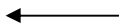


Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;  
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**( DOKTORA TEZİ )**

**İNFLAMATUAR BAĞIRSAK HASTALIĞININ HÜCRESEL  
VE HÜMORAL İMMÜNİTE YÖNÜNDEN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**MSC. PINAR GÜZELAY**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. SELİM BADUR**

**İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**İSTANBUL-2006**

### TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

17 / Temmuz / 2007

Prof. Dr. Emine Kökoğlu  
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Program Adı : İmmünoloji  
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☐ Doktora ☒  
Anabilim Dalı : İmmünoloji  
Tez Sahibi : Pınar Güzelay  
Tez Başlığı : İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının Hücresel ve Hümorale İmmünite Yönünden Değerlendirilmesi  
Sınav Yeri : İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü  
Sınav Tarihi : 06 / Temmuz / 2007

#### Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Emel Ekşioğlu Demiralp Marmara Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı
2. Prof. Dr. Selim Badur, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (Tez Danışmanı)
3. Prof. Dr. Günnur Deniz, İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı (Tez İzleme Komitesi Üyesi)
4. Prof. Dr. Sabahattin Kaymakoglu, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı (Tez İzleme Komitesi Üyesi)
5. Prof. Dr. Şadi Yenen, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

PINAR GÜZELAY



## İTHAF

Beni her zaman destekleyen aileme ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Tezimi hazırladığım süre boyunca destek ve yardımlarından dolayı danışman hocam sayın Prof. Dr. Selim Badur'a teşekkür ederim.

Tez konumu bulmamda yardımcı olan ve bu konudaki gelişmelerden haberdar olmamı sağlayan sayın Dr. Nuray Gürel Polat'a teşekkür ederim

Flow sitometri ile çalışırken bana yardımcı olan sayın Dr. Suzan Adın Çınar'a ve sayın Dr. Bayram Kıran'a teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarımda yardım ve desteğini gördüğüm sayın Dr. Nurhas Safran'a teşekkür ederim.

Tez yazımı sırasında göstermiş oldukları anlayış için immünoloji laboratuvarındaki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

En büyük desteğim ve biricik arkadaşım sayın Dr. Seyhan Aslan'a teşekkür ederim.

Sayın Doç. Dr. Ahmet Danalıoğlu'na, sayın Doç. Dr. Laika Karabulut'a, sayın Uzm. Dr. Arif Acar'a, sayın Uzm. Dr. Şule Poturoğlu'na teşekkür ederim.

Tezimin istatistiksel değerlendirilmesindeki yardım ve katkılarından dolayı sayın Doç. Dr. Nurhan İnce'ye teşekkür ederim.

Tez yazımı sırasındaki yardımları ve manevi desteğinden dolayı sevgili eşim Ali Engin Soğuksu'ya teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-183/060322003

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                     |                                     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| TEZ ONAYI.....                                                                                                      | <b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b> |
| BEYAN .....                                                                                                         | ii                                  |
| İTHAF .....                                                                                                         | iv                                  |
| TEŞEKKÜR.....                                                                                                       | v                                   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                                   | vi                                  |
| TABLolar LİSTESİ .....                                                                                              | ix                                  |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                                                                                               | x                                   |
| SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....                                                                               | xi                                  |
| ÖZET .....                                                                                                          | xii                                 |
| ABSTRACT.....                                                                                                       | xiii                                |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                                                                              | 1                                   |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                                                              | 3                                   |
| 2.1. ÜLSERATİF KOLİT .....                                                                                          | 4                                   |
| 2.1.1. TARİHÇE.....                                                                                                 | 4                                   |
| 2.1.2. TANIM.....                                                                                                   | 4                                   |
| 2.1.3. ÇALIŞMA TANIMLARI.....                                                                                       | 5                                   |
| 2.1.4. PATOLOJİ .....                                                                                               | 5                                   |
| 2.2. CROHN HASTALIĞI .....                                                                                          | 6                                   |
| 2.2.1. TARİHÇE.....                                                                                                 | 6                                   |
| 2.2.2. TANIM.....                                                                                                   | 7                                   |
| 2.2.3. CROHN HASTALIĞI AKTİVİTE İNDEKSİ (CDAI) .....                                                                | 8                                   |
| 2.2.4. ÇALIŞMA TANIMLARI.....                                                                                       | 8                                   |
| 2.2.5. PATOLOJİ .....                                                                                               | 9                                   |
| 2.3. EPİDEMİYOLOJİ .....                                                                                            | 10                                  |
| 2.4. ETİYOLOJİ.....                                                                                                 | 10                                  |
| 2.4.1. GENETİK YATKINLIK.....                                                                                       | 11                                  |
| 2.4.2. ÇEVRESEL FAKTÖRLER .....                                                                                     | 11                                  |
| 2.4.2.1. STEROİD OLMAYAN ANTİ-İNFLAMATUAR İLAÇ (NON-STEROİD<br>ANTİ-İNFLAMATUAR İLAÇ <i>NSAİİ</i> ) KULLANIMI ..... | 11                                  |
| 2.4.2.2. ORAL KONTRASEPTİFLER.....                                                                                  | 11                                  |

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.4.2.3. SİĞARA .....                                                                                        | 12 |
| 2.4.3. İNFEKSİYONLAR.....                                                                                    | 12 |
| 2.4.3.1. KIZAMIK İNFEKSİYONU .....                                                                           | 13 |
| 2.4.3.2. M. PARATUBERCULOSİS.....                                                                            | 13 |
| 2.4.4. APENDEKTOMİ.....                                                                                      | 13 |
| 2.4.5. ERKEN ÇOCUKLUK .....                                                                                  | 14 |
| 2.5. İMMÜNOLOJİ.....                                                                                         | 14 |
| 2.6. İBH'LİĞİNDA KULLANILAN LABORATUAR TESTLERİ .....                                                        | 17 |
| 2.6.1. İBH'DA ÇALIŞILAN OTOANTİKORLAR.....                                                                   | 18 |
| 2.6.1.1. ANTİ NÜKLEER SİTOPLAZMİK ANTİKOR ( <i>ANTI NUCLEAR CYTOPLASMIC ANTIBODY-ANCA</i> ).....             | 18 |
| 2.6.1.2. ANTİ SACCHAROMYCES CEREVISIAE ANTİKORU ( <i>ANTI SACCHAROMYCES CEREVISIAE ANTIBODY-ASCA</i> ) ..... | 19 |
| 2.6.1.3. PANKREATİK ANTİKOR ( <i>PANCREATIC ANTIBODY-PAB</i> ).....                                          | 20 |
| 2.6.1.4. İNTESTİNAL GOBLET HÜCRE ANTİKORU ( <i>INTESTINAL GOBLET CELL ANTIBODY-IGHA</i> ).....               | 20 |
| 2.6.1.5. OmpC .....                                                                                          | 20 |
| 2.6.1.6. COCCOID AGLÜTİNASYONU .....                                                                         | 20 |
| 2.6.1.7. ANTİ DOKU TRANSGLUTAMİNAZ ANTİKORU ( <i>ANTI TISSUE TRANSGLUTAMINASE ANTIBODY-tTG</i> ) .....       | 20 |
| 2.7. TEDAVİ.....                                                                                             | 21 |
| 2.8. CERRAHİ .....                                                                                           | 23 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                                                                      | 24 |
| 3.1. MALZEME, KİT VE ALETLER.....                                                                            | 24 |
| 3.1.1. ELİSA İÇİN KULLANILAN MALZEME, KİT VE ALETLER .....                                                   | 24 |
| 3.1.2. OTOANTİKOR ÇALIŞMASI İÇİN KULLANILAN MALZEME, KİT VE ALETLER.....                                     | 24 |
| 3.1.3. FLOW SİTOMETRİ ÇALIŞMASI İÇİN KULLANILAN MALZEME, KİT VE ALETLER.....                                 | 25 |
| 3.2. YÖNTEM.....                                                                                             | 26 |
| 3.2.1. ÖRNEKLERİN ALINMASI .....                                                                             | 26 |
| 3.2.2. HEPARİNLİ KAN ÖRNEKLERİNİN MONOKLONAL ANTİKOR ÇALIŞMASI İÇİN HAZIRLANMASI: .....                      | 27 |

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.3. BAĞIRSAK DOKUSUNDAKİ İNFİLTRE LENFOSİTLERİN HAZIRLANMASI.....                    | 27 |
| 3.2.4. PBS HAZIRLANMASI (Phosphate Buffer Solution) .....                               | 27 |
| 3.2.5. İNDİREKT İMMUNFLORESAN YÖNTEMİ İLE OTOANTİKOR ÇALIŞMASI .....                    | 28 |
| 3.2.6. ELİSA YÖNTEMİ İLE ANTİKOR ÇALIŞMASI .....                                        | 28 |
| 3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....                                                         | 29 |
| 4. BULGULAR.....                                                                        | 30 |
| 4.1. HÜMORAL İMMÜNİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLERİN SONUÇLARI .....  | 30 |
| 4.1.1. İNDİREKT İMMUNFLORESAN YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN BULGULAR .....                    | 30 |
| 4.1.2. ELISA YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN BULGULAR .....                                     | 33 |
| 4.1.3. ASCA İÇİN YÖNTEM KARŞILAŞTIRMASI .....                                           | 36 |
| 4.2. HÜCRESEL İMMÜNİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLERİN SONUÇLARI ..... | 37 |
| 4.2.1. FLOW SİTOMETRİ İLE ÇALIŞILAN TAM KAN ÖRNEKLERİNİN SONUÇLARI.....                 | 37 |
| 4.2.2. FLOW SİTOMETRİ İLE ÇALIŞILAN İNFİLTRE LENFOSİTLERİN SONUÇLARI .....              | 42 |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                       | 49 |
| KAYNAKLAR .....                                                                         | 57 |
| ETİK KURUL KARARI.....                                                                  | 67 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                           | 69 |

## TABLOLAR LİSTESİ

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 4-1: Kadın-erkek oranının yüzde dağılımı.....                                                                          | 30 |
| Tablo 4-2: CH ve ÜK 'de otoantikör dağılımı.....                                                                             | 31 |
| Tablo 4-3: ASCA'nın CH ve ÜK'de istatistiksel dağılımı .....                                                                 | 31 |
| Tablo 4-4: ANCA'nın CH ve ÜK'de istatistiksel dağılımı .....                                                                 | 31 |
| Tablo 4-5: CH ve ÜK'de PAB antikoru dağılımı .....                                                                           | 31 |
| Tablo 4-6: CH ve ÜK'de İGHA antikoru dağılımı .....                                                                          | 31 |
| Tablo 4-7: CH, ÜK ve kontrol grubunda endomisyum ve retikülin antikorlarının dağılımı.....                                   | 33 |
| Tablo 4-8: ASCA IgA(+) ve ASCA IgA(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı.....                                     | 34 |
| Tablo 4-9: ASCA IgG(+) ve ASCA IgG(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı.....                                     | 34 |
| Tablo 4-10: Gliadin IgA(+) ve Gliadin IgA(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı.....                              | 35 |
| Tablo 4-11: Gliadin IgG(+) ve Gliadin IgG(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı.....                              | 35 |
| Tablo 4-12: Transglutaminaz IgA(+) ve Transglutaminaz IgA(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı .....             | 35 |
| Tablo 4-13: Transglutaminaz IgG(+) ve Transglutaminaz IgG(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı .....             | 36 |
| Tablo 4-14: ASCA IgA(+) ve IgA(-)'liğinin ELISA ve immünfloresan yöntemin.....                                               | 36 |
| Tablo 4-15: ASCA IgG(+) ve IgG(-)'liğinin ELISA ve immünfloresan yöntemin karşılaştırılması .....                            | 37 |
| Tablo 4-16: Periferik kan lenfositlerinin ÜK, CH ve kontrol grubundaki istatistiksel değerleri .....                         | 38 |
| Tablo 4-17: İnfiltr lenfositlerin ÜK, CH ve kontrol grubundaki istatistiksel değerleri.....                                  | 43 |
| Tablo 4-18: ÜK,CH ve kontrol grubundaki periferik kan lenfositlerinin ikili boyama sonuçlarının istatistiksel değerleri..... | 47 |
| Tablo 4-19: ÜK,CH ve kontrol grubundaki infiltr lenfositlerin ikili boyama sonuçlarının istatistiksel değerleri.....         | 48 |
| Tablo 4-20: ÜK,CH ve kontrol grubundaki infiltr lenfositlerdeki CD5 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> un .....                  | 48 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2-1: Ülseratif kolit'in tutulum dereceleri.....                        | 5  |
| Şekil 2-2: ÜK'de ve kontrolde kolon patolojisi.....                          | 6  |
| Şekil 2-3: CH ve ÜK'nin histopatolojik ve kolonoskopik görünümleri .....     | 9  |
| Şekil 2-4: İBH patogeneze faktörleri .....                                   | 10 |
| Şekil 2-5: c-ANCA ve p-ANCA görüntüsü.....                                   | 19 |
| Şekil 4-6: İntestinal pankreatik Ab'un floresan mikroskop görüntüsü .....    | 32 |
| Şekil 4-7: İntestinal goblet hücre Ab'nun floresan mikroskop görüntüsü ..... | 32 |
| Şekil 4-8: ASCA'nın floresan mikroskop görüntüsü .....                       | 32 |
| Şekil 4-9: p-ANCA'nın floresan mikroskop görüntüsü .....                     | 33 |

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

- İBH: İnflamatuvar bağırsak hastalığı
- CH: Crohn hastalığı
- ÜK: Ülseratif kolit
- İK: İndetermine kolit
- PAB: Pankreatik antikor
- İGHA: İntestinal goblet hücre antikor
- mAb: Monoklonal antikor
- ASCA: Anti *Saccharomyces cerevisiae* antikor
- ANCA: Anti nötrofilik sitoplazma antikor
- CDAİ: Crohn 's Disease Activity Index
- tTG: tissue Transglutaminase
- LPMC: Lamina Propria Mononuclear Cell
- IFN $\gamma$ : İnterferon  $\gamma$
- LPT: Lamina propria T hücresi
- PBT: Peripheral blood T hücresi (Periferal kan T hücresi)
- DTKO: Doğru tanı koyma oranı
- EMA: Endomisyum antikor
- ARA: Anti retikülin antikor
- ANA: Anti nükleer antikor
- SLE: Sistemik lupus eritamatozus

## ÖZET

Güzelay P. İnflamatuvar bağırsak hastalığının hücrel ve hümoral immünite yönünden değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji AD. Doktora Tezi. İstanbul. 2006

Anahtar Kelimeler : Ülseratif kolit, Crohn hastalığı, otoantikor, flow sitometri, hücrel immünite  
Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-183/06032003 no'lu proje olarak desteklemiştir.

Çalışmamızda, gastrointestinal sistemin kronik inflamasyonlu hastalıkları olan Crohn hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK)'in hücrel ve hümoral immünitesi değerlendirilmiş, bu hastalıkların tanısında, kolonoskopinin yerine CH'da ASCA ve eksokrin pankreas, ÜK'de p-ANCA ve intestinal goblet hücre antikorları gibi serolojik testlerin kullanılabilirliği incelenmiştir. Bu amaçla gastroenteroloji endoskopi laboratuvarına başvuran 11'i CH, 17'si ÜK ve 11'i kontrol (İBH'lığı olmayan fakat kolonoskopi yapılması gereken) olmak üzere toplam 39 hastadan kan ve doku örnekleri alınmıştır. Hümoral immünitenin değerlendirilmesi için, periferik-anti nötrofil sitoplazmik antikor, anti endomisyum, anti retikülin, pankreatik antikor, intestinal goblet hücre antikorları testleri için indirekt immünfloresan yöntemi, anti gliadin IgA/IgG, ASCA IgA/IgG, anti doku transglutaminaz IgA/IgG testleri için ELISA yöntemi kullanılmıştır. ASCA IgA/IgG antikorları için ise ELISA ve immünfloresan yöntemleri birlikte kullanılmış ve bu testlerin duyarlık ve özgüllükleri karşılaştırılmıştır. Periferik kan ve bağırsak dokusunda infiltrat olmuş lenfositler hücrel immünite yönünden flow sitometri yöntemi ile değerlendirilmiştir.

CH'da ASCA %81,8 (p=0,003), ÜK'de %58,8 (p=0,001) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. CH'da 1 hastada p-ANCA, ÜK'de 4 hastada ASCA pozitif bulunmuştur. PAB ve İGHA sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmemiştir. Bu durumun hasta sayısının az olmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Kontrol ve hasta grubunda Çölyak hastalığının tanısında kullanılan anti-gliadin IgA/IgG, anti-retikülin ve anti-endomisyum IgA negatif bulunmuştur. Anti doku transglutaminaz IgA ÜK'de %35,3 (p=0,033) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ASCA IgA/IgG antikorları ELISA ve immünfloresan yöntemiyle karşılaştırıldığında ASCA IgA için özgüllük %96,6, duyarlık %44,4, ppV %71,4; ASCA IgG için ise özgüllük %93,1, duyarlık %50, ppV %71,4 olarak bulunmuştur.

Periferik kan lenfositlerinde **CD19** ve **CD40**, ÜK ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında sırasıyla 5,12±9,77; 12,0±6,39 (**p=0,001**), 6,29±3,57; 12,73±5,16 (**p=0,0001**) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>** liği CH ve ÜK karşılaştırıldığında sırasıyla 11,09±7,99; 21,11±8,98 (**p=0,01**) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

İnfiltrat olmuş lenfositlerde ise **CD11b** ve **CD5** ÜK ve CH'da karşılaştırıldığında ise sırasıyla 32,24±30,55; 61,73±31,39 (**p=0,016**), 32,06±20,42; 11,0±12,17 (**p=0,001**). **HLA-DR** ÜK ve kontrol grubu karşılaştırıldığında 14,71±9,89; 4,82±4,73 (**p=0,004**) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. **TCRγδ** CH ve kontrol grubu karşılaştırıldığında 8,09±6,77; 24,36±22,38 (**p=0,015**), ÜK ve kontrol grubu karşılaştırıldığında 7,47±5,09; 24,36±22,38 (**p=0,005**) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Ayrıca **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>** liği Student T testi ile değerlendirildiğinde ÜK ve CH'da 5,23±3,05 ve 2,90±2,35 (**p=0,042**), ÜK ve kontrol grubu karşılaştırıldığında 5,23±3,05 ve 2,90±2,38 (**p=0,042**) olarak anlamlı bulunmuştur.

İnfiltrat lenfositlerde **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>** liği ÜK, CH ve kontrol grubunda ANCA'sı (+) olanlar ve anca'sı (-) olanlarla karşılaştırıldığında sırasıyla 6,54±2,34; 2,89±2,39 (**p=0,000**) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Günümüzde İBH tanısını koyduracak, CH ve ÜK'i kesin olarak birbirinden ayırmasını sağlayacak **altın standart test** yoktur. Gastrointestinal dokudaki İBH ile benzer klinik tablolar oluşturan başka hastalıklardan (infeksiyöz, iskemik, neoplastik) dolayı tanı gecikebilmektedir. Bu testlerin endoskopik ve histolojik bulgulara yardımcı olarak tanıyı kolaylaştırabileceği düşünülmektedir.

## ABSTRACT

Güzelay P. The evaluation of relationship inflammatory bowel diseases with cellular and humoral immunity. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Immunology, İstanbul. 2006.

**Key Words:** Ulcerative colitis, Crohn's disease, autoantibody, flowcytometry, cellular immunity

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. T-183/06032003

In our study was evaluated cellular and humoral immunity of Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), which are chronic inflammatory diseases of gastrointestinal tract and beside colonoscopy the availability ratio of serological tests, which are like ASCA and exocrine pancreas in CD and p-ANCA and intestinal goblet cell antibody in UC was studied. For this aim blood and tissue samples were taken from 39 patients, who applied to gastrointestinal endoscopy laboratory. 11 patients were CD, 17 patients UC and 11 patients control group (they had no inflammatory bowel diseases but they had to be made colonoscopy). For the evaluation of humoral immunity p-ANCA, anti endomysial, anti reticulin, pancreatic antibody (PAB) were used, for the tests of intestinal goblet cell antibody (IGCA) indirect immunofluorescent method was used, for the tests of anti gliadin IgA/IgG and anti tissue transglutaminase IgA/IgG ELISA method was used. ELISA and immunofluorescent methods were used together for the antibody of ASCA IgA/IgG and the sensitivity and specificity of these methods were compared. Of cellular immunity's aspect lymphocytes, which were in peripheral blood and infiltrated in intestinal tissue were evaluated by flowcytometry.

ASCA was 81.8% ( $p=0.003$ ) in CD and 58.8% ( $p=0.001$ ) in UC, these results were found statistically significant. p-ANCA was positive in 1 patient of CD, ASCA was positive in 4 patients of UC. Statistical significant results weren't observed in PAB and IGCA. This result was thought to be caused by not enough number of patients. Anti-gliadin IgA/IgG, anti-reticulin and anti-endomysial, which are used in the diagnosis of coeliac disease, were found negative in control and patient group. Anti tissue transglutaminase IgA was 35.3% ( $p=0.033$ ) in UC, this result was found statistically significant. ASCA IgA/IgG antibodies were compared to ELISA and immunofluorescent methods. And sensitivity 44.4%, specificity 96.6%, ppV 80% were found for ASCA IgA. Sensitivity 50%, specificity 93.1%, ppV 71.4% were found for ASCA IgG.

As CD19 and CD40 in peripheral blood lymphocytes were compared in UC and in control group  $5.12\pm9.77$ ,  $12.0\pm6.39$  ( $p=0.001$ ),  $6.29\pm3.57$ ,  $12.73\pm5.16$  ( $p=0.0001$ ) were found respectively and also statistically significant. As **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>** was compared in CD and UC  $11.09\pm7.99$ ,  $21.11\pm8.98$  ( $p=0.01$ ) were found respectively and also statistically significant.

As CD11b and CD5 in infiltrated lymphocytes were compared in UC and in control group  $32.24\pm30.55$ ,  $61.73\pm31.39$  ( $p=0.016$ ),  $32.06\pm20.42$ ,  $11.0\pm12.17$  ( $p=0.001$ ) were found respectively. As HLA-DR was compared in UC and in control group  $14.71\pm9.89$ ,  $4.82\pm4.73$  ( $p=0.004$ ) were found statistically significant. As TCR $\gamma\delta$  was compared in CD and in control group, and in UC and in control group,  $8.09\pm6.77$ ,  $24.36\pm22.38$  ( $p=0.015$ ),  $7.47\pm5.09$ ,  $24.36\pm22.38$  ( $p=0.005$ ) were found respectively and statistically significant. Further, as **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>** was compared in UC and in CD, in UC and in control group,  $5.26\pm3.05$ ,  $2.90\pm2.35$  ( $p=0.042$ ),  $7.47\pm5.09$ ,  $24.36\pm22.38$  ( $p=0.005$ ) were found respectively and statistically significant. As **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>** in infiltrated lymphocytes were compared in UC, in CD and in control group that are ANCA(+) and ANCA(-),  $6.54\pm2.34$ ,  $2.89\pm2.39$  ( $p=0.000$ ) were found respectively and statistically significant.

