), interlökin 33 (IL-33) ve IL-33 reseptörü ST2 ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Histopatolojik değerdendirmede mikroskobik hasar skorlaması yapılmıştır.

Asetik asit grubunda 3. günde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında plazma SAA ve plazma MPO dışında diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bununla birlikte 7. günde hiçbir parametrede kontrol grubuyla arasında fark bulunmamıştır. TNBS grubunda 3. günde plazma SAA dışındaki tüm parametrelerde ve 7. günde tüm parametrelerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Kombine model hem 3. günde hem de 7. günde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Kontrol gruplarında ve asetik asit grubunda 7. günde kilo artışı saptanırken, asetik asit 3. günde, TNBS gruplarında ve kombine gruplarda kilo kaybı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç olarak asetik asit modeli akut etkili bir kolit oluşturmaktadır. Kombine model diğer modellere göre inflamasyon oluşturma açısından daha başarılı bulunmuştur ve bu model deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: İnflamatuvar barsak hastalıkları, asetik asit, trinitrobenzen sulfonik asit, interlekin 33, ST2



ABSTRACT

The evaluation of the degree of intestinal inflammation in the experimental chemical induced colitis models with biochemical and histopathologic findings.

Inflammatory bowel disease whose etiology is unknown, accompanied by chronic inflammation of bowels is an intestinal pathology. Experimental colitis models are used to unveil the etiopathogenesis. In the studies, acetic acid and trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) induced colitis models are most widely used. While acetic acid forms a colitis with acute effect, TNBS induces a colitis with chronic effect. In this study, it is aimed to form a new experimental colitis model, with acute and chronic effect, by using acetic acid and TNBS together and to research the severity of inflammation biochemically and histopathologically in comparison with the other models.

In the study, 56 Wistar albino male rats were randomly divided into four groups as control, acetic acid, TNBS and combined and were sacrificed following the colitis induction on the 3rd and 7th days. All the rats were weighed at the beginning and at the end of the experiment. The serum amyloid A (SAA) and myeloperoxidase (MPO) in plasma samples, the tumour necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 33 (IL-33) and IL-33 receptor ST2 in colon tissue samples were analysed by ELISA. Microscopic damage scoring was done for histopathologic evaluation.

A statistically significant difference was found between the acetic acid group on the 3rd day and the control group in other parameters except the plasma SAA and the plasma MPO. On the other hand, on the 7th day there were no significant difference between the acetic acid and the control groups. A statistically significant difference was found between the TNBS and control groups in all parameters except the plasma SAA on the 3rd day and in all parameters on the 7th day. There were statistically significant difference between the combined and the control group both on the 3rd day and on the 7th day in all parameters. While the weight gain was detected in the control groups and acetic acid group on the 7th day, the weight loss in acetic acid group on the 3rd day, TNBS and combined groups was found statistically significant different.

In conclusion, the acetic acid model forms an acute colitis. The combined model compared with the other models is found more successful in forming inflammation and this model is recommended to be used in experimental studies.

Keywords: Inflammatory bowel disease, acetic acid, trinitrobenzene sulphonic acid, interleukin 33, ST2



1.GİRİŞ

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH), barsakların kronik inflamasyonu ile seyreden tekrarlayıcı, intestinal bir patolojidir. Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) İBH'nın en önemli iki örneği olup bireyin yaşam kalitesini etkiler ve artmış morbiditeyle ilişkilidir. Tanısı klinik, endoskopik ve histolojik bulgulara dayanır. ÜK kolonu tutarken, CH ağızdan anüse kadar gastrointestinal kanalın herhangi bir bölgesini tutabilir. Her ikisinde de kolon tutulumu olduğu takdirde diare, rektal kanama, karın ağrısı ve kilo kaybı gibi benzer semptomlar görülür (1). İBH etiyojisi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel etkenlerin rol aldığı multifaktöriyel bir hastalık olarak tarif edilir (2).

Sitokinler, İBH'nın patogeneziyle direkt olarak ilişkilendirilmiştir. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik inflamasyonun söndürülmesini engeller ve hastalığın alevlenmesi ve doku yıkımına neden olur (3). CH'nda T yardımcı lenfosit 1 (Th1 lenfosit) aracılı immun yanıt vardır, TNF- α (tümör nekrozis faktör alfa), IL-12 (interlökin-12), IFN- γ (interferon gama) ve IL-2 seviyeleri artmıştır (4). ÜK'te ise T yardımcı lenfosit 2 (Th2 lenfosit) aracılı immunité gözlenirken IL-5 ve IL-13 düzeyleri artmıştır (4, 5). Hem CH hem de ÜK'te T yardımcı lenfosit 17 (Th17 lenfosit) aracılı immunité artmıştır. Th17 lenfositler IL-17A, IL-17B, IL-21 ve IL-22 üretirler (3, 6, 7). Ayrıca barsak epitel hücreleri ve subepitelyal tabakada bulunan miyofibroblastlar IL-33 üretilirler. IL-33 proinflamatuvar etkilere sahip IL-1 sitokin ailesinin üyesidir ve Th1 tip sitokin cevabını baskımlarken Th2 lenfosit aracılı immun yanıtı indükler. Aynı zamanda kronik inflamasyonda nötrofil akışını sağlar. ST2, ayrıca IL-1 reseptör ilişkili protein (IL-1RL) olarak da bilinir, IL-33'ün reseptörüdür. İBH'nda IL-33/ST2 sinyal yolağının aktive olduğu gösterilmiştir (3, 8-10).

Deneysel kolit modelleri, intestinal kanaldaki histopatolojik ve morfolojik değişikliklerin anlaşılması, hastalığın tedavisinde yeni ilaçların geliştirilmesi ve ilaçların etki mekanizmalarının incelenmesinde önemli rol alır. Literatürde yayınlanan deneysel kolit modelleri arasında; indüklenabilir kolit modeli, adoptif transfer model, spontane kolit modeli, transgenik kolit modeli ve genetik yapısı değiştirilmiş hayvan modelleri bulunmaktadır. Bunlar arasında en yaygın kullanılan modellerden olan

kimyasal ile indüklenen kolit modelinin alt grupları arasında trinitrobenzen sulfonik asit (TNBS), dekstran sodyum sülfat (DSS), oksazolon, asetik asit, dinitroklorobenzen sulfonik asit, indometazin, iyodoasetamid, karragenan ve peptidoglikan-polisakkarit ile indüklenen kolit modelleri yer almaktadır (11). Bununla birlikte İBH'nın etiopatogenezini tam olarak açıklayan ideal bir kolit modeli bulunmamaktadır. Kolonda hastalığın seyriyle benzer oranda inflamasyon oluşmadığı için deney sonuçlarının yanlış yorumlanmasına ya da deneyin tekrarlanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle çalışmalar genellikle iki kolit modeli bir arada kullanılarak planlanmaktadır. Bu da daha fazla deney hayvanının kullanılmasına neden olmakta ve çalışmanın maliyetini artırmaktadır. İdeal bir kolit modeli hastalığın histolojik karakterini ve otoimmün doğasını yansıtmalı, insanda İBH ile aynı klinik bulguları göstermelidir. Basit, ucuz, kolay uygulanabilir ve tekrarlanabilir olmalıdır (12).

Çeşitli kimyasal kolit modelleri arasında en sık kullanılanlar asetik asit ve TNBS ile indüklenen kimyasal kolit modelleridir. Asetik asit intrarektal olarak uygulanır ve nonspesifik immün yanıtı neden olur. İnflamasyonun şiddeti asetik asidin dozuna ve asetik asit ile kolon mukozasının temasına bağlı olarak değişir. Ucuz, uygulaması kolay ve tekrarlanabilir bir modeldir ancak akut inflamasyona neden olduğu için insanda İBH'nı tam anlamıyla taklit edemez (13). TNBS alkol içerisinde çözündürülerek intrarektal yolla uygulanır. Alkol, çözücü özelliğinin yanı sıra mukoza bariyerini bozarak TNBS'nin inflamasyona neden olmasını sağlar. TNBS bir haptendir, doku proteinlerine bağlanır, gecikmiş tipte immün yanıtı neden olur ve koliti indükler (11). TNBS'nin çeşitliliği ve kullanılan deney hayvanlarının türünün farklılığı, TNBS'ye karşı her hayvanın duyarlılığının farklı olması, insandaki İBH'na benzer spontane relapsların olmaması ve daha çok kronik etkili kolitin meydana gelmesi modelin dezavantajlarıdır (13).

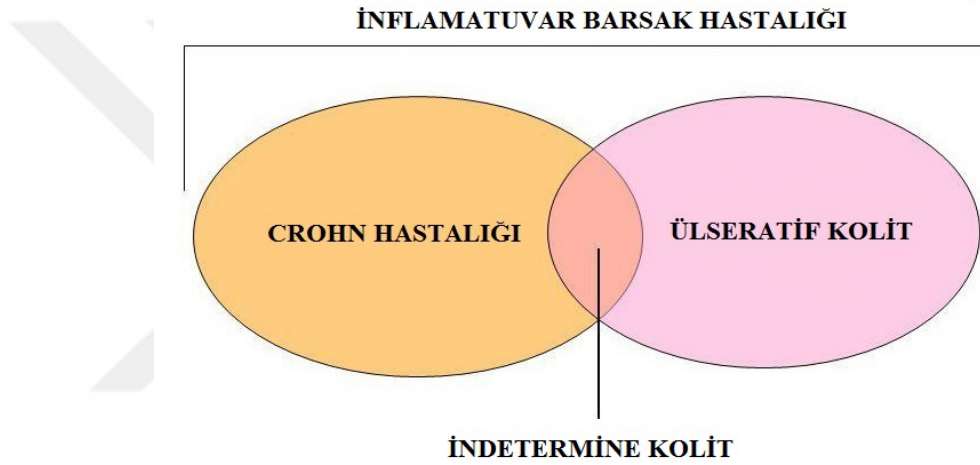
Bu çalışmadaki amaç, literatürde sıklıkla kullanılan asetik asit ve TNBS kolit modellerini karşılaştırmak ve TNBS ve asetik asidi bir arada kullanarak insanda İBH'nı yansıtan yeni bir deneysel kolit modelinin oluşturulup, inflamasyonun şiddetinin biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. İnflamatuvar Barsak Hastalığı

2.1.1. Tanım

İBH, intestinal inflamasyon ve mukozal doku hasarıyla başlayan, bozulmuş immün yanıtla ilerleyen, intestinal ve ekstraintestinal belirtilere neden olan, klasik olarak ÜK, CH ve her ikisinin arasında yer alan indeterminate koliti içeren kronik inflamasyonla karakterize hastalıklardır (Şekil 2.1.) (14).



Şekil 2.1. İnflamatuvar barsak hastalığı

CH ve ÜK, süresi ve şiddeti değişken alevlenmeler ve remisyonlar ile karakterizedirler. CH birincil olarak ince barsağı, özellikle de ileumu tutarken, ÜK ise sadece kolon hastalığı olarak ortaya çıkar. Her iki hastalık da gerek belirti ve bulguları, gerekse seyirleri açısından genel olarak birbirlerine benzerler. Her ikisi de, barsak dışı birçok organda oluşturdıkları komplikasyonlar ve malignite potansiyelleri nedeniyle, kolon ve rektum hastalıkları arasında önemli yer tutmaktadırlar (15).

2.1.2. Epidemiyoloji

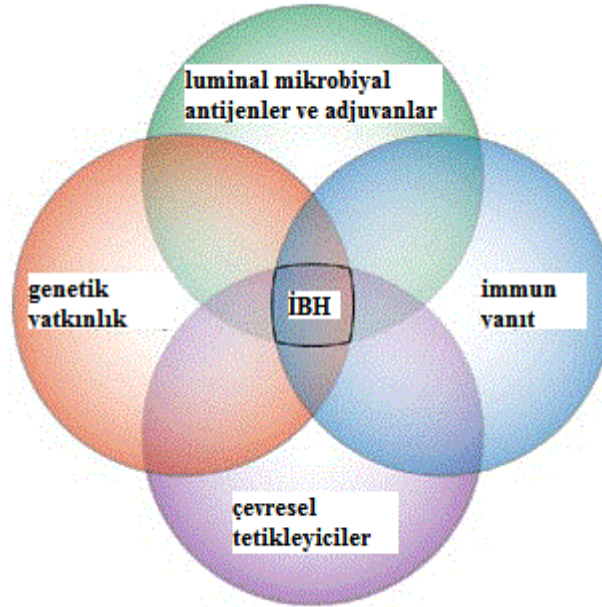
İBH'nın insidansı dünyanın değişik bölgeleri arasında ve aynı bölge içinde popülasyonlar arasında farklılık gösterir. Dünyada ÜK ve CH için en yüksek insidans ve prevalans oranları Kuzey Avrupa, İngiltere ve Kuzey Amerika'da bulunmaktadır.

Güney Avrupa, Asya ve gelişmekte olan ülkelerdeki hastalık insidansının da giderek arttığı bildirilmektedir. Coğrafik olarak değişmekle birlikte CH'nın insidansı ve prevelansı sırasıyla 0.1–20.2 ve 10/100.000, ÜK'in 0.5–31.5 ve 35-100 /100.000'dir (16).

İBH en çok 20-29 yaşlar ve 60-80 yaşlar arasında ortaya çıkar. Hastalığın ortaya çıkmasında genç yaşlarda genetik yatkınlığın, ileri yaşlarda çevresel faktörlerin ağır bastığı belirtilmektedir. İBH her iki cinsiyette eşit oranlarda görülmekle birlikte, CH kadınlarda ve ÜK erkeklerde biraz daha sık görülür (17).

2.1.3. Etiyoloji

İBH etiopatogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte genetik yatkınlığın ve çevresel faktörlerin önemli bir yeri bulunmaktadır. Patolojik bulgular antijenik uyarıya karşı gelişen immün yanıtın rolü olduğunu göstermektedir (Şekil 2.2.) (18).



Şekil 2.2. İnflamatuvar barsak hastalığında etiyolojik faktörler. Sarkor ve ark. (19)'ndan alınmıştır.

Hastalığın etiolojisinde klamidy, listeria monositogenez, mikobakteriyum paratuberkülozis, paramiksovirüsler gibi mikroorganizmalar suçlanmış ancak kanıtlanamamıştır. Son zamanlarda hastalığın normal mikrobiyotamamında mukoza epiteli bariyerinin bozulması ve bunun sonucunda bakterilere karşı koruyucu

tabakanın ortadan kalkması ve mukozal immün sistemin uygunsuz ve devamlı aktive olması ile geliştiği düşünülmektedir (20).

İBH'nın genetik ve ailevi özellikleri, enfeksiyon ajanları ile ilişkilerini araştıran çalışmalar ve immunolojik çalışmalar hem hastalığın patogenezinin anlaşılmasına yardımcı olmakta hem de yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine önemli katkı sağlamaktadır (18, 20).

2.1.3.1. Genetik Faktörler

İBH için en önemli risk faktörü pozitif aile öyküsüdür. Aile öyküsü CH'nda ÜK'e göre daha belirgin olarak saptanmıştır. ÜK olgularının birinci derece akrabalarında ÜK olasılığı % 5.7-15.5, İBH olasılığı ise % 6.6-15.8 olarak belirlenmiştir. Akrabalar arasında hastalığın tipi, davranış paterni ve ekstraintestinal semptomlar büyük ölçüde benzerlik göstermektedir (21, 22). İBH olgularında aile öyküsünü gösteren önemli bulgulardan biri de ikizler ile yapılan çalışmalardır. ÜK için dizigot ikizlerde konkordans % 3, monozigot ikizlerde ise % 10 olarak bulunmuştur. CH'nda bu oranlar yaklaşık 3 kat daha fazladır (23). İBH'ndan sorumlu genlerin saptanması için yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Genetik geçişin birçok genle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Kromozom 16, 12, 6, 14, 5, 19, 1 ve 3 ile İBH arasında bağlantılar saptanmıştır (24). ÜK'in insan lökosit antijeni (HLA) sınıf II ile ilişkisi araştırılmış, HLA DRB1*1502 ve HLA-DRB1*0103 ile bağlantı bulunmuştur. Ancak HLA-DRB1*0103'ün sadece ÜK için değil, tüm kolon inflamasyonu için bağımsız risk faktörü olduğu düşünülmektedir (22, 25). Ayrıca genetik çalışmalar İBH'nın başka genomik bölgelerle de ilişkili olduğunu göstermiştir (26).

2.1.3.2. Çevresel Faktörler

Yapılan epidemiyolojik ve genetik çalışmalar İBH'nın genetik temelini açıklasa da tek yumurta ikizlerinde bile tam bir konkordansın görülmemesi çevresel faktörlerin de hastalığın gelişmesinde rolü olduğunu göstermektedir (22).

Gastrointestinal kanal vücudun en çok antijenle karşılaşan bölümlerindendir. Bu antijenler gıdalar, gıdalardaki katkı maddeleri, dışarıdan alınan bakteriler, mikrobiyotik bakterileri olabilir ve mukozal immün yanıtı başlatabilir (19).

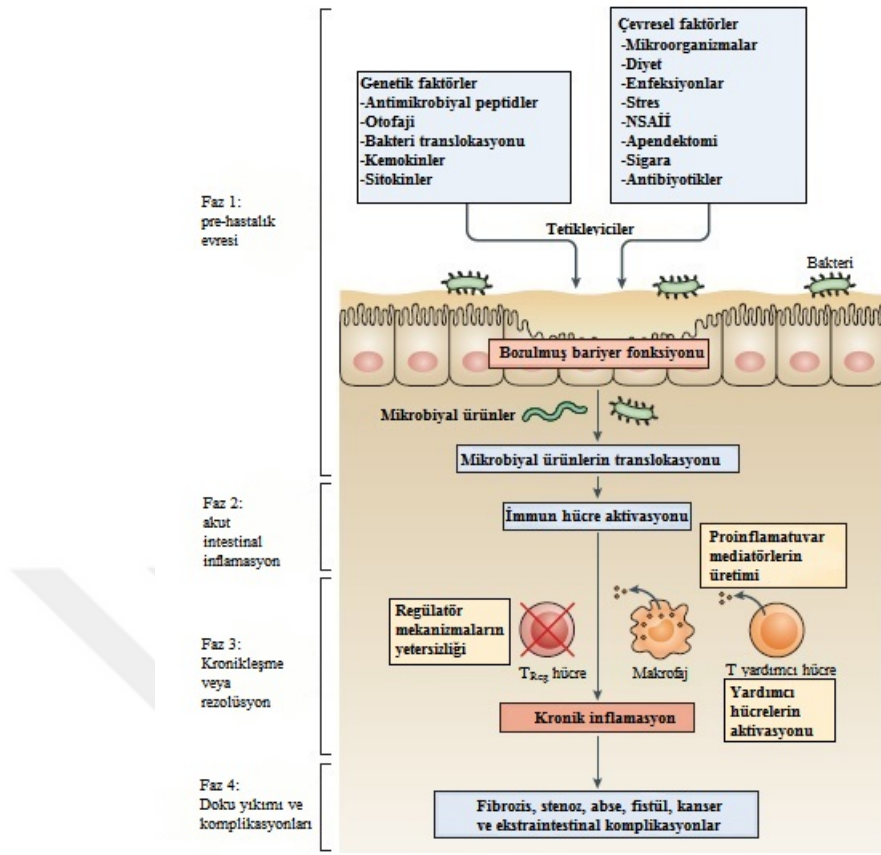
Nonsteroid antiinflatuvar ilaç (NSAİİ) ve antibiyotik kullanımı ile ÜK olgularında alevlenmeler görölmektedir. NSAİİ'lar, intestinal geçirenliği arttırarak mukus yapısını değiştirir, araşidonik asit metabolizmasında siklooksijenaz yolunu inhibe eder ve lipooksijenaz yolağına çevirirler. Bu şekilde inflamasyonu arttırdıkları düşünölmektedir (27).

Sigara içenlerde ÜK görölme sıklığı içmeyenlere göre daha azdır ve sigara içen ÜK hastalarında klinik daha hafif seyreder ve sigarayı bırakma alevlenmeyi tetikleyebilir. Bununla beraber CH'nda sigara içimi risk arttırıcı bir etki göstermektedir ve sigara içenlerde hastalık daha agresif seyretmektedir (27). Sigaranın ÜK üzerindeki olumlu etkisi; nikotinin, IL-10 üretimini engelleyerek Th2 fonksiyonları üzerinde inhibitor etki göstermesiyle açıklanmaktadır. Nikotinin vasküler prostasiklin yapımını baskılayarak CH'nda erken görölen lezyonlardan olan mikrotrombüs oluşumuna neden olduğu düşünölmektedir (28).

Barsak mikrobiyatasının içeriği de İBH'nın gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Geniş spektrumlu antibiyotikler ve probiyotikler hastaların belirli bir grubunda yararlı olmaktadır (29, 30). Bazı enfeksiyöz ve paraziter ajanların İBH' nın etiyolojisinde rol oynadığı düşünölmüştür. Bakteriler doğrudan etkili olabileceği gibi salgıladıkları toksinler, enzimler veya sitokinler aracılığıyla da etki yapabilirler. Kızamık virüsü başta olmak üzere bazı virüsler, mikobakteriler, Escherichia coli suşları, campylobacter, yersinia, salmonella, şigella ve Entamoeba histolitika'nın İBH etiyolojisinde rol alabileceği düşünölmektedir (31-33).

2.1.4. Patogenez

İBH'nda genetik ve çevresel faktörlerin tetiklemesiyle epitel bariyer fonksiyonunu kaybeder ve luminal antijenlerin barsak duvarı içerisine translokasyonuna neden olur. Bunun sonucunda genetik olarak yatkın bireylerde, antijenlere karşı aşırı sitokin cevabı subklinik veya akut mukozal inflamasyona neden olur (34). Akut intestinal inflamasyonun çözölemediği hastalarda, mukozal immun sistemin kontrolsüz aktivasyonu ile proinflatuvar ve antiinflatuvar mediatörler arasında dengesizlik olur ve kronik inflamasyon, doku hasarı ve fibrozis gelişir (Şekil 2.3.) (3).



Şekil 2.3. İnflamatuvar barsak hastalığı patogenezi. Neurath ve ark. (3)’ndan alınmıştır.

Doğuştan lenfoid hücreler (ILC) mukozal yüzeyde bulunur, IFN- γ , IL-17 ve IL-22 sentezler ve doğal immunitiyi kontrol eder. CH’nda intestinal mukozada IL-17 artışı ve CD127 ve CD56 yüzey antijenleri içeren ILC’nde artış saptanmıştır (35).

Antijen sunan hücrelerin uyarılması CH’nda Th1 lenfositlerin, ÜK’te ise Th2 lenfositlerin farklılaşmasına yol açar. Bu fonksiyonlar İBH lokusunun bir ürünü olan NOD genini kodlayan gen hattında mutasyon gibi genetik faktörler ve bazı çevresel faktörlerle değişebilmektedir (36). CH’nda mukoza engelinin bozulması ile epiteli geçen antijenler, antijen sunan hücreleri (dendritik hücreler ve makrofajlar) aktive eder ve bu da Th1 lenfositlerin uyarılmasına neden olur. Uyarılan Th1 lenfositlerden salgılanan IFN- γ makrofajları uyarır, uyarılan makrofaj güçlü birer inflamatuvar sitokin olan TNF- α , IL-1 ve IL-6 salgılar. IFN- γ , villöz atrofi ve kript hiperplazisi yapar. Uyarılmış makrofajlardan salgılanan TNF- α granülom oluşumuna yol açan bir sitokin olup CH’nın patogeneziinde önemli bir role sahiptir (37). Ayrıca makrofajdan

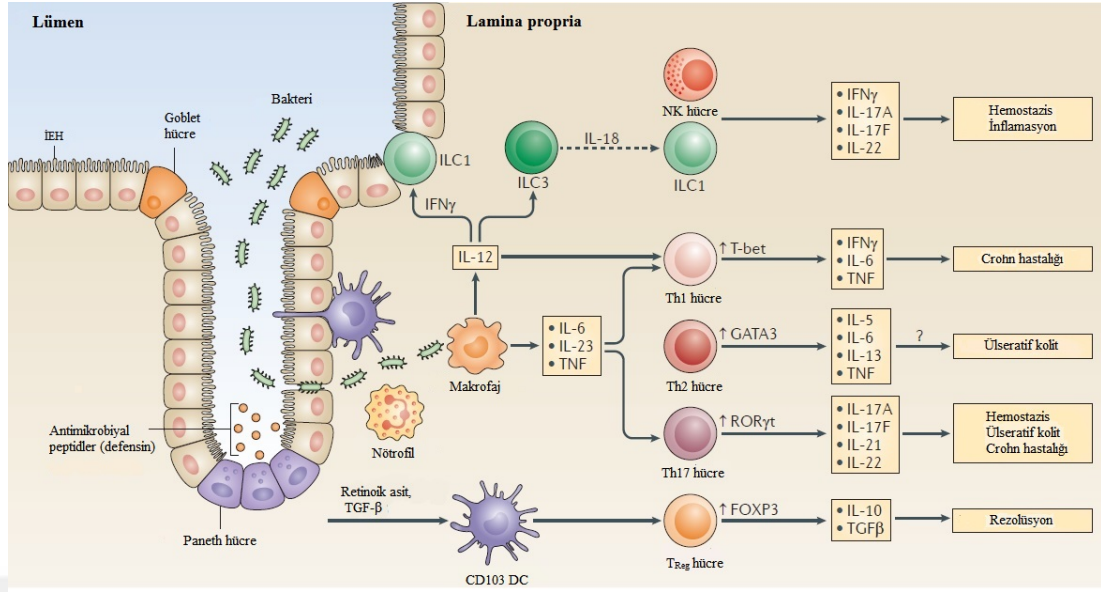
salgılanan IL-12 Th1 lenfositlerini tekrar uyarak CH'nda kendi kendini devam ettiren iltihabi bir döngü oluşmasına yol açar (38, 39). CH'nın tedavisinde de IL-1, IL-6 ve TNF- α 'nın inflamasyondaki rolü dikkate alınarak bu sitokinlerin baskılanması hedeflenmiştir. IL-1 doğal olarak endojen IL-1 reseptör antagonistleri tarafından kontrol altında tutulur. Deneysel olarak IL-1 reseptör antagonistlerinin verilmesi ile kolitin hafıflediğı gösterilmiştir (40). Anti TNF- α antikorları TNF- α aktivitesini baskılar ve CH'nda tedavide kullanılan diğeri bir önemli ajandır (41, 42).

ÜK'te esas olarak humoral kısmen de hücrel immunité patogeneizde rol alır. ÜK'te mukozada plazma hücrelerinde ve IgG sentezinde artış olur. Antikor antijen kompleksinin oluşması ile kompleman aktive olur (43). ÜK'li hastalarda CH'nın tersine lamina propria Th2 lenfosit hakimiyeti vardır, IL-5 ve IL-13 sentezi ve Th2 lenfosit ile ilişkili transkripsiyon faktör GATA-bağlayıcı protein 3 (GATA3) ekspresyonu artmıştır (44-46). Bununla birlikte bu hücreler düşük miktarda IL-4 üretirler ve klasik Th2 lenfositlerinin özelliklerini göstermezler, bu nedenle ÜK'te atipik Th2 lenfosit artışı olarak ifade edilir (4).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda terminal ileum başta olmak üzere tüm barsakta IL-6 ve IL-23 sitokin uyarısı ile indüklenen Th17 hücreleri bulunmuştur. Hem CH'nda hem de ÜK'te Th17 lenfosit ile ilişkili olarak IL-17A, IL-17F ve IL-21 sitokinlerinin üretiminin arttığı gösterilmiştir (6, 7). Bu sitokinler TNF- α , IL-6, IL-1 β ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezinin artışına, nötrofil akışına ve fibroblastlardan matriks metaloproteinazlarının sekresyonuna neden olarak doku yıkımına neden olur (47, 48).

T regülatör (T_{Reg}) hücreler IL-10 ve transformatif büyüme faktörü beta (TGF- β) gibi antiinflamatuvar sitokinler üreterek T hücre cevabının baskılanmasını sağlar (49, 50). CH'nda aşırı miktarda artan T hücre karşılığında T_{Reg} hücreleri daha ılımlı bir artış gösterir ve bu nedenle T hücrelerini baskılamakta yetersiz kalır (51).