There is no golden standard test for diagnosis of inflammatory bowel disease, for separation CD from UC definitively. Some diseases (infectious, ischemic, neoplastic) may have the same clinical symptoms like inflammatory bowel disease and that can cause delay in diagnosis. It is thought that these tests may help in diagnosis beside endoscopic and histological findings.



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar bağırsak hastalığı terimi genelde gastrointestinal sistemin etiyolojisi bilinmeyen iki hastalığının tarif edilmesinde kullanılmaktadır. Bu hastalıkların en iyi bilinen iki formu Crohn hastalığı (CH) ve ülseratif kolittir (ÜK). İBH'nın daha az oranda görülen formu belirsiz (indetermine) kolittir (İK) (17, 39, 47). Hastalığın gelişmesinde immünolojik, çevresel ve genetik faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir (61).

CH genellikle ailede birçok kişide görülür (89). İnflamasyon sıklıkla ince bağırsağın alt bölümünde (distal ileum) meydana gelir. Kolon ve rektumun üst tabakasında ülser ve inflamasyona neden olan ÜK'ten farklı olarak CH'da inflamasyon sindirim sisteminin herhangi bir yerindeki dokuda derinlere yayılır. Her iki hastalıkta kronik olup kadın ve erkekleri eşit olarak etkilemektedir (36, 73). Semptomları benzer olduğundan teşhisi zordur, bu da zaman kaybına neden olmaktadır. Vakaların yaklaşık %10-15'i başlangıçta sınıflandırılmaz ve İK olarak adlandırılır (38).

Hastalığın oluşmasında antikorların önemli rol oynadığı sanılmaktadır. Kalın bağırsaktaki bakterilere karşı antikor üretilirken bağırsağın kendi mukozasına karşı da antikorlar gelişmektedir. CH'nın %60-70'inde *Saccharomyces cerevisiae*'nin oligomannoz epitopuna karşı oluşan antikor tespit edilmiştir (6). *Saccharomyces cerevisiae* antikorlarının saptanmasının İBH'nın teşhisine yardımcı olacağı düşünülmektedir.

İBH'nın kesin tanısı çok önemlidir. Çünkü CH ve ÜK'de tedavi stratejileri farklıdır. Özellikle cerrahi girişim gereken vakaların birbirinden ayırt edilmesi uzun zaman almaktadır (23, 50). Nasıl SLE'de anti nukleer antikorun (ANA) saptanması önemliyse araştırmacılar uzun yıllar İBH teşhisine yardımcı olabilecek antikorları araştırmışlardır. ASCA ve p-ANCA antikorlarının serolojik pozitifliğinin klinik olarak anlamlı olduğunu saptamışlardır. ÜK ve CH'da ANCA ve ASCA antikorlarının beraber popülasyonda taranması tanı için çok duyarlı değildir. Duyarlılığın düşük olmasına rağmen özgüllük yüksektir (68).

ÜK ve CH'lığı doktorlar tarafından hala tanı, prognoz, hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi ve şiddeti, tedavinin sonucu gibi birçok yönden tartışılmaktadır. CH ve ÜK'i kesin olarak birbirinden ayırt edilmesini sağlayacak, İBH tanısını koyduracak altın standart test yoktur. Doktorlar klinik muayene, laboratuvar bulguları, radyoloji,

endoskopi, histoloji ve bunların toplamından oluşan klinik tablodan yararlanarak teşhis koymaktadırlar.

İBH'da laboratuvar testlerinin çalışılmasını gerektiren çeşitli sebepler vardır. Bunlardan birincisi; hastalığın semptomları öznel olduğundan çalışılan laboratuvar testleriyle hastalık aktivitesine nesnellik kazandırmak, ikincisi; hastalar için zor bir işlem olan endoskopiden kaçınmak, yerine serolojik testleri koymak (97).

Bu iki hastalığın tanısını kolaylaştırmak için teşhis değeri yüksek, hızlı serolojik testlere ihtiyaç vardır. İdeal laboratuvar testi hastalığın risk oluşturduğu bireyleri ayırt edebilmeli, hastalık için spesifik olmalı, hastalık aktivitesini saptayabilmeli ve tedavinin etkisini moniterize edebilmelidir. Son araştırmalarda intestinal goblet hücreleri ve p-ANCA antikorlarının varlığı ÜK teşhisinde, eksokrin pankreas ve ASCA antikorlarının varlığı ise CH teşhisinde önemli rol oynayan testler olarak gösterilmiştir (48, 56). Çölyak hastalığı ve İBH kronik diyare ve otoantikörlerin varlığı ile tanımlanmaktadır. Kronik diyareli hastaların serumlarında p-ANCA veya ASCA antikorlarının bulunması durumunda çölyak hastalığıda düşünülmelidir (85). Bu hastaların serumlarından anti endomisyum, anti gliadin ve anti doku transglutaminaz antikorları da çalışılmalı ve çölyak hastalığı atlanmamalıdır.

Bu çalışmada ASCA, ANCA, pankreatik hücre antikoru ve bağırsak goblet hücre antikoru çalışılarak CH'lığı ve ÜK'in birbirinden ayırt edilmesi planlanmıştır. ASCA antikorları ELISA ve indirekt immünfloresan yöntemiyle çalışılarak yöntem karşılaştırması yapılmış, aynı zamanda bu testlerin rutine katkısı amaçlanmıştır.

Periferik kanda ve bağırsak dokusuna infiltre olmuş lenfositler flow sitometrik yöntemle çalışılmıştır. Genel olarak T, B, NK hücreleri ve adezyon moleküllerine bakılarak İBH'nın hücrel immünitesi hakkında fikir edinilmeye çalışılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), genetik olarak duyarlı bireylerde gastrointestinal kanalın bazı dış etkenlerle tetiklenen kronik, tekrarlayan (33, 55) ve kontrol edilemeyen inflamatuvar bir sürecidir.

Hipokrat'ın yazılarından öğrendiğimize göre eskiden beri bilinen kronik İBH günümüzde de insanlar için sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Ayrıca uzun yıllar infeksiyon hastalıkları ile İBH arasındaki farklılık tam olarak açıklanamamıştır. İ.Ö 400'lü yıllarda Hipokrat anal fistülü tanımlamış, M.S 607-690'da Paul isimli bir hekim diyareyi durduran afyonun, bağırsak ülseri ve dizanteri tedavisinde de kullanılabileceğini göstermiştir (100).

Günümüzde İBH'nın klinik bulguları ve semptomları iyi tanımlanmıştır. Hastalarda abdominal rahatsızlık veya ağrı, özellikle diyare görülmektedir. İBH'nın tanısında ayırt edici özellikler şunlardır: rektal kanama, kilo kaybı, abdominal kitle, ateş, nokturnal semptomlar veya taşikardi (41). Basit tarama testleri olan CRP, lökosit, eritrosit sayımları, sedimentasyon hızı veya fekal iltihap hücreleri görülmesi gibi parametreler İBH açısından ipucu verir (97). Bunun yanısıra tanı ileoskopi içeren 'flexible' sigmoidoskopi veya kolonoskopi yapılarak alınan biyopsilerde uygun histopatolojik özelliklerin görülmesiyle konur (41).

Birbiriyle ilişkili ancak iki farklı hastalık olarak tanımlanan ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) İBH başlığı altında yer almaktadır (13, 17). Aralarında önemli farklılıklar bulunmasına rağmen, benzer yanları da bulunduğu için aynı isim altında toplanmaları uygun olmaktadır. Bu iki hastalığın yanısıra, 1979 yılında total kolektomi yapılan hastaların kolon histopatoloji tetkiklerinde mikroskopik ÜK bulgularının saptanması ile "indeterminate kolitis (İK)" tanımı ortaya konmuştur (39). İK, geçici teşhis olarak kabul edilmektedir (16, 39).

Günümüzde ameliyat olmamış bir grup hastada klinik, endoskopik, histopatolojik ve radyolojik tetkikler sonucunda ÜK ve kolon tutulumu olan CH arasında ayırıcı tanının yapılamadığı hasta grubunu içermektedir. İnflamatuvar bağırsak hastalığının başlangıcında hastaların %10-15'inde ÜK ve CH ayırımı yapılamayabilir (17). Hastaların takibinde yaklaşık yarısına ayırıcı tanı konabilir. Bunların 2/3'üne ÜK, 1/3'üne CH tanısı konduğu bildirilmiştir (13, 17).

## 2.1. ÜLSERATİF KOLİT

### 2.1.1. TARİHÇE

17. yüzyıla kadar ülseratif kolit Thomas Sydenham ve diğer araştırmacılar tarafından bulaşıcı olmayan kanama olarak tanımlanmıştır. 19. yüzyılda ise bu hastalık Sir Samuel Wilks tarafından ülseratif kolit olarak adlandırılmış (100), Fielding'in retrospektif olarak otopsi bulgularını analiz etmesiyle Crohn hastalığına benzer özellikler gösterdiği saptanmıştır (32, 100). 1875'de Walter Moxon ile Wilks tarafından ülseratif kolit kavramı tanımlanarak infeksiyöz dizanteri ve ülseratif kolit arasındaki ayrım belirtilmiştir. Aynı yıllarda ışık mikroskobunun kullanılır hale gelmesi İBH'nın tanısı için avantaj olmuştur. 19. yüzyılın sonunda ÜK'in klinik patolojisi tanımlanmıştır. Teşhis amaçlı endoskopinin gelişmesi hastalığın tanısında büyük bir dönüm noktası olmuştur.

1888-1907 yılları arasında, ülseratif kolit teşhisi konan, çoğu ölmüş 307 hastanın bulgularının sunulduğu, Royal Society of Medicine'de ülseratif kolit sempozyumu yapılmıştır (1909). Ölüm sebeplerinin sırasıyla kolon perforasyonu, peritonit, hemoraj veya sepsis olduğu belirlenmiştir. ÜK'de cerrahi yaklaşım olarak çekostomi, apendektomi (Lockhart-Mummery) ve kolostomi (Makins) benimsenmiştir. 1913'de Brown bazı merkezlerce de kabul görmüş olan ileostomiyi uygulamıştır. Bryan Brooke tarafından Birmingham'da; Crile ve Turnbull tarafından Cleveland Clinic'de ileostomi uygulanıp başarılmıştır. 1954'de Harold Hopkins araştırma öğrencileri ile Londra Imperial College'de ilk fiberoptik sistemi geliştirmiş ve 1970'de rutin tanı aleti 'flexible' endoskopi cihazı kullanıma girmiştir. İleo-kolonoskopi ile çoklu mukozal biyopsiler alınarak doğru teşhis konulması sağlanmıştır (100).

### 2.1.2. TANIM

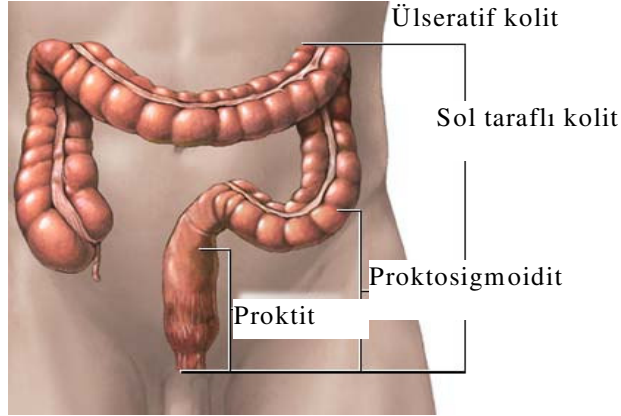
Ülseratif kolit kolonun mukozal tabakası ile sınırlıdır. Tekrarlayan inflamasyon atakları görülür (2, 33). Genellikle rektumu tutar (10) ve rektumun proksimaline doğru uzanarak diğer kolon kısmını da etkiler (51, 92). Tutulum derecesini tanımlayan birçok terim kullanılmıştır:

**Ülseratif proktit**; hastalığın rektuma sınırlı olduğunu belirtir.

**Distal kolit veya proktosigmoidit**; inflamasyonun orta sigmoid kolona kadar olduğunu ve 60 cm fleksibl sigmoidoskop ile ulaşılabilir olduğunu belirtir.

**Sol taraflı ülseratif kolit;** hastalığın splenik fleksuraya kadar uzandığını belirtir.

**Pankolit ise;** inflamatuvar sürecin splenik fleksurayı aştığı durumlar için kullanılır (13, 51) (Şekil 2-1).



**Şekil 2-1: Ülseratif kolit'in tutulum dereceleri**

### 2.1.3. ÇALIŞMA TANIMLARI

**Hafif hastalık:** Hastalık rektum veya rektosigmoide sınırlıdır. Aralıklı rektal kanama, mukus salınması ve hafif ishal vardır. Hafif kramp tarzı ağrı görülür.

**Orta şiddetli hastalık:** Anatomik olarak splenik fleksuranın inflamasyonunu karakterize eder (sol taraf koliti). Günde 10 defaya kadar kanlı gaita, şiddetli olmayan karın ağrısı ve hafif ateş görülür.

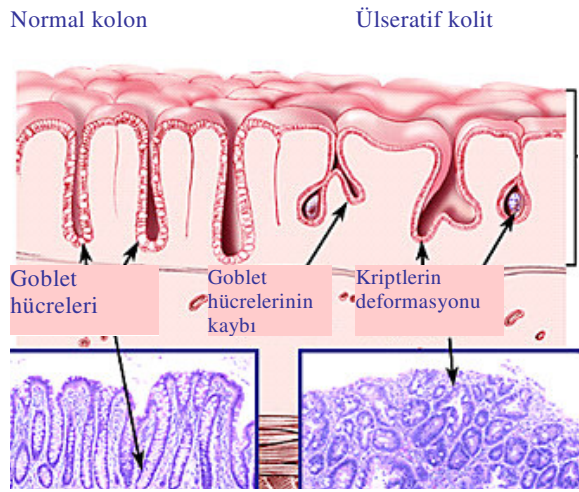
**Şiddetli hastalık:** Bu hastalarda yaygın ve çekumu etkileyen kolon tutulumu vardır (pankolit). Günde 10 kezden fazla kramplı gaita çıkışı, ateş, hızlı kilo kaybı izlenir. Toksik megakolonla sonlanan bir süreç başlamıştır (13, 92).

### 2.1.4. PATOLOJİ

Normal kolon mukozası iyi sınırlı, damarlı ve parlak duvar görünümüne sahiptir. ÜK'de ise vasküler yapıların sınırları mukoza hasarından dolayı iyi değildir. Eritamatöz bir görünüm vardır. Bir çok hastada büyük ülser, masif kanama ve eksudalar görülebilir.

Ülseratif kolitte kolonik tutulum devamlıdır (13). Hastalık hafif, orta, şiddetli olarak sınıflandırılmaktadır (45, 92).

Hastaların 1/4 kadarında sadece rektum, 2/4 kadarında rektum ve sigmoid veya inen kolon etkilenir. Hastalık mukoza ve submukozayla sınırlı kalmaktadır. Bu nedenle kolon duvarı genellikle normal görünümündedir. İnaktif ülseratif kolitte inflamatuvar hücre infiltrasyonu daha azdır, fakat mukoza yapısı genellikle bozulmuştur (5). Kriptler sayıca azalmıştır ve dallanmıştır. Aktif evrede akut inflamatuvar hücreler epitelde kümelenir. Kriptleri invaze ederek kript lümeninde toplanırlar ve kript abseleri oluştururlar. Daha ileri evrede kript epitelinde dejenerasyon veya nekroz olur, kript abseleri birleşerek lamina propriaya dek uzanan yüzeysel ülserler gelişir (Şekil 2-3). Lamina propria'ya inflamatuvar hücreler sızmıştır. Goblet hücrelerinde azalma görülür (5, 92) (Şekil 2-2). ÜK ve CH arasında ayırıcı tanı yönünden en önemli bulgu, granülomların varlığıdır. Bunlar CH'nda daha sık görülür (10).



Şekil 2-2: ÜK'de ve kontrolde kolon patolojisi

## 2.2. CROHN HASTALIĞI

### 2.2.1. TARİHÇE

1932 yılı kronik İBH için önemli bir yıl olmuştur (10, 100). Orjinal tanımlaması *regional ileitis* olan CH (21, 100), başlıca genç erişkinleri etkileyen intestinal granülomların bulunduğu bir hastalıktır. New York'da Mount Sinai Hospital'de yapılmış olan gözlemlerde hastalığın ince ve kalın bağırsağın bitişik luplarında fistül formasyonuna eğilimi olduğu, abdominal duvarda eksternal fistül ve sıklıkla rektal yara

komplikasyonları bulunduğu görülmüştür. 1960'da Londra'da St Metris Hospital'de Lockhart- Mummery ve Moxon'ın raporlarından hastaya Crohn Kolitis kavramının net olarak konuduğu anlaşılmaktadır. İngiltere'de Crohn regional ileitis olarak tanımlanan iki yayın bulunmaktadır. 1813'de Combe ve Saunders'in ileum kalınlaşması strüktürü (Singular case of stricture adthickening of the ileum). 1828'de John Abercroabie'nin 1814'de 13 yaşında ölen bir kızın distal ileum'unda kalınlaşma olduğunu bildirdiği yazı. 1913'de Dalziel yazdığı makalede terminal ileum'un cerrahi rezeksiyonunu önermiştir (100).

### 2.2.2. TANIM

Crohn hastalığı fokal, asimetric, transmural ve genellikle granülomatoz inflamasyonla gastrointestinal sistemi etkileyen bir hastalıktır (33, 43). Ağızdan anüse kadar gastrointestinal sistemde hastalık yapabilir. En yaygın olduğu bölge terminal ileum ve proksimal kolondur (10). Hastalık herhangi bir yaşta özellikle 20'li, 30'lu yaşlarda görülür (43). Geçen 30 yıl içinde insidansı artmıştır. Bazı vakalarda gastrointestinal bulgular açık olmayabilir. Bu durumda teşhisin gecikmesine sebep olabilir. Crohn hastalığının tanısı; hastalığın heterojen oluşu, sinsi ortaya çıkışı, diğer inflamatuvar bağırsak hastalıklarıyla çakışan klinik özellikleri nedeniyle güç olabilir. Klinik belirtileri; kilo kaybı, abdominal hassasiyet, ateş, rektal kanama, perianal fistül veya abselerdir. CH'nın intestinal komplikasyonları ise bağırsak tıkanması, perforasyon, fistül, absedir. Kolonun yoğun dilatasyonu (megakolan) ve bağırsağın yırtılması yaşamı tehdit eden komplikasyonlardır. Toksik megakolon CH'da daha az görülür (10). Ekstraintestinal bulgular ise; göz, cilt veya eklemlerin inflamasyon bozuklukları, çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği, sekonder seks karakterlerinin gelişiminde gerilikle karakterizedir. Crohn hastalığının tanısı; endoskopik, radyografik ve patolojik bulguların (fokal, asimetric, transmural veya granülomatoz görünüm gibi ) bileşkesi baz alınarak konulur (38). Tanıya ulaşmak için sırasıyla başlangıç belirtileri, muayene bulguları, laboratuvar sonuçları ele alınır.

İnfeksiyöz, iskemik, radyasyon yada ilaca bağılı (özellikle anti-inflamatuvar ilaç) inflamatuvar bağırsak hastalıkları veya ülseratif kolit, çölyak, mikroskobik idiyopatik ve irritable bağırsak sendromu ayırıcı tanıda öncelikle göz önüne alınmalıdır. Clostridium difficile aranması, Saccharomyces cerevisiae'ya karşı antikor bakılması gibi serolojik testler CH tanısını destekler.

Hastalığı gösteren altın standart bir yöntem olmadığı için hastalığın ciddiyetini belirlemede klinik parametreler, sistemik bulgular, kişinin gündelik hayatını ne kadar etkilediği göz önüne alınarak değerlendirilir (43).

### 2.2.3. CROHN HASTALIĞI AKTİVİTE İNDEKSİ (CDAI)

CDAI (Crohn's Disease Activity Index), skoru klinik aktiviteyi gösterir. Ancak lezyonların şiddeti ve biyolojik aktivite ile ilgili değildir. Tıbbi tedavi CDAI skoru hesaplanarak düzenlenir.

|      |          |                                |
|------|----------|--------------------------------|
| CDAI | <150     | ( Remisyon )                   |
| CDAI | =150-450 | (Orta derece aktif hastalık)   |
| CDAI | >150     | (Şiddetli aktif hastalık) (12) |

### CDAI SKORUNDAKİ PARAMETRELER VE SKORA ETKİLERİ

|                                                                          |          |
|--------------------------------------------------------------------------|----------|
| Son 7 gündeki yumuşak gayta ve ishal sayısı                              | gün x 2  |
| Son 7 gündeki karın ağrısı şiddeti (0=yok, 1=hafif, 2=orta, 3=şiddetli ) | x 6      |
| Genel durum (0=çok iyi, ....., 4=çok kötü )                              | x 6      |
| Ekstraintestinal hastalık(artrit, irit, eritema nodosum vs.)             | x 20     |
| Diyare için opiat kullanımı (var=1, yok=0 )                              | x 30     |
| Batında kitle ( kesin var=5, şüpheli=2, yok=0 )                          | x 30     |
| Hematokrit farkı                                                         | x 6      |
| Standartın altındaki ağırlığın yüzdesi                                   | x 1 (12) |

### 2.2.4. ÇALIŞMA TANIMLARI

**Hafif-Orta Hastalık:** Dehidratasyon bulguları, toksisite (yüksek ateş, titreme, halsizlik), abdominal hassasiyet, ağrılı kitle, obstrüksiyon ya da %10'un üzerinde kilo kaybı, oral beslenmeyi tolere edebilen ayaktaki hastalar için kullanılır.

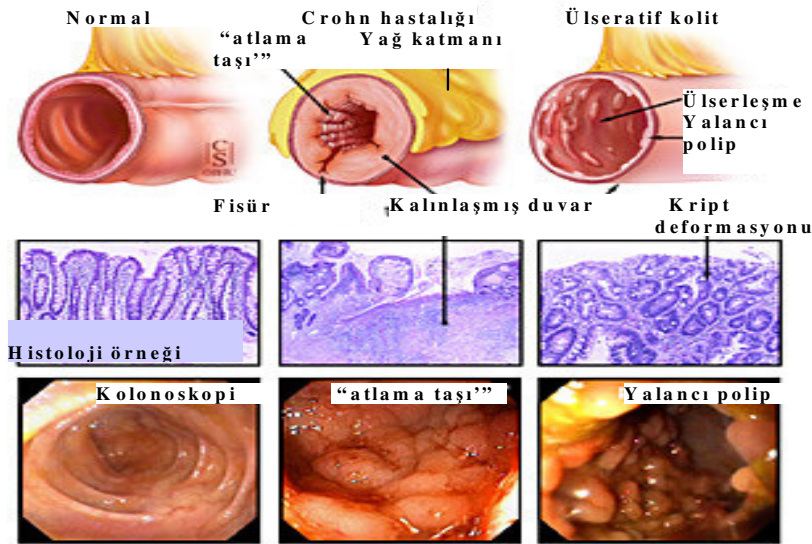
**Orta-Ciddi Hastalık:** Hafif-orta hastalık için uygulanan tedaviye yanıt vermeyen hastaları, ateş, kilo kaybı, karın ağrısı ya da hassasiyet, bulantı ya da kusma (obstrüksiyon bulguları olmadan), belirgin anemi gibi çok belirgin semptomları bulunan hastaları kapsar.