İBH patogenezinde yer alan antijen sunan hücreler, T yardımcı hücreler, T regülatör hücreler ve sitokinler arasındaki ilişki Şekil 2.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4. İnflamatuvar barsak hastalığı patogenezinde sitokinler. İEH, intestinal epitel hücre; GATA3, GATA bağlayıcı protein 3; IL, interlökin; ILC, doğuştan lenfoid hücre; DC, dendritik hücre; NK, doğal öldürücü hücre; RORγt, retinoik asit reseptör ilişkili orphan reseptör-γt; TGF-β, transforming growth factor beta; TNF, tümör nekroz faktör. Neurath ve ark. (3)’nden alınmıştır.

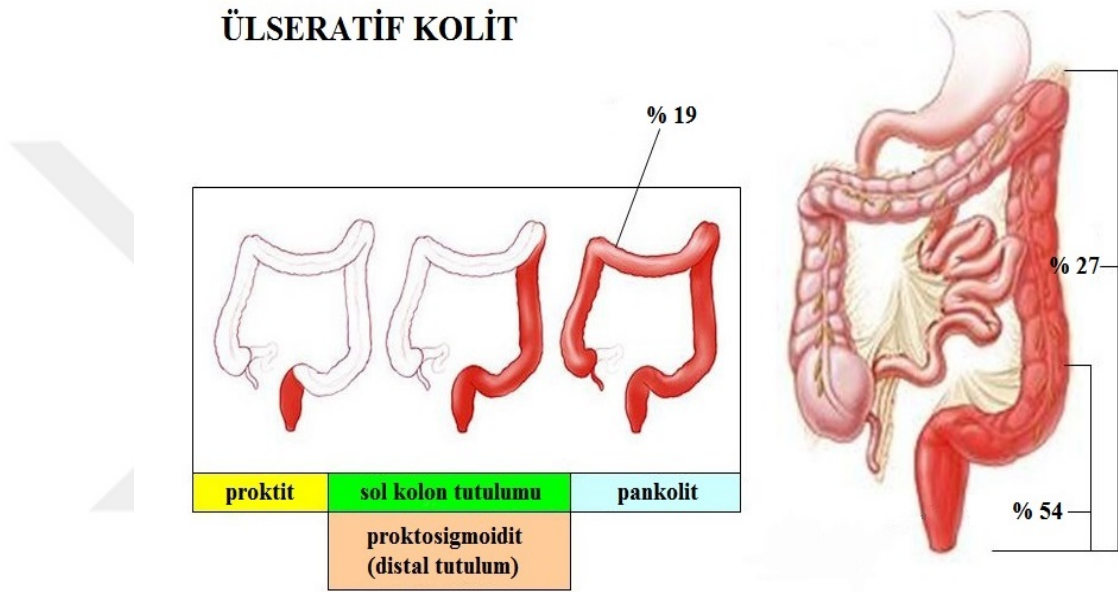
ÜK hastalarında epitel hücreleri ve subepitelyal miyofibroblastlar tarafından üretilen IL-33’ün arttığı bildirilmiştir (52). IL-33 proinflamatuvar etkilere sahip IL-1 sitokin ailesinin üyesidir ve IL-1 reseptör ilişkili protein diğer bir ismiyle ST2’nin ligandıdır. Kronik DSS ile indüklenen kolit modeli ile yapılan çalışmada IL-33’ün Th1 tip sitokin cevabını baskımlarken Th2 tip sitokin yanıtını indüklediği ve kronik inflamasyonda nötrofil akışını sağladığı gösterilmiştir (53, 54). İBH’nda IL-33/ST2 sinyal yolağının aktive olduğu, inflamasyonlu kolon mukozasında ve serumda IL-33 ve ST2 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (8).

Sitokinler aynı zamanda İBH’nın ekstraintestinal komplikasyonlarından ve sistemik etkilerinden de sorumludur. Örneğin IL-6 karaciğerden akut faz proteinlerinin salınmasına neden olurken TNF-α artrit gelişimi ve kaşeksi ile ilişkilendirilmiştir (34, 55).

2.1.5. Klinik

Ülseratif kolitin, remisyon ve alevlenmelerle giden kronik intermittan tip, devamlı hafif aktivasyon bulguları ile karakterize kronik devamlı tip ve şiddetli tek bir atak ile karakterize akut fulminan tip olmak üzere üç klinik tipi bulunur. Klinik olarak

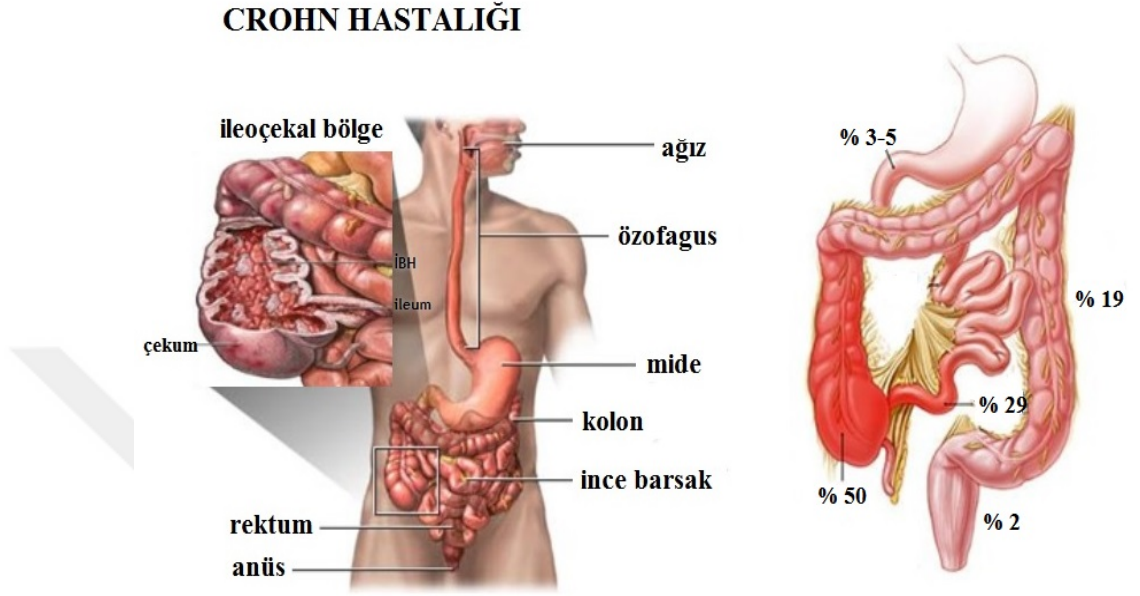
kanlı mukuslu diyare, rektal kanama, kramp tarzı karın ağrısı, ateş, iştahsızlık, kilo kaybı gibi semptomlar ve lokal yada sistemik komplikasyonlarla seyreder. Hastalık, remisyon ve nüksler ile giden kronik bir seyir izler. ÜK, rektum mukozasından başlar ve proksimale doğru kalın barsağın değişik bölümlerini tutacak şekilde yayılır. Olguların % 54'ünde hastalık rektosigmoid yerleşimli iken % 27'si sol kolon tipi ve % 19'u pankolit şeklindedir (Şekil 2.5.) (56).



Şekil 2.5. Ülseratif kolitin tutulum gösterdiği alanlar - www.jhmicall.org'dan alınmıştır (57).

Crohn hastalığında klinik olarak inflamatuvar, strüktür yapan ve fistülizan olmak üzere üç tip görülmektedir. Kramp benzeri karın ağrılarına, sulu, kansız ve mukussuz ishal eşlik eder ve ateş ön plandadır. Rektal kanama, ülseratif kolitte olduğu kadar sık görülmez. Hastaların çoğunda; lipid, protein, vitamin eksiklikleri ve malabsorbsiyona bağlı kilo kaybı görülmektedir. Mesane, üreter, diğer barsak segmentleri gibi organlara fistüller oluşması, obstrüksiyon ve perianal bölge hastalıklarının sıklıkla görülmesi hastalığın özellikleri arasındadır. Birincil olarak sindirim sisteminin bir hastalığı olmasına karşın iritis, ankilozan spondilit, sklerozan kolanjit, nefrolitiazis, üriner sistem patolojileri gibi ekstraintestinal komplikasyonlar sıklıkla bulunur. Hastaların yarısında ileoçekal bölge tutulur. Geri kalanların %

19’unda hastalık kolonda ve % 2’sinde anorektal bölgede lokalizedir. Özofagus, mide, duodenum tutulumu % 3-5, sadece ince barsak tutulumu ise % 29’dur (Şekil 2.6.) (58).



Şekil 2.6. Crohn hastalığının tutulum gösterdiği alanlar - www.adam.com'dan alınmıştır (59).

İBH'nın seyrinde gelişen komplikasyonlar, lokal (gastrointestinal) veya sistemik olabilir. Yoğun kanama, toksik kolon dilatasyonu ve perforasyon ÜK'in erken döneminde ve akut nüks sırasında olur. Darlık, sklerozan kolonjit ve kolorektal kanserler daha geç gelişir. Sistemik komplikasyonların prevalansı CH'nda, gastrointestinal komplikasyonlar ise ÜK'te daha fazladır. ÜK'te pulmoner ve kardiyak komplikasyonlar daha sık gözlenirken kolelitiazis, genitoüriner sorunlar ve malnutrisyon CH'nda daha sıktır (60).

ÜK ve CH'nın klinik özellikleri ve oluşturduğu komplikasyonlar Tablo 2.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. Crohn hastalığı ve ülseratif kolit klinik özellikleri ve komplikasyonlar (61)

	Crohn hastalığı	Ülseratif kolit
Semptom ve bulgular		
Karın ağrısı	+++	+
İshal	+++	+++
Rektal kanama	+	+++
Tenezm	+	+++
Kilo kaybı	+++	+
Ateş	+++	+
Malnutrisyon	++	+
Abdominal kitle	+++	+
Komplikasyonlar		
Strüktür	+++	+
Fistül	++++	-
Toksik megakolon	+	++
Perforasyon	++	+
Kanser	+	++

İBH birçok ekstraintestinal belirti ile ilişkilidir, hastaların üçte birinde barsak dışı bulgulara rastlanmaktadır. Bunlar arasında; cilt (eritema nodozum, pyoderma gangrenozum), göz (uveit, episklerit), karaciğer (perikolanjit, yağlı karaciğer, primer sklerozan kolanjit), eklem (periferik artrit, ankilozan spondilit) ve böbrek (böbrek taşları) tutulumları sayılabilir (61).

2.1.6. Laboratuvar Bulguları

İBH’nda laboratuvar değişiklikleri inflamatuvar aktivitenin yaygınlığı ve şiddeti ile paralellik gösterir. Eritrosit sedimentasyon hızı artışı, C reaktif protein (CRP), fibrinojen ve ferritin gibi akut faz reaktanlarındaki artış inflamasyondaki değişiklikleri dinamik olarak izlememize yardımcı olur (62). Ağır şiddetli hastalıkta hipoalbuminemi, hipergammaglobulinemi ve hipokalemi görülebilir. Tam kan sayımında nötrofil artışı, trombositoz ve uzun süreli aktif olgularda malabsorbsiyon ve uzun süreli ilaç kullanımı nedeniyle anemi saptanır. Trombositozu sekonder kanama veya trombotik komplikasyonlar oluşabilir. ÜK’li hastaların büyük bir kısmında hastalığın herhangi bir döneminde karaciğer enzimleri yüksek saptanır. Ağır ataklarda

alkalen fosfataz (ALP) ve aspartat transaminaz (AST) yüksekliği belirgindir. Bu enzimlerin daha uzun süre yüksek kaldığı durumlarda Primer sklerozan kolanjit düşünölmelidir (43). Anti Saccharomyces cerevisiae (ASCA) CH'nda % 40-70, ÜK'te % 5-15 oranında; perinökleer anti nötrofil sitoplazmik antikor (p-ANCA) ise ÜK'te % 40-80, CH'nda % 2-20 oranında pozitif saptanmaktadır (63).

Son yıllarda inflamasyonu değerdendirmek için fekal belirteçlerden yararlanılmaktadır. Özellikle fekal kalprotektin ve laktoferrin en sık kullanılanlardır. Her iki bileşikte aktive nötrofillerden salgılanan moleküllerdir. İnflamasyon ile iyi bir korelasyon gösterir. Ancak ekonomik olmamaları nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır. Özellikle fekal kalprotektin histolojik aktivite ile yakın bağlantı göstermektedir. Nüksleri ön görmede oldukça yararlıdır (64).

Gayta örneğinin mikroskobisinde eozinofil, eritrosit ve inflamatuvar hücreler görölebilir. Özellikle alevlenen hastalıkta amip enfeksiyonu araştırılmalıdır. Salmonella, şigella, yersinia, klostridium difficile ve kampilobakter için gayta kültürü yapılmalıdır. Ayrıca klostridium difficile toksini olan toksin-A da araştırılmalıdır (65).

Saptanabilen tüm bu bulgulara rağmen ayrılamayan olgular indetermine kolit olarak değerdendirilirler. İndetermine kolitli hastalar genellikle, CH'na benzeyen tipik semptomları olmadığı takdirde ÜK gibi tedavi edilmelidirler (61).

2.1.7. Endoskopik Bulgular

Fiberoptik cihazların gelişmesiyle, İBH'da endoskopik tanı oldukça önem kazanmıştır. Endoskopik işlemler; hastalığın aktivitesinin belirlenmesinde, kanama, strüktür gelişip gelişmediğinin saptanmasında, ayrıca displazi veya malign değışikliklerin saptanmasında oldukça önemlidir. Endoskopide kolon ve terminal ileum mukozasının gözle görölmesi ve histopatolojik tetkik için biyopsi alabilme olanağı, tanının kesinleşmesinde avantaj sağlamaktadır. Eğer hastada akut şiddetli kolit, toksik megakolon, perforasyon veya peritonit şüphesi varsa, gelişebilecek komplikasyon nedeni ile kolonoskopi yapılmamalıdır.

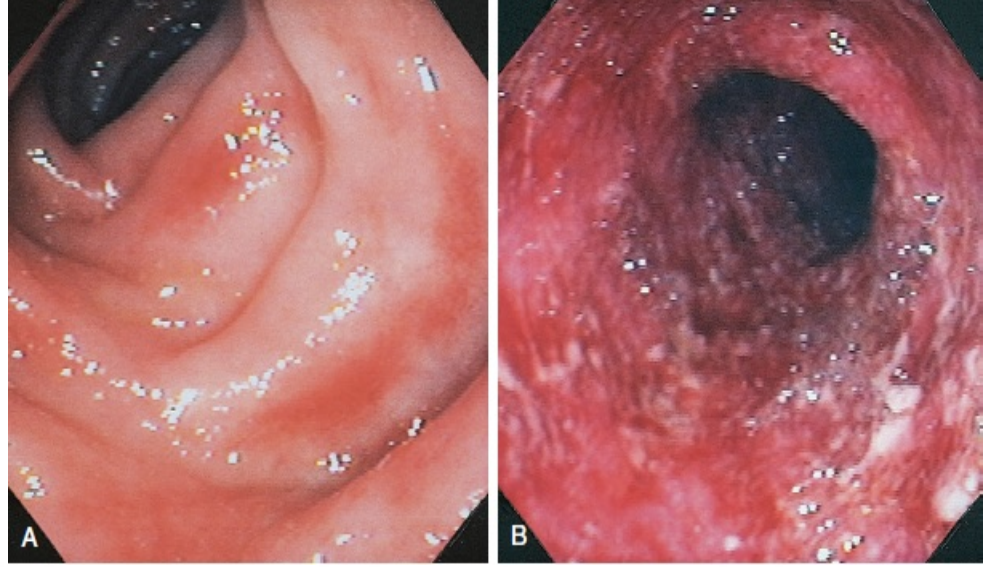
CH ve ÜK'in endoskopik bulguları çeşitli benzerlik ve farklılıklar gösterir (Tablo 2.2.). ÜK'te başlangıçta mukozal kan akımında artış (hiperemi) ve hafif ödem gözlenir. Bu nedenle ÜK'te en erken bulgu normal mukozal vasküler yapılarda

silinmedir. Bu bulgu radyolojik görüntüleme yöntemleri ile saptanamaz. Bu yüzden erken dönem hastalarda ilk tanıda endoskopi daha değerlidir. Erken dönem endoskopik bulgulardan bir diğeri de, mukozanın düzensiz ve ince granüler görüntüsüdür. Daha ileri ve şiddetli durumlarda, mukoza frajil ve kolay zedelenebilir durumdadır. Hastalık şiddeti ilerledikçe, mukozada ülserasyonlar meydana gelir (Şekil 2.7.) (61, 66).

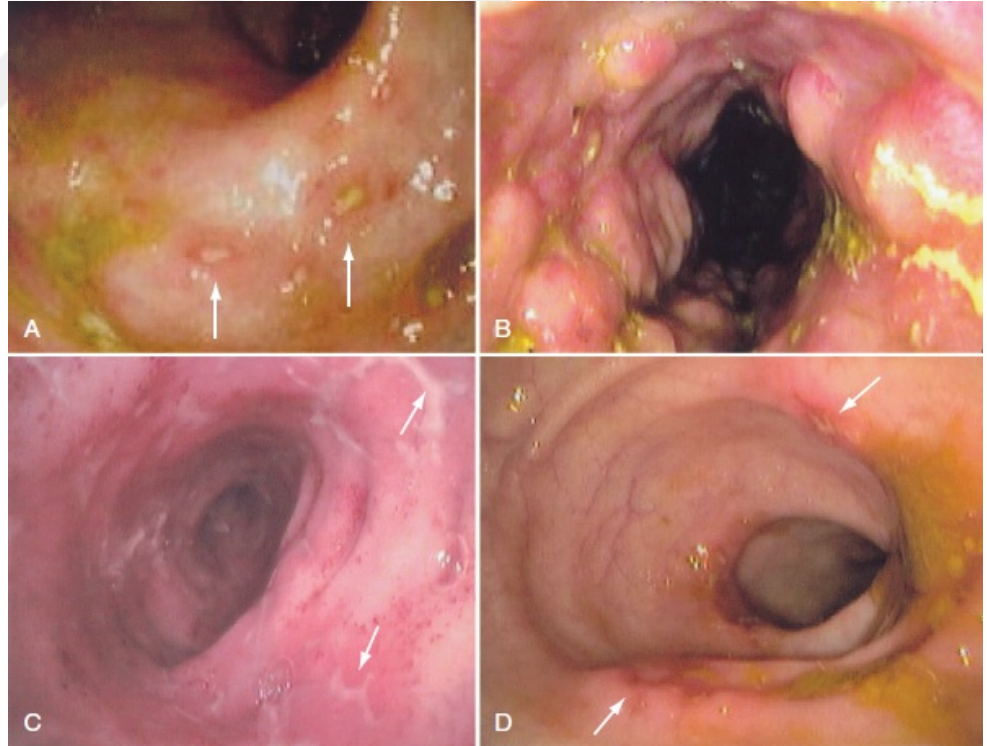
Tablo 2.2 Crohn hastalığı ve ülseratif kolitin endoskopik bulguları (61)

	Crohn hastalığı	Ülseratif kolit
Eritem	++	+++
Vasküler patern kaybı	+	+++
Granüler yapı/frajilite	+	+++
Kaldırım taşı görünümü	++	-
Psödopolip	++	+++
Aftöz ülser	+++	-
Yüzeyel ülser	++	+
Striktür	+++	++
Mukozal köprüleşme	++	++
Rektal tutulum	++	++++
Lezyonların devamlılığı	+	++++
Yamalı tarzda tutulum	+++	-
Lezyonlar arasında sağlam mukoza	+++	-
İleoçekal valv ve ileumda lezyon	+++	-

CH'nın tutulum gösterdiği alanlar göz önüne alındığında, kolonoskopi yapılan hastalarda, ÜK'ten ayrımının yapılabilmesi için mutlaka terminal ileumun endoskopik kontrolü gerekmektedir. CH'nda mukozal lezyonlar yama tarzında, asimetrik ve heterojendir. Ülserler genelde aftöz karakterde olmakla birlikte, derin ve lineer tarzda ülserler de gözlenebilir. Arada sağlam mukoza alanlarının bulunması, hastalık için tipik bulgu olmasına karşın, biyopsi ile bu doğrulanmalıdır. Terminal ileum ve ileoçekal valv etrafında aftöz ülserlerin bulunması, hastalık için tipiktir (Şekil 2.8.) (61, 66, 67).



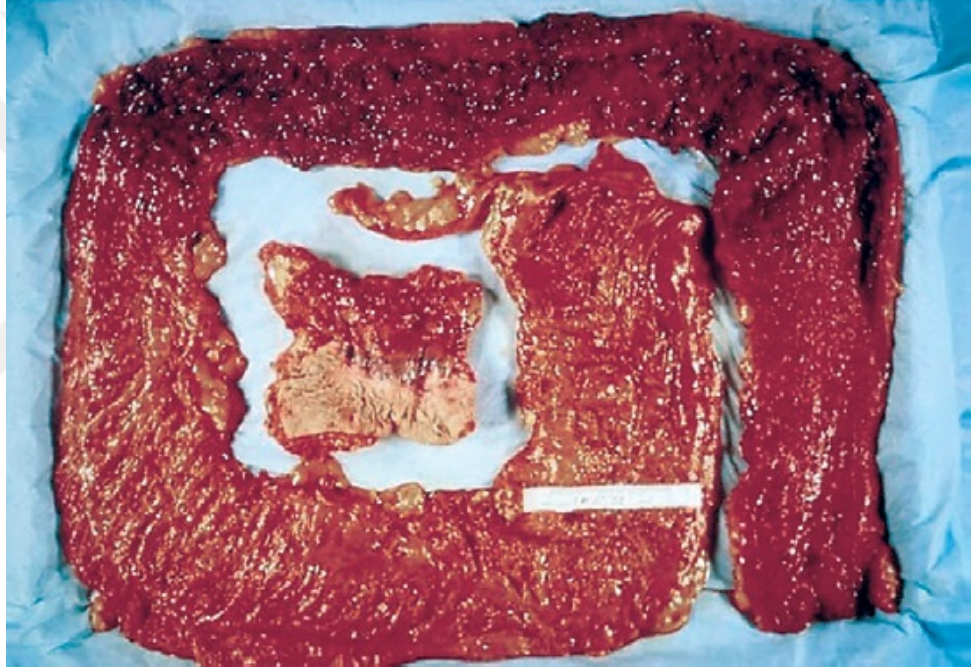
Şekil 2.7. Ülseratif kolitin endoskopik görüntüsü. A. Ödem, vasküler patern kaybı, subepitelyal hemorajinin eşlik ettiği ılımlı ülseratif kolit kolonoskopi görüntüsü. B. Vasküler patern kaybı, hemoraji, fragil mukozanın eşlik ettiği şiddetli ülseratif kolit kolonoskopi görüntüsü. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease (68)'ndan alınmıştır.



Şekil 2.8. Crohn hastalığının endoskopik görüntüsü. Endoskopik bulgular inflamasyonun süresine ve şiddetine göre değişiklik gösterebilir. A. Tipik aftöz ülser. B. İlerlemiş hastalık, eritem, ödem ve kaldırım taşı görünümü. C. Terminal ileumda ülserler. D. Normal mukoza ve ülser, Crohn hastalığının tipik yamalı inflamasyonu. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease (69)'ndan alınmıştır.

2.1.8. Histopatolojik Bulgular

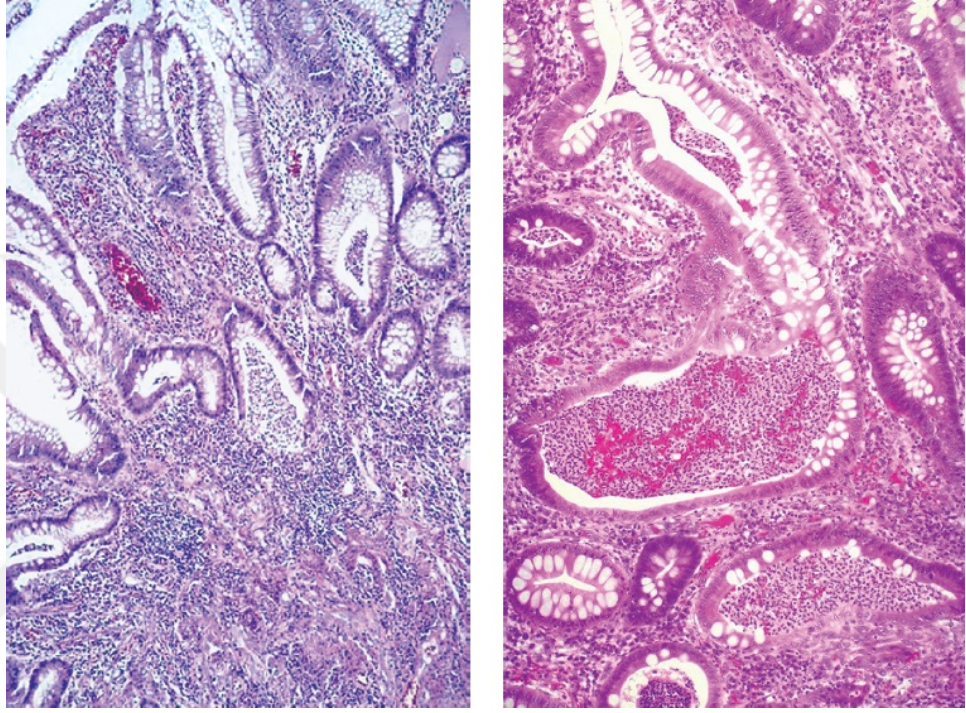
ÜK kolona sınırlı bir hastalıktır. Genellikle rektumu tutar ve proksimale doğru arada tutulmamış mukoza alanları bırakmaksızın yayılım gösterir. ÜK'te tutulum mukoza ve yüzeysel submukoza ile sınırlıdır ve fulminant hastalık dışında daha derin tabakalarda tutulum yoktur. Hafif inflamasyonda mukoza eritematöz ve ince granüler bir yüzeye sahiptir. Daha ağır hastalıkta, mukoza hemorajik, ödemli ve ülserle görünümdedir (Şekil 2.9.). Fulminan hastalıkta toksik kolon ya da toksik megakolon gelişebilir (61).



Şekil 2.9. Pan-Ülseratif kolit. Anorektal bileşkeden çekuma kadar diffüz hemorajik mukoza. Gastrointestinal and Liver Pathology (70)'ndan alınmıştır.

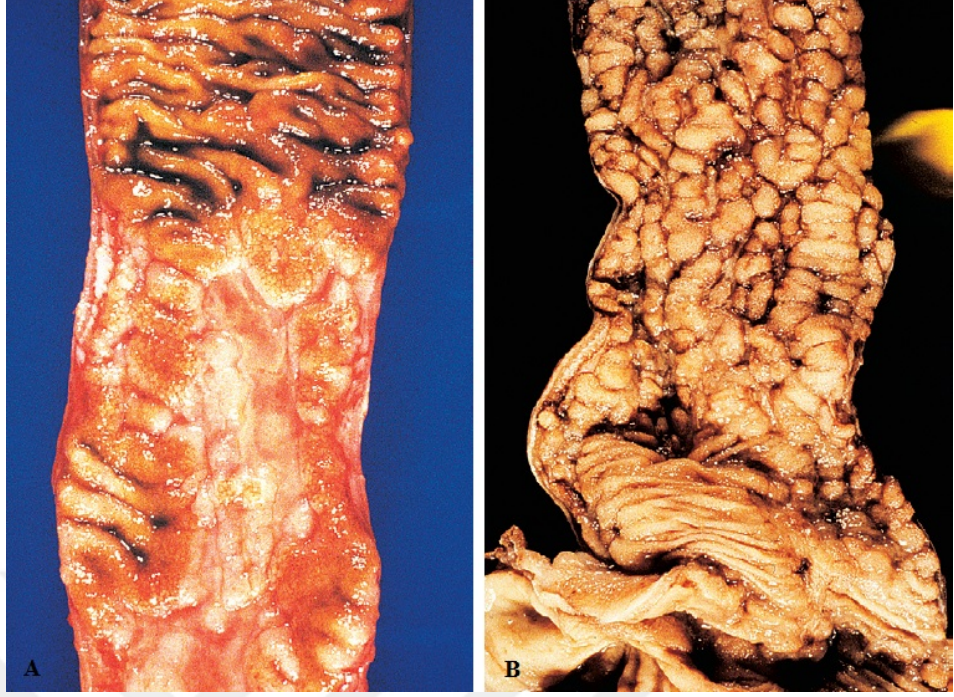
ÜK'te iki ana histolojik özellik kronikleşmeyi gösterir. Kolonun kript yapısı bozulmuştur, kriptler dallanmış ve sayıca azalmıştır, çoğu zaman kript tabanları ile mukoza arasında aralık vardır (Şekil 2.10.). Diğer bir kronikleşmeyi gösteren özellik de bazal plazma hücreleri ve bazal lenfoid kümelerin görülmesidir. Mukozal damarsal konjesyonla birlikte ödem ve fokal kanama ve nötrofil, lenfosit, plazma hücreleri ve makrofajları içeren inflamatuvar hücre infiltrasyonu bulunabilir. Nötrofiller epiteli ve kriptleri infiltre ederek kriptite ve kript abselerine neden olurlar. Kriptit goblet

hücrelerinden mukus salınımı ve artmış epitelyal hücre döngüsü ile ilişkilidir. Histolojik olarak bu, goblet hücrelerinde azalma ile sonuçlanır. Nöronal atrofi ve muskularis mukozanın fibromuskuler hiperplazisi diğer bir görülen kronik değişikliklerdendir (61, 71).

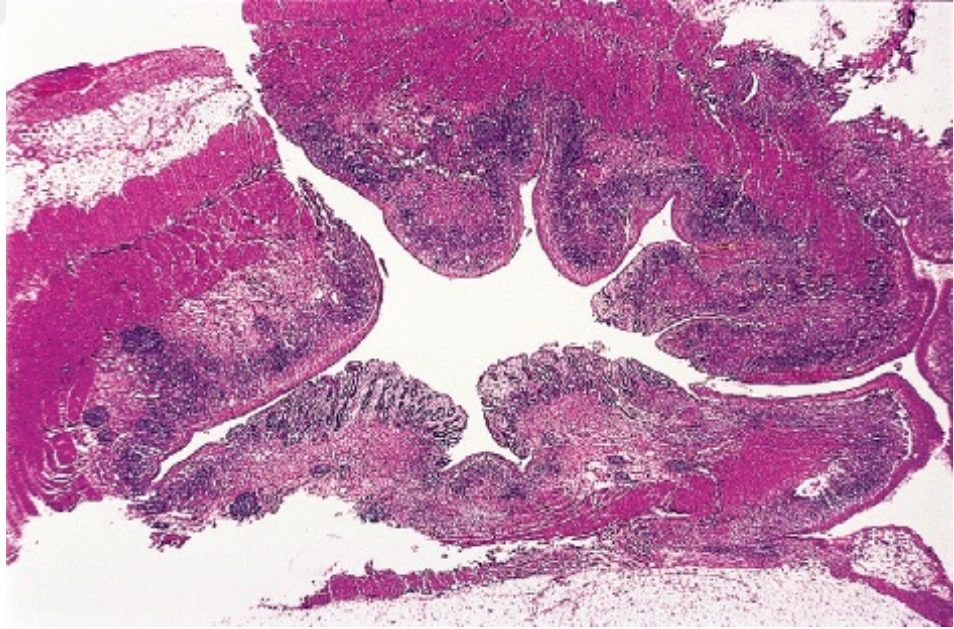


Şekil 2.10. Ülseratif kolitte kript distorsiyonu, kriptit ve kript abseleri. Gastrointestinal and Liver Pathology (70)’ndan alınmıştır.

CH ağızdan anüse kadar gastrointestinal kanalın herhangi bir kısmını tutabilir. Endoskopik olarak aftöz ya da küçük yüzeysel ülserasyon oluşumu yanı sıra yıldız şeklindeki ülserasyonların longitudinal ve transvers olarak birleşmesiyle CH için karakteristik olan kaldırım taşı görüntüsü gözlenebilir (Şekil 2.11.). Barsağı arada sağlam alanlar bırakarak segmental olarak tutar. CH mukozadan serozaya kadar tüm barsak katmanlarını tutabilir, diğer bir ifadeyle transmural tutulum gösterir (Şekil 2.12.). CH fokal inflamasyon, fibrozis ve barsakların daralmasına neden olan fistüllerin oluşumu ile karakterizedir (61, 72).



Şekil 2.11. Crohn hastalığının makroskopik görünümü. A. Crohn hastalığının segmental tutulumu, sağlam mukozaya ve tutulan alan bir arada. B. Crohn hastalığında tipik kaldırım taşı görünümü. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology (73)'ndan alınmıştır.



Şekil 2.12. Crohn hastalığında transmural inflamasyon. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology (73)'ndan alınmıştır.

CH’nda en erken lezyonlar aftöz ülserler ve kript abseleridir. Kript abselerinde bulunan makrofaj kümeleri mukozadan serozaya kadar tüm barsak katmanlarında nonkazeifiye granülomlar oluşturur. Granülom oluşumu lenf düğümü, mezenter, periton, karaciğer ve pankreasta da gözlenebilir. Cerrahi ya da biyopsi örneklerinin sadece yarısında granüloma rastlanmasına rağmen CH için oldukça patognomoniktir. CH’nın diğer histolojik özellikleri submukozal ya da subserozal lenfoid birikimlerin özellikle ülserasyon alanlarına uzak bölgelerde görülmesi, makroskopik ya da mikroskopik atlama alanlarının bulunması ve barsak duvarının derinliklerine inen fissür, fistül hatları ya da lokal abse oluşumlarıdır (61, 72, 74).

2.1.9. Tanı

Tanı yöntemleri, hastalığın yaygınlığını, aktivitesini ve spesifik komplikasyonlarını belirlemek için kullanılır. İyi bir anamnez ve fizik muayeneden sonra gayta tetkiki, biyokimyasal testler, alt ve üst gastrointestinal sistem endoskopik muayenesi ve histopatolojik değerlendirme ile tanı konulmalıdır. Gerektiğinde radyolojik incelemeler, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme de yapılmalıdır. Bu tetkikler arasında İBH tanısı için en değerli tanı aracı kolonoskopi ve işlem sırasında alınan biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemesidir.

2.1.10. Tedavi

İBH tedavisi hastalığın lokalizasyonu, süresi, aktivitesi ve hastanın tedaviye uyumuna göre farklılık gösterir. Medikal tedavideki amaç akut atakların hafifletilmesi, semptomların kaybolması, hastalığın remisyona sokulması ve remisyonun devamlılığı ve nükslerin önlenmesidir.

Son yıllarda İBH’nın tedavisinde birçok gelişme kaydedilmiştir. İBH tedavisi bir piramit sisteminden oluşmaktadır. Hafif ya da orta şiddetli koliti olan hastalarda aminosalisilatlar ve hastalık alevlenmelerinde sıklıkla kortikosteroidler kullanılmaktadır. Azotiopürin ve 6-Merkaptopürin İBH’nın idame tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Siklosporin, takrolimus ve mikrofenolet mafetil immunsupresif tedavide kullanılmaktadır. İBH’nda önemli bir proinflamatuvar sitokin olan TNF- α ’ya

karşı geliştirilen infliksimab, adalimumab ve sertolizumab da Crohn hastalığında kullanılan biyolojik ajanlardır (61, 75, 76).

İBH hastalarının büyük bir kısmının, çok yönlü bakıma ihtiyacı vardır. Çünkü hastalık, hayatın birçok yönünü etkilemektedir. Tedavi yaklaşımı; beslenme, psikososyal destek, barsak hastalığının kontrolü ve ekstraintestinal tutulumları içermelidir (77).

2.2. Deneyisel Kolit Modelleri

Deneyisel kolit modelleri, İBH'nın etiyolojisinin araştırılması, intestinal kanaldaki histopatolojik ve morfolojik değişikliklerin anlaşılması, hastalığın tedavisinde yeni ilaçların geliştirilmesi ve ilaçların etki mekanizmalarının incelenmesi amacıyla geliştirilmişlerdir. Uygun bir deney modeli; barsağın morfolojik ve histolojik değişikliklerini, barsakta meydana gelen inflamasyonu ve patofizyolojiyi sergileyecek nitelikte ve insanda İBH'nda görülen semptom ve bulguların seyrine benzer ya da özdeş olmalıdır. Aynı zamanda önerilen deney modelinde kullanılan deneğin immun sistem ve genetik özelliklerinin iyi tanımlanmış olması gerekmektedir. Basit, ucuz, kolay bir şekilde uygulanabilir ve tekrarlanabilir olmalıdır (78).

İBH'nda hayvan modelleri beş grupta değerlendirilmektedir;

1. Gen 'knock out' (KO) modeli,
2. Transgenik fare ve rat modeli,
3. Spontane kolit modeli,
4. Adoptif transfer modeli,
5. İndüklenebilir kolit modeli.

2.2.1. Gen 'Knock out' (KO) Modeli

Gen 'knock out' modelleri mevcut bir genin inaktive edilmesiyle veya genin dışlanarak yapay bir DNA parçasıyla yer değiştirmesiyle oluşturulur. KO modelleri spesifik bir organdan, spesifik bir genin değiştirilmesiyle de oluşturulabilir (79).

IL-10; fizyolojik şartlarda barsakta yararlı bakterilere ve normal antijenlere karşı meydana gelen proinflamatuvar yanıtı karşı üretilen antiinflamatuvar özellikteki esas sitokindir. IL-10 KO farede insandaki CH'na benzer şekilde transmural pankolit

ve çekal inflamasyon meydana gelir. IL-2 de T lenfosit aktivasyonu ile meydana gelen inflamatuvar yanıtı düzenleyici bir sitokindir. IL-2 KO farede ince barsak intaktır. ÜK'te olduğu gibi mukoza ve submukozada kronik inflamasyon gözlenir. T hücre reseptör α zinciri (TCR α) KO farede Th2 tip immun yanıt gözlenir. İnsandaki ÜK'e benzer semptom ve bulgular geliştiren kronik kolit tablosu vardır (80).

2.2.2. Transgenik Fare ve Rat Modeli

Transgenik model ilgili genin aşırı ekspresyonu ile oluşturulur. Gen KO modelde olduğu gibi organ veya hücreye spesifik olabilir.

IL-7 transgenik farede barsak mukozasında lenfosit diferansiyasyonu ve proliferasyonun düzenlenmesinde görevli IL-7'nin aşırı ekspresyonu vardır ve insandaki ÜK'e benzer kronik kolit gözlenir. Sinyal dönüştürücü ve aktivatör transkripsiyon-4 (STAT-4), Th1 lenfosit uyarısını sağlayan IL-12'nin önemli bir transkripsiyon faktörüdür. STAT-4 transgenik farede Th1 tip kolit oluşmaktadır. Fare ve ratta HLA-B27 ve β 2 mikroglobulin genlerinin ekspresyonu da tüm gastrointestinal kanalda inflamasyon oluşumuna neden olur (78).

2.2.3. Spontane Kolit Modeli

Spontane kolit modelinde kullanılan deney hayvanlarında dışarıdan herhangi bir müdahale olmaksızın kendiliğinden CH'na benzer inflamasyon oluşur. Bunun için özel olarak üretilen C3H/HeJBir ve SAMP1/Yit fareler kullanılır. Bu hayvanlara ulaşım zor olduğu için kullanım alanı sınırlıdır (79).

2.2.4. Adoptif Transfer Modeli

Adoptif transfer modelde immun yetmezliği olan deney hayvanlarına naif T hücrelerin (CD45RB^{high}) regülatör hücreler olmaksızın transferi ile barsak inflamasyonu indüklenir. Bu model, mukozal immun yanıtın düzenlenmesinde T hücrelerin rollerinin gösterilmesi ve immunolojik ve genetik faktörlerin ortaya çıkartılmasında önemli bir araçtır (79).

2.2.5. İndüklenebilir Kolit Modeli

En sık kullanılan modellerdendir. Dışarıdan lavmanla, gastik lavajla, içme suyuna eklenerek ya da intramural enjeksiyonla bir madde verilerek kolit gelişimi

indüklenir. Diğer modellere göre daha ucuzdur. Erişimi kolay, tekrarlanabilir ve kolaylıkla uygulanabilirler. İndükleyici ajan olarak TNBS, DSS, oksazolon, asetik asit, dinitroklorobenzen sulfonik asit, indometazin, iyodoasetamid, karragenan ve peptidoglikan-polisakkarit kullanılır (11).

TNBS bir haptendir, doku proteinlerine bağlanır, gecikmiş tipte immun yanıtı neden olur. TNBS alkol içerisinde çözündürülerek kolon lümenine verilir. Alkol, çözücü özelliğinin yanı sıra mukoza bariyerini bozarak TNBS'nin inflamasyona neden olmasını sağlar. İBH'nın her iki türünden bulgular gözlenir, ağırlıklı olarak CH'na benzeyen kronik kolit tablosu meydana gelir (81).

Oksazolon da TNBS gibi bir haptendir ancak kolon lümenine uygulamadan önce cilde uygulanarak deney hayvanının sensitize edilmesi gerekir. Th2 aracılı inflamasyon oluşur, ÜK'e benzer ancak akut etkili bir modeldir (81).

Asetik asit seyreltilerek kolon lümenine uygulanır. Non-spesifik immun yanıt meydana gelir. ÜK'e benzer özellikte akut etkili kolit gözlenir (82).

DSS sülfatlanmış dekstran ve anhidro-glukoz birimleri içeren sentetik bir bileşiktir. DSS içme suyuna eklenerek kullanılır. ÜK'e benzeyen akut ve kronik etkili kolit oluşur (78).

Dinitroklorobenzen sulfonik asit haptent ajandır, gecikmiş tip duyarlılık reaksiyonu oluşturur. Kolit oluşturmak için lümeneye verilmeden önce cilde uygulanarak hayvanlar sensitize edilmelidir. Dinitroklorobenzen sulfonik asit verildiğinde oluşan ülserasyon, kript abseleri ve granülosit infiltrasyonu ÜK'teki tabloya benzemektedir. Akut etkili bir modeldir, kronik etki gösterebilmesi için devamlı antijen uygulanması gerekir (79).

İndometazin nonsteroid antiinflamatuvar grubu bir ilaçtır. Cilt altına uygulanan indometazin koruyucu prostoglandinlerin sentezini inhibe ederek epitel hasarını başlatır. Luminal bakteri ve bakteri ürünleri de inflamatuvar yanıtta katkıda bulunur. İnce barsakta ve kolonda ülser oluşumu ve transmural tutulum göstermesiyle CH'na benzer (78).

İyodoasetamid sülfidril bileşiklerini bloke eder. Kolon lümenine iyodoasetamid uygulanması mukoza üzerinde koruyucu etkileri olan endojen sülfidril bileşiklerinin azalmasına neden olur ve ÜK'e benzer kolit tablosu gelişir (78).

Karragenan, kırmızı deniz yosunundan elde edilen yüksek molekül ağırlıklı sülfatlanmış polisakkarittir. Karragenan özütü deney hayvanlarının içme suyuna eklenerek kullanılır. Karragenanın hidrolizi sonucu oluşan ürünler kolonda ülserasyona neden olur. Histolojik açıdan ÜK'e benzeyen bir kolit modelidir (83).

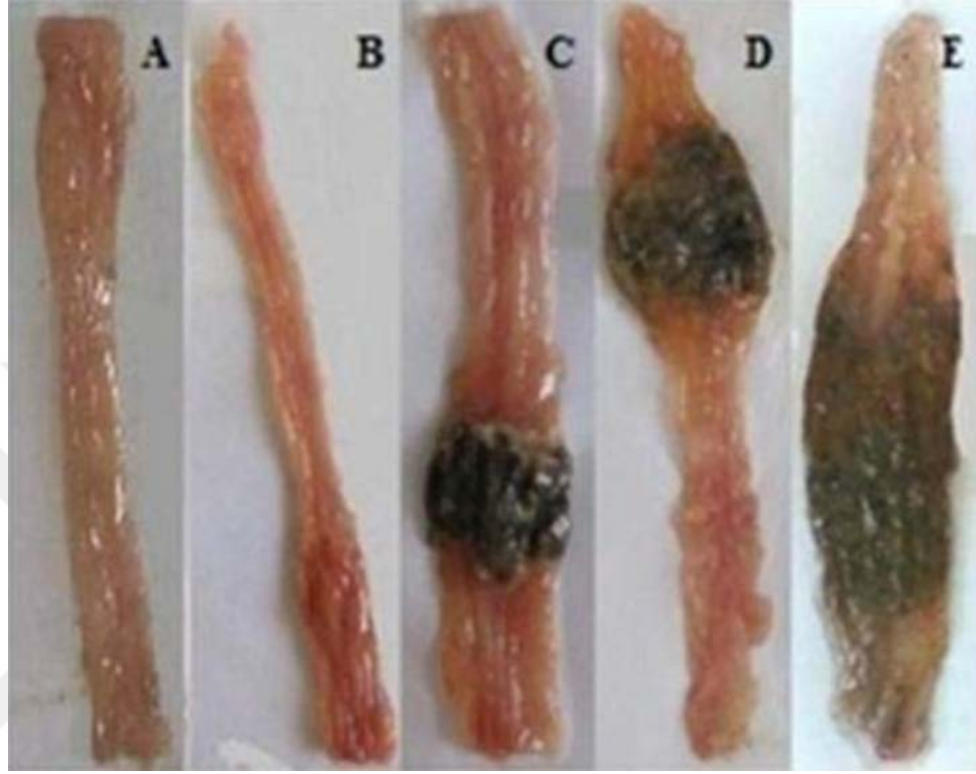
Peptidoglikan-polisakkarit streptokok hücre duvarı bileşenidir ve barsak duvarına doğrudan enjeksiyonu ile CH'na benzer immun yanıt oluşturur (84).

2.2.5.1. TNBS ile İndüklenen Kolit Modeli

TNBS kolit modeli ilk kez Morris ve ark. (85) tarafından tanımlanmıştır. TNBS yüksek molekül ağırlıklı doku proteinlerine bağlanarak antijenik özellik kazanan bir haptendir. Bu modelde TNBS, etanol içerisinde çözündürülerek intrarektal olarak uygulanmaktadır. Etanol çözücü özelliğinin yanı sıra mukoza bariyerini yıkarak inflamasyona katkıda bulunur. Mukoza bariyerini aşan TNBS lizin aminoasidinin E-amino grubuna bağlanır ve hücre yüzey proteinlerini modifiye ederek değiştirir. Bunun sonucu olarak protein-TNBS kompleksi T lenfositler ve makrofaj tarafından antijen olarak görülür ve böylece inflamasyon başlamış olur. TNBS'nin oluşturduğu reaksiyon gecikmiş tipte hipersensitivite reaksiyonudur. TNBS Th1 tip lenfosit aracılı immun yanıtı uyarır ve TNF- α ve IL-12 major sitokinlerdir (79).

TNBS/etanol kolitinde oluşan ilk hasar temel olarak mukozanın etanolle karşılaşmasına bağlı gelişen vasküler konjesyon ve nekrozdur. İnflamasyon ve kanama sahalarının yoğun olduğu mukoza kalınlaşmış ve ödemlidir. Bunu izleyen ilk birkaç saat kolonun distalinde barsak epitelinde yoğun hasar oluşurken yüzeysel hasar bölgeleri hızla onarılır. Ülserasyon alanları koyu kahverengi bir psödo-membran kaplar ve mukozal yüzeyde bir hafta kalır ve kaldırım taşı manzarasını oluşturur (Şekil 2.13.). Nötrofil, monosit ve makrofaj birikimleri, fibroblast ve küçük damarların çoğalması ile karakterize kronik inflamasyon bulguları birinci hafta sonunda oluşmakta ve en az sekiz hafta bu tablo devam etmektedir. İnflamatuvar hücreler eksternal kas ve serozayı infiltre ederek mukozada granülom oluşumuna neden olur.

Langhan's tip dev hücreler de gözlenen histopatolojik bulgulardandır. Belirgin kilo kaybı ve kanlı ishal gözlenen klinik değişikliklerdir (11, 86).



Şekil 2.13. TNBS ile indüklenen kolit görünümü. Salin (A), düşük doz TNBS (B) ve yüksek doz TNBS verilen (C, D ve E) kolon dokusu. E; Crohn hastalığında gözlenen kaldırım taşı manzarası. Motavallian-Naeini ve ark. (86)'ndan alınmıştır.

Morris ve ark. (85) tarafından kronik inflamasyon için farklı TNBS ve etanol dozları kolonda denenmiş ve en etkin ve tekrarlanabilir inflamasyon 0.25 mL %50 etanol içinde 30 mg TNBS olacak şekilde sıçanlara rektal olarak verildiğinde elde edilmiştir.

İBH'nda kolonda meydana gelen immunolojik hasar dikkate alınarak TNBS kolit modeli geliştirilmiştir. Bu model insandaki İBH'na ve özellikle CH'na klinik ve histopatolojik yönden uygunluk sağladığı için kronik kolon inflamasyonunun etiyopatolojisini aydınlatmada uygun bir modeldir. Bu modelin avantajları; kullanılan deney hayvanının ucuz ve kolayca bulunabilen fare ve sıçan türlerinin olması, yöntemin basit ve tekrarlanabilir olması, yeterli şiddette ve uzunlukta CH benzeri ve üzerinde

yeni ajan ve tedavilerin denenebileceği bir hastalık tablosu ortaya koymasidir. Dezavantjları ise; daha çok kronik etkili kolitin oluşması, TNBS'nin yapısından kaynaklanan variabilitesi, TNBS'ye karşı her hayvanın duyarlılığının farklı olması ve insandaki İBH'na benzer spontane relapsların olmamasıdır (79).

2.2.5.2. Asetik Asit ile İndüklenen Kolit Modeli

Asetik asit ÜK'e benzeyen, kolona sınırlı akut inflamasyon oluşturur. Seyreltilmiş asetik asidin kolon lümenine uygulanmasıyla indüklenen deney modelinde ülserasyon ve kript yapısında bozulma gözlenir. Bu modelde hasar, asetik asidin konsantrasyonuna ve asetik asidin kolon mukozası ile doğrudan temas ettiği yüzeyin genişliğine bağlı olarak oluşan epitelyal nekroz ve ödemle ilişkilidir. Epitelyal hasarın organik asitlere karşı gelişen spesifik bir reaksiyonun sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir çünkü aynı pH'da hidroklorik asit ile kolit indüksiyonu denenmiş ancak benzer bir hasar oluşmadığı gözlenmiştir (87). Asetik asidin protonlanmış formu hücre içi ortamdaki protonları hücre dışına serbestleştirir ve masif epitelyal hasar ile sonuçlanan hücre içi asidifikasyona neden olur (88).

Asetik asit modeli ilk kez MacPherson ve ark. (89) tarafından tanımlanmıştır. Yamada ve ark. (87) tarafından modifiye edilerek geliştirilmiştir. Buna göre hafif anestezi altındaki ratlara 1.5 mL % 4 asetik asit bir kanül aracılığı ile anüsten 8 cm proksimale kolon lümenine uygulanarak 30 saniye boyunca kolon mukozası ile teması sağlanır ve 1.5 mL fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile yıkanır.

Asetik asit uygulaması ilk 4 saat içerisinde inflamasyon olmadan epitelyal hasar ile sonuçlanır. Geçici lokal iskemi ilk hasara katkıda bulunabilir ancak nötrofiller erken dönemde gözlenmemektedir. İlk hasarı takiben akut inflamatuvar hücreler gelir ve 12 saat içerisinde maksimum yoğunluğa ulaşır. Mukoza ve submukozada non-spesifik inflamasyon oluşur. İnflamasyon 3-4 günden sonra gerilemeye başlar ve kimyasal hasar farelerde günler içerisinde, ratlarda ise 2-3 hafta içerisinde tamamen iyileşir (79).

Ucuz, uygulaması kolay ve tekrarlanabilir bir modeldir. Akut inflamasyona neden olduğu için insanda İBH'nı tam anlamıyla temsil edemez. Asetik asit uygulaması sonucu ilk 24 saat içerisinde meydana gelen hasar immunolojik değildir.

Bu nedenle immun sistemi hedef alan ilaç çalışmalarına indüksiyondan 24 saat sonra başlanması gerekmektedir (82).

2.3. İBH’nda İncelenen Biyokimyasal Belirteçler

2.3.1. Serum Amiloid A (SAA)

Serum amiloid A inflamasyon ve stres durumunda artan bir akut faz proteinidir. CRP gibi 12 saat içerisinde artış gösterir ve 2-3 gün içerisinde pik yaptığı noktaya ulaşır. 104 aminoasitten oluşur, 12-14 kDa ağırlığındadır ve asıl olarak karaciğerden sentezlenir. Karaciğer dışında makrofaj, endotel hücresi, düz kas hücresi, adiposit gibi birçok hücreden sentezlenmektedir (90).

SAA romatoid artrit, ankilozan spondilit, osteomiyelit, psöriazis, ateroskleroz gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda; tüberküloz gibi kronik enfeksiyonlarda; kızamık, kızamıkçık, suçiçeği ve herpes gibi viral enfeksiyonlarda ve organ transplantasyonu sonrası dramatik bir artış göstermektedir. İBH’nda da hastalık aktivitesi ile orantılı olarak arttığı gösterilmiştir. Sistemik inflamasyonun gösterilmesinde diğer CRP, sedimentasyon gibi belirteçlere göre daha duyarlıdır (91).

Kronik hastalıklara ikincil olarak fazla SAA proteininin yıkılması ile 5-9 kDa ağırlığında suda çözünmeyen 76 aminoasitlik fragman dokularda hücre dışında birikir ve AA amiloidozis olarak isimlendirilir. Bu birikim organ fonksiyonlarında bozulmaya yol açar. AA depozitleri sıklıkla böbrek, karaciğer ve dalakta gözlenir ve nefrotik sendrom ve hepatosplenomegali ile sonuçlanır. Romatoid artrit ve diğer inflamatuvar eklem hastalıklarında; tüberküloz, osteomiyelit gibi kronik enfeksiyonlarda ve Hodgkin hastalığı gibi bazı malignitelerde meydana gelir (92).

İnsanda ve farede 4 adet SAA izoformu tanımlanmıştır. SAA1 ve SAA2 akut faz cevabı süresince dolaşımda ağırlıklı olarak bulunan formudur ve esas üretim yeri karaciğerdir. SAA3 akut ve kronik inflamatuvar cevapta temel olarak makrofajlardan eksprese edilir. SAA4 ise normal koşullarda yapısal olarak eksprese edilir (93).

SAA yapısal olarak apolipoproteinlere benzer ve bütün formları lipoproteinlere (özellikle HDL) bağlanır. Apolipoprotein A-1 negatif akut faz reaktanıdır ve akut faz cevabında azalır. Apolipoprotein A-1 yerine SAA bağlanır ve inflamatuvar süreçte HDL’nin ana apolipoproteinine haline gelir ve hücrelerden serbest

kolesterolün taşınmasını sağlar. Bu özelliği ile SAA'nın aterosklerozda inflamasyonu azalttığı düşünülmektedir (92, 94).

SAA'nın asıl biyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemesine karşın dolaşımdaki monosit ve polimorfonükleer lökositlerin migrasyon, adezyon ve kemotaksisini indüklediği ve ek olarak monosit hücre kültürlerinden IL-1 β , IL-1 reseptör antagonisti ve TNF reseptörü üretimine yol açtığı gösterilmiştir (95).

Barsak mukozası geniş bir yüzey alanına sahiptir ve devamlı bakteriler ve onların ürünleri ile temas içerisinde. Barsak mukozasından da SAA proteinlerinin salındığı gösterilmiştir ve özellikle gram negatif bakterilere karşı konak savunmasında rol alır. SAA Escherichia coli'nin dış membran proteinine bağlanarak fagositozunu kolaylaştırır (96). Yapılan bir çalışmada TNF- α , IL-6 ve IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinlerin intestinal epitelden SAA salgılanmasını uyardıkları bildirilmiştir (97). SAA barsakta lokal olarak savunma sisteminde rol almaktadır (98, 99).