**Ciddi-Fulminan Hastalık:** Steroid başlanmasına rağmen semptomları düzelmeyen hastanede yatan ya da yüksek ateş, inatçı kusma, intestinal obstrüksiyon bulguları, rebound hassasiyet, kaşeksi bulunan ya da abse bulunan hastaları kapsar.

**Remisyon:** Asemptomatik ya da inflamatuvar bir belirtisi olmayan hastaları tanımlar. Akut medikal tedaviye cevap veren ya da cerrahi sonrası hastalığı kalmamış hastaları kapsar. Hastalığı iyi halde tutabilmek için steroid kullanılması gerekiyorsa steroid bağımlılığı olarak tanımlanır ve genellikle “remisyonunda “ olarak kabul edilmemektedir (43).

### 2.2.5. PATOLOJİ

CH’da ilk olarak mukozal ve submukozal ödem görülür. Mukozadaki aftöz ülserler ilk makroskopik lezyonlardır. Hastalık ilerledikçe inflamasyon transmural hale gelir ve tüm duvar tabakaları tutulur, bağırsak duvarının tümü kalınlaşmıştır (10). Mikroskopik fisürler ve ülserler mukozadan ince bağırsak içine geçerler. ‘Atlama alanları’ olarak tarif edilen hastalıklı bağırsak dokusu ve sağlam bağırsak dokusu iç içe girmiş durumdadır (Şekil 2-3). Bağırsak duvarının tüm tabakalarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu vardır. CH’da muhtemelen normal olmayan tight junction yapıdan dolayı büyük moleküller için intestinal mukozada permeabilite artışı olabilir ve bu yoldan çeşitli antijenler pinositoz veya endositozla mukozal tabakaya geçebilir (43).



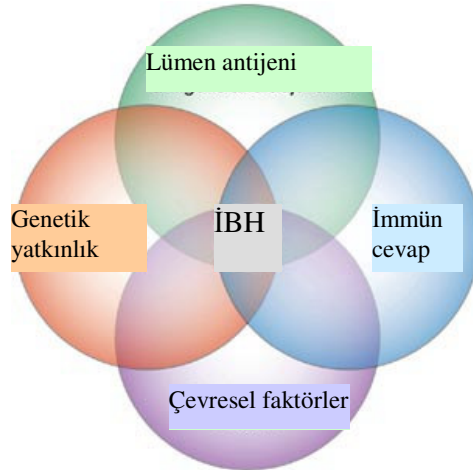
Şekil 2-3: CH ve ÜK'nin histopatolojik ve kolonoskopik görünimleri

### 2.3. EPİDEMİYOLOJİ

ÜK ve CH'nin insidans ve prevalansı coğrafi bölgelere, etnik grup ve ırklara göre büyük farklılık gösterir. Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da bu oranlar yüksek; Orta Amerika, Güney Amerika, Afrika, Asya, Orta ve Güney Avrupa'da düşüktür. Son 20 yıl içinde CH'nin insidansı artmıştır. Bu artışta tanı olanaklarının artması ve daha düzenli raporların tutulmasının rolü vardır. CH ve ÜK için insidans sırasıyla 100 000'de 4-7 ve 7-15, prevalans 100 000'de 9-199 ve 21-268 düzeyine ulaşmıştır (61, 74). Türkiye'de ise bu hastalıkların görülme sıklığı bilinmemekle birlikte yukarıda belirtilen oranlarda görüldüğü kabul edilirse 70 000-140 000 CH ve 100 000-175 000 ÜK hastasının bulunması beklenebilir (23).

### 2.4. ETİYOLOJİ

İBH'nın etiyolojisi bilinmemektedir (2, 10, 71). Etiyolojide intestinal mukus salgısındaki deği şiklikler, mukus içerisindeki yüksek miktardaki bakterilerin varlığı ve artmış intestinal geçirgenlik önemli faktörler olarak kabul edilmektedir. İBH'lı patogenezinde genetik yatkınlık, çevresel faktörler, infeksiyöz ajanlar, değişmiş epitel geçirgenliği gibi faktörlerin önemli rol oynadığı bir hastalık grubudur (10, 33, 55) (Şekil 2- 4).



Şekil 2-4: İBH patogenezi faktörleri

#### 2.4.1. GENETİK YATKINLIK

Bazı klinik gözlemler, genetik faktörlerin İBH'na yatkınlığı artırdığını göstermektedir. İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastaların ailelerinde özellikle birinci derece akrabalarında hem ÜK hem de CH'nın insidansı artmıştır. İBH'nın insidansı birinci derece akrabalarda genel popülasyona göre 30-100 kat daha fazladır. Genetik katkı Crohn hastalığında ülseratif kolite göre daha fazladır. Monozigot ikizlerde dizigot ikizlerden yaklaşık olarak %60 daha yüksek oranda görülür (14). İBH'dan sorumlu olan gen 16. kromozomdaki IBD1 bölgesinde bulunmakta (14, 53, 37), sitoplazmik NOD2/CARD15 adlı bir protein tarafından kodlanmaktadır (97). Bu protein intestinal epitel hücreleri, mononükleer hücrelerde belirlemek ve mukozal immün cevabın bir komponenti olduğu ileri sürülmektedir. Ogura ve Hugot CH'nın yaklaşık %15'inde NOD2 genini tanımlamışlardır. 16. kromozom dışında 5, 12, 14. kromozomun da İBH ile ilişkisi belirlenmiş; 12. kromozomun İBH2 loküsünün daha çok ÜK'e yatkınlıktan sorumlu olduğu bulunmuştur (64).

#### 2.4.2. ÇEVRESEL FAKTÖRLER

##### 2.4.2.1. STEROİD OLMAYAN ANTİ-İNFLAMATUAR İLAÇ (NON-STEROİD ANTİ-İNFLAMATUAR İLAÇ NSAİİ) KULLANIMI

NSAİİ'lar İBH'da çevresel faktörler ve hastalığa katkıda bulunan etkenler arasında en fazla araştırılan grup olup bu tür ilaçların hastalığın alevlenmesine de yol açtığı düşünülmektedir. Araştırmalar NSAİİ'ların koruyucu prostanooidleri azaltarak, lökosit adezyonu ve migrasyonunu artırıp intestinal bariyeri değiştirerek etkili olduğunu düşündürmektedir. Indomethacin ile tedavi edilen hayvanlarda ülseratif kolit gelişmiştir. Romatoid artritli hastalarda ince bağırsakta ülserasyon geliştiği görülmüştür. Güçlü bilimsel kanıtlar NSAİİ'ları hem İBH nedeni hem de varolan hastalığın kötüye gitme sebebi olarak göstermektedirler (64).

##### 2.4.2.2. ORAL KONTRASEPTİFLER

Oral kontraseptif kullanımının İBH riskini artırdığı çeşitli çalışmalarda gözlemlenmiştir. Bu ilaçları kullanan kadınlarda ÜK riskinin 2,5, CH riskinin 1,7 kat arttığı gösterilmiştir. 5 yıldan fazla oral kontraseptif kullananlarda risk daha da yükselmiştir. İlacın kesilmesiyle riskin azaldığı görülmüştür. CH'da östrojenin yüksek veya düşük dozda kullanılması ile hastalık riski arasında bir farklılık gösterilememiştir. ÜK'de ise risk, ilaç kullanımının devamlılığına değil östrojenin dozuna bağlıdır. İBH'da

kontraseptiflerin nasıl bir patojenik mekanizma ile etkili oldukları açıklanamamıştır (61). Wakefield ve ark. (99) sigara ve oral kontraseptiflerin intramural intestinal kan damarlarının fokal trombozisine neden olduklarını ileri sürmüşlerdir .

#### **2.4.2.3. SİĞARA**

Sigara ÜK ve CH ile ilgili çevresel faktörlerden en iyi ve en çok çalışılanıdır (3, 61). Devamlı sigara içenler arasında ÜK riski azalmıştır ve bu risk hiç içmeyenlerin %40'ı kadardır. Bu bulgular genel olarak kadında ve erkekte benzer olarak görülmektedir (61).

Sigara içmek CH'da kötüye gidişe yol açmaktadır. Burada en önemli faktör nikotindir (52). Nikotinin Th2 fonksiyonları üzerine inhibitör etki gösterdiği kabul edilmektedir. Sigara içimi sırasında salınan ürünlerin hücrel ve humoral immün sistemi etkilediği ve kolondaki mukus salgısını arttırdığı gösterilmiştir.

Calkins (61) çalışmalarında yaşamlarında hiç sigara içmeyenlerde devamlı içenlerden 2.9 kez daha fazla ÜK geliştiğini göstermiştir. Önceden sigara içip bırakmış olanlar, yaşamlarında hiç sigara içmeyenlerle kıyaslandığında daha yüksek risk altında oldukları görülmüştür. CH'da ise devamlı sigara içenlerde hiç sigara içmeyenlere göre gelişimin 2.0 kez daha yüksek olduğunu göstermiş ve diğer çalışmalarda da Crohn hastalığı yönünde sigara içmenin zararlı etkilerinin;

1. Hastalığa geri dönüş riskinin artması,
2. Cerrahi müdahaleye gereğin artması,
3. Kortikosteroidler ve immünosupresiflere ihtiyacın artması,
4. Yaşam kalitesinin azalması,
5. Osteoporoz riskinin artması şeklinde sıralanmıştır (3, 22, 61) .

Bir grup başka araştırmacıda sigara içiminin, kolonik mukusu, intestinal permeability, dolaşan plazma kortisol konsantrasyonunu ve immün sistemi etkilediğini göstermişlerdir (61, 76 ).

#### **2.4.3. İNFEKSİYONLAR**

İnflamatuvar bağırsak hastalığı ile kızamık, Mycobacterium paratuberculosis ve Listeria monositogeneze enfeksiyonu arasında bir ilişkiden de bahsedilmektedir. Crohn hastalığı bazı viral enfeksiyonlarda bulunan fokal granülomatoz vaskülit ile uyumlu patolojik özellikler göstermektedir (61).

#### 2.4.3.1. KIZAMIK İNFEKSİYONU

CH'nin patogeneğinde kızamık virusunun rolüde son zamanlardaki çalışmaların odak noktası olmuştur. Persistent kızamık infeksiyonunun iskemi ve lokalize olmuş damar tıkanıklığı ile sonuçlanan mukozal vaskülitte yol açtığı varsayılmıştır.

Crohn hastalarından alınan kolon endotellerinde inklüzyon cisimleri ve paramyxovirus benzeri partiküller bulunması kızamık infeksiyonunu desteklemektedir (61). Kızamık aşısı ile aşılama da CH için risk faktörüdür (61, 91).

#### 2.4.3.2. M. PARATUBERCULOSIS

Bu hastalık tanımlandığından beri bakteriyel ajanlar yönündende çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. 1984'de, Chiodini (61) CH'lığı olan 3 hastada *M. paratuberculosis* izole etmiştir. Diğer araştırmacılar da CH'larının doku örneklerinde değişen yüzdelerde *M. paratuberculosis* saptamışlardır. Doku örneklerinde *M. paratuberculosis* DNA'sı PCR teknolojisi kullanılarak saptanmıştır (61). Çeşitli kontrollü ve kontrolsüz çalışmalarda CH'nin takibinde antimikrobiyal tedavinin etkisi araştırılmıştır (15, 61).

*Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* geniş getiren hayvanların İBH'lığı olan Johne's hastalığına sebep olmaktadır. *M. paratuberculosis* çevrede yaygın olarak bulunur. Kontamine olmuş yiyecek, süt ve suyun tüketimiyle insanlara bulaşır. İmmünolojik ve genetik testler persistent infeksiyonu göstermez. Rastgele kontrollü çalışmalarda antimikobakterial tedavinin hastalığın iyileştirilmesinde başarılı olmadığı görülmüştür.

Aktif hastalığı olan kişilerde bağırsak florasındaki anaerobik bakteri ve laktobasillus sayısında önemli bir azalmanın olduğu da gösterilmiştir. İnfeksiyonların T hücre toleransını engellediği ve yatkın kişilerin bağırsak florasında immün toleransı bozarak kronik immün cevaba neden olduğu düşünülmüştür.

#### 2.4.4. APENDEKTOMİ

Anderson ve ark. (52,61) apandist ve mezenterik lenfadenit gibi inflamasyon sonucunda ameliyat olanlarda apendektominin ÜK gelişimine karşı koruyucu olduğunu görmüşlerdir. Buna karşılık spesifik olmayan ağrıdan dolayı apandist ameliyatı olanlarda apendektominin koruyucu etkisi görülememiştir (54, 61). Belçika'daki bazı çalışmalarda 20 yaşından önce apandistin delinmesi sonucunda ameliyat olan hastalarda ÜK gelişme riskinde azalma olduğu bulunmuştur. Koutroubaki ve Vlachonikolis

(51,61) apendektomide ÜK riskinin %69 azaldığını bulmuşlardır. ÜK benzeri inflamasyon gelişen hayvan modellerinde spontan olarak İBH gelişiminin önlendiği gösterilmiştir. Burada koruyucu olan apendektomi değil apendektomiye yol açan inflamatuvar süreçtir. Tip2 cevap tip1 yardımcı T hücre inflamatuvar cevabına döner (1, 61).

#### **2.4.5. ERKEN ÇOCUKLUK**

İBH'nın etiolojisinde perinatal veya erken çocukluk çağının rolü olduğu kabul edilmektedir. Hem spesifik (kızamık virus enfeksiyonu ve aşısı, apendektomi, pasif sigara içimi ve süt ürünleri) hem de spesifik olmayan (erken süttten kesme, hijyen, gastroenteritler ve enfeksiyonlar ) epidemiyolojik gözlemlerle açıklanmaya çalışılmıştır. Erken yaşta intestinal enfeksiyonlara maruz kalınması CH'nın gelişmesine karşı koruyucudur. Ev hijyeninin iyi olması CH'nı pozitif olarak etkiler. Doğru kabul edilen enterik enfeksiyonlar yaşamın erken döneminde gelişen immün sistemin uygun programlanmasına yardımcı olur ve gecikmiş enfeksiyonlar persistent intestinal inflamasyona ve uygun olmayan immün cevaba yol açar (61). Amerika'da askeri veterinerlerin yaptığı bir çalışmada erişkinlik döneminde zayıf hijyene maruz kalmanın CH'nın gelecekte gelişmesine karşı koruyucu faktör olduğunu göstermişlerdir (28, 61).

Yenidoğanın anne sütüyle beslenmesinin immunolojik yönden koruma sağladığı (52, 61) ve intestinal mukoza bariyerinin gelişmesine de katkıda bulunduğu bilinmektedir. Çeşitli çalışmalarda da ÜK ve CH'nın gelişmesine karşı anne sütü ile beslenmenin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (61).

#### **2.5. İMMÜNOLOJİ**

İnsanda normal intestinal mukoza mekanik ve fonksiyonel bariyer görevi yapar ve bağırsak lümenine bakan, sayısı yaklaşık 400'ü bulan farklı bakteri türleri, yiyecek ve viral antijenlerle yakın temas halindedir (20). Normal intestinal mukoza lamina propriasında nötrofiller, makrofajlar, plazma hücreleri ve lenfositler bulunur. Yoğun antijenik stimulasyon normal intestinal mukozada mononükleer hücrelerin infiltrasyonuna yol açar (66, 78). İnsan bağırsağının bu fizyolojik veya kontrollü inflamasyonu kontrol altındadır (62, 66). Herhangi bir hücre tipinde sayı veya fonksiyon, solubl mediatörlerin lokal salınımında değişiklik dokuya zarar veren ve kontrol edilemeyen inflamasyona yol açabilir.

Epitel örtüyü aşarak doku içine göç etmeye başlayan bir mikroorganizma, ilk olarak spesifik olmayan immün sistem elemanlarından olan makrofajlar ve polimorf çekirdekli lökositlerce karşılanır. Bu hücreler tarafından fagositoz ve oksidatif reaksiyonlarla parçalanmaya çalışılan mikroorganizmanın antijenik determinantları, bu hücrelerin taşıdıkları Major Histocompatibility Complex (MHC) molekülleri ile T lenfositlerine sunulur (antijen sunucu hücreler, ASH) (13, 55). Böylece, spesifik immün sistemin de aktive olması sağlanır (24, 72). Spesifik immün sistemin uyarılması için diğer dokulardan farklı olarak mikroorganizmanın bu şekilde doku içine göçü her zaman şart değildir. Mukozal epitel hücrelerinden bazıları farklılaşarak lümen içindeki çeşitli antijenik determinantları yakalayıp önce hücre içerisine alır, daha sonra da bazal membran yönünde interstisyel mesafeye aktarırlar. Membranöz hücre (M hücre) adını alan bu hücreler spesifik immün sistem elemanlarının, yani B ve T lenfositlerin, daha mikroorganizma ile karşılaşmadan bu antijenlerle tanışmalarını ve primer immün yanıtı oluşturmalarını sağlayan çok özel hücrelerdir (20, 62).

Mukozal immün sistemde dikkati çeken bir başka özellik, mukozal lenfoid yapılarıdır (20, 79). Gut Associated Lymphoid Tissue (GALT) bağırsakla ilişkili lenfoid dokular; submukozada lenfoid folliküller ve interfolliküler bölgedeki lenfositlerden oluşur. Bu lenfoid foliküller B lenfositlerden, interfolliküler bölgedeki lenfositler ise T lenfositlerden oluşur. Mikroorganizmaların kendilerinin ya da antijenlerinin direkt olarak veya M hücreleri tarafından bu bölgeye aktarılmasından sonra, B lenfositler yüzey immünglobulinleri (Ig) ile, T lenfositler ise ASH tarafından sunulan antijenleri T hücre reseptörleri (THR) ile tanıyarak proliferasyon ve diferansiasyon gösterir ve primer immün yanıtı oluştururlar (13). Bu bölgede oluşan sitokin profilinin de etkisiyle, plazma hücreleri özellikle IgA sınıfı antikorlar üretirler. Oluşan IgA molekülleri yine çok özel bir şekilde ve aktif olarak lümen içine sekrete edilebilirler. Bu olay, mukoza epitel hücrelerinin membranlarında bulunan S-protein ya da diğer adı ile Ig-Fc- $\alpha$  reseptörü (Ig-Fc- $\alpha$ R) adı verilen bir protein aracılığı ile gerçekleştirilmektedir. Bu protein,  $\alpha$  ağır zincirine sahip olan IgA moleküllerini bağlayıp hücre içine alır ve daha sonra da lümene doğru hücre dışına çıkarıp serbestleştirir. Bu nedenle, sekrete edilmiş IgA molekülünde 60.000 mol. ağırlığında bir sekretuvar parça bulunmaktadır. Bakterisidal, opsonizan veya nötralizan etkili bu antikorların lümen içindeki varlıkları,

doğal bağışıklığın çok özel bir şekilde spesifik, yani kazanılmış bağışıklık ile desteklenmesini sağlayan bir durumdur (55).

İnsanların bağırsak lümenindeki GALT, bağırsağı çeşitli antijenlerin uyarısından korur. Eğer GALT'ın immün homeostazisi bozulursa, bağırsaklarda inflamasyon gelişir. Kısa süreli inflamasyonlar koruyucu etki gösterirken, kronik inflamasyon çevredeki hücrelerin yıkımına, sitokin salınmasına ve doku hasarında artışa neden olacaktır. Böyle bir kronik inflamasyon süresince proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde (IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, TNF) artış olacaktır ki, bu artış ile İBH'lığı aktivitesi arasında bir ilişki vardır (62).

İBH'da yoğun hücre sel infiltrasyon görülmektedir. T hücre disfonksiyonu ve antikorların uygun olmayan üretimini içeren immün sistemin normal olmaması ile ilişkilidir. Bu kavram CH'da lamina propria hücrelerinin çalışılması ile aydınlatılmıştır (70). Hücreler T yardımcı hücre tip 1 (TH1) cevabının sitokinlerini fazla üretir (30). Yani lamina propria makrofajları tarafından üretilen interlökin-12 (IL-12) ve lamina propria T (LPT) hücreleri tarafından üretilen IFN  $\gamma$  artmıştır (2, 14, 57). Burada hücre sel immün aktivitenin daha fazla artışı, azalmış apoptozisle aşırı artan hücrelerin ortadan kaldırılamayışı ve lenfosit birikimi söz konusudur (46, 70). ÜK'li hastalardan LPT hücreleri TH2 cevabı ile uyuşabilir bir sitokin profili gösterdiği açıktır. Böylece hücreler major TH2 sitokini olan IL-4'ü fazla üretmezken diğer TH2 sitokini IL-5'i artan miktarlarda üreterek (2, 14) B lenfositlerinden aşırı miktarda IgG salınımına neden olur. Bundan dolayı daha çok otoantikor yoluyla bir otoimmün yanıt söz konusudur (2, 83). IgG komplemanı ve fagositleri aktive ederek remisyonu arttırır. İmmün aktivasyon sırasında nötrofillerden reaktif oksijen metabolitleri açığa çıkar, bunlara inflamatuvar sitokinlerin ve nitrik oksidin eklenmesi ile doku hasarı oluşur. Doku koruyucu mekanizmaların (Prostoglandin E2) blokajı ile inflamasyon ve hasar giderek artar (46, 70).

İntestinal lamina propriada B hücreleri, T hücreleri, makrofajlar bulunmaktadır. İnsanda T hücreleri lamina propria lenfositlerinin yaklaşık %25-40'ını oluşturmaktadır (66). Normal bağırsak lamina propriasında hücrelerin üçte birini T hücreleri oluşturur. Bağırsak lamina propria T hücreleri %95 oranında  $\alpha/\beta$  T hücre reseptörü eksprese etmektedir.  $CD4^+CD8^+$  oranı ikiden fazladır (62, 66).  $CD4^+$  lamina propria hücrelerinde önemli düzenleyici ve efektör fonksiyonları olan hafıza T hücre tipi yüksek oranda

bulunur. CD4<sup>+</sup> lamina propria T hücrelerinin çoğunluğu L-selektin negatiftir ve onların %66-96'sı hafıza T hücre ile ilişkili CD45 molekülünün izoformu olan CD45RO eksprese ederler (62). CD25, CD69, 4F2 lenfosit aktivasyon antijeni ve transferrin reseptörlerini içeren immün aktivasyon markerları nispeten yüksek düzeylerde eksprese edilir (55). Onların aktif hale gelmesi sonucunda, lamina propria T (LPT) hücreleri kendiliğinden yüksek düzeyde sitokin üretir (66). Yeni izole edilmiş insan LPT hücreleri otolog periferik kan T (PBT) hücreleri ile kıyaslandığında yüksek sıklıkta sitokin salgılayan hücreler içerir ve cevap interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )'nın sekresyonu ile baskın hale gelir. Hasta olmayan bağırsak ile karşılaştırıldığında İBH'da dokuda immunokompetan hücrelerin sayısının arttığı görülür. İntestinal hücrelerden in vitro izole edilen lamina propria mononükleer hücreleri (LPMC) immunofloresans yöntemi ile gösterilmiştir. İBH'da doku CD4<sup>+</sup> T hücreleri bağırsak duvarında infiltre olan aktive olmuş mononükleer hücrelerin büyük çoğunluğunu temsil eder. Aşırı CD4<sup>+</sup> T hücre aktivasyonunun CH'da doku zararının patogenezinde önemli olduğuna dair kanıtlar vardır (33, 62, 66).

## 2.6. İBH'LİĞİNDA KULLANILAN LABORATUAR TESTLERİ

Tedavinin sonucu kadar tanı, prognoz, hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi de önemlidir. ÜK ve CH için altın standart test yoktur (43, 97). Bunun yerine doktorlar klinik muayene, laboratuvar sonuçları, radyoloji ve endoskopi bulgularını biraraya getirerek hastalığı teşhis ederler.

İBH için laboratuvar testlerinin çalışılmasının birkaç sebebi vardır. Birincisi; semptomlar öznel olduğundan hastalık aktivitesinin ölçülmesine nesnellik kazandırmak, ikincisi; hastalar için zor bir işlem olan endoskopiden kaçınmak, yerine serolojik testleri koymak.

İdeal testin birçok niteliği olmalıdır. Kolay ve hızlı yapılmalı, ucuz olmalı, hastalık için spesifik olmalıdır. Hastalık aktivitesini saptayabilmeli ve tedavinin etkisini monitörize edebilmelidir. İBH'lığını gösteren ideal bir testin olması klinisyenlere teşhiste yardımcı olacaktır.

C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), fekal kalprotektin, diğer akut faz proteinleri; sialik asit, orosomukoid, fibrinojen, laktoferrin,  $\beta$ -2 mikroglobulin, serum amiloid A ve  $\alpha$ -1 antitripsin, lökosit, platelet, ve albumin gibi testler çalışılmaktadır (97).

**CRP**, 5 monomer içeren pentamerik bir yapıdadır. İnsanda önemli bir akut faz proteinidir (97). Normal dolaşımında hepatositlerde düşük miktarda (1 mg/L) üretilmesine karşın inflamasyonda IL-6, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nın etkisi altında CRP'nin üretimi hızla artar. Yarılanma ömrü 19 saattir. CRP, C1q ve klasik kompleman aktivasyonuna yol açan mikroorganizma ve partikülleri fosfokoline bağlar (90, 97).

**Orosomukoid**, hastalık aktivitesi ile uyumludur. Yarılanma ömrü 5 gündür. Klinik uygulamada çok yararlı bir test değildir (97).

**$\beta$ -2 mikroglobulin**, düşük molekül ağırlıklı bir proteindir ve aktive olmuş T ve B lenfositleri tarafından salınır. Yarılanma ömrü 2 saattir (97).

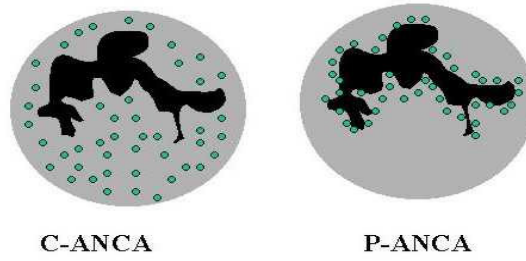
İBH'da teşhisin doğruluğu önemlidir. ÜK ve CH'da tedavi stratejileri farklıdır. p-ANCA ve ASCA testleri invaziv değildir ve İBH'lığı olan hastaların altgruplarının tanımlanmasında yardımcı olabilir. İnvaziv olmayan bu testlerin teşhisde önemli rol oynadığı tahmin edilmektedir. İBH'da araştırmacılar birkaç hastalıkta birlikte bulunan antikorları uzun yıllar araştırmışlardır. İBH'nın teşhisinde kullanılan iki antikor tanımlanmıştır. Perinükleer anti nötrofil sitoplazmik antikor (p-ANCA), anti *Saccharomyces cerevisiae* antikor (ASCA) (14, 16).

## 2.6.1. İBH'DA ÇALIŞILAN OTOANTİKORLAR

### 2.6.1.1. ANTİ NÜKLEER SİTOPLAZMİK ANTİKOR (*ANTI NUCLEAR CYTOPLASMIC ANTIBODY-ANCA*)

ANCA, Wegener granülamatoz, mikroskobik polianjitis, glomerulonefrit ve Churg-Strauss sendrom gibi damar hastalıklarında pozitif görülen bir antikordur (16). Nötrofillerin hücre içi bileşenlerine karşı oluşur. Vaskülitlerle ilişkili olan nörofillerin sitoplazmasındaki temel antijen serin proteazdır. ANCA etanolde fikse edilmiş nötrofiller kullanılarak indirekt immünfloresan yöntemiyle değerlendirilir (16). Proteaz 3 ile reaksiyon veren ANCA boyanması c-ANCA olarak adlandırılan sitoplazmik floresan veren patern ile sonuçlanacaktır.

Perinükleer anti nötrofil sitoplazmik antikor (p-ANCA) ikinci tip paternidir. Bu boyanma nötrofillerin nükleuslarının kenarına göç eden pozitif yüklü protein molekülleri sonucudur. Sitoplazmik granüller nükleus etrafına yerleşmiştir (Şekil 2-5) (64).



**Şekil 2-5: c-ANCA ve p-ANCA görüntüsü**

İBH ile ilişkili ANCA ilk 1966 yılında Faber ve Elling tarafından Crohn ve ülseratif kolit hastalarında “lökosit spesifik anti nuklear antikolar” olarak tanımlanmıştır. ÜK hastalarında serum p-ANCA insidansı %50-80 olarak bildirilmiştir (16, 34, 64). Muller-Ladner ve ark. (34), ÜK ve CH’da antikoların (ANCA) Ig sınıfları ve IgG alt gruplarının reaktivitesinin Wegener’s granülatöz ve mikroskopik vaskülit gibi vasküler hastalıklarda gözlenen antikoların dağılımından farklı olduğunu bildirmişlerdir. ÜK’li hastaların yaklaşık %60-70’inde, CH’da %5-10’unda, sağlıklı kontrollerin %0-5’inde bulunur. p-ANCA pozitif CH’nın serum IgG’si ÜK hastalarında görülen p-ANCA’ya benzer.

İBH’lığı için tanımlanan p-ANCA yanında birkaç antikor daha vardır. Bu antikolar *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) (48, 67), pankreatik antikor, OmpC (*E.coli*’den izole edilmiş dış membran porinleri) (64).

#### **2.6.1.2. ANTI SACCHAROMYCES CEREVISIAE ANTİKORU (ANTI SACCHAROMYCES CEREVISIAE ANTIBODY-ASCA)**

CH’nın serumlarında ekspresyonu gösterilmiş serum immün markerıdır. ASCA antikoları CH’lığı için yüksek spesifitededir (%95) (37) Serum ASCA Crohn hastalarının % 70’inde (16, 50, 64), ÜK hastalarının %10-15’inde, sağlıklı kontrollerin %0-5’inde tanımlanmıştır (16). ASCA antikoları *S. cerevisiae*’nin hücre duvar oligomannosidik epitopuna karşı oluşur (6, 50). CH’da ASCA antikolarının rolü tam olarak bilinmemektedir. Bir hipoteze göre artmış intestinal permeabiliteye bağlanır. CH’lığı olan hastaların %50-60’ında intestinal permeabilite hastalık aktiviteyle ilişkili artış gösterir. Bu artış hastalığın tekrar edeceğini gösterebilir. Bazı araştırmacıların

primer defekt olarak önerdikleri tight junction CH'nın birinci derece akrabalarının ince bağırsaklarında permeabilite artışına neden olmaktadır (6).

#### **2.6.1.3. PANKREATİK ANTİKOR (*PANCREATIC ANTIBODY-PAB*)**

Pankreatik antikorlar (PAB) 20 yıl önce tanımlanmıştır. Fakat bu antikorların temel immünolojisi az bilinmektedir (48). İndirekt immünfloresan yöntemiyle boyandığında iki farklı patern görülür (48). Eksokrin pankreasın sitoplazması veya pankreatik asinus hücreleri boyanmıştır. PAB, p-ANCA, ASCA, endotel hücrelerine karşı antikor veya anti nükleer antikorlar yalnızca CH ve ÜK hastalarında görülmez, onların sağlıklı birinci derece akrabalarında da görülür. PAB'lar pankreatik sıvıda bilinmeyen antijenlere karşı oluşur (56).

PAB'lar CH'nın %31-39'unda oluşan insan pankreas substratı ile indirekt immünfloresan yöntemiyle saptanmıştır (64). Yapılan çalışmalarda pankreatik antikorların CH'lığı için spesifik markır olduğunu bildirmiştir (56, 64, 80). CH'lığı patogenezi ile pankreatik antikorların ilişkisi tam bilinmemektedir.

#### **2.6.1.4. İNTESTİNAL GOBLET HÜCRE ANTİKORU (*INTESTINAL GOBLET CELL ANTIBODY-IGHA*)**

Goblet hücre antikorları (GAB), yalnızca ÜK'de ve ÜK hastalarının %30'undan fazlasında bulunur (56).

#### **2.6.1.5. OmpC**

OmpC, E.coli'den saflaştırılan dış membran porin antijenidir. Bu biyokimyasal ve genetik olarak tanımlanmıştır (64).

#### **2.6.1.6. COCCOID AGLÜTİNASYONU**

Wensinck ve Van de Merwe (64) CH'lığı olan hastaların feçeslerinden anaerobik bakteri izole etmişler ve bir serum aglütinasyon testi geliştirmişlerdir. Diğer araştırmacılar da benzer aglütinasyon testleri bildirmişlerdir. CH'nın %58'inde çok yüksek spesifitede aglütinasyon antikorları bulunmuştur (64).

#### **2.6.1.7. ANTİ DOKU TRANSGLUTAMİNAZ ANTİKORU (*ANTI TISSUE TRANSGLUTAMINASE ANTIBODY-tTG*)**

Çölyak hastalığı ince bağırsağın inflamatuvar bir hastalığıdır. Besinlerin emilimini sağlayan bağırsak epitelinin düzleşmesi (villus atrofi) ile tanımlanır. Gluten buğday, arpa ve çavdarda bulunan bir proteindir ve 1950'lerde çölyak hastalığında rolü olduğu

bulunmuştur. Çölyak hastalığında görülen semptomların çoğu diğer bağırsak hastalıklarında da görülmektedir. Bu semptomlar diyare, abdominal distansiyon, bitkinlik, demir/folat eksikliği ve kilo kaybıdır (29). Çölyak hastalığı doku transglutaminaz (tTG) aktivitesinde genetik olarak artışa sebep olan otoimmün bir hastalıktır. Bu enzim bağırsağın endomisyum tabakasında bulunur ve gliadin (gluten molekülünün bir parçası) ile etkileşime girerek semptomlara neden olan immün cevabı tetikler (27).

tTG insanda yaygın olarak bulunan, fibrogenesis, yara iyileşmesi ve apoptoziste rol oynamak gibi çok yönlü görevleri olan bir enzimdir (29). 1997’de tTG enzimi endomisyum antikoru için hedef antijen olarak tanımlanmıştır. Anti gliadin antikorları çölyak hastalarında bulunmasına rağmen diğer bağırsak hastalıklarında da bulunabilir. Yapılan son çalışmalar anti-tTG antikorlarının çölyak hastalığı için daha fazla spesifik olduğunu göstermektedir (84).

## 2.7. TEDAVİ

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında medikal tedavinin amacı aktif hastalık durumunda remisyonu sağlamak, remisyondaki hastalıkta ise bu süreci uzatmaktır. İBH’da tedavi hastalığın şiddet, yaygınlık derecesi ve komplikasyonların varlığına göre düzenlenir. Tedavi genellikle ömür boyu sürer. CH ve ÜK’in tedavisi temel prensipleri açısından hemen hemen aynıdır.

**Aminosalisilatlar:** Bu grubun öncüsü olan sülfosalazin ilk kez 1965 yılında kullanılmaya başlanmıştır. İlaç bir antibiyotik olan sulfapyridine ile 5-aminosalisilik asit (5-ASA)’nın birleşmesinden oluşur (41). Sulfapyridine ile 5-ASA arasındaki azo bağı kolondaki bakterilerin azoreductase enzimi ile çözülür. Açığa çıkan sulfapyridine absorbe olur, karaciğer tarafından metabolize olur ve idrarla atılır. Bu ilaçlar hafif-orta derecede aktif İBH’lı olan hastalarda kullanılır. Bunlar:

- Prostaglandinleri ve lökotrienleri bloke ederek,
- Bakteriyal peptitlere bağlı nötrofil kemotaksisini inhibe ederek,
- Serbest oksijen metabolitlerini temizleyerek,
- NF-kB aktivasyonunu önleyerek etkili olmaktadır.

**Sulfasalazine:** ÜK'in aktif evresinde kortikosteroidlerden daha az etkilidir. Hastalığın remisyonda kalmasını sağlamada daha etkilidir. Sulfasalazine CH'nın tedavisinde de etkilidir. Buna karşı remisyonda kalmasında etkisi kanıtlanmamıştır.

**Mesalamine:** Hem ÜK hemde CH'nda etkili olduğu görülmüştür. Etkileri dozla orantılı olarak artar (41). Mesalamine hem ileal hem de kolonun CH'nda etkilidir. Mesalamine CH'nda nüks oranını azaltır.

**Kortikosteroidler:** İBH'nın tedavisinde uzun zamandan beri kullanılmıştır. Akut tedavide etkili olmalarına karşın, nükse engel olmada etkileri yoktur (41). Bu nedenle idame tedavide yerleri yoktur.

Hastaların tedavisinde kullanılan immünosupresif ve immünoreglatuvar ajanlar: azotiopürin ve aktif metaboliti olan merkaptopürin, metotreksat, siklosporin, anti-TNF antikörler, talidomit, antibiyotikler ve heparindir. Araştırma halinde olan ajanlar: anti IL-12, IL-10, IL-11, p38 antagonistleri, büyüme homonu, lökotrien sentez inhibitörleridir.

**İmmünosupresifler:** Azothioprine ve 6-merkaptopurin gibi immünosupresif ilaçların İBH tedavisinde etkili oldukları anlaşılmıştır (41). İlacın etkisini T lenfositlerini baskılayarak gösterdiği düşünülmektedir. Azothioprine ve 6-merkaptopurin, kortikosteroide bağımlı ve kortikorezistans olgularda kullanılmalıdır.

**Antibiyotikler:** ÜK tedavisinde antibiyotiklerin yeri yoktur. Ancak toksik kolon, karında abse vb. komplikasyonlar varsa, antibiyotiğe gereksinim doğar (41). CH'ndaysa antibiyotiklerin yararlı olduğu görülmüştür.

**Metotreksat:** Steroid bağımlı aktif CH'nın tedavisinde ve remisyunun sürdürülmesinde etkilidir.

**Siklosporin:** İlacın lenfosit aktivasyonunu bloke ederek etkili olduğu düşünülmektedir. Hastaneye yatırılan ve acil proktokolektomi gerektiren ciddi ÜK hastalarının tedavisinde etkilidir. Siklosporin ciddi perianal ve kutanöz fistüllere neden olabileceğinden genel olarak CH'nın tedavisinde kullanılmaz.

**Takrolimus:** Son zamanlardaki çalışmalarda takrolimusun İBH'nın tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Takrolimusun T lenfositlerinde IL-12 salınmasını önleyerek etkili olduğu ileri sürülmektedir.

**Anti TNF tedavi:** TNF'nin inflamasyonda önemli rol oynadığının gösterilmesinden sonra bu molekülün etkisini önleme çalışmaları hızlanmış ve bu amaçla bir çok tedavi modelleri geliştirilmiştir. İnfliksımab, anti TNF tedavi ajanıdır (55). Bu monoklonal

antikorun solubl TNF'ye bağlanma yanında esas etkisinin prekürsör hücre yüzey TNF'ne bağlanarak olduğu düşünülmektedir. İlacın monosit apoptozisine de neden olduğu düşünülmektedir. ÜK'li hastalarda ilacın yararlı olup olmadığı belirsizdir.

**Talidomit:** İlacın hücre içi yolların inhibisyonu ile TNF üretimini bloke ettiği, hücre immün cevabın oluşmasında kritik bir rol oynayan (55) ve önemli bir immünoregulator sitokin olan IL-12'nin üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. CH'nın tedavisinde yararlı olduğu ileri sürülmektedir.

Makrofaj kaynaklı bir sitokin olan **IL-12'nin** İBH'da önemli bir rolü vardır. Bu da tedavide IL-12'ye karşı oluşan antikorların araştırılmasına yol açmıştır.

Anti inflammatuar etkili bir sitokin olan **IL-10**, TH1 hücre aktivasyonunu azalttığından bu sitokinin tedavide kullanılması için çalışmalar devam etmektedir. Epitel bariyeri artırıcı ve inflammatuar sitokinleri inhibe edici etki göstererek etkili olduğu düşünülen **IL-11'in** tedavide yararlı olduğu ileri sürülmektedir (55, 77).

**p38** antagonistlerinin kullanılması ile lenfositlerin ve makrofajların aktivasyonunda önemli rolü olan ve hücre içi sinyal yollarını direkt olarak bloke eden ve NF-kB'yi hedefleyen çalışmalar devam etmektedir (43, 88, 92).

## 2.8. CERRAHİ

Cerrahi tedavi açısından ÜK ve CH'lığı arasında önemli fark vardır. ÜK'in endikasyonu doğrultusunda total kolektomi yapılır ve bu tedavi ile hastalık ortadan kaldırılır (10, 41). Halbuki CH'da cerrahi girişimin yararı sınırlıdır (10) ve hasta olan bağırsak segmentinin çıkarılmasından sonra nüks olasılığı yüksektir (41). Bu nedenle Crohn hastalığında cerrahi girişim çok zorunlu olduğunda komplikasyonları ortadan kaldırmaya yöneliktir (10, 41).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. MALZEME, KİT VE ALETLER

##### 3.1.1. ELİSA İÇİN KULLANILAN MALZEME, KİT VE ALETLER

1. İnsan anti doku transglutaminaz IgA, ELISA plakları rekombinant insan tTG ile kaplı, The Binding Site, İngiltere (MK038)
2. İnsan anti doku transglutaminaz IgG, ELISA plakları rekombinant insan tTG ile kaplı, The Binding Site, İngiltere (MK019)
3. İnsan ASCA IgA, ELISA plakları S. cerevisiae'den izole edilmiş mannan ile kaplı, The Binding Site, İngiltere (MK054)
4. İnsan ASCA IgG, ELISA plakları S. cerevisiae'den izole edilmiş mannan ile kaplı, The Binding Site, İngiltere (MK053)
5. Anti Gliadin IgA, ELISA plakları gliadin antijeni ile kaplı, The Binding Site, İngiltere (MK036)
6. Anti Gliadin IgG, ELISA plakları gliadin antijeni ile kaplı, The Binding Site, İngiltere (MK035)
7. 96 kuyucuklu ELISA plakları
8. 10 µl, 100 µl, 1000 µl Biohit ve Medisis marka otomatik pipetler
9. 100 µl Medisis marka multi pipet
10. Elisa yıkama cihazı, Organon teknika, İrlanda
11. Elisa okuyucusu (450 nm)

##### 3.1.2. OTOANTİKOR ÇALIŞMASI İÇİN KULLANILAN MALZEME, KİT VE ALETLER

1. Anti endomisyum Ab, maymun özofagusu kaplı preparat, Euroimmun, Almanya
2. Anti retikülin Ab, sıçan karaciğer, böbrek, mide dokusu içeren kombine kit, The Binding Site, İngiltere
3. ANCA, insan nötrofil fikse preparat, The Binding Site, İngiltere
4. ASCA, Saccharomyces cerevisiae, Euroimmun, Almanya
5. Anti intestinal goblet hücre, maymun bağırsağı ile kaplı preparat, Euroimmun,

Almanya

6. Anti pankreatik hücre, maymun pankreas hücresi kaplı preparat, Euroimmun, Almanya
7. 10 µl, 50 µl, 100 µl, 1000 µl Biohit ve Medisis marka otomatik pipetler
8. 10 ml, 100 ml'lik mezürler
9. Şale
10. PBS (Phosphate Buffer Solution) (Ph 7,2 )
11. Kapatma solüsyonu (%1 PBS içeren gliserol)
12. Lamel
13. Floresan mikroskop, Zeis, Almanya

### 3.1.3. FLOW SİTOMETRİ ÇALIŞMASI İÇİN KULLANILAN MALZEME, KİT VE ALETLER

- |                                                            |                                           |            |        |
|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|------------|--------|
| 1. CD45FITC/CD14PE                                         | Anti insan CD45/14                        | Diaclone   | A.B.D  |
| 2. CD4FITC/CD8PE                                           | Anti insan CD4/8                          | Diaclone   | A.B.D  |
| 3. CD19FITC/CD5PE                                          | Anti insan CD19/5                         | İmmunotech | Fransa |
| 4. CD3FITC/CD56PE                                          | Anti insan CD3/56                         | Diaclone   | A.B.D  |
| 5. CD3FITC/HLA-DRPE                                        | Anti insan CD3/DR                         | İmmunotech | Fransa |
| 6. CD57FITC/CD8PE                                          | Anti insan CD57/8                         | İmmunotech | Fransa |
| 7. CD11a FITC                                              | Anti insan CD11a                          | Diaclone   | A.B.D  |
| 8. CD11bPE                                                 | Anti insan CD11b                          | Diaclone   | A.B.D  |
| 9. CD11c FITC                                              | Anti insan CD11c                          | Diaclone   | A.B.D  |
| 10. CD154 FITC                                             | Anti insan CD154                          | Diaclone   | A.B.D  |
| 11. CD40 FITC                                              | Anti insan CD40                           | Diaclone   | A.B.D  |
| 12. CD16 FITC                                              | Anti insan CD16                           | Diaclone   | A.B.D  |
| 13. TCRγδ FITC                                             | Anti insan TCRγδ                          | İmmunotech | Fransa |
| 14. 10 µl, 100 µl, 1000 µl                                 | Biohit ve Medisis marka otomatik pipetler |            |        |
| 15. Eritrosit parçalayıcı solüsyon (solüsyon A+solüsyon B) | Dako, İngiltere                           |            |        |
| 16. Soğutmalı santrifüj,                                   |                                           |            |        |
| 17. Flow sitometri (akım sitometri) cihazı,                | FACS Canto, Becton Dickenson, ABD         |            |        |

### 3.2. YÖNTEM

#### 3.2.1. ÖRNEKLERİN ALINMASI

Çalışmaya alınan örnekler, Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi ile, Bezm-i Alem Valide Sultan Vakıf Gureba Eğitim Hastanesi gastroenteroloji endoskopi ünitesinden sağlanmıştır. 17 ÜK, 11 CH ve kontrol grubu olarak da 11 sağlıklı kişi çalışmaya dahil edilmiştir. Örnekler İ.Ü İ.T.F Mikrobiyoloji ve Klinik A.D. Viroloji ve Temel İmmünoloji Bilim Dalı İmmünoloji laboratuvarında çalışılmıştır.