2.3.2. Myeloperoksidaz (MPO)

Myeloperoksidaz moleküler ağırlığı 144 kDa ve $\alpha 2 \beta 2$ alt birimlerini içeren tetramer yapıda bir hemoproteindir. İki ağır (57 kDa) ve iki de hafif (15 kDa) zincir içerir. Polimorfonükleer lökositlerin azurofil granüllerinde bol miktarda bulunur. Diğer inflamatuvar hücreler olan monosit ve makrofajlarda çok az miktarda bulunur veya hiç bulunmaz. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun kantitatif ve duyarlı bir göstergesi olarak MPO aktivitesi ölçülmektedir (100).

Yabancı partiküllerin fagositozuyla birlikte polimorfonükleer lökositlerin azurofilik granüllerinde bulunan MPO hidrojen peroksit ve klor iyonundan potent bir oksidan molekül olan hipoklorik asit (HOCl) üretir. HOCl mikrosidal bir aktiviteye sahiptir ve böylece MPO konak savunmasında patojen mikroorganizmalara karşı önemli bir rol üstlenir (101).

Paradoksal olarak MPO aterosklerozda hasar verici bir rol oynar. Aterosklerotik plakta bulunan nötrofillerden ve az miktar da olsa makrofajlardan MPO salınır. MPO latent metaloproteinazları aktive ederek plak destabilizasyonuna neden olur. Ayrıca MPO aterosklerozda koruyucu bir rolü olan nitrik oksidi substrat olarak kullanarak biyolojik etkisini azaltır ve endotel disfonksiyonuna neden olur (101, 102).

İnflamatuvar süreçte aktive polimorfonükleer lökositlerden hücre dışı aralığa ve kan dolaşımına MPO salınır. MPO'nun ürettiği HOCl aminoasit ve proteinlerin parçalanmasına yol açarak 3-klorotirozin gibi ürünlerin açığa çıkmasına neden olur. Ayrıca LDL'nin ve HDL'nin yapısında bulunan apolipoprotein A-1'in oksidasyonuna yol açar ve böylece HDL'nin ters kolesterol taşınmasında bozulma meydana gelir (103).

MPO zararlı mikroorganizmaları ve belirli tümörleri yok edici etkisi nedeniyle savunma sisteminde önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte MPO birçok maddeyi yükseltgeyerek serbest radikal meydana gelmesine sebep olmaktadır. İnflamasyon durumunda MPO nötrofil aktivasyonunun bir göstergesi olarak kullanılır (100, 104).

2.3.3. Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α)

TNF geninin, altıncı kromozomu üzerinde temel doku uygunluk kompleksi (MHC) gen lokusunun içinde HLA sınıf I ve II arasında yer aldığı gösterilmiştir. Benzer biyolojik özelliklerde iki formu saptanmıştır. TNF- α (kaşektin) özellikle makrofajlardan ve TNF- β (lenfotoksin) ise özellikle lenfositlerden üretilmektedir (105). TNF bir transmembran proteini olarak üretilir ve spesifik bir metalloproteinaz aracılığı ile bölünerek serbestleştirilir. İBH'nda lamina propriada bulunan mononükleer hücreler tarafından hem membran bağlı TNF hem de serbest TNF üretimi artmıştır (3).

Doku travması veya enfeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar yanıt, proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. TNF- α , İBH patogeneğinde mukozal immün yanıtta önemli rol oynayan proinflamatuvar bir sitokindir. TNF- α , diğer proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyaran transkripsiyon faktörü nükleer faktör- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$)'yı aktive eder (106). TNF- α sentezinin kaynağı monositler, makrofajlar, T hücreleri, polimorfonükleer lökositler, NK hücreleri ve endotelial hücrelerdir. TNF- α , nötrofilleri ve makrofajları aktive eder, B hücrelerini uyarır, mukozal T hücreleri aracılığı ile IFN- γ 'nın üretimini artırarak intraepitelyal lenfosit proliferasyonuna ve migrasyonuna neden olur. Etkisini IL-6'yı artırarak gösterir. IL-6, IL-1 ile beraber İBH'nın semptomlarına katkıda bulunur ve akut faz

proteinlerinin üretimine neden olur. TNF- α granülom oluşumuna yol açan bir sitokin olup CH'nın patogeneğinde önemli bir role sahiptir (37).

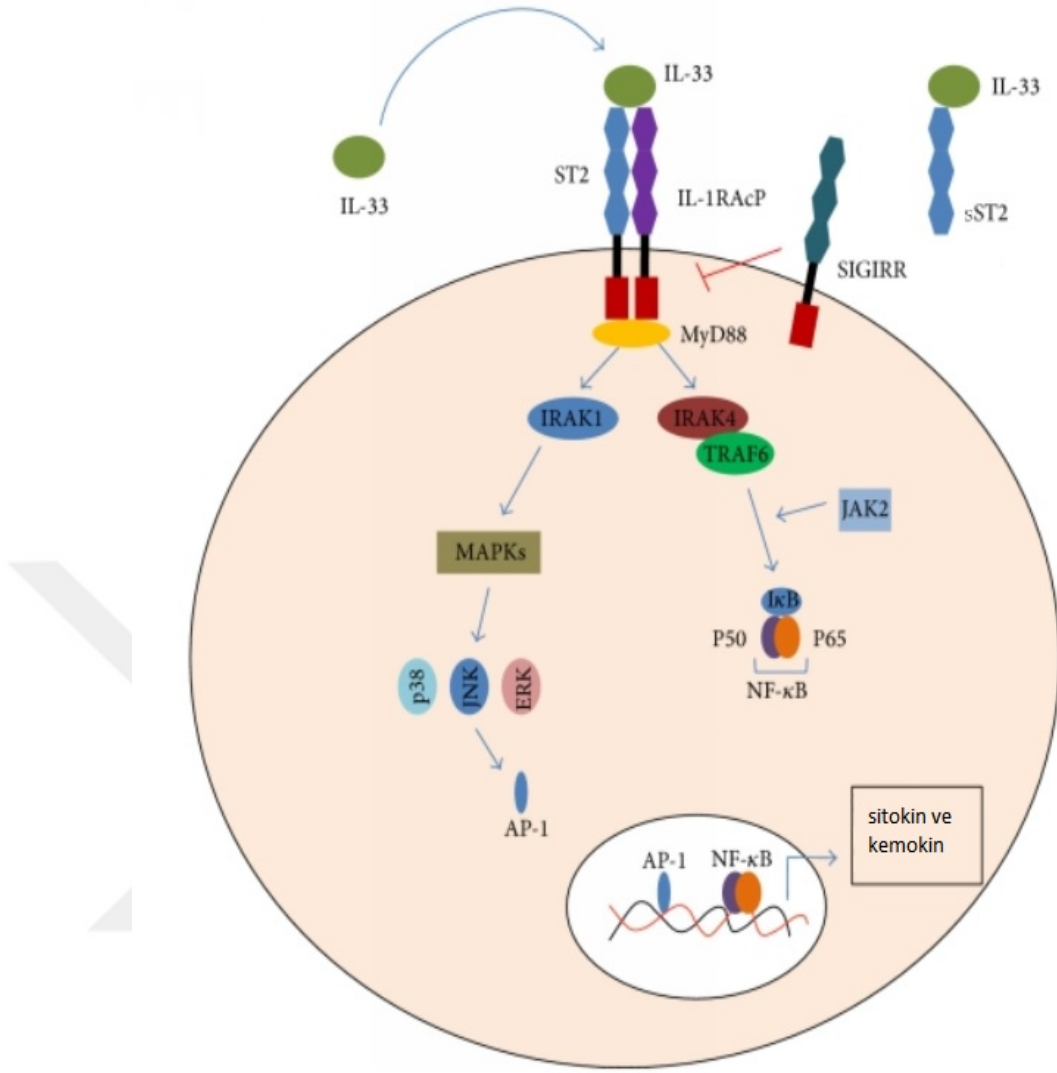
Son yıllarda TNF- α 'nın oluşturduğu proinflatuvar etkiler dikkate alındığında TNF- α 'nın bloke edilmesi en güncel tedavilerden biri olan biyolojik tedavi yönteminin de temelini oluşturmuştur. İnflamasyonlu mukozadaki TNF- α üretiminin inhibisyonu (infliksimab; TNF- α antikoru) ile hastalığın tedavisi mümkün olabilmektedir (107).

TNF- α , gram negatif bakterilere yönelik konak yanıtının oluşmasında temel sitokindir. Yüksek konsantrasyonlu lipopolisakkarite bağlı oluşan doku hasarı, damar içi pıhtılaşma ve septik şoktan sorumludur. TNF- α 'nın temel kaynağı, LPS'in uyardığı mononükleer fagositlerdir. Ayrıca bu sitokin, antijen ile uyarılmış T hücreleri, aktive edilen NK hücreleri ve aktive edilmiş mast hücreleri tarafından da salgılanır (108).

2.3.4. İnterlökin 33 (IL-33) ve İnterlökin 1 Reseptör İlişkili Protein (ST2)

IL-33, IL-1 sitokin ailesine ait olup 2005 yılında Schmitz ve ark. (52) tarafından tanımlanmıştır. IL-33 fibroblast, adiposit, beyaz kas hücreleri, endotel, epitel, makrofaj ve dendritik hücreler tarafından üretilir. IL-33, 30 kDa ağırlığındadır. Diğer sitokinler kaspazlar aracılığı ile aktive olurken IL-33 ilk sentezlendiği tam uzunluktaki formunda aktiftir ve kaspazlar ile inaktive edilir (8).

IL-33'ün reseptörü heterodimerik yapıdadır. Reseptör IL-1 reseptör aksesuar protein (IL-1RAcP) ve ST2 olmak üzere iki alt biriminden oluşur. IL-1RAcP, IL-1 ailesinden diğer sitokinler için de ortak bir reseptör olarak çalışır. ST2, IL-1 reseptör ailesinin bir üyesidir. İngilizce 'stimulation gene 2'den türetilmiştir ve IL-1 reseptör ilişkili protein olarak da bilinir. ST2'nin membran bağlı formu (ST2L) ve solubl formu (sST2) olmak üzere iki izoformu vardır. ST2L bir transmembran reseptördür, IL-33'ün etkilerinden sorumludur. IL-33, reseptörde ST2'ye bağlanır. IL-33/ST2 kompleksi reseptörün IL-1RAcP alt birimiyle beraber hücre içerisinde sitokin ve kemokin sentezini uyaran transkripsiyon faktörlerini aktive eder. sST2 ise IL-33 için bir tuzak reseptörüdür. sST2 IL-33'e sıkıca bağlanır ve membran bağlı ST2'ye bağlanmasına engel olarak IL-33'ün etkilerini inhibe eder (10, 109) (Şekil 2.14.).



Şekil 2.14. IL-33/ST2 sinyal yolağı. IL-33 ligandı ST2'ye bağlanır. Sinyal ileti molekülü olarak myeloid diferansiasyon primer cevap protein 88 (MyD88) ve IL-1 reseptör ilişkili kinaz (IRAK) kullanır, hücre içi nükleer faktör $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) ve mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) transkripsiyon yolaklarını aktive eder. IL-2, IL-5, IL-13, TNF- α , ve IFN- γ sitokin üretimini indükler. sST, IL-33'ün etkilerini nötralize eder. Ayrıca tek immünglobulin IL-1R ilişkili molekül (SIGIRR) de IL33/ST2 yolağını inhibe eder. Zhao ve ark. (110)'ndan alınmıştır.

ST2, Th2 tip lenfositlerin ve epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunur. Th1 aracılı immun yanıtı uyaran IL-1 ailesinin diğer üyelerinin aksine IL-33 Th2 yüzeyinde bulunan ST2'ye bağlanarak Th2 aracılı immun yanıtı uyarır ve Th2 tip sitokinlerin üretimini artırır. Th2 hücrelerin immun yanıtlarını düzenleyip, inflamatuvar ve immun olaylarda rol oynadığı düşünülmektedir (52).

IL-33/ST2 sinyal yolağı astım, romatoid artrit, kontakt dermatit, psöriazis, anaflaksi gibi birçok Th2 aracılı inflamatuvar hastalıkta aktive olduğu bulunmuştur (10). Aktif ÜK'li hastaların mukozasında da spesifik olarak artışı bildirilmiştir (8).

Son yıllarda sST2'nin IL-33'ü bağlayarak Alzheimer hastalığı ve ateroskleroz gelişiminde koruyucu olduğu ve deneysel artrit, alerjik hava yolu inflamasyonu ve hepatik iskemi/reperfüzyon hasarında düzenleyici bir rolü olduğu gösterilmiştir. Kronik inflamasyonda yüksek sST2 düzeyi hastalık sürecinde kontrol edici bir mekanizma olduğunu düşündürmektedir (111-115).

IL-33 Th2 yüzeyinde bulunan ST2 reseptörüne bağlanarak tip 2 sitokin üretimini artırır ve Th2 aracılı immunitenin aktive olduğu hastalıklarda yıkıcı bir etkisi vardır. Bununla birlikte ateroskleroz ve greft reddi gibi Th1/Th17 aracılı immunitenin aktive olduğu durumlarda IL-33 ile Th1/Th17 uyarısı Th2 yönüne kaydırılarak ateroskleroz gelişiminin azaldığı ve greft reddinin inhibe edildiği rapor edilmiştir (114, 116). Th1 aracılı immunitenin aktive olduğu CH'nda da IL-33'ün etkileri deney modelleri ile araştırılmıştır. TNBS ile indüklenen kolit modelinde rekombinant IL-33 uygulamasının Th1 uyarısını Th2/T_{reg} yönüne çevirdiği ve deneysel kolitte koruyucu bir rolü olduğu gösterilmiştir (117). DSS ile oluşturulan bir kolit modelinde de akut ve kronik inflamatuvar dönemde IL-33'ün etkileri incelenmiş ve akut dönemde IL-33'ün koliti hafifçe şiddetlendirdiği, kronik dönemde ise Th1 cevabını Th2 yönüne çevirerek genel olarak inflamasyon parametrelerini azalttığı rapor edilmiştir. Kronik inflamasyon süresince IL-33 ile nötrofil akışı indüklenmektedir ve bu hasarlı epitel tabakasından patojen bakteri translokasyonunu azaltarak inflamasyonun azalmasına neden olmaktadır. IL-33'ün CH gibi Th1 aracılı immun yanıtın aktive olduğu hastalıklarda gelecekte alternatif bir tedavi olacağını düşündürmektedir (118).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Abant İzzet Baysal Üniversitesi (AİBÜ) Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'nun 16.01.2015 tarih ve 2 sayılı kararı ile çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna dair onay alındı.

3.2. Deney Hayvanları

Deney hayvanları AİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden edinildi. Bu çalışmada; 2-4 aylık erişkin, 200-250 gr ağırlığında 56 adet erkek Wistar albino cinsi rat kullanıldı. Denekler 22-24°C ısı ve % 45-50 nemli odalarda 12 saat aydınlık, 12 saat karanlıkta barındırıldı ve herhangi bir yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın ad libitum beslendi.

3.3. Kolit İndüksiyonunda Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması

Deney gruplarında kolit indükleyici ajan olarak asetik asit ve TNBS kullanıldı.

Asetik asit hazırlanması: Konsantre (% 100) asetik asit (Merck, Darmstadt, Almanya) ve distile su ile % 4 oranında seyreltik asetik asit çözeltisi hazırlandı.

TNBS hazırlanması: Konsantre (% 100) etanol (Merck, Darmstadt, Almanya) distile su ile seyreltilerek % 50'lik etanol çözeltisi hazırlandı. 30 mg TNBS (0.6 mL) (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO), 0.25 mL % 50 etanol çözeltisi ile karıştırılarak hazırlandı.

3.4. Kolit İndüksiyonu

Beslenme katateri (no 6 polipropilen feeding tüp, Bıçakçılar, İstanbul, Türkiye) ucu anüsten 8 cm içeri proksimale iletildi. Bu katater aracılığıyla indükleyici ajan yavaşça kolona verildi. Kataterde kalan indükleyici ajanın arkasından 1 cc hava verilerek kataterin içeriğinin boşaltılması sağlandı. Daha sonra ratlar verilen ajanın geri kaçmasını engellemek için 30 saniye süre ile kuyruktan kaldırılıp baş aşağı tutularak Trandelenburg pozisyonunda bekletildi. Bu esnada verilen ajanın kolona yayılması için batına yavaşça masaj yapıldı (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Kolit indüksiyonu

3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması

Rastgele seçilen denekler 4 gruba ayrıldı, her bir grup 3. gün ve 7. gün sakrifiye edilenler olmak üzere 2 alt gruba ayrıldı (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Deney grupları

Deney grupları	3. gün sakrifiyasyon (n=7)	7. gün sakrifiyasyon (n=7)	Yapılan işlem
Kontrol grubu	IA	IB	1.5 mL % 0.9 serum fizyolojik (SF) verildi.
Asetik asit grubu	IIA	IIB	1.5 mL % 4 asetik asit verildi. Arkasından 1.5 mL SF ile yıkandı.
TNBS grubu	IIIA	IIIB	30 mg TNBS 0.25 mL % 50 etanol çözeltisi ile verildi.
Kombine grup	IVA	IVB	1.5 mL % 4 asetik asit verildi. Arkasından 1.5 mL SF ile yıkandı. 10 dakika sonra 30 mg TNBS verildi.

Tüm deneklerin başlangıç ve son ağırlıkları tartılarak kaydedildi (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Deneklerin ağırlıklarının tartılması

Tüm gruplara işlem öncesi intramusküler ketamin (Ketasol, Richter Pharma AG, Wels, Avusturya) 50 mg/kg dozunda uygulandı (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Anestezi uygulaması

Kolit indüksiyonunu takiben üçüncü ve yedinci günlerde tüm ratlara 50 mg/kg ketamin anestezisi sonrası orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı, eksplorasyon

gerçekleştirildi. SAA ve MPO çalışılmak üzere yaklaşık 5 ml intrakardiak kan örneği alındı (Şekil 3.4.). Takiben rektum distalde mümkün olan en aşağı seviyeden transekte edildi ve ileuma kadar tüm kolon çıkartıldı (Şekil 3.5.). Çıkarılan her kolonun anüsten itibaren 8-10 cm arası % 0.9 SF ile yıkanarak katkısız tüplere konularak biyokimyasal analiz (TNF- α , IL-33 ve ST2) için ayrılmıştır. Geriye kalan kolon segmenti formol içerisinde patolojik değerlendirme için saklanmıştır.



Şekil 3.4. İntrakardiak kan alınması



Şekil 3.5. Kolonun çıkartılması

3.6. Kullanılan Cihazlar ve Kalite Kontrolü

Laboratuvar çalışmaları AİBÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda yapıldı.

Ölçümler sırasında kullanılan cihazlar;

1. Homojenizatör; Ultra Turrax T8 (IKA Werke, Staufen, Almanya)
2. Santrifüj; NF048 ve NF800 (Nüve, Ankara, Türkiye)
3. Dondurucu; HERAFreeze -86°C (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, ABD)
4. ELISA mikropalak okuyucu; Benchmark Plus Mikropalak Okuyucu (Biorad, Segrate-Milano, İtalya)
5. Hassas terazi; XB 220A (Precisa Gravimetrics AG, Dietikon, İsviçre)
6. Otomatik pipetler (Eppendorf AG, Hamburg, Almanya)

3.7. Doku Homojenizasyonu

Kolon dokusu örneklerinde TNF- α , IL-33 ve ST2 düzeyleri çalışıldı.

Kolon dokusu örnekleri kademeli olarak çözdürüldükten sonra ağırlıkları tartıldı. 100 mg doku örneği 900 mL fosfat tampon çözeltisi (0,02 mM, pH 7.0-7.2) içerisinde 1:9 (w/v) oranında karıştırıldı. Örnekler buz dolu bir kap içerisinde homojenizatör ile 16000 devir/dakika hızda homojenize edildi. Daha sonra 1500xg'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edildi.

3.8. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Tüm standartlar, kontroller, kitler, plazma ve doku homojenatları kullanmaya başlamadan önce oda ısısına (18-26 °C) getirildi.

3.8.1. SAA Ölçümü

Plazma SAA düzeyi MyBioSource rat SAA ELISA kiti (Katalog no: MBS731638; MyBioSource, San Diego, CA, ABD) kullanılarak ölçüldü. Üretici firma tarafından testin tekrarlanabilirliği çalışma içi (intraassay) <% 9, çalışma arası (interassay) <% 10, duyarlılığı 0.1 µg/mL olarak bildirilmiştir.

Deneyden önce örnekler 1/20 oranında % 0,9 serum fizyolojik ile dilüe edildi. Test sonuçları 10 µg/mL, 5 µg/mL, 2.5 µg/mL, 1 µg/mL, 0.5 µg/mL ve 0 µg/mL standartlar kullanılarak oluşturulan logaritmik kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. Ölçümler 450 nm’de yapıldı. Sonuçlar µg/mL olarak verildi.

3.8.2. MPO Ölçümü

Plazma MPO düzeyleri Hycult Biotech rat MPO ELISA kiti (Katalog no: HK105; Hycult Biotech, Uden, Hollanda) kullanılarak ölçüldü. Üretici firma tarafından ölçüm aralığı 3.9 ng/mL ile 250 ng/mL olarak bildirilmiştir.

Deneyden önce üretici firma tarafından sağlanan dilüent ile plazma örnekleri 1/40, oranında dilüe edildi. Test sonuçları 250 ng/mL, 125 ng/mL, 63 ng/mL, 31 ng/mL, 15.6 ng/mL, 7.8 ng/mL, 3.9 ng/mL ve 0 ng/mL standartlar kullanılarak oluşturulan logaritmik kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. Ölçümler 450 nm’de yapıldı. Sonuçlar µg/mL olarak verildi.

3.8.3. TNF-α Ölçümü

Kolon dokusu TNF-α düzeyi eBioscience rat TNF-α ELISA kiti (Katalog no: BMS622; eBioscience, San Diego, CA, ABD) kullanılarak ölçüldü. Üretici firma tarafından testin tekrarlanabilirliği çalışma içi <% 5, çalışma arası <% 10, duyarlılığı 11 pg/mL olarak bildirilmiştir.

Test sonuçları 2500 pg/mL, 1250 pg/mL, 625 pg/mL, 312.5 pg/mL, 156.3 pg/mL, 78.1 pg/mL ve 39.1 pg/mL standartlar kullanılarak oluşturulan logaritmik kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. Ölçümler 450 nm’de yapıldı. Sonuçlar doku protein miktarına bölünerek pg/mg protein olarak verildi.

3.8.4. IL-33 Ölçümü

Kolon dokusu IL-33 düzeyi R&D rat IL-33 ELISA kiti (Katalog no: M3300; R&D, Minneapolis, MN, ABD) kullanılarak ölçüldü. Üretici firma tarafından testin tekrarlanabilirliği düşük, orta ve yüksek serum havuzlarında sırasıyla çalışma içi % 9.6, % 5.8, % 5.3 ve çalışma arası % 10.2, % 5.8, % 5, duyarlılığı 6.85 pg/mL olarak bildirilmiştir.

Test sonuçları 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 125 pg/mL, 62.5 pg/mL ve 31.2 pg/mL standartlar kullanılarak oluşturulan logaritmik kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. Ölçümler 450 nm’de yapıldı. Sonuçlar doku protein miktarına bölünerek pg/mg protein olarak verildi.

3.8.5. ST2 Ölçümü

Kolon dokusu ST2 düzeyi MyBioSource rat IL-33/ST2 ELISA kiti (Katalog no: MBS720902; MyBioSource, San Diego, CA, ABD) kullanılarak ölçüldü. Üretici firma tarafından testin tekrarlanabilirliği çalışma içi <% 9, çalışma arası <% 10 ve duyarlılığı 1 pg/mL olarak bildirilmiştir.

Test sonuçları 1000 pg/mL, 500 pg/mL, 250 pg/mL, 100 pg/mL, 50 pg/mL ve 0 pg/mL standartlar kullanılarak oluşturulan logaritmik kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. Ölçümler 450 nm’de yapıldı. Sonuçlar doku protein miktarına bölünerek pg/mg protein olarak verildi.

3.8.6. Doku Proteini Ölçümü

Kolon dokusu protein miktarı bikinkoninik asit yöntemini kullanan Pierce BCA protein analiz kiti (Thermo Scientific, Rockford, IL, ABD) ile ölçüldü. Üretici firma tarafından testin tekrarlanabilirliği % 14.7 olarak verildi.

Test sonuçları 2000 µg/mL, 1500 µg/mL, 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL ve 25 µg/mL albümin standart kullanılarak lineer kalibrasyon eğrisi ile hesaplandı. Ölçümler 562 nm’de yapıldı.

3.9. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme AİBÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı’nda yapıldı. Doku örnekleri % 10’luk tamponlanmış formalin solüsyonunda (Moslab, Ankara, Türkiye) fikse edildi. Kolon dokusundan tam kat alınan örnekler kasetlendi ve rutin doku takibi sonrasında parafine gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikronluk kesitler hazırlandı ve Hematoksilen&Eozin (H&E) (Merck, Darmstadt, Almanya) ile boyandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobu altında aşağıda Tablo 3.2.’de verilen kriterlere göre değerlendirildi.

Tablo 3.2. Mikroskopik hasar skorlaması (85)

Değerlendirilen bölge		Skor			
		0	1	2	3
Mukoza epiteli	İntraepitelyal lenfosit	yok	hafif	ılımlı	ağır
	Ülserasyon	yok	hafif yüzeysel	ılımlı	tam kat
Kriptler	Mitotik aktivite	alt 1/3	hafif orta 1/3	orta 2/3	üst 1/3
	Mukus birikimi	yok	hafif	ılımlı	ağır
Lamina propria	Vaskülarite	yok	hafif	ılımlı	ağır
	Granülosit birikimi	yok	hafif	ılımlı	ağır
	Mononükleer hücre birikimi	yok	hafif	ılımlı	ağır
Submukoza	Ödem	yok	hafif	ılımlı	ağır
	Granülosit birikimi	yok	hafif	ılımlı	ağır
	Mononükleer hücre birikimi	yok	hafif	ılımlı	ağır
Fibrozis		yok	var		

3.10. İstatistiksel Analiz

İstatistik değerlendirme SPSS (22 versiyonu) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogorov Smirnov testi ile incelendi. Dağılımı normal olan veriler ortalama $\pm$ standart sapma ve dağılımı normal olmayan veriler ortanca $\pm$ standart hata olarak verildi. Dağılımı normal olan parametrelerde One Way ANOVA ile gruplar değerlendirildi. Anlamlı çıkan parametrelerde post hoc Tukey testi ile gruplar arası fark incelendi. Dağılımı normal olmayan parametrelerde Kruskal Wallis Varyans Analizini takiben gruplar arası fark Mann Whitney U ile incelendi. Deney başlangıcı ve sonunda grupların ortalama ağırlıkları bağımlı örneklem t testi ile değerlendirildi. Kesin p değerleri verildi, sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

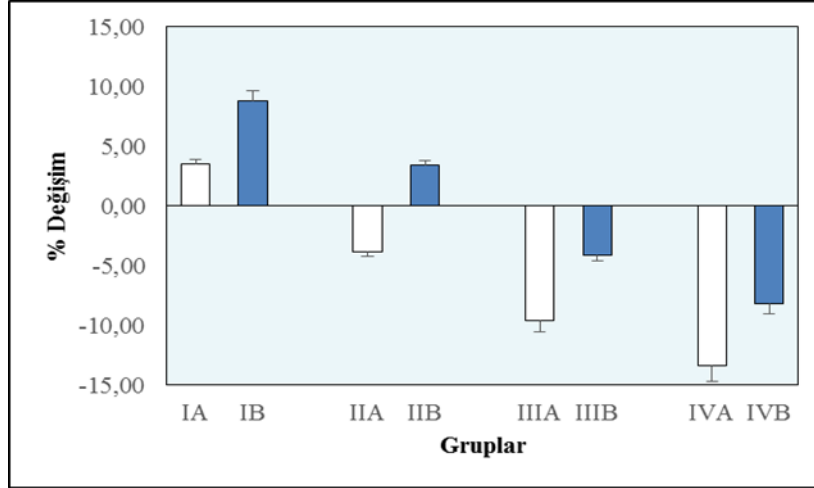
4.1. Ağırlıkların Değerlendirilmesi

Kolit modellerinin karşılaştırıldığı bu çalışmada kilo kaybı kolit oluşumunu değerlendirmede bir kriter olarak kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan 2-4 aylık Wistar albino erkek ratların deney başlangıcında ve deney sonucunda ortalama ağırlıkları karşılaştırılmış ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma, ağırlıklarının % değişimi ve p değerleri ile birlikte Tablo 4.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Deney öncesi ve sonrası ortalama ağırlıklar

Gruplar	Başlangıç ağırlığı (g)	Deney sonu ağırlığı (g)	Değişim (%)	p değeri
IA	208.57 $\pm$ 20.15	215.89 $\pm$ 21.16	+ % 3.51	0.387
IB	187.29 $\pm$ 24.10	203.76 $\pm$ 23.09	+ % 8.79	0.000
IIA	214.07 $\pm$ 9.99	205.94 $\pm$ 15.10	- % 3.80	0.047
IIB	207.71 $\pm$ 18.14	214.92 $\pm$ 24.32	+ % 3.47	0.043
IIIA	251.01 $\pm$ 29.64	226.9 $\pm$ 27.43	- % 9.61	0.000
IIIB	233.43 $\pm$ 31.17	218.84 $\pm$ 33.70	- % 6.25	0.041
IVA	231.76 $\pm$ 20.43	200.79 $\pm$ 25.92	- % 13.36	0.002
IVB	233.02 $\pm$ 21.2	204.69 $\pm$ 25.27	- % 12.16	0.009

Kontrol gruplarında normal beslenmeye bağlı kilo artışı gözlenmiştir. Asetik asit grubunda 3. günde (IIA) kilo kaybı istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (p=0.047) 7. günde (IIB) kilo artışı gözlenmiştir. TNBS ve kombine gruplarında ise kilo kaybı hem 3. günde (IIIA ve IVA) hem de 7. günde (IIIB ve IVB) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Şekil 4.1.). Deney gruplarında en belirgin kombine grupta olmak üzere ishal izlenmiştir. Asetik asit grubunda ishal 3. günden sonra azalmıştır. TNBS ve kombine grupta ise ishal 7. günde hala devam etmekteydi. Kombine grupta ishal kanlı ve daha belirgin olarak izlenmiştir.