Çalışmaya alınma kriterleri (ÜK) için;

1. Bir aydan uzun süren kanlı mukuslu ishali olan,
2. Hikayesinde antibiyotik kullanımı ve hastanede yatış öyküsü olmayan,
3. Radyoterapi almamış,
4. İmmünkompetan,
5. Lezyonları rektumdan başlayıp düzenli olarak proksimale uzayan ülsere mukozaya sahip,
6. Dışkıda toksin AB (*Clostridium difficile*) pozitif olmayan,
7. Salmonella ve Shigella kültürü sonucu negatif olan

CH'lığı için;

1. İleokolonik veya kolonik tutulumu olan,
2. Hastalıkla ilişkili veya ilişkisiz infeksiyöz bir komplikasyonu olmayan,
3. İmmünkompetan,
4. Dışkıda toksin AB (*Clostridium difficile*) negatifliği,
5. Başka bir hastalığının olmaması idi.

Çalışmada çıkarılma kriterleri;

1. Dışkıda bakteriyolojik veya parazitik patojenlerin bulunması,
2. Dışkıda *Clostridium difficile* toksininin pozitif olması,
3. Antibiyotik kullananlar,
4. İmmüsupresyonda olanlar,
5. tbc öyküsü olanlar,
6. Hastanın kronik seyirli ek bir hastalığının olması idi.

Polip, ailede kanser anamnezi gibi nedenlerle tarama kolonoskopisi yaptıran 11 kişi kontrol grubunu oluşturdu. Hastaların ve kontrol grubunun kolonoskopileri yapıldığında hastalarda makroskopik tutulumu olan bölgelerden, kontrol grubunda

normal görünen mukozadan biyopsi örnekleri alınmıştır. Çalışmaya alınan hastaların yaşları ÜK için 20-67 ( $42,88 \pm 14,81$ ), CH için 20-53 ( $39 \pm 11,1$ ), kontrol grubu için 34-65 ( $50,09 \pm 10,83$ ) arasında değişmektedir. Her hastadan hücresel immünitinin değerlendirilmesi için flow sitometride çalışılmak üzere 2 ml EDTA'lı kan; humoral immünitinin değerlendirilmesi için, 10 ml kuru kan alınmıştır. Ayrıca 7-8 parça 1 mm bağırsak biyopsileri flow sitometride çalışılmak üzere alınmıştır. Bağırsak örnekleri ve heparinli kan örnekleri aynı gün çalışılmış, otoantikör çalışması için alınan kanlar, santrifüj edilerek serumları ayrılmış ve çalışma yapılana kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

### **3.2.2. HEPARİNLİ KAN ÖRNEKLERİNİN MONOKLONAL ANTİKOR ÇALIŞMASI İÇİN HAZIRLANMASI:**

- 1-100 µl tam kan üzerine 10 µl mAb konur.
- 2-Vortekslenir ve 15' oda ısısında ve karanlıkta inkübasyona bırakılır.
- 3- 100 µl eritrosit parçalayıcı solüsyon A konur.
- 4-Vortekslenir ve 15' oda ısısında ve karanlıkta inkübasyona bırakılır.
- 5-1000 µl eritrosit parçalayıcı solüsyon B konur.
- 6-Vortekslenir ve 15' oda ısısında ve karanlıkta inkübasyona bırakılır.
- 7-1300 rpm'de  $20^{\circ}\text{C}$ 'de 5' santrifüj edilir.
- 8-Süpernatant dökülür.
- 9-Üzerine 2 ml PBS eklenir.
- 10-1300 rpm'de  $20^{\circ}\text{C}$ 'de 5' santrifüj edilir.
- 11-Süpernatant dökülür
- 12-Üzerine 400 µl PBS konur ve flow sitometride analiz edilir.

### **3.2.3. BAĞIRSAK DOKUSUNDAKİ İNFİLTRE LENFOSİTLERİN HAZIRLANMASI**

Kolonoskopi yapılan hastaların bağırsaklarından 7-8 adet alınan 1 mm'lik biyopsi örnekleri PBS bulunan falcon tüplerine konulmuştur. Doku parçaları mekanik olarak parçalanıp (enzimatik olmayan yöntem) (98) iki kez naylon mash'den geçirilip elde edilen hücre süspansiyonundan 100 µl, mAb'dan 10 µl konarak periferik kan örneklerinde olduğu gibi flow sitometride değerlendirilmek üzere hazırlanır.

### **3.2.4. PBS HAZIRLANMASI (Phosphate Buffer Solution)**

pH 7,2 0,15 M NaCl içeren 0,01 M fosfat solüsyonu)

|                                                      |                                               |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O | 2,14 gr                                       |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                      | 0,54 gr                                       |
| NaCl                                                 | 8,7 gr (Bu tuzlar 1 lt distile suda çözülür). |

### 3.2.5. İNDİREKT İMMUNFLORESAN YÖNTEMİ İLE OTOANTİKOR ÇALIŞMASI

Serumlar, –80°C’den çıkarılıp oda ısısında çözülmeleri beklenir. Bu işlemde sonra anti endomisyum, p-ANCA, PAB ve İGHA için 1/10, anti retikülün antikorları için 1/40, ASCA için 1/100 oranında PBS ile sulandırılır.

1. Fikse edilmiş uygun doku preparatları üzerine dilüe edilmiş serumlar kuyucukları kapatacak şekilde konur.
2. Her antikor için aynı şartlarda negatif ve pozitif kontrol çalışılır.
3. Oda ısısında, karanlık ve nemli ortamda 30' inkübe edilir.
4. İnkübasyon sonrası 5' PBS içinde yıkanır (Burada amaç bağlanmayan antikorların ortamdaki uzaklaştırılmasıdır).
5. Lamlar üzerindeki dokulara zarar vermeyecek şekilde kurulanır. Üzerine anti endomisyum ve ASCA için floresan işaretli anti-insan IgA, anti retikülün, p-ANCA, PAB ve İGHA için floresan işaretli anti-insan IgG’si konur.
6. Üçüncü basamaktaki işlemler tekrarlanır.
7. 5' bağlanmayan immunoglobulinleri ortamdaki uzaklaştırmak için PBS ile yıkanır.
8. Kapatma solüsyonu olan PBS-gliserol damlatılıp lamel ile kapatılır.
9. Floresan mikroskopta negatif ve pozitif kontrollere göre değerlendirilir.

### 3.2.6. ELİSA YÖNTEMİ İLE ANTİKOR ÇALIŞMASI

Hastalardan alınıp –80°C’de saklanan serumlar oda ısısında çözülür. ASCA IgG/IgA, anti doku transglutaminaz IgG/IgA (tTG), anti gliadin IgG/IgA antikorları ELISA yöntemi ile çalışılmak üzere hazırlanır. Her test için uygun dilüsyonun hazırlanması için kit içerisinde bulunan sulandırma solüsyonu ile sulandırılır.

#### **Gliadin IgG/IgA ve tTg IgG/IgA için:**

- \*1. Plaklara 100'er µl negatif, pozitif ve kalibratörler (1,23; 3,7; 11,1; 33,3; 100) ve 1:100 oranında sulandırılan hasta serumları konulup 30' inkübe edilir.
2. İnkübasyon sonrası her bir kuyucuk 3 kere 200 µl yıkama solüsyonu

ile yıkanır (Birinci inkübasyon esnasında bağlanmayan antikorlar yıkama işlemi ile ortamdan uzaklaştırılır).

3. Oluşan antijen-antikor kompleksini göstermek amacıyla konjuge olarak 100 µl peroksidaz işaretli tavşan anti insan IgG ve IgA 'sı eklenir.
4. Inkübasyon işlemi tekrarlanır.
5. Yıkama yapılır.
6. İşaretli enzimi göstermek amacıyla 100 µl TMB substratı (3,3',5,5' tetrametilbenzidin) kuyucuklara pipetlenir.
7. 30' inkübasyon sonrasında reaksiyonu durdurmak amacıyla kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu (3 M fosforik asit) eklenir
8. Otoantikor konsantrasyonuna göre meydana gelen renk şiddeti 450 nm'de ELISA okuyucusunda değerlendirilir.

\*ASCA için; aynı işlemler tekrarlanırken başlangıç aşamasında negatif, pozitif, kalibratörler ve sulandırılmış serumlarla birlikte *cutt-off* solüsyonu da eklenir ve aynı işlemler takip edilir.

### 3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler SPSS 11.5 yardımıyla, frekans, yüzde oran, aritmetik ortalama, standart sapma hesaplanarak tanımlandı. Kesikli değişken ki kare ve fisher'in kesin testi kullanılarak değerlendirildi.

Sürekli değişkenler Kolmogorov-Smirnov ile test edildi. Normal dağılıma uyan değişkenler ANOVA ve student-T testi ile, uymayanlar Kruskal-Wallis Varyans analizi ile test edildi. p değeri 0,05'in altında anlamlı kabul edildi. Post doc testlerden Bonferroni düzeltmesi çalışıldığında  $p < 0,0167$  anlamlılık sınırı olarak belirlendi.

Metodolojik testlerden sensitivite, spesifite, DTKO (Doğru tanı koyma oranı) pozitif kestirim değeri (ppd), negatif kestirim değeri (npd) hesaplandı.

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmada inflamatuvar bağırsak hastalıkları -CH ve ÜK- hücresel ve humoral immünite yönünden değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme için indirekt immünfloresan yöntemi, ELISA ve flow sitometri kullanılmıştır.

Bu amaçla 11'i CH, 17'si ÜK ve 11'i kontrol olmak üzere toplam 39 örnek incelenmiştir. Örneklerin 26 (%66,7)'sı erkek, 13 (%33,3)'ü kadın hastalara aittir. Hasta gruplarında ve kontrol grubundaki kadın erkek oranı istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir (Tablo 4-1).

**Tablo 4-1: Kadın-erkek oranının yüzde dağılımı**

|         | Erkek      | Kadın      | Total |
|---------|------------|------------|-------|
| ÜK      | 10 (%58,8) | 7 (41,2)   | 17    |
| CH      | 6 (%54,5)  | 5 (45,5)   | 11    |
| Kontrol | 10 (%90,9) | 1(9,1)     | 11    |
| Toplam  | 26 (%66,7) | 13 (%33,3) | 39    |

Ki-kare: 4,102 p=0,128

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 20-67 arasında olup, yaş ortalaması ÜK için  $42,88 \pm 14,81$  yıl, CH için  $39 \pm 11,1$  yıl, kontrol için  $50,09 \pm 10,83$  yıldır. Çalışma gruplarının yaş ortalamaları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir ( $p=0,113$ ) (Kruskal-Wallis).

#### 4.1. HÜMORAL İMMÜNİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLERİN SONUÇLARI

##### 4.1.1. İNDİREKT İMMÜNFLORESAN YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN BULGULAR

Çalışmaya alınan toplam 39 serum örneğinden indirekt immünfloresan yöntemiyle anti endomisyum antikor (AEA), anti retikülin antikor (ARA), pankreatik hücre antikoru (PAB), intestinal goblet hücre antikoru (İGHA), anti-nötrofil sitoplazmik antikor (ANCA) ve anti *Saccharomyces cerevisiae* antikor (ASCA) çalışılmıştır (Tablo 4-2). CH'da ASCA %81,8 (9 hasta), PAB %9,1 (1 hasta), p-ANCA %9,1 (1 hasta); ÜK'de ASCA %23,5 (4 hasta), PAB %5,9 (1 hasta), p-ANCA %58,8 (10 hasta), İGHA %11,8 (2 hasta) oranında pozitif bulunmuştur. Kontrol grubunda çalışılan bu dört antikorda negatif olarak bulunmuştur. CH'da ASCA antikoru istatistiksel olarak anlamlı

bulunmuştur ( $p=0,002$ ) (Tablo 4-3). ÜK hastalarında p-ANCA pozitifliği de istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,001$ ) (Tablo 4-4). PAB ve İGHA antikorları açısından değerlendirildiğinde anlamlılık görülmemiştir (Tablo 4-5, 4-6).

**Tablo 4-2: CH ve ÜK 'de otoantikor dağılımı**

| CH | ASCA | İGHA | PAB | ANCA |
|----|------|------|-----|------|
| +  | 9    | 0    | 1   | 1    |
| -  | 2    | 11   | 10  | 10   |

| ÜK | ASCA | İGHA | PAB | ANCA |
|----|------|------|-----|------|
| +  | 4    | 2    | 1   | 10   |
| -  | 13   | 15   | 10  | 7    |

**Tablo 4-3: ASCA'nın CH ve ÜK'de istatistiksel dağılımı**

|    | ASCA +<br>s % | ASCA -<br>s % | Toplam<br>s % |
|----|---------------|---------------|---------------|
| CH | 9 %81,8       | 2 %18,2       | 11 %100       |
| ÜK | 4 %23,5       | 13 %76,5      | 17 %100       |

Fisher'in kesin testi  $p=0,003$

**Tablo 4-4: ANCA'nın CH ve ÜK'de istatistiksel dağılımı**

|    | ANCA +<br>s % | ANCA -<br>s % | Toplam<br>s % |
|----|---------------|---------------|---------------|
| CH | 1 %9,1        | 10 %90,9      | 11 %100       |
| ÜK | 10 %58,8      | 7 %41,2       | 17 %100       |

Fisher'in kesin testi  $p=0,001$

**Tablo 4-5: CH ve ÜK'de PAB antikoru dağılımı**

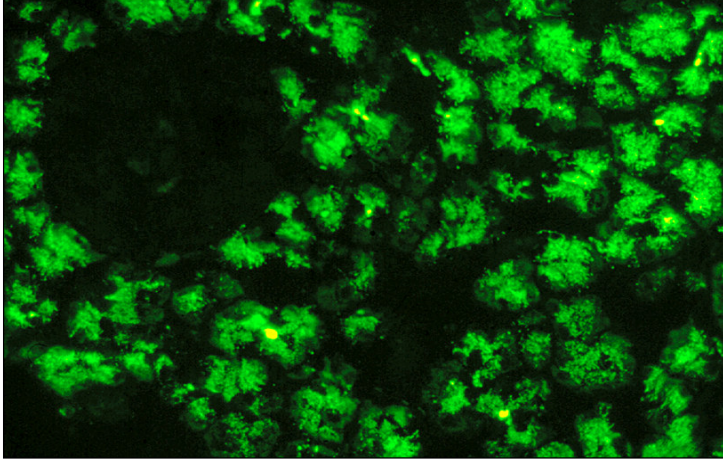
|    | PAB + | PAB - | Toplam |
|----|-------|-------|--------|
| CH | 1     | 10    | 11     |
| ÜK | 1     | 16    | 17     |

Fisher'in kesin testi  $p=0,640$

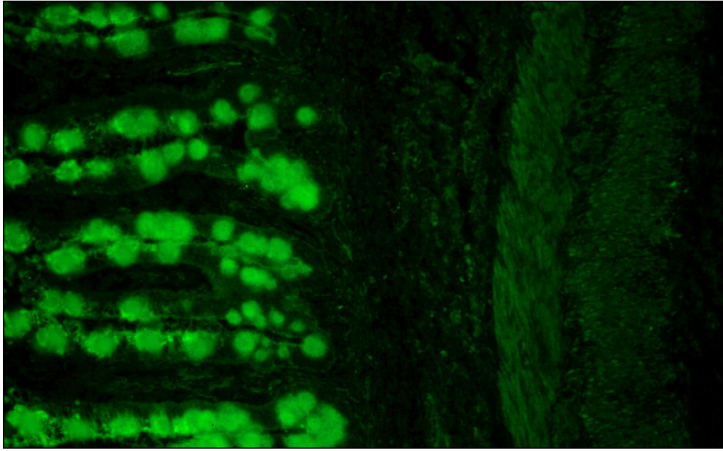
**Tablo 4-6: CH ve ÜK'de İGHA antikoru dağılımı**

|    | İGHA + | İGHA - | Toplam |
|----|--------|--------|--------|
| CH | 0      | 11     | 11     |
| ÜK | 2      | 15     | 17     |

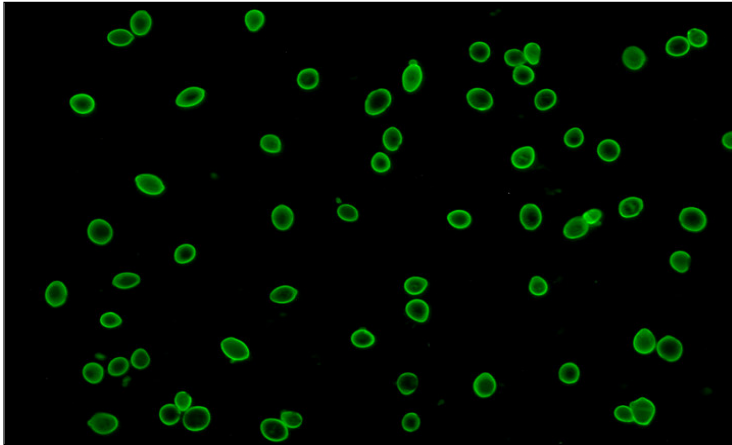
Fisher'in kesin testi  $p=0,360$



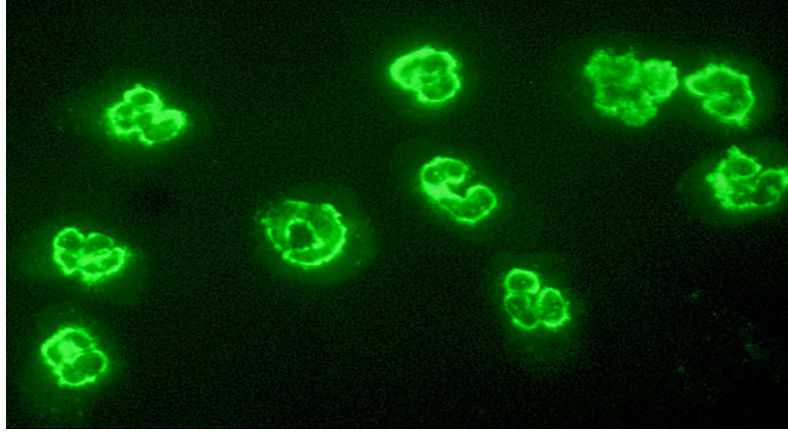
Şekil 4-6: İntestinal pankreatik Ab'un floresan mikroskop görüntüsü



Şekil 4-7: İntestinal goblet hücre Ab'nun floresan mikroskop görüntüsü



Şekil 4-8: ASCA'nın floresan mikroskop görüntüsü



**Şekil 4-9: p-ANCA'nın floresan mikroskop görüntüsü**

Anti endomisyum ve anti retikülin antikorlarına bakıldığında ise çalıştığımız hasta grupları ve kontrol grubunda negatif olarak bulunmuştur (Tablo 4-7).

**Tablo 4-7: CH, ÜK ve kontrol grubunda endomisyum ve retikülin antikorlarının dağılımı**

|              | CH (s=11) | ÜK (s=17) | Kontrol (s=11) | Toplam (s=39) |
|--------------|-----------|-----------|----------------|---------------|
| Endomisyum+  | -         | -         | -              | -             |
| Endomisyum - | 11        | 17        | 11             | 39            |
| Retikülin +  | -         | -         | -              | -             |
| Retikülin -  | 11        | 17        | 11             | 39            |

#### 4.1.2. ELISA YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN BULGULAR

Çalışmamızda ASCA IgG/IgA, anti gliadin antikor IgG/IgA ve anti doku transglutaminaz antikorları IgG/IgA ELISA yöntemi ile çalışılmıştır.

ASCA, CH'da görülen bir otoantikordur. ASCA IgA CH'da %27,3 (3 hasta), ÜK'de %5,9 (1 hasta), kontrol grubunda %9,1 (1 hasta) (Tablo 4-8); ASCA IgG CH'da %36,4 (4 hasta), ÜK'de %5,9 (1 hasta), kontrol grubunda %18,2 (2 hasta) oranında pozitif bulunmuştur (Tablo 4-9). ASCA IgA/IgG CH, ÜK ve kontrol grubunda % oranlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır.

**Tablo 4-8: ASCA IgA(+) ve ASCA IgA(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı**

|            | <b>CH (s=11)</b> |          | <b>ÜK (s=17)</b> |          | <b>Kontrol (s=11)</b> |          |
|------------|------------------|----------|------------------|----------|-----------------------|----------|
|            | <b>s</b>         | <b>%</b> | <b>s</b>         | <b>%</b> | <b>s</b>              | <b>%</b> |
| ASCA IgA + | 3                | %27,3    | 1                | %5,9     | 1                     | %9,1     |
| ASCA IgA - | 8                | %72,7    | 16               | %94,1    | 10                    | %90,9    |

Fisher'in kesin testi p=0,153

ASCA IgA(+) CH'da %27,3 pozitif iken bu oran ÜK'de %5,9'dur. Yüzde oranlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,153) (Tablo 4-8).

**Tablo 4-9: ASCA IgG(+) ve ASCA IgG(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı**

|            | <b>CH (s=11)</b> |          | <b>ÜK (s=17)</b> |          | <b>Kontrol (s=11)</b> |          |
|------------|------------------|----------|------------------|----------|-----------------------|----------|
|            | <b>s</b>         | <b>%</b> | <b>s</b>         | <b>%</b> | <b>s</b>              | <b>%</b> |
| ASCA IgG + | 4                | %36,4    | 1                | %5,9     | 2                     | %18,2    |
| ASCA IgG - | 7                | %63,6    | 16               | %94,1    | 9                     | %81,8    |

Fisher'in kesin testi p=0,062

ASCA IgG(+) CH'da %36,4 pozitif iken bu oran ÜK'de %5,9'dur. Yüzde oranlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,062) (Tablo 4-9).

Çalıştığımız gruplar arasında anti gliadin IgG/IgA ve anti doku transglutaminaz IgG/IgA açısından karşılaştırıldığında çölyak hastalığında çalışılan bu testlerin gliadin IgA'nın ÜK'de %58,8 (10 hasta), CH'da %27,3 (3 hasta), kontrolde %54,5 (6 hasta) oranında pozitif olduğu görülmüş fakat istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır (Tablo 4-10). Aynı grupta anti gliadin IgG'de de istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır (Tablo 4-11).