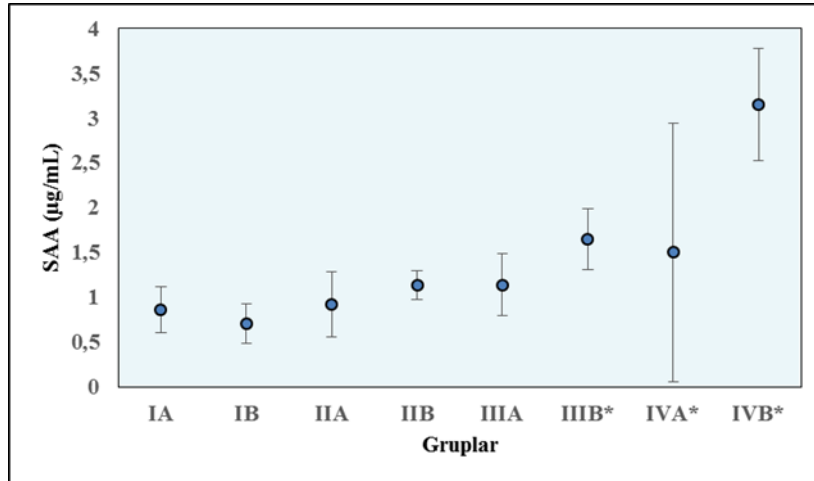


Şekil 4.1. Ağırlıkların değerlendirilmesi

4.2. Biyokimyasal Ölçümlerin Değerlendirilmesi

Sonuçlar Kolmogorov Smirnov testi ile dağılımına bakılarak parametrik ve nonparametrik olarak ikiye ayrıldı. Buna göre MPO parametrik testtir ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirtildi. SAA, TNF- α , IL-33 ve ST2 ise nonparametrik testlerdir ve sonuçlar ortanca $\pm$ standart hata olarak ifade edildi.

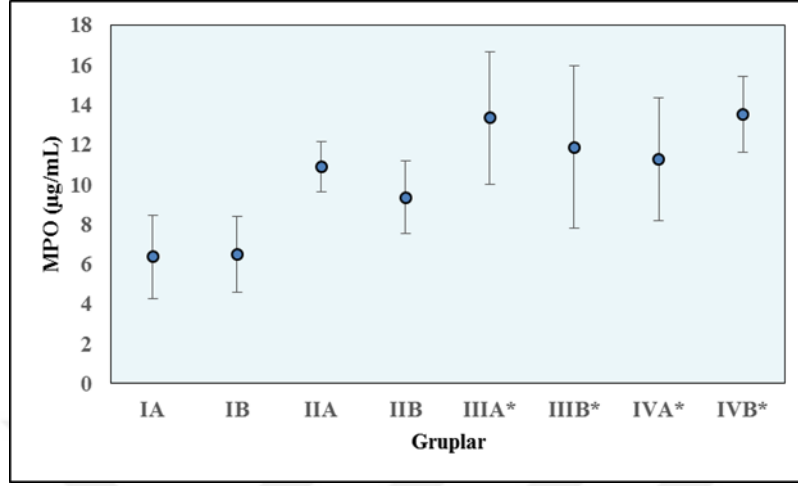
Plazma SAA sonuçları Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Serum amiloid A sonuçları.

*Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TNBS 7. gün (IIIB) ve kombine 3. gün (IVA) ve 7. gün (IVB) gruplarında fark bulundu.

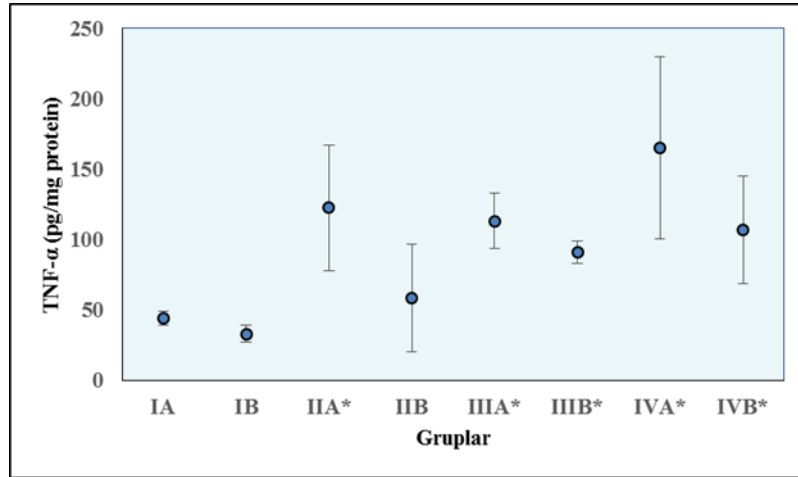
MPO sonuçları Şekil 4.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Myeloperoksidaz sonuçları

*Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TNBS 3. gün (IIIA) ve 7. gün (IIIB) ve kombine 3. gün (IVA) ve 7. gün (IVB) gruplarında fark bulundu.

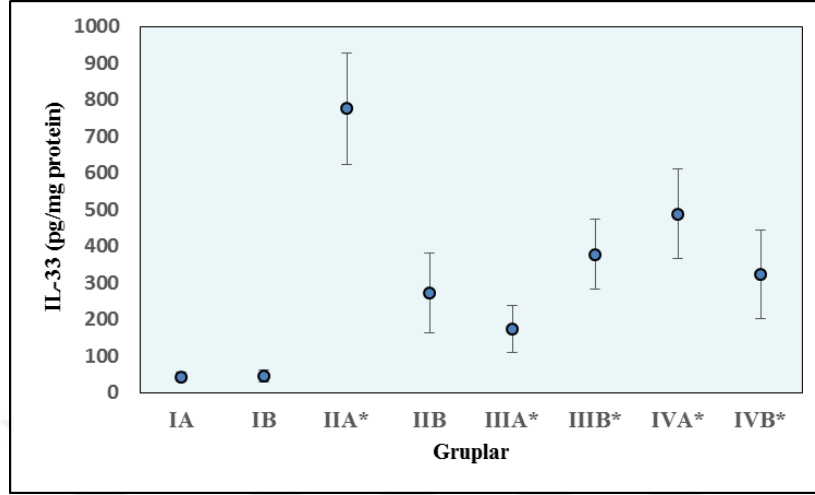
TNF- α sonuçları Şekil 4.4.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Tümör nekroz faktör alfa sonuçları

*Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında asetik asit 3.gün (IIA), TNBS 3. gün (IIIA) ve 7. gün (IIIB) ve kombine 3. gün (IVA) ve 7. gün (IVB) gruplarında fark bulundu.

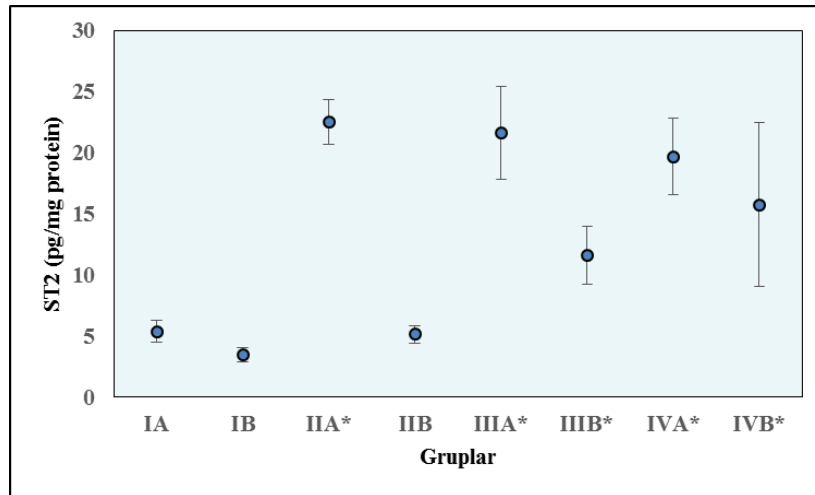
IL-33 sonuçları Şekil 4.5.'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. İnterlökin-33 sonuçları

*Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında asetik asit 3.gün (IIA), TNBS 3. gün (IIIA) ve 7. gün (IIIB) ve kombine 3. gün (IVA) ve 7. gün (IVB) gruplarında fark bulundu.

ST2 sonuçları Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. İnterlökin-33 reseptörü (ST2) sonuçları

*Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında asetik asit 3.gün (IIA), TNBS 3. gün (IIIA) ve 7. gün (IIIB) ve kombine 3. gün (IVA) ve 7. gün (IVB) gruplarında fark bulundu.

3. gün sakrifiye edilenler ve 7. gün sakrifiye edilenler kendi arasında olmak üzere gruplar arasındaki farka bakıldı ve SAA, MPO, TNF- α , IL-33 ve ST2 sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Bulgular ve p değerleri Tablo 4.2. ve 4.3.'te özetlendi.

Tablo 4.2. 3. gün sakrifiye edilen kontrol, asetik asit, TNBS ve kombine grubunun biyokimyasal parametrelerinin sonuçları ve gruplar arası karşılaştırma sonuçları

	Grup IA	Grup IIA	Grup IIIA	Grup IVA	P değeri
SAA ($\mu\text{g/mL}$)	0.86 $\pm$ 0.26	0.92 $\pm$ 0.36	1.14 $\pm$ 0.35	1.50 $\pm$ 1.44	0.003
MPO ($\mu\text{g/mL}$)	6.36 $\pm$ 2.10	10.88 $\pm$ 1.25	13.34 $\pm$ 3.33	11.28 $\pm$ 3.09	0.000
TNF- α (pg/mg protein)	44.01 $\pm$ 5.11	122.4 $\pm$ 44.91	113.04 $\pm$ 19.65	165.08 $\pm$ 64.75	0.02
IL-33 (pg/mg protein)	43.76 $\pm$ 11.54	775.91 $\pm$ 152.08	173.70 $\pm$ 63.31	488.70 $\pm$ 122.27	0.010
ST2 (pg/mg protein)	5.4 $\pm$ 0.93	22.55 $\pm$ 1.84	21.63 $\pm$ 3.81	19.71 $\pm$ 3.12	0.000

Tablo 4.3. 7. gün sakrifiye edilen kontrol, asetik asit, TNBS ve kombine grubunun biyokimyasal parametrelerinin sonuçları ve gruplar arası karşılaştırma sonuçları

	Grup IB	Grup IIB	Grup IIIB	Grup IVB	P değeri
SAA ($\mu\text{g/mL}$)	0.71 $\pm$ 0.22	1.14 $\pm$ 0.16	1.65 $\pm$ 0.34	3.15 $\pm$ 0.63	0.003
MPO ($\mu\text{g/mL}$)	6.49 $\pm$ 1.88	9.36 $\pm$ 1.82	11.88 $\pm$ 4.09	13.52 $\pm$ 1.88	0.000
TNF- α (pg/mg protein)	33.14 $\pm$ 5.89	58.26 $\pm$ 38.09	90.97 $\pm$ 8.21	107.03 $\pm$ 38.14	0.02
IL-33 (pg/mg protein)	46.05 $\pm$ 16.14	273.03 $\pm$ 109.67	378.29 $\pm$ 95.42	323.15 $\pm$ 119.95	0.010
ST2 (pg/mg protein)	3.47 $\pm$ 0.59	5.14 $\pm$ 0.75	11.60 $\pm$ 2.37	15.77 $\pm$ 6.73	0.000

Fark bulunan parametrelerde, deney gruplarının kontrol gruplarıyla ikili karşılaştırılması yapıldı. Sonuçlar Tablo 4.4.'te gösterildi.

Tablo 4.4. Kruskal Wallis ve One Way ANOVA ile anlamlı fark bulunan biyokimyasal parametrelerin sonuçlarının kontrol grubu ve deney grubu olarak ikili karşılaştırma sonucu bulunan kesin p değerleri

	IA - IIA	IA - IIIA	IA - IVA	IB - IIB	IB - IIIB	IB - IVB
TNF-α	0.026*	0.001*	0.017*	0.073	0.008*	0.005*
MPO	0.077	0.000*	0.029*	0.454	0.008	0.000*
SAA	0.432	0.111	0.048*	0.268	0.030*	0.003*
IL-33	0.026*	0.002*	0.030*	0.149	0.005*	0.009*
ST2	0.001*	0.001*	0.001*	0.086	0.002*	0.004*

*p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

Asetik asit ve kontrol grubu karşılaştırıldığında 3. günde (IIA) TNF- α , IL-33 ve ST2 için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken (p=0.026, p=0.026 ve p=0.001) SAA ve MPO için anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.432 ve p=0.077). Asetik asit 7. günde (IIB) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hiçbir parametrede anlamlı fark bulunmamıştır.

TNBS grubu 3. günde (IIIA) kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SAA (p=0.111) haricinde diğer parametrelerde ve 7. günde (IIIB) tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Kombine grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 3. günde (IVA) ve 7. günde (IVB) tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Deney grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, 3. gün kurban edilecek deney grupları arasında fark bulunmamıştır. 7. gün kurban edilecek TNBS grubu ve kombine grup arasında fark bulunmazken, serum amiloid A için asetik asit grubu-TNBS grubu arasında (p=0.026) ve asetik asit-kombine grup arasında (p=0.001) ve ST2 için asetik asit grubu-TNBS grubu arasında (p=0.022) ve asetik asit-kombine grup arasında (p=0.01) fark bulunmuştur.

4.3. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik skorlama sonuçları Tablo 4.5.'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Mikroskopik hasar skorlaması sonuçları

Grup IA	Grup IIA*	Grup IIIA*	Grup IVA*
0.00 ± 0.00	17.00 ± 1.38	18.00 ± 1.94	18.00 ± 0.26
Grup IB	Grup IIB**	Grup IIIB*	Grup IVB*
0.00 ± 0.00	5.00 ± 1.17	18.00 ± 1.57	18.5 ± 0.67

* Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu (p=0.003).

** Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu (p=0.001).

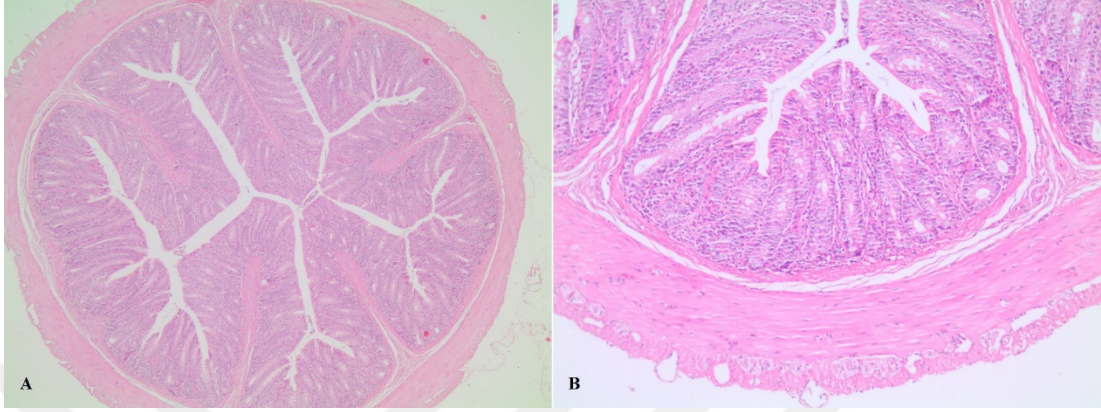
Asetik asit 7. gün grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (p=0.003) ve diğer deney grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (p=0.001) anlamlı fark bulunmuştur. Deney grupları kendi arasında ikili gruplar olarak karşılaştırıldığında 3. gün sakrifiye edilen gruplar arasında fark bulunmamıştır. Bununla birlikte 7. gün sakrifiye edilen TNBS grubu ve kombine grup arasında fark bulunmazken asetik asit grubuyla diğer deney grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur (p değerleri sırasıyla 0.003 ve 0.008).

Çıkarılan kolonların makroskopik görüntüleri Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.



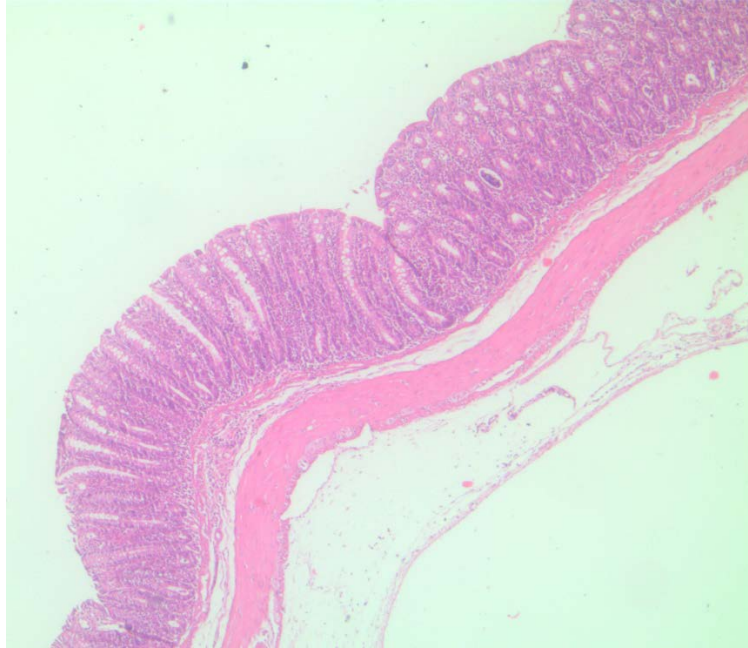
Şekil 4.7. Kolonun makroskopik görünümü. A. Kontrol grubu 3. gün B. Kontrol grubu 7. gün C. Asetik asit grubu 3. gün D. Asetik asit grubu 7. gün E. TNBS grubu 3. gün F. TNBS grubu 7. gün G. Kombine grup 3. gün H. Kombine grup 7. gün

Mikroskopik değerlendirmede kontrol gruplarında patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 4.8.).



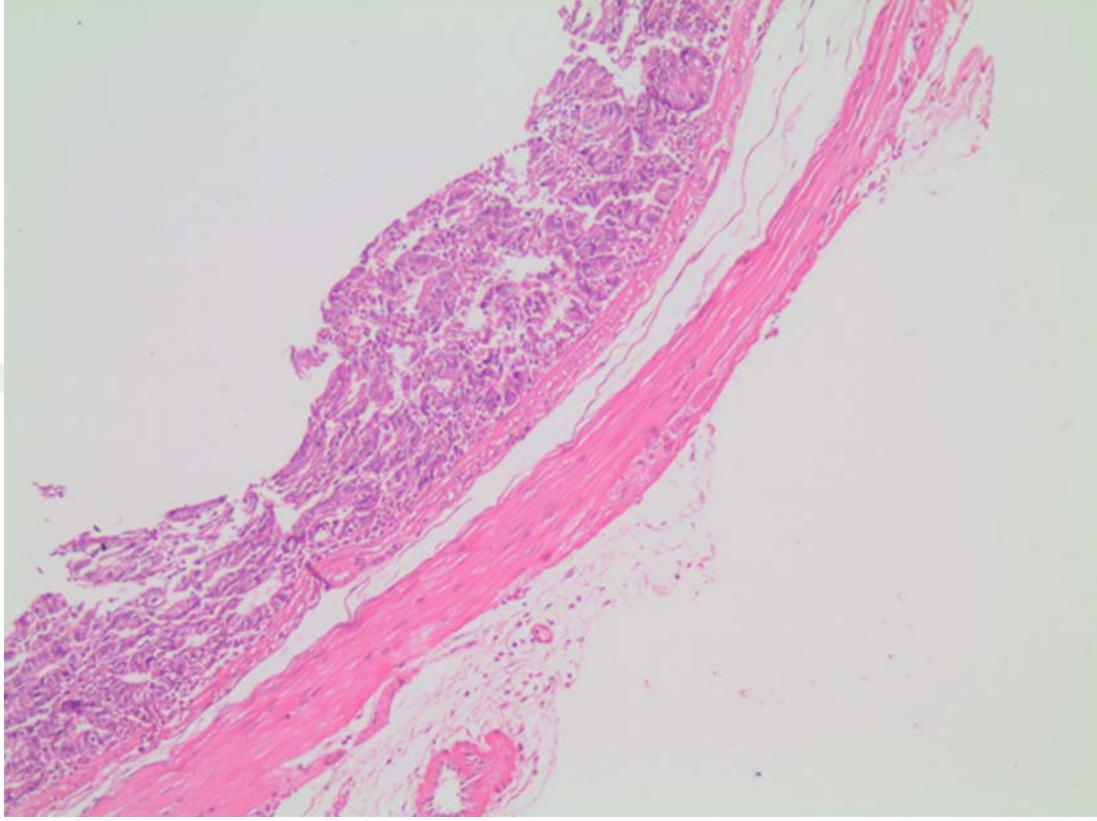
Şekil 4.8. Kontrol grubu histopatolojik görünüm. Normal görünümlü kolon dokusu (A. H&E x40, B. H&E x100)

Asetik asit grubunda 3. günde ağırlıklı olarak mukoza ve submukozada inflamasyon izlenmiştir (Şekil 4.9.).



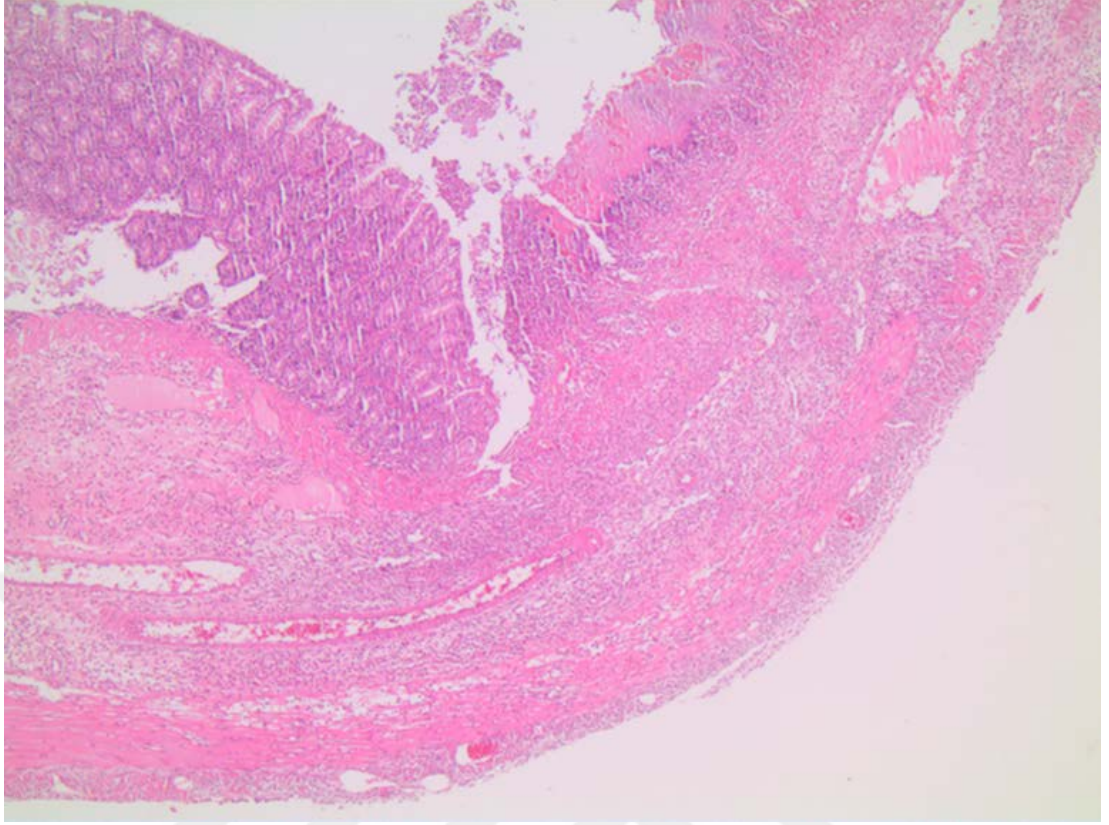
Şekil 4.9. Asetik asit grubu 3. gün histopatolojik görünüm. Lamina propriada nötrofilden zengin inflamatuvar hücreler (H&E x40)

Asetik asit grubunda 7. günde inflamasyon gerilemiş ve rejeneratif değişiklikler gözlenmiştir (Şekil 4.10.).