**Tablo 4-10: Gliadin IgA(+) ve Gliadin IgA(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı**

|               | CH (s=11) |       | ÜK (s=17) |       | Kontrol (s=11) |       |
|---------------|-----------|-------|-----------|-------|----------------|-------|
|               | s         | %     | s         | %     | s              | %     |
| Gliadin IgA + | 3         | %27,3 | 10        | %58,8 | 26             | %54,5 |
| Gliadin IgA - | 8         | %72,7 | 7         | %41,2 | 5              | %45,5 |

Fisher'in kesin testi p=0,106

**Tablo 4-11: Gliadin IgG(+) ve Gliadin IgG(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı**

|               | CH (s=11) |       | ÜK (s=17) |       | Kontrol (s=11) |       |
|---------------|-----------|-------|-----------|-------|----------------|-------|
|               | s         | %     | s         | %     | s              | %     |
| Gliadin IgG + | 2         | %18,2 | 2         | %11,8 | 1              | %9,1  |
| Gliadin IgG - | 9         | %81,8 | 15        | %88,2 | 10             | %90,9 |

Fisher'in kesin testi p=0,518

Transglutaminaz IgA'nın ÜK'de %35,3 (6 hasta), kontrolde %27,3 (3hasta) oranında pozitif olduğu görülmüştür. Bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,033) (Tablo 4-12). Transglutaminaz IgG antikoru hasta grupları (CH ve ÜK) ve kontrol grubunda negatif olarak bulunmuştur (Tablo 4-13).

**Tablo 4-12: Transglutaminaz IgA(+) ve Transglutaminaz IgA(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı**

|                       | CH (s=11) |      | ÜK (s=17) |       | Kontrol (s=11) |       |
|-----------------------|-----------|------|-----------|-------|----------------|-------|
|                       | s         | %    | s         | %     | s              | %     |
| Transglutaminaz IgA + | 0         |      | 6         | %35,3 | 3              | %27,3 |
| Transglutaminaz IgA - | 11        | %100 | 11        | %64,7 | 8              | %72,7 |

Fisher'in kesin testi p=0,033

**Tablo 4-13: Transglutaminaz IgG(+) ve Transglutaminaz IgG(-)'liğinin hasta grubu ve kontroldeki % dağılımı**

|                          | CH (s=11) | ÜK (s=17) | Kontrol (s=11) |
|--------------------------|-----------|-----------|----------------|
|                          | s %       | s %       | s %            |
| Transglutaminaz<br>IgG + | 0         | 0         | 0              |
| Transglutaminaz<br>IgG - | 11 %100   | 17 %100   | 11 %100        |

#### 4.1.3. ASCA İÇİN YÖNTEM KARŞILAŞTIRMASI

ELISA ile ASCA IgA pozitif olarak saptandığında (İİF altın standart olarak kabul edildiğinde) İİF yönteminde bu olgunun (+) olma olasılığı pozitif kestirim değeri (ppv) %80 olarak bulunmuştur. ELISA ile ASCA IgA negatif olarak saptandığında İİF yönteminde (-) olma olasılığı negatif kestirim değeri (npv) % 85,3 olarak saptanmıştır. Her iki testinde ortak karara vardıkları (ikisinin de + veya ikisinin de -) vakaların tüm olgulara oranı doğru tanı koyma oranını (DTKO) göstermektedir (Tablo 4-14).

**Tablo 4-14: ASCA IgA(+) ve IgA(-)'liğinin ELISA ve immünfloresan yöntemin karşılaştırılması**

|                        | ASCA IgA(+)<br>(İİF) | ASCA IgA(-)<br>(İİF) | Toplam |
|------------------------|----------------------|----------------------|--------|
| ASCA IgA(+)<br>(ELISA) | 4                    | 1                    | 5      |
| ASCA IgA(-)<br>(ELISA) | 5                    | 29                   | 34     |
| Toplam                 | 9                    | 30                   | 39     |

Sensitivite= %44,4

Spesifite= %96,6

Ppv= %80

Npv= %85,3

DTKO=4+29/39= %84,6

ELISA ile ASCA IgG pozitif olarak saptandığında (İİF altın standart olarak kabul edildiğinde) İİF yönteminde bu olgunun (+) olma olasılığı yani pozitif kestirim değeri (ppv) %71,4 olarak bulunmuştur. ELISA ile ASCA IgG negatif olarak saptandığında İİF yönteminde (-) olma olasılığı negatif kestirim değeri yani (npv) % 84,4 olarak saptanmıştır. Her iki testinde ortak karara vardıkları (ikisinin de + veya ikisinin de -) vakaların tüm olgulara oranı doğru tanı koyma oranını (DTKO) göstermektedir (Tablo 4-15).

**Tablo 4-15: ASCA IgG(+) ve IgG(-)'liğinin ELISA ve immünfloresan yöntemin karşılaştırılması**

|                        | ASCA IgG(+)<br>(IIF) | ASCA IgG(-)<br>(IIF) | Toplam |
|------------------------|----------------------|----------------------|--------|
| ASC IgG(+)<br>(ELISA)  | 5                    | 2                    | 7      |
| ASCA IgG(-)<br>(ELISA) | 5                    | 27                   | 32     |
| Toplam                 | 10                   | 29                   | 39     |

Sensitivite= %50

Spesifite= %93,1

Ppv= %71,4

Npv= %84,4

DTKO=5+27/39 =%82

## 4.2. HÜCRESEL İMMÜNİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLERİN SONUÇLARI

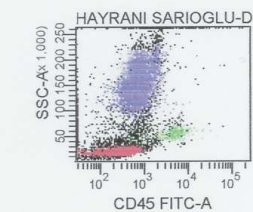
### 4.2.1. FLOW SİTOMETRİ İLE ÇALIŞILAN TAM KAN ÖRNEKLERİNİN SONUÇLARI

ÜK, CH ve kontrol grubunun tam kan örnekleri flow sitometri ile çalışılmış ve değerlendirme sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 4-16). **CD19** ve **CD40** ÜK, CH ve kontrol grubunda sırasıyla  $5,12 \pm 3,94$ ,  $9,64 \pm 5,22$ ,  $12 \pm 6,39$  ve  $6,29 \pm 3,57$ ,  $11,64 \pm 3,78$ ,  $12,73 \pm 5,16$  olarak anlamlı bulunmuştur.

Kruskal Wallis değerlendirmesine göre periferik kan lenfositlerinde CD19’u K ve kontrol grubunda karşılaştırdığımızda  $p=0,001$ , CD40’ı K ve kontrol grubunda karşılaştırdığımızda  $p=0,0001$  olarak bulunmuştur. K’li vakadan alınan tam kan örneğinin flow sitometri görüntüsü şekil 4-5’de görülmektedir.

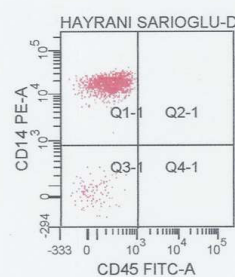
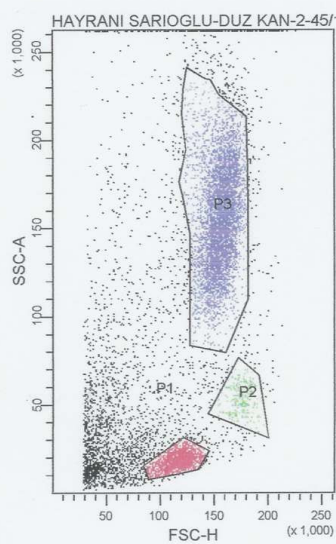
**Tablo 4-16: Periferik kan lenfositlerinin K, CH ve kontrol grubundaki istatistiksel değerleri**

|                    | K (PKL)          | CH (PKL)          | Kontrol (PKL)     | p     |
|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|
| CD45               | 94,71 $\pm$ 2,29  | 91,73 $\pm$ 10,03 | 90,91 $\pm$ 9,70  | 0,812 |
| CD4                | 40,35 $\pm$ 13,14 | 47,91 $\pm$ 10,78 | 42,55 $\pm$ 13,51 | 0,137 |
| CD8                | 35,53 $\pm$ 10,75 | 26,36 $\pm$ 11,52 | 29,09 $\pm$ 13,20 | 0,041 |
| CD3                | 78,12 $\pm$ 9,77  | 75,91 $\pm$ 7,57  | 70,82 $\pm$ 9,99  | 0,295 |
| CD19               | 5,12 $\pm$ 3,94   | 9,64 $\pm$ 5,22   | 12,0 $\pm$ 6,39   | 0,007 |
| CD56               | 7,29 $\pm$ 6,1    | 6,18 $\pm$ 4,71   | 9,73 $\pm$ 7,82   | 0,676 |
| CD57               | 11,94 $\pm$ 8,21  | 13,27 $\pm$ 20,68 | 11,73 $\pm$ 7,17  | 0,535 |
| CD11a              | 83,0 $\pm$ 19,88  | 91,36 $\pm$ 4,74  | 73,36 $\pm$ 26,76 | 0,475 |
| CD11b              | 22,88 $\pm$ 27,02 | 27,64 $\pm$ 22,66 | 9,82 $\pm$ 17,87  | 0,090 |
| CD11c              | 10,65 $\pm$ 8,27  | 10,82 $\pm$ 6,69  | 7,18 $\pm$ 5,4    | 0,221 |
| CD154              | 0,94 $\pm$ 0,90   | 2,0 $\pm$ 2,65    | 0,91 $\pm$ 1,58   | 0,285 |
| CD40               | 6,29 $\pm$ 3,57   | 11,64 $\pm$ 3,78  | 12,73 $\pm$ 5,16  | 0,000 |
| CD16               | 15,88 $\pm$ 11,26 | 11,45 $\pm$ 6,11  | 17,0 $\pm$ 7,16   | 0,372 |
| CD5                | 65,24 $\pm$ 22,31 | 69,64 $\pm$ 18,29 | 70,45 $\pm$ 6,64  | 0,747 |
| TCR $\gamma\delta$ | 3,59 $\pm$ 4,29   | 4,09 $\pm$ 4,99   | 3,27 $\pm$ 2,79   | 0,755 |
| HLA-DR             | 7,29 $\pm$ 4,82   | 11,45 $\pm$ 4,39  | 12,64 $\pm$ 6,45  | 0,065 |



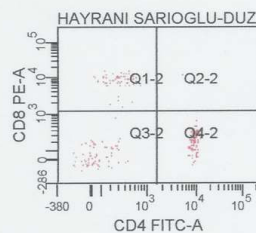
Specimen Name: HAYR...  
Record Date: Apr 21...

| Population   | #Eve... | %Total |
|--------------|---------|--------|
| ■ All Events | 10,000  | 100.0  |
| ■ P1         | 1,491   | 14.9   |
| ▣ Q1-1       | 1,387   | 13.9   |
| ▣ Q2-1       | 0       | 0.0    |
| ▣ Q3-1       | 104     | 1.0    |
| ▣ Q4-1       | 0       | 0.0    |
| ■ P2         | 253     | 2.5    |
| ■ P3         | 5,111   | 51.1   |



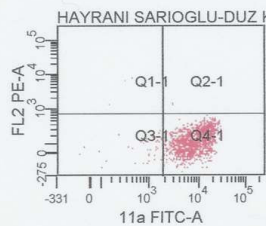
Specimen Name: H...  
Record Date: A...

| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ▣ Q1-1     | 93.0    |
| ▣ Q2-1     | 0.0     |
| ▣ Q3-1     | 7.0     |
| ▣ Q4-1     | 0.0     |
| ■ P2       | 2.5     |
| ■ P3       | 51.1    |



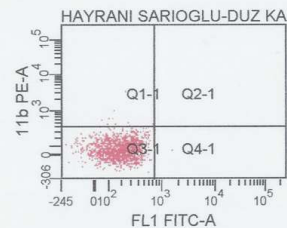
Specimen Name: HAYR...  
Record Date: Apr 21,...

| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ▣ Q1-2     | 24.8    |
| ▣ Q2-2     | 0.4     |
| ▣ Q3-2     | 28.5    |
| ▣ Q4-2     | 46.3    |



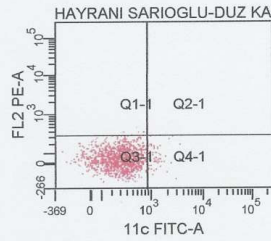
Specimen Name: HAY...  
Record Date: Apr 2...

| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ▣ Q1-1     | 0.2     |
| ▣ Q2-1     | 0.1     |
| ▣ Q3-1     | 3.2     |
| ▣ Q4-1     | 96.4    |



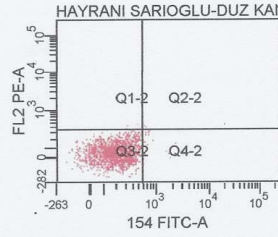
Specimen Name: HAYRA...  
Record Date: Apr 21, ...

| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ▣ Q1-1     | 0.9     |
| ▣ Q2-1     | 0.0     |
| ▣ Q3-1     | 99.0    |
| ▣ Q4-1     | 0.1     |



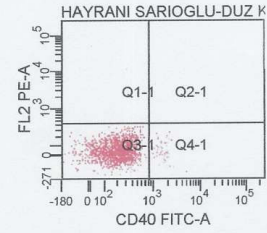
Specimen Name: HAYRANI...  
Record Date: Apr 21, 2...

| Population                               | %Parent |
|------------------------------------------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Q1-1 | 0.6     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q2-1 | 0.0     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q3-1 | 95.3    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q4-1 | 4.1     |



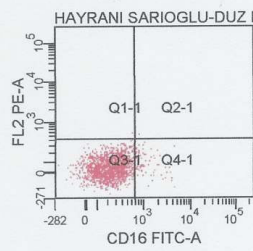
Specimen Name: HAYRANI...  
Record Date: Apr 21, 2...

| Population                               | %Parent |
|------------------------------------------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Q1-2 | 0.3     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q2-2 | 0.3     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q3-2 | 98.5    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q4-2 | 0.9     |



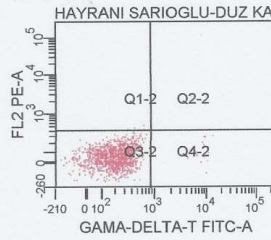
Specimen Name: HAYRA...  
Record Date: Apr 21, ...

| Population                               | %Parent |
|------------------------------------------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Q1-1 | 0.1     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q2-1 | 0.0     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q3-1 | 96.4    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q4-1 | 3.5     |



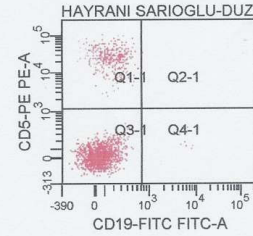
Specimen Name: HAYRA...  
Record Date: Apr 21, ...

| Population                               | %Parent |
|------------------------------------------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Q1-1 | 0.1     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q2-1 | 0.1     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q3-1 | 95.4    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q4-1 | 4.4     |



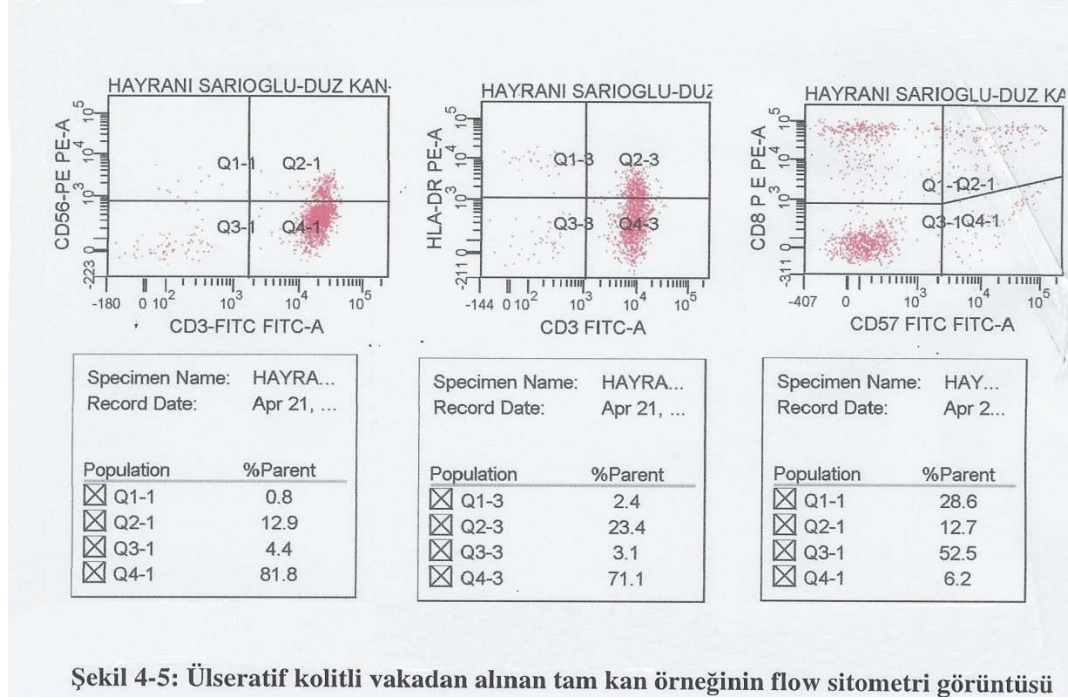
Specimen Name: HAYRANI ...  
Record Date: Apr 21, 20...

| Population                               | %Parent |
|------------------------------------------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Q1-2 | 0.3     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q2-2 | 0.0     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q3-2 | 98.5    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q4-2 | 1.1     |



Specimen Name: HAYR...  
Record Date: Apr 21, ...

| Population                               | %Parent |
|------------------------------------------|---------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Q1-1 | 21.7    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q2-1 | 0.0     |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q3-1 | 77.7    |
| <input checked="" type="checkbox"/> Q4-1 | 0.5     |

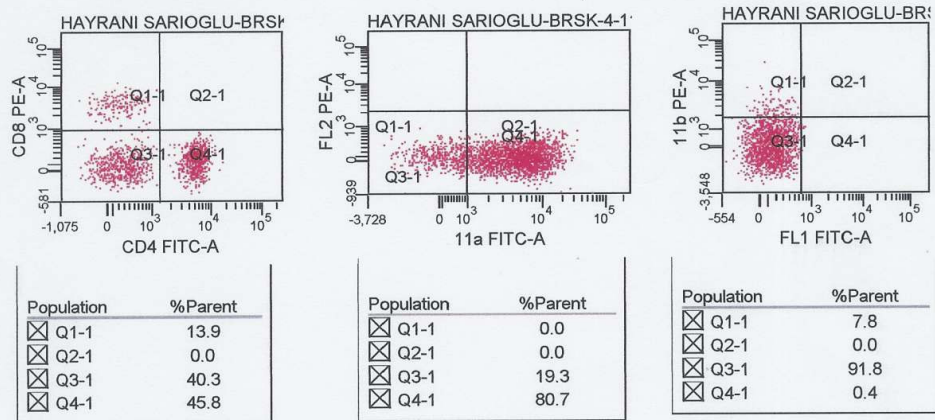
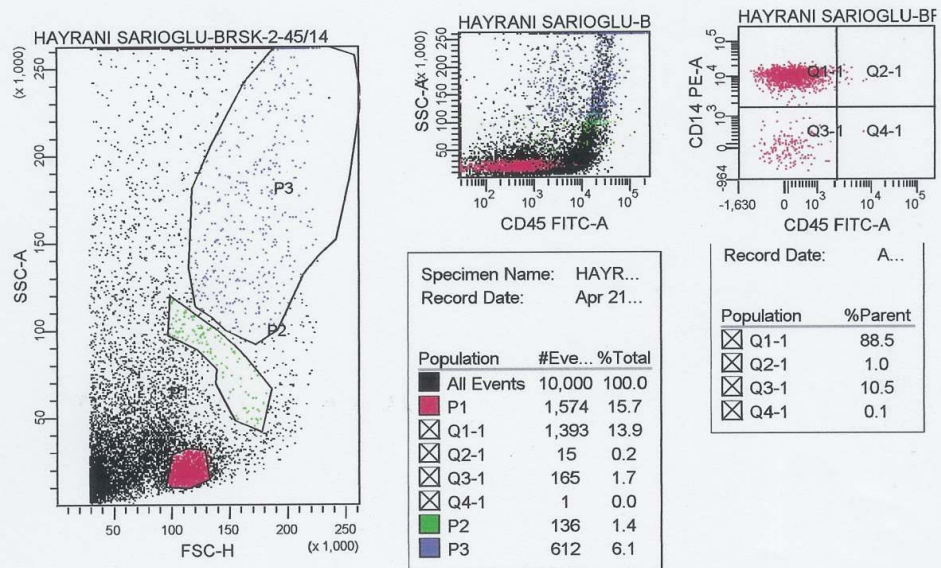


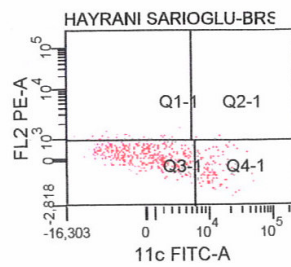
#### 4.2.2. FLOW SİTOMETRİ İLE ÇALIŞILAN İNFİLTRE LENFOSİTLERİN SONUÇLARI

ÜK, CH ve kontrol grubunda infiltrate lenfositler flow sitometride değerlendirilmiş ve tüm sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 4-17). **CD11b** ÜK, CH ve kontrol grubunda sırasıyla  $32,24 \pm 30,55$ ;  $61,73 \pm 31,92$ ;  $40,18 \pm 24,77$ , **CD5**  $32,06 \pm 20,42$ ;  $11 \pm 12,17$ ;  $10,18 \pm 7,31$ , **HLA-DR**  $14,71 \pm 9,89$ ;  $9,73 \pm 8,19$ ;  $4,82 \pm 4,73$  ve **TCR $\gamma\delta$**   $7,47 \pm 5,09$ ;  $8,09 \pm 6,77$ ;  $24,36 \pm 22,38$ 'dir. Kruskal Wallis değerlendirmesine göre bağırsak dokusundaki infiltrate lenfositlerde CD11b, ÜK ve CH'da karşılaştırıldığında **p=0,016**, CD5, ÜK ve CH'da karşılaştırıldığında **p=0,001**; ÜK kontrolle karşılaştırıldığında **p=0,001**, HLA-DR, ÜK ve kontrolle karşılaştırıldığında **p=0,004**, olarak bulunmuştur. TCR $\gamma\delta$ 'yi ANOVA ile değerlendirdiğimizde ise ÜK ile kontrol grubu ve CH ile kontrol grubu karşılaştırıldığında **p=0,003** olarak bulunmuştur. ÜK'li vakadan alınan bağırsak biyopsi örneğinde infiltrate olmuş lenfositlerin flow sitometri görüntüsü şekil 4-6'de görülmektedir.