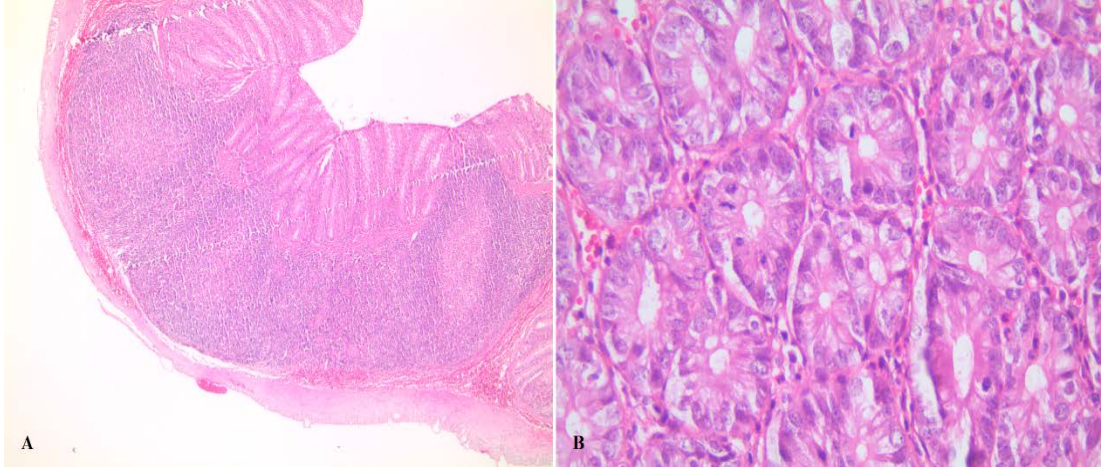


Şekil 4.10. Asetik asit grubu 7. gün histopatolojik görünüm. Mukoza ve submukozada hafif şiddette inflamasyon, rejeneratif değişiklikler (H&E x40)

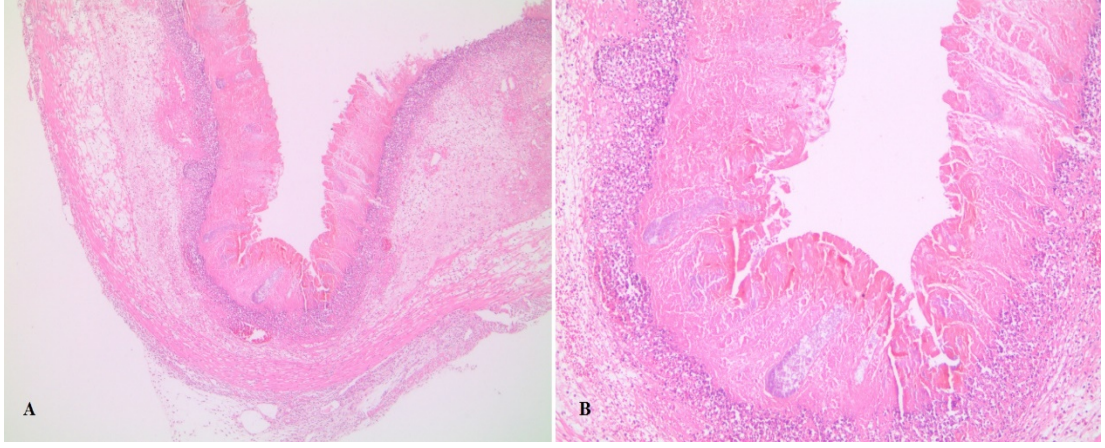
TNBS grubunda 3. günde kolon duvarında tam kat tutulum gösteren inflamasyon ve bu inflamasyona eşlik eden ödem ve konjesyon izlenmiştir. Nekroz bu tabloya sıklıkla eşlik etmektedir. Nötrofil ağırlıklı olmak üzere mikst tipte hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Mitoz sıklığında artış ve inflamasyona bitişik alanlarda germinal merkezleri belirgin lenfoid folikül oluşumları izlenmiştir (Şekil 4.11., Şekil 4.12. ve Şekil 4.13.).



Şekil 4.11. TNBS grubu 3. gün histopatolojik görünüm. Birbirine bitişik sağlam mukoza ile nekrotik görünümde mukoza. Tüm duvar boyunca inflamasyon, ödem ve konjesyon (H&E x40)

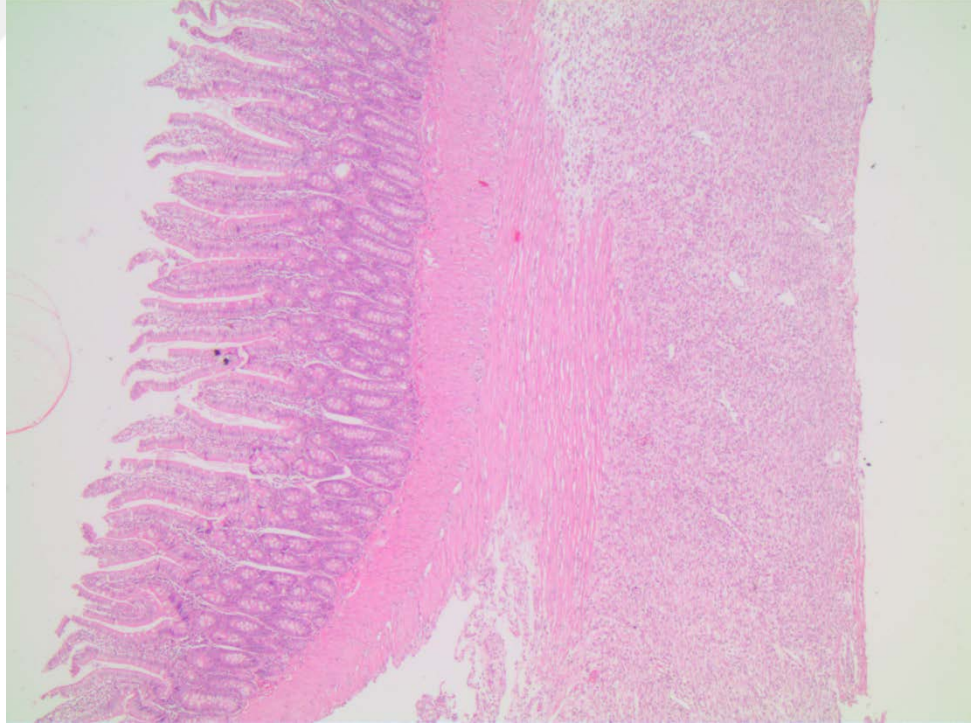


Şekil 4.12. TNBS grubu 3. gün histopatolojik görünüm. A. Belirgin lenfoid doku hiperplazisi (H&E x40) B. Mitoz artışı (H&E x400)

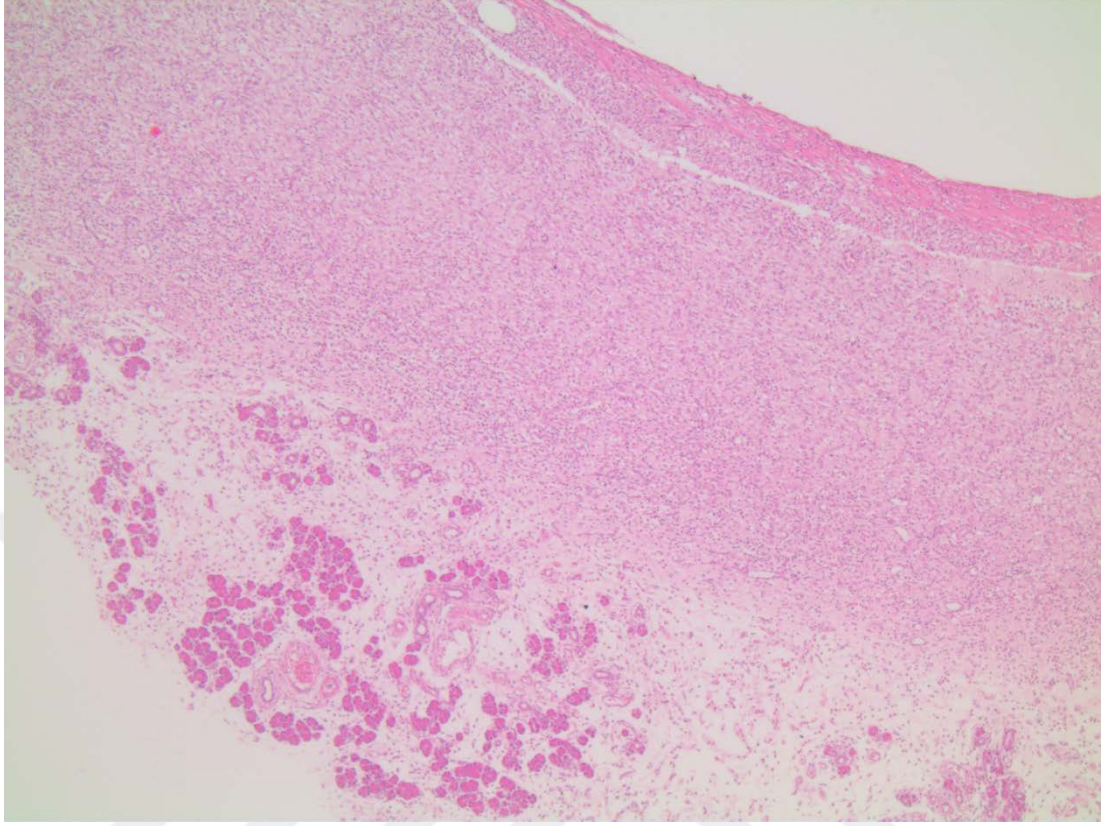


Şekil 4.13. TNBS grubu 3. gün histopatolojik görünüm. A. Yoğun ödem, inflamasyon ve derin nekroz (H&E x100) B. Aynı nekroz alanının büyük büyütmedeki görüntüsü (H&E x400)

TNBS grubunda 7. günde inflamatuvar hücrelerde lenfosit hakimiyeti gözlenmiştir. Serozada fibrozis ve bu fibrozisin sebep olduğu çevre doku ile yapışıklıklar sıklıkla izlenmiştir (Şekil 4.14. ve Şekil 4.15.).

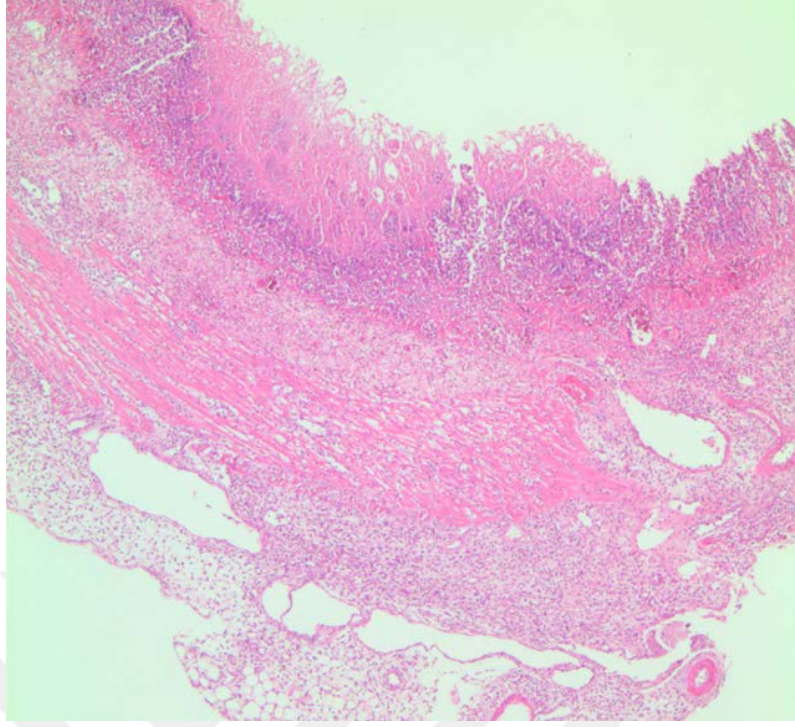


Şekil 4.14. TNBS grubu 7. gün histopatolojik görünüm. Sağda barsak duvarını tam kat infiltre etmiş yoğun inflamatuvar hücrelere fibrozis eşlik etmekte, fibrozis sonucu soldaki komşu barsak segmentine serozal yüzden yapışıklık göstermiş (H&E x40)

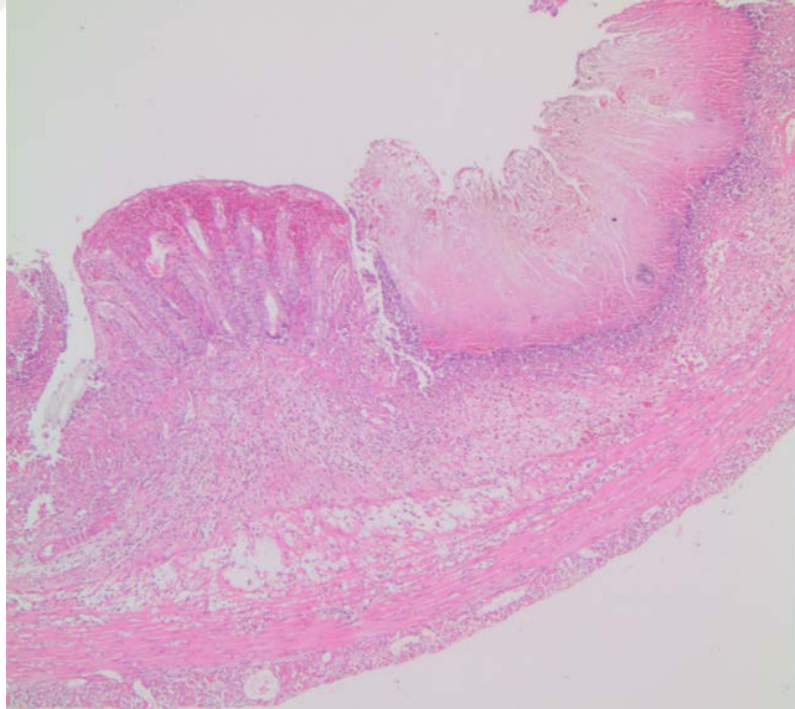


Şekil 4.15. TNBS grubu 7. gün histopatolojik görünüm. Barsak dokusunda tüm duvar boyunca yoğun fibrozis, fibroze bağlı yapışıklıktan dolayı serozada pankreasa ait duktal ve glandüler yapılar (H&E x40)

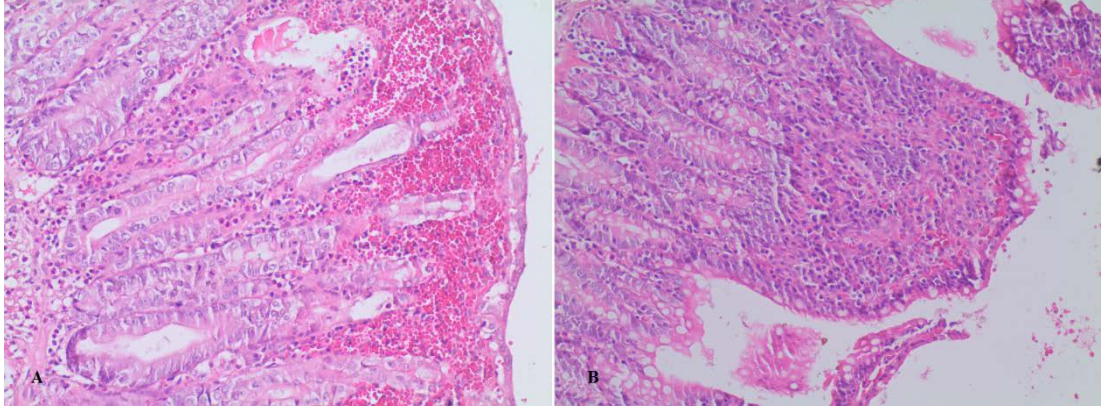
Kombine grupta 3. günde kolon dokusunda yer yer fokal, yer yer de yaygın nekroz alanları meydana gelmiştir. Ülser bazı segmentlerde dokunun derinliklerine doğru ilerlemektedir. Nötrofil hakimiyetinde yoğun inflamasyonun yanı sıra ödem ve kanamanın da eşlik ettiği reaktif değişiklikler dikkati çekmektedir. Barsak mukozasında villusların bir kısmında intraepitelyal lenfosit artışı da tabloya eşlik etmektedir. Mukozada villuslarda yüzeyden apikale doğru yoğun mitoz artışı izlenmektedir. Serozal yüzeylerde daha belirgin olmak üzere fibroblastik aktivitede artış görülmektedir (Şekil 4.16., Şekil 4.17. ve Şekil 4.18.).



Şekil 4.16. Kombine grup 3. gün histopatolojik görünüm. Kolon segmenti boyunca muskularis mukozaya kadar yaygın ülserasyon. Yoğun inflamasyon, vaskularizasyon ve ödem (H&E x40).

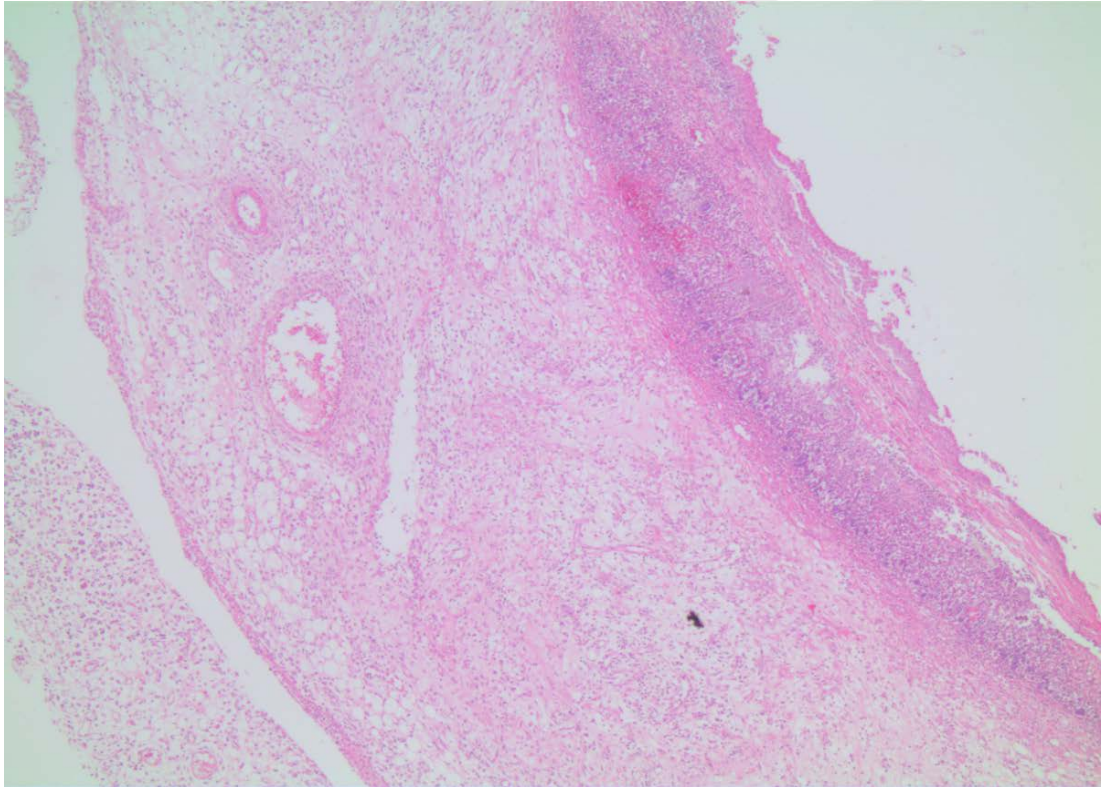


Şekil 4.17. Kombine grup 3. gün histopatolojik görünüm. Ödem ve inflamasyonun izlendiği dokuda sol taraftaki mukozal yüzde epitel altında yoğun kanama gözlenirken, sağ tarafta mukozada ülser yerini fokal nekroza bırakmış (H&E x40)

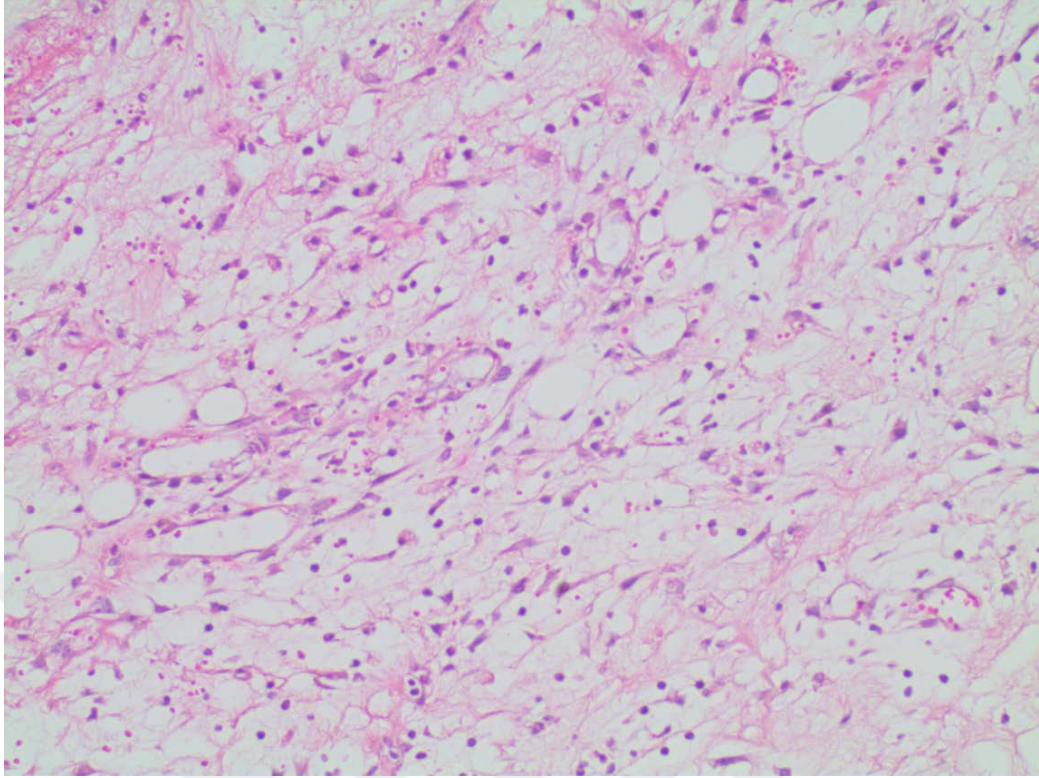


Şekil 4.18. Kombine grup 3. gün histopatolojik görünüm. A. Nötrofil hakimiyetinde iltihabi hücreler, yüzey epiteli altında kanama ve gland epitellerinde mitoz artışı (H&E x200) B. Yüzey epitelinde intraepitelyal lenfosit artışı (H&E x200)

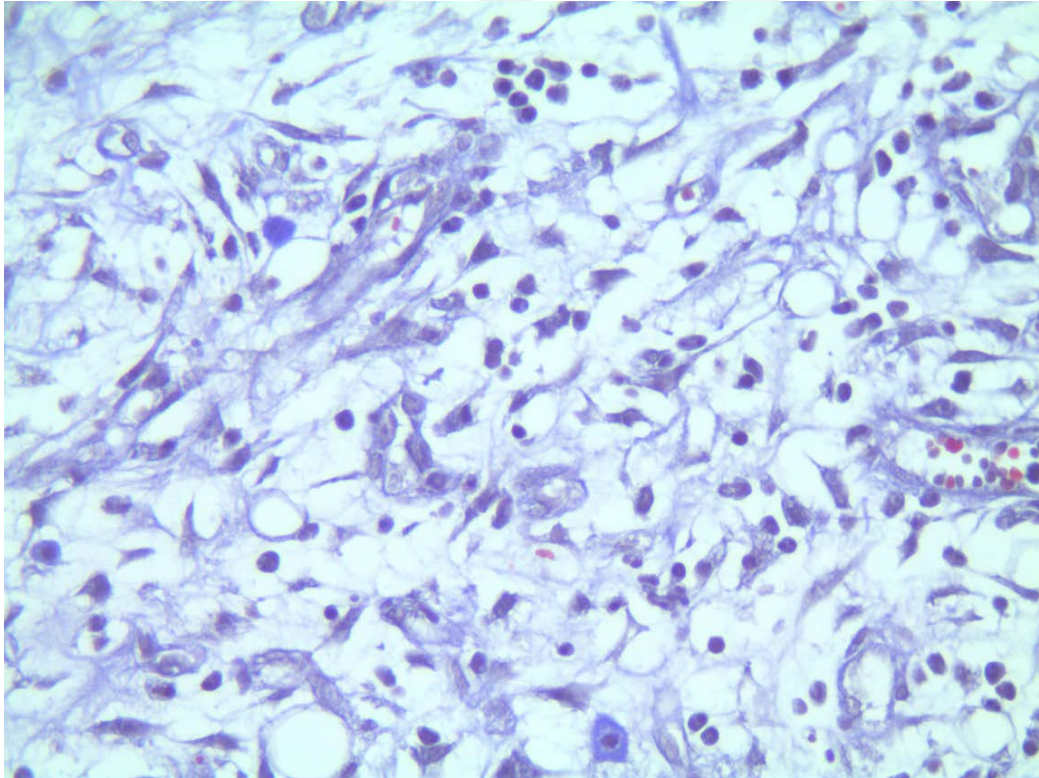
Kombine grupta 7. günde kolonda yüzey epitelinden başlayıp muskularis propriayı yer yer aşmış serozaya kadar dayanmış yaygın ve derin ülserasyon izlenmiştir. Serozal kısım sıklıkla fibrotik görünümündedir. Fibroblastik aktivitedeki artış Masson-Trikrom boyasıyla da gösterilmiştir (Şekil 4.19., Şekil 4.20. ve Şekil 4.21.).



Şekil 4.19. Kombine grup 7. gün histopatolojik görünüm. Yaygın ve derin ülserasyon, yoğun fibrozis (H&E x40)



Şekil 4.20. Kombine grup 7. gün histopatolojik görünüm. Fibroblastik aktivitede artış (H&E x200)



Şekil 4.21. Kombine grup 7. gün histopatolojik görünüm. Fibroblastik aktivitede artış (Masson Trikrom x400)

5. TARTIŞMA

Deneyisel kimyasal kolit modellerinin karşılaştırıldığı bu çalışmada, asetik asit ve TNBS bir arada kullanılarak yeni bir deney modeli oluşturulmuş ve asetik asit, TNBS ve kombine model kontrol grubuyla karşılaştırılarak deney modellerinin başarısı incelenmiştir. Sistemik ve intestinal inflamasyon plazma SAA, plazma MPO, kolon TNF- α , kolon IL-33 ve kolon ST2 düzeyi ve histopatolojik skorlama ile kolit indüksiyonunu takiben 3. ve 7. günlerde değerlendirilmiştir.

Asetik asit grubu 3. günde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında plazma SAA ve plazma MPO dışında diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Bununla birlikte 7. günde hiçbir biyokimyasal parametrede kontrol grubuyla arasında fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar asetik asidin kolonda lokal bir inflamasyon oluşturduğunu ancak sistemik bir yangıya dönüştüremediğini ve akut etkili bir kolit oluşturduğunu göstermektedir.

TNBS grubunda 3. günde plazma SAA dışındaki tüm parametrelerde ve 7. günde tüm parametrelerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. TNBS modeli inflamasyon oluşturmada başarılı bir modeldir ancak daha çok kronik etkili bir kolit oluşumunu indüklemektedir.

Kombine model hem 3. günde hem de 7. günde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Bu sonuçlar kombine modelin kolonda inflamasyon oluşturmalarının yanı sıra sistemik inflamasyona da neden olduğunu ve hem akut dönemde hem de kronik dönemde kolit oluşturmadaki başarısını göstermektedir.

Deneyisel kolit modellerinde deney hayvanlarında inflamasyona ve ishale bağlı olarak sıklıkla kilo kaybı gözlenmektedir. Deney başlangıcında ve deneyin sonunda deney hayvanlarının ağırlıkları karşılaştırıldığında kontrol grubunun normal beslenmeye bağlı olarak kilo aldığı görülmüştür. Asetik asit grubu 3. günde kilo kaybederken, klinik olarak ishalin iyileşmesi ve inflamasyonun gerilemesine bağlı olarak 7. günde kilo almıştır. TNBS ve kombine gruplarda ise 3. ve 7. günde kilo kaybı gözlenmiştir. Kombine gruplarda deney hayvanları ağırlığının % 10'undan fazlasını

kaybetmiştir. Bu sonuçlar bu gruplarda kolonda yoğun bir inflamasyonun oluştuğunun göstergesidir.

SAA romatoid artrit, ankilozan spondilit, psöriazis, ateroskleroz gibi inflamatuvar bozukluklarda, enfeksiyon hastalıklarında ve organ transplantasyonu sonrası artış gösteren akut faz reaktanı olarak kabul edilir. İBH'nın da tanısında, prognozunda ve takibinde önemli bir inflamasyon belirtecidir. Niederau ve ark. (91) 40 Crohn hastalığı bulunan ve 20 ülseratif kolitli hastada inflamatuvar mediatörleri ve akut faz proteinlerini karşılaştırmışlardır. Buna göre SAA; İBH'nın tanısında ve takibinde kullanılan CRP, sedimentasyon hızı ve platelet sayımı gibi geleneksel belirteçler ile karşılaştırıldığında duyarlılığının daha fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca medikal tedavi ile birlikte İBH'nın klinik aktivite indeksi azaldıkça SAA'nın miktarı azalmıştır ve böylece SAA'nın hastalığın takibinde nükslerin saptanmasında en kullanışlı belirteç olduğunu göstermişlerdir.