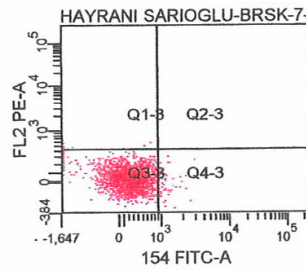
**Tablo 4-17: İnfiltrate lenfositlerin ÜK, CH ve kontrol grubundaki istatistiksel değerleri**

|        | ÜK (İL)     | CH (İL)     | Kontrol (İL) | p     |
|--------|-------------|-------------|--------------|-------|
| CD45   | 46,12±29,4  | 26,09±31,42 | 39,0±18,77   | 0,141 |
| CD4    | 27,06±17,97 | 14,27±11,62 | 18,09±22,03  | 0,054 |
| CD8    | 7,94±5,14   | 5,64±5,26   | 6,82±5,36    | 0,456 |
| CD3    | 35,0±18,11  | 21,18±14,77 | 29,45±21,3   | 0,169 |
| CD19   | 15,35±13,13 | 9,45±11,84  | 19,45±22,86  | 0,205 |
| CD56   | 5,65±9,55   | 1,82±1,40   | 1,64±1,50    | 0,232 |
| CD57   | 7,29±4,06   | 13,91±21,7  | 18,64±21,13  | 0,157 |
| CD11a  | 47,41±24,55 | 48,36±28,11 | 42,36±20,14  | 0,772 |
| CD11b  | 32,24±30,55 | 61,73±31,92 | 40,18±24,77  | 0,049 |
| CD11c  | 49,94±25,29 | 37,36±27,49 | 47,18±20,56  | 0,448 |
| CD154  | 12,24±11,88 | 29,82±30,74 | 20,18±22,28  | 0,240 |
| CD40   | 18,82±14,24 | 14,36±14,67 | 14,82±15,2   | 0,507 |
| CD16   | 13,94±15,92 | 24,09±26,36 | 23,55±23,92  | 0,251 |
| CD5    | 32,06±20,42 | 11,0±12,17  | 10,18±7,31   | 0,002 |
| TCRγδ  | 7,47±5,09   | 8,09±6,77   | 24,36±22,38  | 0,003 |
| HLA-DR | 14,71±9,89  | 9,73±8,19   | 4,82±4,73    | 0,010 |

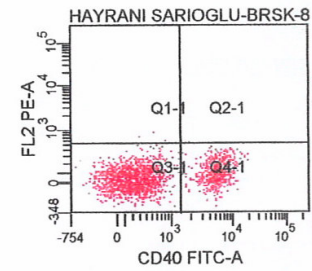




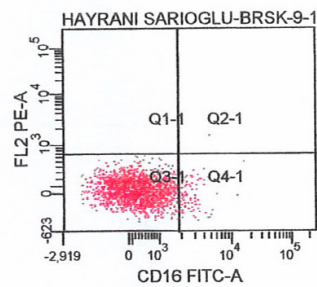
| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ☒ Q1-1     | 7.0     |
| ☒ Q2-1     | 0.6     |
| ☒ Q3-1     | 72.7    |
| ☒ Q4-1     | 19.7    |



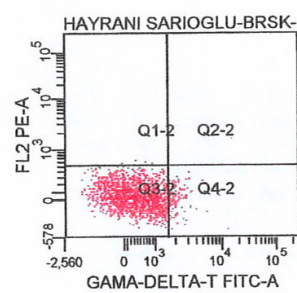
| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ☒ Q1-3     | 0.6     |
| ☒ Q2-3     | 0.1     |
| ☒ Q3-3     | 95.8    |
| ☒ Q4-3     | 3.5     |



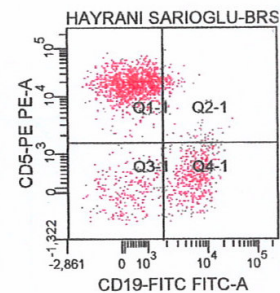
| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ☒ Q1-1     | 0.2     |
| ☒ Q2-1     | 0.1     |
| ☒ Q3-1     | 70.9    |
| ☒ Q4-1     | 28.9    |



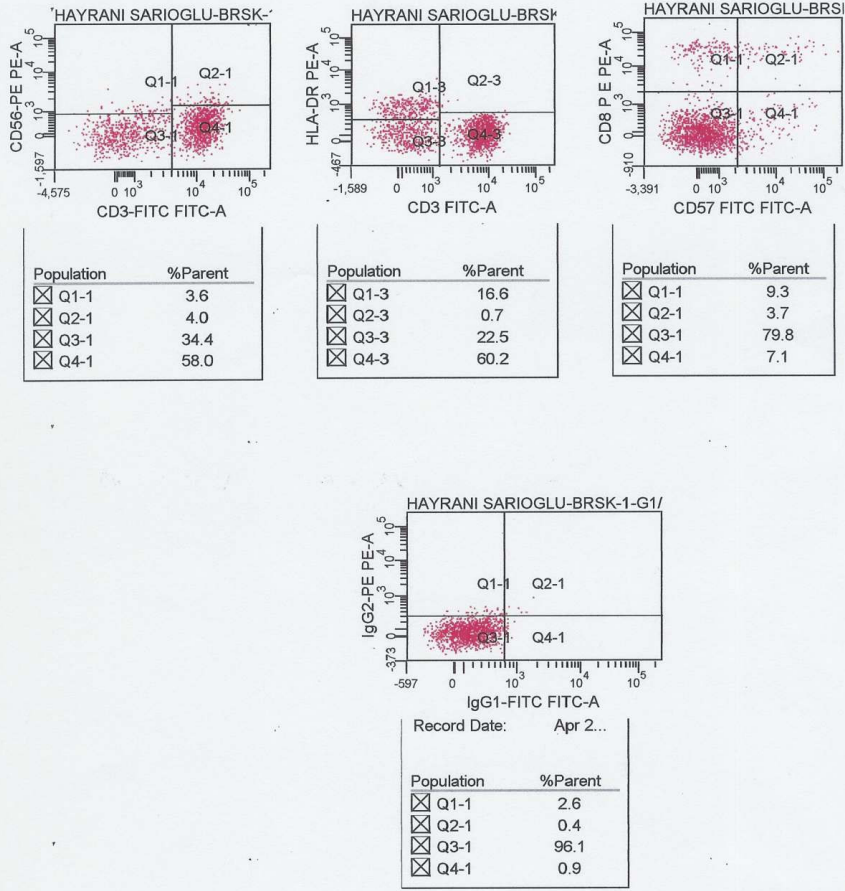
| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ☒ Q1-1     | 0.0     |
| ☒ Q2-1     | 0.1     |
| ☒ Q3-1     | 95.1    |
| ☒ Q4-1     | 4.8     |



| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ☒ Q1-2     | 0.5     |
| ☒ Q2-2     | 0.1     |
| ☒ Q3-2     | 93.0    |
| ☒ Q4-2     | 6.4     |



| Population | %Parent |
|------------|---------|
| ☒ Q1-1     | 57.8    |
| ☒ Q2-1     | 6.4     |
| ☒ Q3-1     | 13.5    |
| ☒ Q4-1     | 22.4    |



Şekil 4-6: Ülseratif kolitli vakadan alınan bağırsak biyopsi örneğinde infiltrate olmuş lenfositlerin flow sitometri görüntüsü

ÜK, CH ve kontrol grubunun periferik kan lenfositlerini ikili boyamalarda karşılaştırdığımız zaman **CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>**'in ÜK, CH ve kontrol grubunda sırasıyla 6,65±5,39; 4,0±2,89; 7,27±15,65, **CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>**'nin 14,29±10,01; 10,18±4,95; 9,18±5,68, **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>**'in 21,11±7,44; 11,09±7,99; 17,36±8,98, **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>**'in 2,29±1,35; 3,36±2,5; 4,64±4 olarak bulunmuştur. Kruskal-Wallis değerlendirmesine göre **CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>** p=0,209'dur. ANOVA ile değerlendirilen **CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>**, **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>** ve **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>** sırasıyla p=0,191, p=0,01 ve p=0,086'dır. **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>**'deki istatistiksel anlamlılığın CH ve ÜK'den kaynaklandığı görülmüştür (Tablo 4-18).

**Tablo 4-18: ÜK,CH ve kontrol grubundaki periferik kan lenfositlerinin ikili boyama sonuçlarının istatistiksel değerleri.**

|                                      | ÜK (PKL)    | CH (PKL)   | Kontrol (PKL) | p     |
|--------------------------------------|-------------|------------|---------------|-------|
| CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>   | 6,65±5,39   | 4,0±2,89   | 7,27±15,65    | 0,209 |
| CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> | 14,29±10,01 | 10,18±4,95 | 9,18±5,68     | 0,191 |
| CD8 <sup>+</sup> CD57 <sup>+</sup>   | 21,11±7,44  | 11,09±7,99 | 17,36±8,98    | 0,01  |
| CD5 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup>   | 2,29±1,35   | 3,36±2,5   | 4,64±4        | 0,086 |

ÜK, CH ve kontrol grubunun infiltre lenfositlerini ikili boyamalarda karşılaştırdığımız zaman **CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>**'in ÜK, CH ve kontrol grubunda sırasıyla 2,94±1,7; 7,0±9,27; 3,63±4,98, **CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>**'nin 4,06±1,2; 4,9±3,7; 3,27±3,49, **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>**'in 3,11±1,36; 5,0±7,11; 2,36±2,5, **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>**'in 5,23±3,05; 2,90±2,35; 2,90±2,38 olarak bulunmuştur. ANOVA ile değerlendirilen **CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>**, **CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>** ve **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>** sırasıyla p=0,179, p=0,681 ve p=0,301 olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlılık tespit edilememiştir. **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>** Student-T testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlılığın ÜK ve CH'dan (p=0,042); ÜK ve kontrol grubundan (p=0,042) kaynaklandığı görülmüştür. (Tablo 4-19)

**Tablo 4-19: ÜK,CH ve kontrol grubundaki infiltrate lenfositlerin ikili boyama sonuçlarının istatistiksel değerleri.**

|                                      | ÜK (İL)   | CH (İL)   | Kontrol (İL) | p     |
|--------------------------------------|-----------|-----------|--------------|-------|
| CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>   | 2,94±1,7  | 7,0±9,27  | 3,63±4,98    | 0,179 |
| CD3 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> | 4,06±1,2  | 4,9±3,7   | 3,27±3,49    | 0,681 |
| CD8 <sup>+</sup> CD57 <sup>+</sup>   | 3,11±1,36 | 5,0±7,11  | 2,36±2,5     | 0,301 |
| CD5 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup>   | 5,23±3,05 | 2,90±2,35 | 2,90±2,38    | 0,039 |

ÜK,CH ve kontrol grubunda (n=39) infiltrate lenfositlerde **CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>** ANCA (+) olanlar ve ANCA (-) olanlarla karşılaştırıldığında sırasıyla 6,54±2,34, 2,89±2,39 (p=0,000) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 4-20).

**Tablo 4-20: ÜK,CH ve kontrol grubundaki infiltrate lenfositlerdeki CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>'un ANCA(+) ve ANCA (-) olanlardaki istatistiksel değerleri.**

|                                            | ANCA(+)   | ANCA(-)   | P       |
|--------------------------------------------|-----------|-----------|---------|
| CD5 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup><br>(İL) | 6,54±2,34 | 2,89±2,39 | p=0,000 |

## 5. TARTIŞMA

Bağırsak immünolojisinde özellikle genetik yatkınlıkla ilgili gelişmeler olmasına rağmen İBH, klinisyenler için hala tartışma konusudur. Erişkinlerde teşhis radyolojik, endoskopik ve histolojik değerlendirmeler sonucunda konmaktadır (68, 87). Çocuklarda bu hastalığın başlangıcı sinsi seyretmekte, karın ağrısı, kilo kaybı, kronik diyare gibi spesifik olmayan semptomlar görülmektedir (68). SLE’da anti nükleer antikor (ANA)’un varlığı nasıl bu hastalık için spesifikse (68,86, 95), araştırmacılar da İBH içinde spesifik antikorlar bulmak için çalışmalar yapmaktadırlar. İBH’nın tanısında kullanılmak üzere iki antikor tanımlamışlardır. Bu antikorlar ASCA (59, 68) ve p-ANCA (18, 68, 75) antikorlarıdır. Biz çalışmamızda CH’larında ASCA pozitifliğini %81,8, ÜK’de p-ANCA pozitifliğini %58,8 olarak bulduk. Ayrıca CH’da p-ANCA pozitifliği %9,1, ÜK’de ASCA pozitifliği %23,5 olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda ASCA’nın CH’nın %60-70’inde pozitif olduğu görülmüştür (16, 64, 96). Bossuyt ve ark. (16) çalışmalarında **p-ANCA<sup>+</sup>ASCA<sup>-</sup>** kombinasyonu ÜK için, **ASCA<sup>+</sup>p-ANCA<sup>-</sup>** kombinasyonu CH’lığı için spesifiktir. Bizim çalışmamızda bu literatür bilgisiyle uyumludur. Yine Bossuyt ve ark. (16) çalışmalarında hastaların hemen hemen %50’sinde ASCA ve ANCA antikorlarının gelişmediği ve p-ANCA ve ASCA’nın düzenli bakılmasının yararlı olmadığı söylenmiştir. Çoğu zaman her iki antikorun titresi stabil kalmakta ve hastalık aktivitesi ile uyum göstermemektedir. Biz hem ASCA pozitifliğini CH’da hemde p-ANCA pozitifliğini ÜK’de %50’nin üzerinde bulduk. Beaven ve ark. (8) yaptıkları çalışmada ASCA’yı İBH için yüksek duyarlılıkta bulmuşlardır (%60). Başka bir çalışmada da CH’larında ASCA’nın duyarlılığı %61, özgüllüğü %88 olarak bulunmuştur (68). Serolojik testler ÜK ve CH’nın ayırt edilmesinde yardımcı olabilir. Vasiliauskas ve ark. (73) p-ANCA’sı pozitif olan CH’ları tanımlamışlardır. p-ANCA’sı pozitif olan CH’nın %100’ü ÜK benzeri özelliklere sahiptir. Bizim çalışmamızda da p-ANCA’sı pozitif bir Crohn hastası vardı. ASCA ve p-ANCA gibi az duyarlı serolojik testler popülasyonda İBH taraması için çok uygun değildir. ASCA ve p-ANCA’ya bakılarak CH’nın fenotipik olarak farklı grupları tanımlanabilir.

CH’da eksokrin pankreasa karşı antikorlar saptanmıştır. PAB’lar pankreatik sıvıda bilinmeyen antijenlere karşı oluşur. CH’nın %30-40’ında bulunmaktadır. Bu hastalık için oldukça spesifik antikorlardır (35, 56, 80). Joossens ve ark. (48) pankreatik

antikorların yalnız CH'da değil, ÜK'li hastalarda da düşük titrede pozitif olduğunu göstermişlerdir. İGHA'lar ise yalnızca ÜK'de bulunmaktadır. Hastaların %30'unda pozitif olarak görülmektedir (56, 80). Yapılan bir çalışmada Çin ve Kafkas populasyonunda PAB ve İGHA'na bakılmış, İGHA pozitifliğinin ÜK ve CH'da düşük iken PAB'ın CH'lığı için oldukça spesifik olduğunu görmüşlerdir (63). Bu bulgular sonucunda p-ANCA ve ASCA ile birlikte PAB'na bakılmasının ÜK ve CH'nın ayırt edilmesine yardımcı olacağı sonucuna varılmıştır (56, 94).

Bizim çalışmamız sonucunda PAB ( $p=0,640$ ) ve İGHA ( $p=0,360$ ) CH ve ÜK'de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonucun hasta sayımızın az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çölyak hastalığı ve İBH kronik diyare ve otoantikorların varlığı ile tanımlanmaktadır (6). Kronik diyareli hastaların serumlarında p-ANCA veya ASCA antikorlarının bulunması durumunda çölyak hastalığı da düşünülmelidir (29, 84). Kronik inflamasyonla seyreden bir bağırsak hastalığı olan çölyak hastalığının teşhisinde kullanılan anti endomisyum, anti retikülin, anti gliadin IgA/IgG, anti doku transglutaminaz IgA/IgG antikorlarına da bakılmalı ve çölyak hastalığı atlanmamalıdır. Çalışmamızda CH, ÜK ve kontrol grubunda anti endomisyum, anti retikülin, anti gliadin IgA/IgG antikorlarına bakılmıştır ve hasta grupları ile kontrol grubunda anti endomisyum, anti retikülin negatif bulunmuştur. Anti gliadin IgA ve anti gliadin IgG sırasıyla  $p=0,106$  ve  $p=0,518$  istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Granito ve ark.'nın (42) bir çalışmasında çölyak hastalığında ASCA IgA/IgG antikorları %59 oranında bulunurken CH'da %75 oranında bulunmuş, ÜK'de ise %27 oranındadır. Barta ve ark. (6) CH ve çölyak hastalığında ASCA IgA/IgG titrelerini artmış olarak bulunmuşlardır. ASCA pozitifliği CH için spesifik değildir; fakat ince bağırsağın otoimmün inflamasyonu ile ilişkilidir. Makrofajlar direkt veya indirekt mikrobiyal aktivite ile TNF $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokin üretirler. Candida albicans'ın çeşitli hücre duvarı komponentleri makrofajlardan TNF $\alpha$  salınması ile ilgili araştırılmıştır. Hücre duvarlarında beta-1,2-oligomannosit vardır (6,93). Saf oligomannosit ile aktive olmuş makrofajlar inkübe edildiğinde doza ve molekül büyüklüğüne bağlı olarak in vitro ve invivo TNF $\alpha$  salgılamışlardır (6, 49). Benzer gözlemler Saccharomyces cerevisiae'de gösterilmiştir. Oligomannoz yapılar sitokin ağını etkilemektedir (6, 81).

İntestinal mikroflora insan sağlığına katkıda bulunduğu gibi, diğer bölümlere rastgele patojenlerin geçişini önlemekte görevleri arasındadır. Ağızdan alınan

antijenlere oral tolerans gelişir, antijenin düşük dozu GALT 'da regülatuar T hücreleri yoluyla aktif supresyon sağlar. T yardımcı tip 1 lenfositler (TH1) IL-2, IFN  $\gamma$  sekrete ederler ve tip 1 immüniteyi uyarırlar. TH2 hücreler IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 ve IL-13 sekrete ederler ve tip 2 immüniteyi uyarırlar (6, 30).

Doku transglutaminaz (tTG), insan vücudunda yaygın olarak bulunmaktadır. Apoptozda, fibrogenezde, yara iyileşmesinde rolü olan çok fonksiyonlu bir enzimdir. Çölyak hastalığının tanısında serolojik test olarak kullanılan endomisyum antikorunun oto antijenidir (29, 31, 84). tTG antikorlarının değerlendirilmesi gastrointestinal rahatsızlıkların tanısını desteklemektedir. İnflamatuar bağırsak hastalığı olan hastalarda tTG antikorlarının pozitif bulunması çölyak hastalığı için bu antikorların özgüllüğünün azalmasına neden olmuştur (29).

Çalışmamızda CH, ÜK ve kontrol grubunun serumlarında anti tTG IgA/IgG antikorları çalışıldı. tTG IgA antikorı ÜK hastalarının %35,3'ünde (17 hastanın 6'sı pozitif) olarak bulunmuştur ( $p=0,033$ ). Anti endomisyum IgA hasta grubunda ve kontrol grubunda negatif olarak bulunmuştur. tTG IgG'de ise istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır. Di Tola ve ark. (29) yaptıkları bir çalışmada CH'nin %65'inde (49 hastanın 32'si pozitif), ÜK hastalarının %69'unda (29 hastanın 20'si pozitif) tTG IgA antikorlarını pozitif olarak bulmuşlardır. Sağlıklı kontrollerde pozitif değer bulunamamıştır. Bizim sağlıklı kontrollerimizde pozitiflik %27,3 (11 hastanın 3'ü pozitif) oranında bulunmuştur.

Bazı araştırmacılar İBH'lığında, kronik karaciğer hastalıklarında (19, 29), eklem hastalıklarında (29, 69) hastaların serumlarında tTG antikorlarını pozitif olarak bulsalarda tTG antikorları çölyak hastalığının tanısında kullanılır (19, 29). Eğer tTG antikorları çölyak hastalığından başka diğer hastalıklarda da pozitif olarak bulunursa bu sadece EMA'nın antijeni olmadığını göstermektedir. Di Tola ve ark. (29) anti endomisyum antikorları negatif iken, İBH'da artmış tTG IgA antikorlarını yalnız serumda değil %50'den fazla oranda hastaların feçeslerinde de göstermişlerdir. Çölyak hastalarının bağırsaklarında artmış tTG'nin ekstraselüler lokalizasyonu gösterilmiştir. Bu yüksek antijenik ekspresyon ile açıklanabilir. D'Argenio ve ark. (26) CH'nin bağırsaklarında da tTG'nin ekstraselüler ekspresyonunu göstermişlerdir.

CH ve ÜK hücrel ve hümmoral immün sistemlerin rol oynadığı ve inflammatuar sitokinlerin rolü nedeniyle kronikleşmeye eğilimli hastalıklardır. İntestinal

inflamasyonda B hücrelerinin aksine, T hücreleri gereklidir. CH'da hücresel yanıt yani T hücreleri ön plandadır (34).

Çalışmamızda hücresel immünite yönünden T hücre, B hücre, NK hücreleri ve adezyon molekülleri periferik kan ve infiltre lenfositlerde flow sitometri yöntemiyle çalışılarak değerlendirilmiştir.

CD40L (CD154), özellikle  $CD4^+$  T hücre yüzeyinde eksprese olan bir glikoproteindir. Reseptörü olan CD40 B hücreleri, dendritik hücreler ve monositlerde bulunur. Aktive olmuş T hücrelerindeki CD40L ile B hücrelerinde bulunan CD40 arasındaki etkileşim sonucunda B hücre çoğalması, farklılaşması, Ig üretimi meydana gelir. Monosit, makrofaj ve dendritik hücrelerde CD40'ın ekspresyonu selüler immün cevapta CD40 sinyalinin rolüyle bağlantılıdır (24, 58, 72). SLE, romatoid artrit, multiple skleroz, graves hastalığı gibi otoimmün hastalıkların immünpatogenezinde CD40-CD40L etkileşiminin rolü vardır. SLE ve romatoid artritte periferik kan T lenfositleri veya romatoid artritte sinoviyal sıvıda T lenfositlerinde CD40'ın anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. Bu kanıtlardan CD40-CD40L etkileşiminin immün cevapta rol oynadığı anlaşılmaktadır. İBH'nın patogenezinde de rol oynayabileceği düşünülmüştür (24, 58). Biz de çalışmamızda hem periferik kan da hem de infiltre lenfositlerde CD40 ve CD40L (CD154) çalıştık. Flow sitometri ile değerlendirmemiz sonucunda periferik kanda **CD40**'lar ÜK ve kontrol grubu karşılaştırıldığında sırasıyla  $6,29 \pm 3,57$ ,  $12,73 \pm 5,16$  (**p=0,001**) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. İnfiltrate lenfositlerdeki CD40'lara baktığımızda ise ( $p=0,507$ ) istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır.