Deneysel kolit modelleri ile yapılan çalışmalarda da hem SAA'nın inflamatuvar sürece katkısı incelenmiş hem de oluşturulan kolitin şiddeti SAA düzeyi ile gösterilmiştir. De Villiers ve ark. (119) IL-2 KO fareler ile yaptıkları çalışmada karaciğer ve intestinal dokuda SAA'nın ekspresyonunun arttığını, plazma SAA düzeyinin kolonda hastalığın şiddetiyle orantılı olarak yükseldiğini ve IL-2 KO farelerde subklinik hasarı gösterebileceğini belirtmişlerdir. Fukushima ve ark. (98) luminal bakteri yokluğunda dahi özofagus, mide, duodenum ve rektum epitelinde SAA için immun reaktivite saptamışlardır. DSS ile indüklenen kolit modelinde mukozal inflamasyonun şiddetine paralel olarak intestinal epitelde SAA'nın mRNA düzeyinde ekspresyonunun ve protein miktarının arttığını göstermişlerdir. Jijon ve ark. (120) SAA'nın insan ve fare barsak epiteli hücrelerinde NF- κ B sinyal yolağını ve proinflamatuvar sitokin gen ekspresyonunu aktive ederek inflamatuvar sürece katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Eckhardt ve ark. (99) da in vitro ortamda barsak epitel hücreleri tarafından üretilen SAA'nın bakterisidal özellikleri olduğunu ve deneysel kolit modelinde koruyucu etkileri olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca Crohn hastalarından aldıkları intestinal biyopsi örneklerinde SAA'nın ekspresyonunun değiştiğini bulmuşlar ve SAA'nın hastalık sürecinde yer aldığını ifade etmişlerdir.

Deney modellerinin karşılaştırıldığı bu çalışmada plazma SAA düzeyi sistemik bir inflamasyon belirteci olarak kullanılmıştır. Buna göre kontrol grubuyla karşılaştırıldığında asetik asit modelinde 3. gün ve 7. günde plazma SAA düzeyinde anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0.432$ ve $p=0.268$). Asetik asit modeli barsakta daha çok lokal bir etki oluşturmuştur. TNBS modelinin 3. gününde SAA plazma düzeyi ($1.14 \pm 0.35 \mu\text{g/mL}$) kontrol grubuyla ($0.86 \pm 0.26 \mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında artmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.111$). TNBS modelinde 7. günde ise plazma SAA düzeyindeki artış anlamlı bulunmuştur ($p=0.03$). Bu durum TNBS modelinin sistemik olarak daha çok kronik etki göstermesiyle açıklanmaktadır. Kombine modelde ise plazma SAA düzeyi hem 3. gün hem de 7. gün grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p=0.048$ ve $p=0.003$). SAA düzeyine bakıldığında kombine modelin tek başına asetik asit ve TNBS modeline göre sistemik inflamasyon oluşturmaları açısından daha tercih edilebilir bir deney modeli olduğu bulunmuştur.

MPO polimorfonükleer lökositlerin yapısında bulunan ve inflamasyon bölgesinde doku hasarına neden olan hipoklorik asit oluşumunu katalizleyen bir enzimdir. Ayrıca MPO inflamasyonlu alanda nötrofil infiltrasyonunun değerli bir göstergesidir. Şengül ve ark. (121) ratlar ile yaptıkları çalışmada asetik asit ile indükledikleri kolit modelinde hem proksimal hem de distalden aldıkları kolon dokusunda MPO aktivitesini kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Ayrıca inflamasyonun değerlendirilmesinde MPO aktivitesinin histolojik skorlamadan daha iyi bir belirteç olduğunu göstermişlerdir. Moeinian ve ark. (122) TNBS ile indüklenerek kolit oluşturulan ratlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında inflamasyonlu kolon doku örneklerinde MPO aktivitesinin ve TNF- α düzeyinin arttığını belirtmişlerdir. DSS ile indüklenen kolit modelinde inflamasyonun araştırıldığı bir çalışmada MPO kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. MPO aktivitesinin kullanılan deney modeline bakılmaksızın inflamasyonun değerlendirilmesinde önemli bir belirteç olduğunu vurgulamışlardır (123).

İnflamatuvar süreçte aktive polimorfonükleer lökositlerden hücre dışı aralığa ve kan dolaşımına MPO salınır. Bu nedenle doku MPO düzeyi yanı sıra plazma MPO düzeyi de inflamasyonu göstermesi açısından değerli bir belirteçtir. Zwolinska-Wcislo

ve ark. (124) TNBS kolit modelini kullanarak yaptıkları çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında plazma MPO aktivitesinin 4-5 kat yükseldiğini bulmuşlardır.

Bu çalışmada plazma MPO düzeyi ölçülmüş ve hem 3. gün hem de 7. günde, TNBS ve kombine model kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.000$; $p=0.029$ ve $p=0.008$ ve $p=0.000$). Asetik asit modelinde ise plazma MPO düzeyi 3. gün ($10.88 \pm 1.25 \mu\text{g/mL}$) ve 7.günde ($9.36 \pm 1.82 \mu\text{g/mL}$) kontrol gruplarına ($6.36 \pm 2.10 \mu\text{g/mL}$ ve $6.49 \pm 1.88 \mu\text{g/mL}$) göre artış göstermesine karşın istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.077$ ve $p=0.454$). Buna göre asetik asit ile indüklenen deney modeli daha çok kolona sınırlı ve zayıf bir inflamasyon oluşturmaktadır. Dolaşımdaki nötrofil artışının göstergesi olan MPO düzeyi bu savı desteklemektedir. İnflamasyonlu barsak dokusunda MPO ölçülmesi inflamasyonun şiddetini göstermede yardımcı olacaktır. TNBS ve kombine modelde MPO düzeyinin artışı inflamasyonun şiddeti hakkında fikir vermektedir ve deney modellerinin başarısını göstermektedir.

Plazma MPO düzeyi koroner arter hastalığında plak stabilitesini gösteren önemli bir belirteçtir (125). Bu anlamda plazma MPO düzeyini tespit etmek amacıyla sandviç ELISA metoduna dayanan testler geliştirilmiştir. Oksidatif stresin ve nötrofil infiltrasyonunun indikatörü olan MPO'nun İBH'nda da tanıda, takipte ve nüksleri saptamada önemli bir marker olacağı düşünülmektedir.

TNF- α 'nın inflamasyon sürecindeki rolü ve oluşturduğu etkiler göz önünde bulundurulduğunda İBH'nda en önemli proinflamatuvar sitokinlerden biridir. Çeşitli deneysel kolit modelleri ile yapılan çalışmalarda inflamasyonlu dokuda TNF- α düzeyinin arttığı gösterilmiştir (123, 124, 126). İBH olan hastalardan alınan biyopsi örneklerinde ve serum/plazma örneklerinde de TNF- α düzeylerinin arttığı belirtilmiştir. Artan TNF- α diğer proinflamatuvar sitokinlerin de aktivasyonuna neden olur ve intestinal inflamasyonla sonuçlanır. Funakoshi ve ark. (127)'nin çalışmasında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, CH ve ÜK'li hastalarda IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α mRNA ekspresyonunun arttığı bulunmuştur.

Tedavide TNF- α 'nın inhibe edilmesini amaçlayan infliksimab gibi biyolojik ajanlar geliştirilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda TNF- α antikörlerinin verilmesi ile intestinal inflamasyonun gerilediği gösterilmiştir. Atreya ve ark. (128) membran

bağlı TNF- α 'nın nötralizasyonunun T hücre apoptozuna yol açtığı ve farelerde deneysel kolit gelişimini baskıladığını bulmuşlardır. Triantafillidis ve ark. (129) TNBS ile indüklenen kolit oluşturdıkları ratlarda intestinal dokuda TNF- α düzeyinin arttığını ve infliksimab verilen gruplarda ise azalarak intestinal inflamasyonun gerilediğini belirtmişlerdir. Deneysel çalışmalarla uyumlu klinik çalışmalar da yapılmış ve özellikle CH'nin tedavisinde TNF- α antikoru etkili bir ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır (130, 131).

Oluşturulan bir kolit modelinde inflamasyonun tetiklenmesindeki anahtar rolünden dolayı TNF- α düzeyinin artması beklenmektedir. Böylece deney modelinde TNF- α 'nın üretimini indüklemiş olduğu diğer sitokinlerin araştırılması, yeni mekanizmaların aydınlatılması ve tedavide yeni biyolojik ajanların denenmesi ve geliştirilmesi mümkün olacaktır. Yapılan bu çalışmada TNBS modelinde ve ilk kez oluşturulan kombine modelde 3. gün ve 7. günde literatürle uyumlu olarak doku TNF- α düzeyinin artmış olduğu gösterildi. Asetik asit modelinde ise 3. günde TNF- α düzeyi yükselmesine karşılık 7. günde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterememiştir ($p=0.073$). Bu sonuç asetik asit ile deneysel kolit modeli oluşturmada etkinliğinin düşük olduğunu TNF- α aracılığı ile bir kez daha gösterilmiştir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda IL-33/ST2 yolağı bulunmuştur ve astım, sepsis, travma ve ateroskleroz gibi çeşitli otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda bu yolağın aktive olduğu gösterilmiştir. İBH'nda da bu yolağın aktive olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Beltran ve ark. (132) İBH bulunan 84 hastanın serum ve biyopsi örneklerinde IL-33 ve ST2 ilişkisini incelemişlerdir ve IL-33 ve ST2 düzeyinin ÜK hastalarında CH ve kontrol grubuna göre arttığını göstermişlerdir. Pastorelli ve ark. (8) infliksimab tedavisi alan CH ve ÜK hastalarında ve spontane kolit gelişen, Th1 ve Th2 aracılı immunitenin gözlemlendiği SAMP1/Yit farelerde IL-33 ve reseptörü ST2'nin ilişkisini incelemişlerdir. Buna göre ÜK hastalarında IL-33 üretiminin ve ST2 izoformlarının ekspresyonunun arttığını bulmuşlardır. İnfliksizimab tedavisi ile ÜK hastalarında IL-33 seviyesinin azaldığını ve antiinflamatuvar özellikleri bulunan sST2 seviyesinin ise arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca SAMP1/Yit farelerde IL-33 üretiminin kolitin şiddetiyle orantılı olarak arttığını ve mukozal immün hücrelerde IL-5, IL-6 ve IL-17 sitokin üretimini indüklediğini göstermişlerdir. Buldukları sonuçlara göre anti TNF- α tedavisinin IL-33/ST2 yolağını düzenlediğini ve aktif ÜK'te IL-33/ST2

yolağının spesifik bir marker olabileceğini belirtmişlerdir. Saadah ve ark. (133) yaptıkları çalışmalarında ÜK hastalarında IL-33 düzeyinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında arttığını ve CH'nda ise kontrol grubuyla arasında anlamlı fark bulunmadığını göstermişlerdir. Ayrıca IL-33'ü hastalığın aktivitesi ve CRP düzeyi ile korele bulmuşlar ve IL-33'ün ÜK'in şiddetinin izlenmesinde potansiyel bir biyobelirteç olabileceğini belirtmişlerdir. Boga ve ark. (134) İBH'ı bulunan 143 hastanın (83 ÜK ve 60 CH) serum ST2 düzeyini ve klinik, endoskopik ve histopatolojik aktivite indeksini incelemişlerdir. İBH'nda ST2 düzeyinin hastalığın aktivitesiyle orantılı olarak arttığını göstermişlerdir. Ayrıca ÜK ve CH karşılaştırıldığında ST2 düzeyleri arasında fark olmadığını ve aktif CH olgularında da ST2 düzeyinin arttığını belirtmişlerdir.

Sponheim ve ark. (135) ÜK hastalarının biyopsi örneklerinde IL-33 üretiminin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında arttığını ve bu artışın ülser alanlardaki miyofibroblastlardan kaynaklandığını göstermişlerdir. Bununla birlikte CH'nda fissür kenarında IL-33 pozitif miyofibroblastların neredeyse olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca yara iyileşmesinde IL-33'ün rolü olabileceğini ifade etmişlerdir. Sedhom ve ark. (9) yaptıkları çalışmada deneysel kolit modelinde yara iyileşmesi sırasında IL-33'ün ekspresyonunun arttığını ve epitelin bariyer fonksiyonunu bozduğunu belirtmişlerdir. ST2'nin genetik ablasyonunun IL-33'ün etkilerini gerçekleştirememesine yol açtığını ve böylece farelerde kolit gelişiminden koruduğunu bulmuşlardır. Ayrıca ST2 bloke edici antikorlar da farelerde kimyasal ile indüklenen kolitin bulgularını azaltmıştır. İnflamasyonda IL-33/ST2 yolağının etkisi göz önünde bulundurulduğunda bu yolağın inhibe edilmesinin ÜK tedavisi için gelecekte bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.

IL-33 ve reseptörü ST2'nin inflamasyonun özellikle akut döneminde miktarının arttığı bilinmektedir. Bu çalışmada IL-33 ve ST2 arasındaki ilişki incelenmiş ve literatürle benzer şekilde 3. günde tüm grupların, 7. günde ise TNBS ve kombine grupların inflamasyonun artışına bağlı olarak IL-33 ve ST2 miktarının arttığı ve IL-33/ST2 yolağının aktive olduğu bulunmuştur. Asetik asit 7. gün grubunda ise inflamasyonun gerilemesine bağlı olarak diğer parametrelerde olduğu gibi IL-33 ve ST2 için de anlamlı fark saptanamamıştır ($p=0.149$ ve $p=0.086$).

Asetik asit ile indüklenen kolit modelinde inflamasyon mukoza ve submukozada gözlenmektedir. İnflamasyon mukoza ve submukozada nekroz, vasküler dilatasyon ve ödemle karakterizedir (11). Asetik asit akut etkili bir kolite neden olmaktadır. İnflamasyon 3-4 günden sonra gerilemeye başlar ve kimyasal hasar farelerde günler içerisinde, ratlarda ise 2-3 hafta içerisinde tamamen iyileşir (79). Bu çalışmada asetik asit modeli kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mikroskopik hasar skorlamasında 3. günde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.001$). Bununla birlikte 7. günde inflamasyonun gerilediği gösterildi ($p=0.003$). Histopatolojik değerlendirmede literatürle uyumlu olarak mukoza ve submukozada inflamasyon ve nekroz alanları izlendi. Asetik asit modelinin kolonda oluşturduğu inflamasyon histopatolojik olarak ÜK'e benzemektedir.

Bazı yapılan ilaç etkinliği çalışmalarında asetik asit ile indüklenen kolit modelinde bir hafta sonra deney hayvanları sakrifiye edilerek ilacın etkinliği değerlendirilmektedir (121, 136-138). Bu çalışmada asetik aside bağlı inflamasyonun 7. günde kendiliğinden tamamen gerilediği ve iyileşmeye bağlı rejeneratif değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. Asetik asit modelinde ilacın etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalarda, ilacın etkinliğinin inflamasyonun yoğun olarak gözlemlendiği 2-3. günlerde değerlendirilmesinin bu modelde daha kullanışlı olacağı düşünülmektedir.

TNBS ile indüklenen kolit modeli ilk kez Morris ve ark. (85) tarafından tanımlanmıştır. Histolojik olarak mukoza ve submukozada polimorfonükleer lökosit, makrofaj, lenfosit, fibroblast ve mast hücre infiltrasyonu göstermişlerdir. Segmental ülserasyon ve inflamasyon odakları sıklıkla gözlenmiş ve ülserasyon ve duvar kalınlığı artışının en az 8 hafta boyunca devam ettiğini bildirmişlerdir. Granülom oluşumu inflamasyonun indüksiyonunu takiben 3 hafta sonra sakrifiye edilen ratların yarısından fazlasında gösterilmiştir. Başka bir çalışmada TNBS'nin transmural inflamasyon oluşturduğu ve diffüz nekroz, inflamatuvar granülom, submukozada nötrofil infiltrasyonu gösterilmiştir (86). Brenna ve ark. (139) TNBS ile indüklenerek kolit oluşturulan ratların biyopsi örneklerinde kriptit ve kript distorsiyonu varlığını göstermişlerdir. Bu çalışmada TNBS modeli 3. gün ve 7. günde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mikroskopik hasar skorlamasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.001$). İnflamasyon CH'ndaki gibi tam kat, diğer bir ifadeyle transmural tutulum göstermiştir. Akut dönemde nötrofil ağırlıklı olmak üzere mukoza

ve submukozada mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu, ödem ve konjesyon gözlenmiştir. Kronik dönemde ise lenfosit ağırlıklı iltihabi hücre infiltrasyonu, fibrozis ve fibrozise bağlı çevre dokulara yapışıklıklar izlenmiştir.

Daha önce asetik asit ve dinitroklorobenzen sulfonik asidin bir arada kullanılarak ve 'knock out' modellerin kimyasallarla indüklenerek kombine edildiği çalışmalar mevcuttur (79, 140, 141). Bu çalışma asetik asit ve TNBS'in bir arada kullanılarak kolitin indüklendiği literatürdeki ilk ve tek çalışmadır. Kombine model histopatolojik olarak hem 3. günde hem de 7. günde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Akut dönemde nötrofil hakimiyetinde, kronik dönemde ise lenfosit hakimiyetinde submukoza ve mukozada yoğun olmak üzere transmural inflamasyon gözlenmiştir. Ayrıca intraepitelyal lenfosit artışı, mitoz sıklığında artış, kanama, ödem, yaygın nekroz ve dokunun derinliklerine doğru inen ülserasyon izlenmiştir. 7. günde serozal yüzde fibrozis ve çevre dokuya yapışıklıklar gözlenmiştir. Kombine modelde insanda CH'na benzer histopatolojik bulgular izlenmiştir.

Sonuç olarak asetik asit akut etkili bir inflamasyon oluşturmuştur ve inflamasyon bir hafta içerisinde tamamen gerilemiştir. Kombine model inflamasyon oluşturma açısından tek başına asetik asit ve TNBS modelinden daha başarılı bulunmuştur. Son yıllarda tanımlanan IL-33/ST2 sinyal yolağı kombine modelde de aktive olmaktadır ve kombine model bu yolağın değerlendirileceği çalışmalarda uygun bir deneysel kolit modelidir.

6. SONUÇ

1. Asetik asit ve TNBS bir arada kullanılarak oluşturulan kombine model tek başına asetik asit ve TNBS modelden daha etkili bulunmuştur ve insanda İBH'ndaki biyokimyasal ve histopatolojik değişimleri yansıtmaktadır. Bu çalışmada ilk kez oluşturulan kombine model etiyopatogenezin araştırılmasında ve yeni tedavilerin geliştirilmesiyle ilgili çalışmalarda kullanılabilecek uygun bir model olarak önerilmektedir. Daha uzun süreli bir çalışmanın planlanması kombine modelin kronik dönemdeki etkilerinin ve iyileşme sürecinin incelenmesine ve modelin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.
2. Son yıllarda tanımlanan IL-33/ST2 yolağının yeni oluşturulan kombine modelde de aktive olduğu gösterilmiştir. IL-33 ve ST2 ile birlikte sST2'nin de çalışılması inflamatuvar ve antiinflamatuvar süreci bir arada ele alarak yolağın aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.
3. Oksidatif stresin ve nötrofil infiltrasyonunun indikatörü olan MPO'nun İBH'nda tanıda, takipte ve nüksleri saptamada önemli bir marker olacağı düşünülmektedir.
4. Asetik asit modeli akut etkili bir kolit tablosu oluşturmaktadır. Asetik asit modelinde intestinal inflamasyon görülmekle birlikte sistemik bir inflamasyon gözlenmemiştir ve oluşan inflamasyon kendiliğinden bir hafta içerisinde tamamen gerilemiştir. Asetik asit modelinin kullanıldığı tedavi ya da etiyopatogenezin araştırıldığı çalışmalarda sakrifiye işleminin inflamasyonun en yoğun gözlendiği 2-3 gün içerisinde yapılmasının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. **Sands BE.** From symptom to diagnosis: clinical distinctions among various forms of intestinal inflammation. *Gastroenterology*, **2004**; 126: 1518-1532.
2. **Danese S, Sans M, Fiocchi C.** Inflammatory bowel disease: the role of environmental factors. *Autoimmun. Rev.*, **2004**; 3: 394-400.
3. **Neurath MF.** Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat. Rev. Immunol.*, **2014**; 14: 329-342.
4. **Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, Klein JS, De La Motte C, Strong SA, Fiocchi C, Strober W.** Disparate CD4⁺ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J. Immunol.*, **1996**; 157: 1261-1270.
5. **Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, Yang Z, Exley M, Kitani A, Blumberg RS.** Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J. Clin. Invest.*, **2004**; 113: 1490-1497.
6. **Kobayashi T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kamada N, Chinen H, Saito R, Kitazume MT, Nakazawa A, Sugita A, Koganei K.** IL23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut*, **2008**; 57: 1682-1689.
7. **Rovedatti L, Kudo T, Biancheri P, Sarra M, Knowles C, Rampton DS, Corazza GR, Monteleone G, Di Sabatino A, MacDonald TT.** Differential regulation of interleukin 17 and interferon γ production in inflammatory bowel disease. *Gut*, **2009**; 58: 1629-1636.
8. **Pastorelli L, Garg RR, Hoang SB, Spina L, Mattioli B, Scarpa M, Fiocchi C, Vecchi M, Pizarro TT.** Epithelial-derived IL-33 and its receptor ST2 are dysregulated in ulcerative colitis and in experimental Th1/Th2 driven enteritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2010**; 107: 8017-8022.
9. **Sedhom MA, Pichery M, Murdoch JR, Foligné B, Ortega N, Normand S, Mertz K, Sanmugalingam D, Brault L, Grandjean T.** Neutralisation of the interleukin-33/ST2 pathway ameliorates experimental colitis through enhancement of mucosal healing in mice. *Gut*, **2013**; 62: 1714-1723.
10. **Liew FY, Pitman NI, McInnes IB.** Disease-associated functions of IL-33: the new kid in the IL-1 family. *Nat. Rev. Immunol.*, **2010**; 10: 103-110.
11. **Randhawa PK, Singh K, Singh N, Jaggi AS.** A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, **2014**; 18: 279-288.
12. **Kim H-S, Berstad A.** Experimental colitis in animal models. *Scand. J. Gastroenterol.*, **1992**; 27: 529-537.
13. **Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH.** Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, **1995**; 109: 1344-1367.

14. **Geboes K, Colombel JF, Greenstein A, Jewell DP, Sandborn WJ, Vatn MH, Warren B, Riddell RH.** Indeterminate colitis: a review of the concept—what's in a name? *Inflamm. Bowel Dis.*, **2008**; 14: 850-857.
15. **Dincer Y, Erzin Y, Himmetoglu S, Gunes KN, Bal K, Akcay T.** Oxidative DNA damage and antioxidant activity in patients with inflammatory bowel disease. *Dig. Dis. Sci.*, **2007**; 52: 1636-1641.
16. **Hanauer SB.** Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2006**; 12 Suppl 1: S3-9.
17. **Farrokhyar F, Swarbrick E, Irvine EJ.** A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, **2001**; 36: 2-15.
18. **Ardizzone S, Bollani S, Manzionna G, Porro GB.** Inflammatory bowel disease approaching the 3rd millennium pathogenesis and therapeutic implications? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, **1999**; 11: 27-32.
19. **Sartor RB.** Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol.*, **2006**; 3: 390-407.
20. **Xavier R, Podolsky D.** Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, **2007**; 448: 427-434.
21. **Satsangi J, Grootcholten C, Holt H, Jewell D.** Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. *Gut*, **1996**; 38: 738-741.
22. **Baumgart DC.** Inflammatory bowel disease: genetic and epidemiologic considerations. *World J. Gastroenterol.*, **2008**; 14: 338-347.
23. **Orholm M, Binder V, Sørensen T, Rasmussen L, Kyvik K.** Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins: results of a nationwide study. *Scand. J. Gastroenterol.*, **2000**; 35: 1075-1081.
24. **Gaya DR, Russell RK, Nimmo ER, Satsangi J.** New genes in inflammatory bowel disease: lessons for complex diseases? *Lancet*, **2006**; 367: 1271-1284.
25. **Silverberg MS, Mirea L, Bull SB, Murphy JE, Steinhart AH, Greenberg GR, McLeod RS, Cohen Z, Wade JA, Siminovitch KA.** A population-and family-based study of Canadian families reveals association of HLA DRB1* 0103 with colonic involvement in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2003**; 9: 1-9.
26. **Lesage S, Zouali H, Cézard J-P, Colombel J-F, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain C, Gassull M, Binder V.** CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am. J. Hum. Genet.*, **2002**; 70: 845-857.
27. **TEZEL A.** Etiopathogenesis of ulcerative colitis. *T. Klin. J. Gastroenterohepatol-Special Topics*, **2009**; 2: 7.
28. **Cosnes J, Beaugerie L, Carbonnel F, Gendre JP.** Smoking cessation and the course of Crohn's disease: an intervention study. *Gastroenterology*, **2001**; 120: 1093-1099.

29. **Ohkusa T, Sato N.** Antibacterial and antimycobacterial treatment for inflammatory bowel disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **2005**; 20: 340-351.
30. **Isaacs K, Herfarth H.** Role of probiotic therapy in IBD. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2008**; 14: 1597-1605.
31. **Quirke P.** Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis is a cause of Crohn's disease. *Gut*, **2001**; 49: 757-760.
32. **Chamberlin W, Graham D, Hulten K, El-Zimaity H, Schwartz M, Naser S, Shafran I, El-Zaatari F.** Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis as one cause of Crohn's disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **2001**; 15: 337-346.
33. **Lavy A, Broide E, Reif S, Keter D, Niv Y, Odes S, Eliakim R, Halak A, Ron Y, Patz J.** Measles is more prevalent in Crohn's disease patients. A multicentre Israeli study. *Dig. Liver Dis.*, **2001**; 33: 472-476.
34. **Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS.** The immunology of mucosal models of inflammation 1. *Annu. Rev. Immunol.*, **2002**; 20: 495-549.
35. **Geremia A, Arancibia-Cárcamo CV, Fleming MP, Rust N, Singh B, Mortensen NJ, Travis SP, Powrie F.** IL-23-responsive innate lymphoid cells are increased in inflammatory bowel disease. *J. Exp. Med.*, **2011**; 208: 1127-1133.
36. **Fiocchi C.** Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*, **1998**; 115: 182-205.
37. **Lukacs NW, Chensue SW, Strieter RM, Warmington K, Kunkel SL.** Inflammatory granuloma formation is mediated by TNF-alpha-inducible intercellular adhesion molecule-1. *J. Immunol.*, **1994**; 152: 5883-5889.
38. **Ng S, Benjamin J, McCarthy N, Hedin C, Koutsoumpas A, Plamondon S, Price C, Hart A, Kamm M, Forbes A.** Relationship between human intestinal dendritic cells, gut microbiota, and disease activity in Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2011**; 17: 2027-2037.
39. **Monteleone G, Biancone L, Marasco R, Morrone G, Marasco O, Lizza F, Pallone F.** Interleukin 12 is expressed and actively released by Crohn's disease intestinal lamina propria mononuclear cells. *Gastroenterology*, **1997**; 112: 1169-1178.
40. **LEE M.** Recombinant interleukin-1 receptor antagonist blocks the proinflammatory activity of endogenous interleukin-1 in rabbit immune colitis. *Gastroenterology*, **1992**; 103: 65-71.
41. **Arslan S, Kav T, Besisik F, Kaymakoglu S, Pinarbasi B, Tözün N, Hamzaoglu HO, Duman D, Ulker A, Parlak E.** Clinical outcome of Crohn's disease treated with infliximab. *Hepatogastroenterology*, **2002**; 50: 952-956.
42. **D'Haens G, Van Deventer S, Van Hogezaand R, Chalmers D, Kothe C, Baert F, Braakman T, Schaible T, Geboes K, Rutgeerts P.** Endoscopic and histological healing with infliximab anti-tumor necrosis factor antibodies in Crohn's disease: A European multicenter trial. *Gastroenterology*, **1999**; 116: 1029-1034.

43. **Osterman MT, Lichtenstein GR.** Ulcerative colitis. In: Feldman M, Scharschmidt B, Sleisenger MH, Editors. *Gastrointestinal and Liver Disease*, Saunders, Toronto. **1998**; P: 2039-2069.
44. **Fuss IJ, Strober W.** The role of IL-13 and NK T cells in experimental and human ulcerative colitis. *Mucosal Immunol.*, **2008**; 1: S31-S33.
45. **Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, Mankertz J, Gitter AH, Bürgel N, Fromm M.** Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology*, **2005**; 129: 550-564.
46. **Neurath M, Weigmann B, Finotto S, Glickman J, Nieuwenhuis E, Iijima H, Mizoguchi A, Mizoguchi E, Mudter J, Galle P.** The transcription factor T-bet regulates mucosal T cell activation in experimental colitis and Crohn's disease. *J. Exp. Med.*, **2002**; 195: 1129-1143.
47. **Monteleone G, Caruso R, Fina D, Peluso I, Gioia V, Stolfi C, Fantini MC, Caprioli F, Tersigni R, Alessandroni L.** Control of matrix metalloproteinase production in human intestinal fibroblasts by interleukin 21. *Gut*, **2006**; 55: 1774-1780.
48. **Siakavellas SI, Bamias G.** Role of the IL-23/IL-17 axis in Crohn's disease. *Discov. Med.*, **2012**; 14: 253-262.
49. **Asseman C, Mauze S, Leach MW, Coffman RL, Powrie F.** An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J. Exp. Med.*, **1999**; 190: 995-1004.
50. **Powrie F, Carlino J, Leach MW, Mauze S, Coffman RL.** A critical role for transforming growth factor-beta but not interleukin 4 in the suppression of T helper type 1-mediated colitis by CD45RB (low) CD4+ T cells. *J. Exp. Med.*, **1996**; 183: 2669-2674.
51. **Desreumaux P, Foussat A, Allez M, Beaugerie L, Hébuterne X, Bouhnik Y, Nachury M, Brun V, Bastian H, Belmonte N.** Safety and efficacy of antigen-specific regulatory T-cell therapy for patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology*, **2012**; 143: 1207-1217. e2.
52. **Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X.** IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*, **2005**; 23: 479-490.
53. **Groß P, Doser K, Falk W, Obermeier F, Hofmann C.** IL-33 attenuates development and perpetuation of chronic intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2012**; 18: 1900-1909.
54. **Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K.** IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2010**; 107: 18581-18586.
55. **Ruffolo C, Scarpa M, Faggian D, Basso D, D'Inca R, Plebani M, Sturniolo GC, Bassi N, Angriman I.** Subclinical intestinal inflammation in patients with Crohn's disease following bowel resection: a smoldering fire. *J. Gastrointest. Surg.*, **2010**; 14: 24-31.

56. **Satsangi J, Silverberg M, Vermeire S, Colombel J.** The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut*, **2006**; 55: 749-753.
57. Extent of bowel involvement in different degrees of ulcerative colitis. Available from: https://www.jhmicall.org/Upload/200710261337_41896_000.jpg.
58. **Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern F.** Development of a Crohn's disease activity index. *Gastroenterology*, **1976**; 70: 439-444.
59. Crohn's disease affected areas. Available from: <http://atlantichhealth.adam.com/graphics/images/en/19219.jpg>.
60. **Baumgart DC, Sandborn WJ.** Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*, **2007**; 369: 1641-1657.
61. **Sonia F, Blumberg RS.** Inflammatory bowel disease. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Editors. *Harrison's principles of internal medicine*, McGraw-Hill. **2001**; P: 1679-1692.
62. **Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, Stray N, Sauar J, Vatn MH, Moum B, Group IS.** C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study. *Gut*, **2008**; 57: 1518-1523.
63. **Quinton J, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, Charrier G, Targan S, Colombel J, Poulain D.** Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut*, **1998**; 42: 788-791.
64. **Gisbert JP, Bermejo F, Pérez-Calle JL, Taxonera C, Vera I, McNicholl AG, Algaba A, López P, López-Palacios N, Calvo M.** Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2009**; 15: 1190-1198.
65. **Rodemann JF, Dubberke ER, Reske KA, Seo DH, Stone CD.** Incidence of Clostridium difficile infection in inflammatory bowel disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, **2007**; 5: 339-344.
66. **Mowat C, Cole A, Windsor A, Ahmad T, Arnott I, Driscoll R, Mitton S, Orchard T, Rutter M, Younge L.** Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut*, **2011**; 60: 571-607.
67. **Annese V, Daperno M, Rutter MD, Amiot A, Bossuyt P, East J, Ferrante M, Götz M, Katsanos KH, Kießlich R.** European evidence based consensus for endoscopy in inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, **2013**; 7: 982-1018.
68. **Osterman MT, Lichtenstein GR.** Ulcerative colitis. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, Editors. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, Elsevier Health Sciences, Philadelphia. **2016**; P: 2023-2061.
69. **Sands BE, A SC.** Crohn's disease. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, Editors. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, Elsevier Health Sciences, Philadelphia. **2016**; P: 1990-2022.

70. **Emory TS, H SL.** Idiopathic inflammatory bowel disease. In: Iacobuzio-Donahue CA, Montgomery EA, Editors. *Gastrointestinal and Liver Pathology*, Elsevier Health Sciences, Philadelphia. **2011**; P: 352-366.
71. **Geboes K, Riddell R, Öst A, Jensfelt B, Persson T, Löfberg R.** A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis. *Gut*, **2000**; 47: 404-409.
72. **Magro F, Langner C, Driessen A, Ensari A, Geboes K, Mantzaris G, Villanacci V, Becheanu G, Nunes PB, Cathomas G.** European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, **2013**; 7: 827-851.
73. **Rosai J.** Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10th Ed., Elsevier Health Sciences., Philadelphia. **2011**; P:585-816.
74. **Mahadeva U, Martin J, Patel N, Price A.** Granulomatous ulcerative colitis: a re-appraisal of the mucosal granuloma in the distinction of Crohn's disease from ulcerative colitis. *Histopathology*, **2002**; 41: 50-55.
75. **Marshall JK, Irvine EJ.** Putting rectal 5-aminosalicylic acid in its place: the role in distal ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.*, **2000**; 95: 1628-1636.
76. **Katz JA.** Treatment of inflammatory bowel disease with corticosteroids. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **2004**; 33: 171-189.
77. **Friedman S.** General principles of medical therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, **2004**; 33: 191-208.
78. **Jurjus AR, Khoury NN, Reimund J-M.** Animal models of inflammatory bowel disease. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **2004**; 50: 81-92.
79. **Goyal N, Rana A, Ahlawat A, Bijjem KRV, Kumar P.** Animal models of inflammatory bowel disease: a review. *Inflammopharmacology*, **2014**; 22: 219-233.
80. **Nagatani K, Wang S, Llado V, Lau CW, Li Z, Mizoguchi A, Nagler CR, Shibata Y, Reinecker HC, Mora JR.** Chitin microparticles for the control of intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2012**; 18: 1698-1710.
81. **Wirtz S, Neufert C, Weigmann B, Neurath MF.** Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat. Protoc.*, **2007**; 2: 541-546.
82. **Low D, Nguyen DD, Mizoguchi E.** Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *Drug Des. Devel. Ther.*, **2013**; 7: 1341-57.
83. **Benard C, Cultrone A, Michel C, Rosales C, Segain J-P, Lahaye M, Galmiche J-P, Cherbut C, Blotti re HM.** Degraded carrageenan causing colitis in rats induces TNF secretion and ICAM-1 upregulation in monocytes through NF- B activation. *PLoS One*, **2010**; 5: e8666.
84. **Reingold L, Rahal K, Schmiedlin-Ren P, Rittershaus AC, Bender D, Owens SR, Adler J, Zimmermann EM.** Development of a peptidoglycan–polysaccharide murine model of Crohn's disease: effect of genetic background. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2013**; 19: 1238-1244.

85. **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.
86. **Motavallian-Naeini A, Andalib S, Rabbani M, Mahzouni P, Afsharipour M, Minaian M.** Validation and optimization of experimental colitis induction in rats using 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid. *Res. Pharm. Sci.*, **2012**; 7: 159-169.
87. **Yamada Y, Marshall S, Specian RD, Grisham MB.** A comparative analysis of two models of colitis in rats. *Gastroenterology*, **1992**; 102: 1524-34.
88. **Nenci A, Becker C, Wullaert A, Gareus R, Van Loo G, Danese S, Huth M, Nikolaev A, Neufert C, Madison B.** Epithelial NEMO links innate immunity to chronic intestinal inflammation. *Nature*, **2007**; 446: 557-561.
89. **MacPherson B, Pfeiffer C.** Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion*, **1978**; 17: 135-150.
90. **Uhlir CM, Whitehead AS.** Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur. J. Biochem.*, **1999**; 265: 501-523.
91. **Niederau C, Backmerhoff F, Schumacher B.** Inflammatory mediators and acute phase proteins in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology*, **1996**; 44: 90-107.
92. **Hortin GL.** Amino acids, peptides and proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, Elsevier Health Sciences, Philadelphia. **2012**; P: 509-563.
93. **Urieli-Shoval S, Linke RP, Matzner Y.** Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Curr. Opin. Hematol.*, **2000**; 7: 64-9.
94. **Tam S-P, Kisilevsky R, Ancsin JB.** Acute-phase-HDL remodeling by heparan sulfate generates a novel lipoprotein with exceptional cholesterol efflux activity from macrophages. *PLoS One*, **2008**; 3: e3867.
95. **Tunalı Akbay T.** Akut faz reaksiyonu ve akut faz proteinleri. In: Emekli N, Yigitbaşı T, Editors. *Klinik Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul*. **2015**; S: 251-258.
96. **Shah C, Hari-Dass R, Raynes JG.** Serum amyloid A is an innate immune opsonin for Gram-negative bacteria. *Blood*, **2006**; 108: 1751-1757.
97. **Vreugdenhil AC, Dentener MA, Snoek AP, Greve J-WM, Buurman WA.** Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *J. Immunol.*, **1999**; 163: 2792-2798.
98. **Fukushima K, Ogawa H, Kitayama T, Yamada T, Naito H, Funayama Y, Matsuno S, Sasaki I.** Epithelial induction of serum amyloid A in experimental mucosal inflammation. *Dig. Dis. Sci.*, **2002**; 47: 1438-1446.
99. **Eckhardt ER, Witta J, Zhong J, Arsenescu R, Arsenescu V, Wang Y, Ghoshal S, de Beer MC, de Beer FC, de Villiers WJ.** Intestinal epithelial serum amyloid A modulates bacterial

- growth in vitro and pro-inflammatory responses in mouse experimental colitis. *BMC Gastroenterol.*, **2010**; 10: 1.
100. **Krawisz J, Sharon P, Stenson W.** Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology*, **1984**; 87: 1344-1350.
 101. **Panteghini M, Bais R.** Serum enzymes. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, Elsevier Health Sciences, Philadelphia. **2012**; P: 565-598.
 102. **Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P.** Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am. J. Pathol.*, **2001**; 158: 879-891.
 103. **Bergt C, Pennathur S, Fu X, Byun J, O'Brien K, McDonald TO, Singh P, Anantharamaiah G, Chait A, Brunzell J.** The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2004**; 101: 13032-13037.
 104. **Buell MG, Berin MC.** Neutrophil-independence of the initiation of colonic injury. *Dig. Dis. Sci.*, **1994**; 39: 2575-2588.
 105. **Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, Koller BH, Geraghty DE, Orr HT, Strominger JL, Spies T.** Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1987**; 84: 8535-8539.
 106. **Lee EG, Boone DL, Chai S, Libby SL, Chien M, Lodolce JP, Ma A.** Failure to regulate TNF-induced NF- κ B and cell death responses in A20-deficient mice. *Science*, **2000**; 289: 2350-2354.
 107. **Sandborn WJ, Targan SR.** Biologic therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, **2002**; 122: 1592-1608.
 108. **Parker S, Watkins P.** Experimental models of Gram-negative sepsis. *Br. J. Surg.*, **2001**; 88: 22-30.
 109. **Sims JE, Smith DE.** The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, **2010**; 10: 89-102.
 110. **Zhao Q, Chen G.** Role of IL-33 and its receptor in T cell-mediated autoimmune diseases. *Biomed. Res. Int.*, **2014**; 2014: 587376.
 111. **Yin H, Huang B-j, Yang H, Huang Y-f, Xiong P, Zheng F, Chen X-p, Chen Y-f, Gong F-l.** Pretreatment with soluble ST2 reduces warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2006**; 351: 940-946.
 112. **Hayakawa H, Hayakawa M, Kume A, Tominaga S-i.** Soluble ST2 blocks interleukin-33 signaling in allergic airway inflammation. *J. Biol. Chem.*, **2007**; 282: 26369-26380.
 113. **Leung BP, Xu D, Culshaw S, McInnes IB, Liew FY.** A novel therapy of murine collagen-induced arthritis with soluble T1/ST2. *J. Immunol.*, **2004**; 173: 145-150.

114. **Miller AM, Xu D, Asquith DL, Denby L, Li Y, Sattar N, Baker AH, McInnes IB, Liew FY.** IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *J. Exp. Med.*, **2008**; 205: 339-346.
115. **Chapuis J, Hot D, Hansmannel F, Kerdraon O, Ferreira S, Hubans C, Maurage C, Huot L, Bensemain F, Laumet G.** Transcriptomic and genetic studies identify IL-33 as a candidate gene for Alzheimer's disease. *Mol. Psychiatry*, **2009**; 14: 1004-1016.
116. **Yin H, Li X-Y, Jin X-B, Zhang B-B, Gong Q, Yang H, Zheng F, Gong F-L, Zhu J-Y.** IL-33 prolongs murine cardiac allograft survival through induction of TH2-type immune deviation. *Transplantation*, **2010**; 89: 1189-1197.
117. **Xiong A, Zheng F, Gong F, Yang H, Zhang H, Chen J, Duan L, Fang M, Zhu P, Xia Q.** Interleukin-33 ameliorates experimental colitis through promoting Th2/Foxp3⁺ regulatory T-cell responses in mice. *Mol. Med.*, **2012**; 18.
118. **Gross P, Doser K, Falk W, Obermeier F, Hofmann C.** IL-33 attenuates development and perpetuation of chronic intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2012**; 18: 1900-1909.
119. **de Villiers WJ, Varilek GW, de Beer FC, Guo J-T, Kindy MS.** Increased serum amyloid A levels reflect colitis severity and precede amyloid formation in IL-2 knockout mice. *Cytokine*, **2000**; 12: 1337-1347.
120. **Jijon HB, Madsen KL, Walker JW, Allard B, Jobin C.** Serum amyloid A activates NF-kappaB and proinflammatory gene expression in human and murine intestinal epithelial cells. *Eur. J. Immunol.*, **2005**; 35: 718-26.
121. **Şengül N, Aslım B, Uçar G, Yücel N, Işık S, Bozkurt H, Sakaoğulları Z, Atalay F.** Effects of exopolysaccharide-producing probiotic strains on experimental colitis in rats. *Dis. Colon Rectum*, **2006**; 49: 250-258.
122. **Moeinian M, Ghasemi-Niri SF, Mozaffari S, Abdolghaffari AH, Baeeri M, Navae-Nigjeh M, Abdollahi M.** Beneficial effect of butyrate, Lactobacillus casei and L-carnitine combination in preference to each in experimental colitis. *World J. Gastroenterol.*, **2014**; 20: 10876-85.
123. **Kim JJ, Shajib MS, Manocha MM, Khan WI.** Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. *J. Vis. Exp.*, **2012**; e3678.
124. **Zwolinska-Wcislo M, Brzozowski T, Budak A, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Kwiecien S, Trojanowska D, Rudnicka-Sosin L, Mach T, Konturek SJ, Pawlik WW, Targosz A.** Studies on the influence of Candida fungal colonization on the healing process of inflammatory lesions in the colon in rat animal model. *Przegl. Lek.*, **2007**; 64: 124-129.
125. **Cavusoglu E, Ruwende C, Eng C, Chopra V, Yanamadala S, Clark LT, Pinsky DJ, Marmur JD.** Usefulness of baseline plasma myeloperoxidase levels as an independent predictor of myocardial infarction at two years in patients presenting with acute coronary syndrome. *Am. J. Cardiol.*, **2007**; 99: 1364-1368.
126. **Kucuk C, Sozuer E, Gursoy S, Canoz O, Artis T, Akcan A, Akyıldız H, Muhtaroglu S.** Treatment with Met-RANTES decreases bacterial translocation in experimental colitis. *Am. J. Surg.*, **2006**; 191: 77-83.

127. **Funakoshi K, Sugimura K, Anezaki K, Bannai H, Ishizuka K, Asakura H.** Spectrum of cytokine gene expression in intestinal mucosal lesions of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Digestion*, **1998**; 59: 73-78.
128. **Atreya R, Zimmer M, Bartsch B, Waldner MJ, Atreya I, Neumann H, Hildner K, Hoffman A, Kiesslich R, Rink AD.** Antibodies against tumor necrosis factor (TNF) induce T-cell apoptosis in patients with inflammatory bowel diseases via TNF receptor 2 and intestinal CD14+ macrophages. *Gastroenterology*, **2011**; 141: 2026-2038.
129. **Triantafyllidis JK, Papalois AE, Parasi A, Anagnostakis E, Burnazos S, Gikas A, Merikas EG, Douzinas E, Karagianni M, Sotiriou H.** Favorable response to subcutaneous administration of infliximab in rats with experimental colitis. *World J. Gastroenterol.*, **2005**; 11: 6843-6847.
130. **Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P, Fedorak RN, Lukas M, MacIntosh D, Panaccione R, Wolf D, Pollack P.** Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I Trial. *Gastroenterology*, **2006**; 130: 323-333.
131. **Peyrin-Biroulet L, Deltenre P, De Suray N, Branche J, Sandborn WJ, Colombel JF.** Efficacy and safety of tumor necrosis factor antagonists in Crohn's disease: meta-analysis of placebo-controlled trials. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, **2008**; 6: 644-653.
132. **Beltran CJ, Núñez LE, Díaz-Jiménez D, Farfan N, Candia E, Heine C, Lopez F, González MJ, Quera R, Hermoso MA.** Characterization of the novel ST2/IL-33 system in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, **2010**; 16: 1097-1107.
133. **Saadah OI, Al-Harthi SE, Al-Mughales JA, Bin-Taleb YY, Baeshen RS.** Serum Interleukin-33 level in Saudi children with inflammatory bowel disease. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, **2015**; 8: 16000-6.
134. **Boga S, Alkim H, Koksall AR, Ozagari AA, Bayram M, Tekin Neijmann S, Sen I, Alkim C.** Serum ST2 in inflammatory bowel disease: a potential biomarker for disease activity. *J. Investig. Med.*, **2016**; 64: 1016-24.
135. **Sponheim J, Pollheimer J, Olsen T, Balogh J, Hammarström C, Loos T, Kasprzycka M, Sørensen DR, Nilsen HR, Küchler AM.** Inflammatory bowel disease-associated interleukin-33 is preferentially expressed in ulceration-associated myofibroblasts. *Am. J. Pathol.*, **2010**; 177: 2804-2815.
136. **Ran ZH, Chen C, Xiao SD.** Epigallocatechin-3-gallate ameliorates rats colitis induced by acetic acid. *Biomed. Pharmacother.*, **2008**; 62: 189-196.
137. **Akgun E, Caliskan C, Celik H, Ozutemiz A, Tuncyurek M, Aydin H.** Effects of N-acetylcysteine treatment on oxidative stress in acetic acid-induced experimental colitis in rats. *J. Int. Med. Res.*, **2005**; 33: 196-206.
138. **Patil MVK, Kandhare AD, Bhise SD.** Effect of aqueous extract of *Cucumis sativus* Linn. fruit in ulcerative colitis in laboratory animals. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **2012**; 2: 962-969.

139. **Brenna Ø, Furnes MW, Drozdov I, van Beelen Granlund A, Flatberg A, Sandvik AK, Zwiggelaar RT, Mårvik R, Nordrum IS, Kidd M.** Relevance of TNBS-Colitis in rats: a methodological study with endoscopic, histologic and transcriptomic characterization and correlation to IBD. *PLoS One*, **2013**; 8: e54543.
140. **Jiang XL, Cui HF.** A new chronic ulcerative colitis model produced by combined methods in rats. *World J. Gastroenterol.*, **2000**; 6: 742-746.
141. **Barbara G, Xing Z, Hogaboam C, Gauldie J, Collins S.** Interleukin 10 gene transfer prevents experimental colitis in rats. *Gut*, **2000**; 46: 344-349.



TABLÖLAR

Tablo 2.1.	Crohn hastalığı ve ülseratif kolit klinik özellikleri ve komplikasyonlar	12
Tablo 2.2.	Crohn hastalığı ve ülseratif kolitin endoskopik bulguları	14
Tablo 3.1.	Deney grupları	33
Tablo 3.2.	Mikroskopik hasar skorlaması	39
Tablo 4.1.	Deney öncesi ve sonrası ortalama ağırlıklar	40
Tablo 4.2.	3. gün sakrifiye edilen kontrol, asetik asit, TNBS ve kombine grubunun biyokimyasal parametrelerinin sonuçları ve gruplar arası karşılaştırma sonuçları	44
Tablo 4.3.	7. gün sakrifiye edilen kontrol, asetik asit, TNBS ve kombine grubunun biyokimyasal parametrelerinin sonuçları ve gruplar arası karşılaştırma sonuçları	44
Tablo 4.4.	Kruskal Wallis ve One Way ANOVA ile anlamlı fark bulunan biyokimyasal parametrelerin sonuçlarının kontrol grubu ve deney grubu olarak ikili karşılaştırma sonucu bulunan kesin p değerleri	45
Tablo 4.5.	Mikroskopik hasar skorlaması sonuçları	46

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	İnflamatuvar barsak hastalığı	3
Şekil 2.2.	İnflamatuvar barsak hastalığında etiyolojik faktörler	4
Şekil 2.3.	İnflamatuvar barsak hastalığı patogenezi	7
Şekil 2.4.	İnflamatuvar barsak hastalığı patogenezinde sitokinler	9
Şekil 2.5.	Ülseratif kolitin tutulum gösterdiği alanlar	10
Şekil 2.6.	Crohn hastalığının tutulum gösterdiği alanlar	11
Şekil 2.7.	Ülseratif kolitin endoskopik görüntüsü	15
Şekil 2.8.	Crohn hastalığının endoskopik görüntüsü	15
Şekil 2.9.	Pan-Ülseratif kolit	16
Şekil 2.10.	Ülseratif kolitte kript distorsiyonu, kriptit ve kript abseleri	17
Şekil 2.11.	Crohn hastalığının makroskopik görünümü	18
Şekil 2.12.	Crohn hastalığında transmural inflamasyon	18
Şekil 2.13.	TNBS ile indüklenen kolit görünümü	24
Şekil 2.14.	IL-33/ST2 sinyal yolağı	30
Şekil 3.1.	Kolit indüksiyonu	33
Şekil 3.2.	Deneklerin ağırlıklarının tartılması	34
Şekil 3.3.	Anestezi uygulaması	34
Şekil 3.4.	İntrakardiyak kan alınması	35
Şekil 3.5.	Kolonun çıkartılması	35
Şekil 4.1.	Ağırlıkların değerlendirilmesi	41
Şekil 4.2.	Serum amiloid A sonuçları	41
Şekil 4.3.	Myeloperoksidaz sonuçları	42
Şekil 4.4.	Tümör nekroz faktör alfa sonuçları	42
Şekil 4.5.	İnterlökin-33 sonuçları	43
Şekil 4.6.	İnterlökin-33 reseptörü (ST2) sonuçları	43
Şekil 4.7.	Kolonun makroskopik görünümü	46
Şekil 4.8.	Kontrol grubu histopatolojik görünüm. Normal görünümlü kolon dokusu	47
Şekil 4.9.	Asetik asit grubu 3. gün histopatolojik görünüm. Lamina propriada nötrofilden zengin inflamatuvar hücreler	47

Şekil 4.10.	Asetik asit grubu 7. gün histopatolojik görünüm. Mukoza ve submukozada hafif şiddette inflamasyon, rejeneratif değişiklikler	48
Şekil 4.11.	TNBS grubu 3. gün histopatolojik görünüm. Birbirine bitişik sağlam mukoza ile nekrotik görünümde mukoza. Tüm duvar boyunca inflamasyon, ödem ve konjesyon	49
Şekil 4.12.	TNBS grubu 3. gün histopatolojik görünüm. A. Belirgin lenfoid doku hiperplazisi. B. Mitoz artışı.	49
Şekil 4.13.	TNBS grubu 3. gün histopatolojik görünüm. A. Yoğun ödem, inflamasyon ve derin nekroz B. Aynı nekroz alanının büyük büyütmedeki görüntüsü	50
Şekil 4.14.	TNBS grubu 7. gün histopatolojik görünüm. Sağda barsak duvarını tam kat infiltre etmiş yoğun inflamatuvar hücrelere fibrozis eşlik etmekte, fibrozis sonucu soldaki komşu barsak segmentine serozal yüzden yapışıklık göstermiş	50
Şekil 4.15.	TNBS grubu 7. gün histopatolojik görünüm. Barsak dokusunda tüm duvar boyunca yoğun fibrozis, fibroze bağlı yapışıklıktan dolayı serozada pankreasa ait duktal ve glandüler yapılar	51
Şekil 4.16.	Kombine grup 3. gün histopatolojik görünüm. Kolon segmenti boyunca muskularis mukozaya kadar yaygın ülserasyon. Yoğun inflamasyon, vaskularizasyon ve ödem	52
Şekil 4.17.	Kombine grup 3. gün histopatolojik görünüm. Ödem ve inflamasyonun izlendiği dokuda sol taraftaki mukozal yüzde epitel altında yoğun kanama gözlenirken, sağ tarafta mukozada ülser yerini fokal nekroza bırakmış	52
Şekil 4.18.	Kombine grup 3. gün histopatolojik görünüm. A. Nötrofil hakimiyetinde iltihabi hücreler, yüzey epiteli altında kanama ve gland epitellerinde mitoz artışı B. Yüzey epitelinde intraepitelyal lenfosit artışı	53
Şekil 4.19.	Kombine grup 7. gün histopatolojik görünüm. Yaygın ve derin ülserasyon, yoğun fibrozis	53

- Şekil 4.20.** Kombine grup 7. gün histopatolojik görünüm. Fibroblastik aktivitede artış **54**
- Şekil 4.21.** Kombine grup 7. gün histopatolojik görünüm. Fibroblastik aktivitede artış (Masson Trikrom x400) **54**



SİMGELER ve KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
κ	Kappa
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece
μg	Mikrogram
cm	Santimetre
gr	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
ng	Nanogram
nm	Nanometre
pg	Pikogram
ALP	Alkalen fosfataz
ASCA	Anti <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
AST	Aspartat transaminaz
CH	Crohn hastalığı
CRP	C reaktif protein
DC	Dendritik hücre
DSS	Dekstran sodyum sülfat
GATA	T lenfosit ile ilişkili transkripsiyon faktör
GATA3	GATA bağlayıcı protein 3
H&E	Hematoksilen&Eozin
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HLA	İnsan lökosit antijeni
HOCl	Hipoklorik asit
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin

IL-1RAcP	İnterlökin 1 reseptör aksesuar protein
IL-1RL	İnterlökin 1 reseptör ilişkili protein
ILC	Doğuştan lenfoid hücreler
IRAK	İnterlökin 1 reseptör ilişkili kinaz
İEH	İntestinal epitel hücre
İBH	İnflamatuvar barsak hastalığı
KO	Knock out
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
MAPK	Mitojenle aktive protein kinaz
MHC	Temel doku uygunluk kompleksi
MPO	Myeloperoksidaz
MyD88	Myeloid diferansiasyon primer cevap protein 88
NF-κβ	Nükleer faktör kappa beta
NK	Doğal öldürücü hücre
NSAİİ	Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
p-ANCA	Perinükleer anti nötrofil sitoplazmik antikor
PBS	Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
ROR	Retinoik asit reseptör ilişkili orphan reseptör
SAA	Serum amiloid A
SF	Serum fizyolojik
SIGIRR	Tek immunglobulin interlökin 1 reseptör ilişkili molekül
ST2	Stimulation gene 2
STAT-4	Sinyal dönüştürücü ve aktivatör transkripsiyon 4
TCR	T hücre reseptör
TGF	Transforme edici büyüme faktörü
Th	T yardımcı hücre
TNBS	Trinitrobenzen sulfonik asit
TNF	Tümör nekrozis faktör
T_{Reg}	T regülatör hücre