Polese ve ark. (72) bağırsak dokusunda CD40 ekspresyonunu immünhistokimyasal yöntemle çalışmışlardır. ÜK'de  $21 \pm 11$ , CH'da  $24 \pm 9$  ve spesifik olmayan inflamasyonda  $7 \pm 7$  ( $p=0,005$ ) oranında istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır.

Liu ve ark. (58) çalışmalarında bağırsak dokusundaki  $CD40^+$  hücreleri ÜK'de  $41,4 \pm 8,1$ , CH'da  $39,8 \pm 7,5$  ve normal kolonda  $6,1 \pm 2$  ( $p<0,000$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. CH ve ÜK arasında fark bulamamışlardır. CD40 ve CD40L'in immünhistokimya ve flow sitometri ile yapılan çalışmalarında İBH 'lığı olan hastalarda inflamasyonlu mukozada ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. CD40-CD40L etkileşimi İBH lezyonlarında makrofaj ve B hücrelerinin aktive olmasında ve sitokin üretiminde rol oynar. CD40-CD40L etkileşimi İBH immunopatogenezinde önemli proinflamatuvar mediatörler olan TNF ve IL-12'nin salınımını teşvik etmektedir. IL-12, TH1 cevabı ve hücresel immüniteyi başlatarak TH1 ve TH2 hücreleri arasındaki

dengede önemli rol oynamaktadır. TNF; B, T hücreleri ve granülositlerin aktivasyonunda ve ateş, insülin direnci, anemi ve sepsiste görev alan proinflamatuvar bir protein olarak tanımlanmıştır (24, 58). Anti TNF (57) ve anti IL-12 mAb verilerek bağırsak infeksiyonunun önlenebileceği gösterilmiştir (24, 58, 72).

Yaptığımız çalışmada infiltrate lenfositlerde **CD40L** ÜK, CH ve kontrol grubunda sırasıyla  $12,24 \pm 11,88$ ,  $29,82 \pm 30,74$ ,  $20,18 \pm 22,28$  (**p=0,240**) olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamsız fakat % olarak CH'da özellikle ÜK'e göre farklılık görülmektedir. CD40/CD40L CH'nın patogenezinde rol oynamaktadır (25). Battaglia ve ark. (7) bir çalışmalarında infiltrate lenfositlerdeki CD40L'ı, CH ve divertikülitte karşılaştırdıklarında CH'da arttığını görmüşlerdir .

CD16 NK hücrelerine baktığımızda ise infiltrate lenfositlerde ÜK'de kontrol grubuna göre bir azalma saptadık ( $13,94 \pm 15,92$ ,  $23,55 \pm 23,92$ ;  $p=0,251$ ). % olarak farklılık olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi. Senju ve ark. (82) bir çalışmalarında CD16'yı ÜK ve kontrol grubu karşılaştırdıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptamışlardır ( $p=0,01$ ).

Çalışmamızda periferik kan lenfositlerinde **CD19** ÜK ve kontrol grubunda karşılaştırıldığında sırasıyla  $5,12 \pm 3,94$ ,  $12 \pm 6,39$  (**p=0,001**) oranında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. CH'ları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında % olarak farklılık olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi (CH  $9,64 \pm 5,22$ ; kontrol  $12 \pm 6,39$ ). Neil ve ark. (65) yaptıkları bir çalışmada CH'nı kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında CD19 B hücrelerinde azalma olduğunu görmüşlerdir. Çalışmamızda infiltrate lenfositlerde CD19'lara baktığımızda istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır (CH  $9,45 \pm 11,84$ ; ÜK  $15,35 \pm 13,13$ ). Bernstein ve ark. (11) yaptıkları bir çalışmada CD19 ekspresyonunun ÜK'de (%30,8) kontrol grubuna göre (%41,3) azaldığını görmüşlerdir. Lee ve ark. (57) bağırsak mukozasındaki CD19'larda CH'da ÜK'e göre bir azalma görmüşlerdir. CD19'un CH'lığı ve ÜK arasındaki immünopatogenezdaki farklılığı açıkladığı sonucuna varmışlardır.

Lökosit adezyon molekülleri immün sistemin hücre-hücre etkileşiminde rol oynayan molekülleridir. Bu moleküllerin, dolaşımdaki lökositlerin inflamasyon bölgesine göç etmelerinde; lenfositlerin kan ve lenfoid dokular arasındaki sürekli dolaşımının sağlanmasında büyük önem taşıdıkları bilinmektedir (60). Adezyon molekülleri arasında bağırsakta lenfosit dolaşımının kontrolünü sağlayan  $\beta 2$  integrinler oldukça önemlidir. CD11a, bağırsağa lenfositlerin göçünde rol oynar (11). Bernstein ve

ark. (11) bir çalışmalarında infiltrate lenfositlerdeki CD11a'yı, ÜK'de %69,1 ( $p=0,068$ ), CH'da %73,9 ( $p=0,035$ ) olarak bulmuşlardır. CD11b  $\beta$ -2 integrin ailesinin bir üyesidir. Monosit, nötrofil ve NK hücrelerinden eksprese edilir (4). Bizim çalışmamızda CD11a'yı değerlendirdiğimizde istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır. CD11b, ÜK ve CH'da karşılaştırıldığında sırasıyla  $32,24 \pm 30,5$ ,  $61,73 \pm 31,92$  ( $p=0,016$ ) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

CD5 yüzey markerı taşıyan B hücreleri sağlıklı bireylerde dolaşan lenfosit popülasyonunun küçük bir bölümüdür. T hücre bağımsız humoral cevap, immünoregülasyon ve otoimmüniteden sorumludur (65). Yaptığımız çalışmada infiltrate lenfositlerde CD5, ÜK ve CH'da karşılaştırıldığında sırasıyla  $32,06 \pm 20,42$  ve  $11 \pm 12,27$  ( $p=0,001$ ), ÜK ve kontrol grubu karşılaştırıldığında sırasıyla  $32,06 \pm 20,42$  ve  $10,18 \pm 7,31$  ( $p=0,001$ ) bulunmuştur. Periferik kan lenfositlerine bakıldığında ise istatistiksel olarak anlamlılık bulunamamıştır.

Literatürden elde edilen bilgilerde B hücrelerinde bulunan CD5, CH'ları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür ( $p=0,01$ ). CD5<sup>+</sup> B hücreleri CH'da azalmaktadır ve İBH'da immünolojik disfonksiyonlar için önemli ipucudur (65).

Lee ve ark. (57) bir çalışmalarında infiltrate lenfositlerdeki HLA-DR'yi ÜK ve kontrol grubunda karşılaştırdıklarında anlamlı bir artış görmüşlerdir. Senju ve ark. (82) yaptıkları bir çalışmada lamina propria T lenfositlerinin aktive olarak yalnız İBH'da değil kontrol grubunda da HLA-DR ekspresyonunun artışına sebep olduğunu göstermişlerdir. Yaptığımız çalışmada infiltrate lenfositlerde HLA-DR, ÜK ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sırasıyla  $14,71 \pm 9,89$ ,  $4,82 \pm 4,73$  ( $p=0,004$ ) olarak bulunmuştur.

T hücre reseptör  $\gamma\delta$  (THR  $\gamma\delta$ ); epitelial büyüme faktörünün üretimi, çeşitli patojenlere karşı savunma, IgA üretimi gibi bağırsakta immün fonksiyonların düzenlenmesinde görev yapar (44). IFN- $\gamma$  gibi proinflamatuvar sitokin salgılamaktadır. THR  $\gamma\delta$ , bağırsak enfeksiyonu sırasında koruyucu bir role sahiptir. Lee ve ark. (57) yaptıkları bir çalışmada infiltrate lenfositlerdeki THR  $\gamma\delta$ 'nın CH'lığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğunu bildirmişlerdir ( $p<0,005$ ). CH'lığı ve ÜK karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bildirilmiştir ( $p<0,005$ ). Bizim çalışmamızda da CH'lığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sırasıyla  $8,09 \pm 6,77$ ,  $24,36 \pm 22,38$  ( $p=0,015$ ) istatistiksel olarak

anlamli bir azalma görülmüştür.  K ve kontrol grubunu kar ıla tırdı ımızda sırasıyla  $7,47 \pm 5,09$ ,  $24,36 \pm 22,38$  ( $p=0,005$ ) istatistiksel olarak anlamli bir azalma görülmüştür.  K ve CH'lı ını kar ıla tırdı ımızda ise istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmemiştir. Giacomelli ve ark. (40) bir çalışmalarında THR  $\gamma\delta$ 'nın periferik kan lenfositlerinde aktif hastalarda kontrol grubuna göre anlamli bir artış olduğunu görmüşlerdir ( $p<0,05$ ). Bizim  alı mamızda ise istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunamamıştır.

ASCA IgA/IgG immünfloresan yöntemle hazırlanarak floresan mikroskopta ve ELISA yöntemi ile çalışılmıştır. Karşılaştırma sonucunda (  F altın standart olarak kabul edildiğinde) immünfloresan yönteminin daha özgül ve duyarlı olduğu görülmüştür. ELISA ile ASCA IgA pozitif olarak saptandığında   F yönteminde bu olgunun (+) olma olasılığı pozitif kestirim değeri (ppv) %80 olarak bulunmuştur. ELISA ile ASCA IgA negatif olarak saptandığında   F yönteminde (-) olma olasılığı negatif kestirim değeri (npv) %85,3 olarak saptanmıştır. Her iki testinde ortak karara vardıkları (ikisinde + veya ikisinde -) vakaların tüm olgulara oranı doğru tanı koyma oranını (DTKO) göstermektedir. ELISA ile ASCA IgG pozitif olarak saptandığında   F yönteminde bu olgunun (+) olma olasılığı yani pozitif kestirim değeri (ppv) %71,4 olarak bulunmuştur. ELISA ile ASCA IgG negatif olarak saptandığında   F yönteminde (-) olma olasılığı negatif kestirim değeri yani (npv) % 84,4 olarak saptanmıştır. Her iki testinde ortak karara vardıkları (ikisinde + veya ikisinde -) vakaların tüm olgulara oranı doğru tanı koyma oranını (DTKO) göstermektedir. Imm nfloresan yöntemin ELISA'ya göre dezavantajı mikroskoba bakan kişinin deneyimli olması gerekmektedir.

Çalışmamızda periferik kanda **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>**  K, CH ve kontrol grubunda sırasıyla  $21,11 \pm 7,44$ ;  $11,09 \pm 7,99$ ;  $17,36 \pm 8,98$  ( $p=0,01$ ) istatistiksel olarak anlamli bulunmuştur. Becker ve ark. (9) bir çalışmalarında CH'lı ını kontrol grubu ile kar ıla tırdıklarında **CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>** 'lı ında artış görmüşlerdir.

**CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>**'e periferik kan lenfositlerinde baktığımızda  K, CH ve kontrol grubunda sırasıyla  $2,29 \pm 1,35$ ;  $3,36 \pm 2,5$ ;  $4,64 \pm 4$  ( $p=0,086$ ) istatistiksel olarak anlamli bulunmamıştır.

**CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>**'e infiltre lenfositlerde baktığımızda ise  K, CH ve kontrol grubunda sırasıyla  $5,23 \pm 3,05$ ;  $2,90 \pm 2,35$ ;  $2,90 \pm 2,38$  ( $p=0,039$ ) istatistiksel olarak anlamli bulunmuştur. İstatistiksel anlamlılığın  K ve CH'dan ( $p=0,042$ );  K ve kontrol grubundan ( $p=0,042$ ) kaynaklandığı görülmüştür.

ÜK'de B hücrelerinin rolü tam olarak açıklanamamıştır. ÜK hastalarının yaklaşık %70'inde c-ANCA bulunur ve bu hastaların lamina propriyasında T hücre aktivasyonunu karşı B hücre aktivasyonu artmıştır (11).

Bazı örneklerde serum p-ANCA'sının mukozal p-ANCA üretiminin yansıması olduğuna inanılırdı. Çalışmalar p-ANCA üretiminin kolonik mukozada yer aldığını göstermiştir. İntestinal sistemde mukozal antijenler p-ANCA'nın lokal üretimine yol açar (64, 96). Çalışmamızda infiltrate lenfositlerde otoimmüniteye eğilim gösteren CD5 ÜK'li hastalarda CH'lığı ve kontrole oranla artmış olarak bulunmuştur. Özellikle ÜK'li hastalarda daha spesifik olarak görülen p-ANCA İBH'da görülen mukozal inflamasyonun bir göstergesidir. Hem ÜK'de hem CH'lığında hastaların bağırsak dokularında IgG'nin fazla miktarda üretildiği görülmüştür. CH'da mukoza IgG1/IgG2 oranı kontrolle benzerlik gösterirken ÜK'de IgG1'in arttığı işaret edilmiştir. Bu tip hücrelerin artması ÜK'in antikor bağımlı otoimmüniteyle ilgili özellikleri olduğunu düşündürür (66). Yine otoimmüniteye yatkınlığı gösteren CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> infiltrate lenfositlerde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. İnfiltrate lenfositlerde CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>lığını ANCA'sı (+) olanlar ve ANCA'sı (-) olanlarla karşılaştırdığımızda ANCA'sı (+) olanlarda anlamlı bir yükselme olduğunu gördük (p=0,000).

CH ve ÜK'i ayırt edecek laboratuvar testi henüz yoktur. ÜK'de p-ANCA ve CH'da ASCA ümit vaat eden serolojik testlerdir (92). Bu testlerin yanı sıra hastaların hücresel immünitelerine de bakılırsa (CD5<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>) bu iki hastalığın laboratuvar testleriyle birbirinden ayırt edilmesi sağlanarak teşhise yardımcı olması sağlanabilir.

## KAYNAKLAR

1. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2001; **344**: 808-814.
2. Andoh A, Tsujikawa T, Inatomi O, Deguchi Y, Sasaki M, Obata H, Mitsuyama K, Fujiyama Y. Leukocytapheresis therapy modulates circulating T cell subsets in patients with ulcerative colitis. *Ther Apher* 2005; **9**: 270-276.
3. Arnott IDR, Satsangi J. Crohn's disease or Crohn's disease. *Gut* 2003; **52**: 460-461.
4. Arosa FA. CD8+CD28- T cells: Certainties and uncertainties of a prevalent human T-cell subset. *Immunol Cell Biol* 2002; **80**: 1-13.
5. Bamias G, Nyce MR, De La Rue SA, Cominelli F. New concept in the pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Ann Intern Med* 2005; **143**: 895-904.
6. Barta Z, Csipö I, Szabo GG, Szegedi G. Seroreactivity against *Saccharomyces cerevisiae* in patients with Crohn's disease and celiac disease. *World J Gastroenterol* 2003; **9**: 2308-2312.
7. Battaglia E, Biancone L, Resegotti A, Emanuelli G, Fronda GR, Camussi G. Expression of CD40 and its ligand, CD40L, in intestinal lesions of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 1999; **94**: 3279-3284.
8. Beaven SW, Abreu MT. Biomarkers in inflammatory bowel disease. *Curr Opinion Gastroenterol* 2004; **20**: 318-327.
9. Becker H, Knopp A, Doppl W, Linn T, Becker F, Klör HU, Federlin K. Increased activation of CD8-positive lymphocytes in patients with Crohn's disease. *Immun Infekt* 1993; **21**: 5-8
10. Bentley D, Lifschitz C, Lawson M. *Pediatric Gastroenterology and Clinical Nutrition*. London, UK: ReMedica; 2001.
11. Bernstein CN, Sargent M, Rector E. Alteration in expression of  $\beta 2$  integrins on lamina propria lymphocytes in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Immunol* 2002; **104**: 67-72.

12. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern F. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterol* 1976; **70**: 439-444.
13. Bing XIA, Crusius JBA, Meuwissen SGM, Pena AS. Inflammatory bowel disease: definition, epidemiology, etiologic aspects, and immunogenetic studies. *WJG* 1998; **4**: 446-458.
14. Blumberg RS, Strober W. Prospects for research in inflammatory bowel disease. *JAMA* 2001; **285**: 643-647.
15. Borgaonkar MR, Macintosh DG, Fardy JM. A meta-analysis of antimycobacterial therapy for Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2000; **95**: 725-729.
16. Bossuyt X. Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Chem* 2006; **52**:171-181.
17. Burakoff R. Indeterminate Colitis Clinical Spectrum of Disease. *J Clin Gastroenterol* 2004; **38**: 41-43.
18. Cambridge G, Rampton DS, Stevens TRJ, et al. Anti-neutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: Prevalence and diagnostic role. *Gut* 1992; **33**: 668-674.
19. Carroccio A, Vitale G, Di Prima L, Chifari N, Napoli S, La Russa C, et al. Comparison of anti-transglutaminase ELISAs and anti-endomysial antibody assay in a diagnosis of celiac disease: a prospective study. *Clin Chem* 2002; **48**: 1546-1550.
20. Chadran P, Satthaporn S, Robins A, Eremin O. Inflammatory bowel disease: dysfunction of GALT and gut bacterial flora (1). *Surg J R Coll Surg Edinb Irel* 2003; 63-75. Erişim 08.02.2006.  
  
[www.rcsed.ac.uk/journal/svoll\\_2/10200001.html](http://www.rcsed.ac.uk/journal/svoll_2/10200001.html)
21. Chron BB, Ginsberg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis, a pathological and clinical entry. *JAMA* 1932; **99**: 1323-1327.

22. Cosnes J, Beaugerie L, Carbonnel F, Gendre JP. Smoking cessation and the course of Crohn's disease: an intervention study. *Gastroenterol* 2001; **120**: 1093-1099.
23. Dalay AR. Gastroenterolog bakış açısından inflamatuvar bağırsak hastalıklarında cerrahi: ne zaman ve kime. *Klinik Aktüel Tıp Derg* 2006; **11**: 45-50.
24. Danese S, Sans M, Fiocchi C. The CD40/CD40L costimulatory pathway in inflammatory bowel disease. *Gut* 2004; **53**: 1035-1043.
25. Danese S, Sans M, Scaldaferri F, Sgambato A, Rutella S, Cittadini A, Pique JM, Panes J, Katz JA, Gasbarrini A, Fiocchi C. TNF-alpha blockade down-regulates the CD40/CD40L pathway in the mucosal microcirculation: A novel anti inflammatory mechanism of infliximab in Crohn's disease. *Immunol* 2006; **176**: 2617-2624.
26. D'Argenio G, Biancone L, Cosenza V, Della Valle N, D'Armiento FP, Boirivant M, et al. Transglutaminases in Crohn's disease. *Gut* 1995; **37**: 690-695.
27. D'Argenio G, Cicacci C, Sorrentini I, Iovino P, Gatto A, Cosenza V, Mazzacca G. Serum transglutaminase in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 1990; **12**: 400-404.
28. Delco F, Sonnenberg A. Military history of patients with inflammatory bowel disease: an epidemiological study among US veterans. *Am J Gastroenterol* 1998; **93**: 1457-1462.
29. Di Tola M, Sabbatella L, Anania MC, Viscido A, Caprilli R, Pica R. Anti – tissue transglutaminase antibodies in inflammatory bowel disease: new evidence. *Clin Chem Lab Med* 2004; **42**: 1092-1097.
30. Dohi T, Fujihashi K. Type 1 and 2 T helper cell-mediated colitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; **22**: 651-657.
31. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterol* 2001; **120**: 636-651.
32. Fielding JF. Inflammatory bowel disease. *BMJ* 1985; **290**: 47-48.

33. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterol* 1998; **115**: 182-205.
34. Folwaczny C, Glabs J, Török HP. Crohn's disease: an immunodeficiency. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; **15**: 621-626.
35. Folwaczny C, Noehl N, Endres SP, et al. Antinuclear and pancreatic autoantibodies in first-degree relatives of patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1998; **33**: 523-528.
36. Forbes A. Clinical presentation and diagnosis of Crohn's disease. İçinde Satsangi J and Sutherland LR ,editors. *Inflammatory Bowel Diseases*. ABD: Elsevier; 2003; pp. 183-198.
37. Forcione DG, Rosen MJ, Kisiel JB, Sands BE. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody (ASCA) positivity is associated with increased risk for early surgery in Crohn's disease. *Gut* 2004; **53**:1117-1122.
38. Geboes K. Crohn's disease, ulcerative colitis or indeterminate colitis-how important is it to differetiate. *Acta Gastrol-Enterologica* 2001; **64**: 197-200.
39. Geboes K, Hertogh G. Indeterminate colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2003; **9**: 324-331.
40. Giacomelli R, Parzanese I, Frieri O, Passacantando A, Pizzuto F, PimpoT, Cipriani P,Viscido A, Caprilli R, Tonietti G. Increase of circulating gamma delta T lymphocytes in the peripheral blood of patients affected by active inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 1994; **98**: 83-88.
41. Gibson PR, Iser J. Inflammatory bowel disease. *Aust Fam Physicia* 2005; **34**: 233-237.
42. Granito A, Zauli D, Muratori P, Grassi A, Bortolotti R, Petrolini N, Veronesi L, Gionchetti P, Bianchi FB, Volta U. Anti-Saccharomyces cerevisiae and perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in coeliac disease before and after gluten-free diet. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2005; **21**: 881-887.
43. Hanauer SB, Sandborn W. Management of Crohn's disease in adult. *Am J Gastroenterol* 2001; **96**: 635-643.

44. Hoffmann JC, Peters K, Henschke S, Herrmann B, Pfister K, Westermann J, Zeitz M. Role of T lymphocytes in rat 2, 4, 6-trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) induced colitis: increased mortality after  $\gamma\delta$  Tcell depletion and no effect of  $\alpha\beta$  Tcell depletion. *Gut* 2001; **48**: 489-495.
45. Irvine EJ, Farrokhyar F, Swarbrick ET. A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; **36**: 2-15.
46. Itoh J, Strong SA. Decreased Bax expression by mucosal T cells favours resistance to apoptosis in Crohn's disease. *Gut* 2001; **49**: 35-40.
47. Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M, Geboes K, Bossuyt X, Vandewalle P, Oberhuber G, Vogelsang H, Rutgeerts P, Colombel JF. The value of serologic markers in indeterminate colitis: A prospective follow-up study. *Gastroenterol* 2002; **122**: 1242-1247.
48. Joossens S, Vermeire S, Van Steen K, Godefridis G, Claessens G, Pierik M, Rutgeerts P. Pancreatic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; **10**: 771-777.
49. Jouault T, Lepage G, Bernigaud A, Trinel PA, Fradin C, Wieruszeski JM, Strecker G, Poulain D. Beta-1, 2 linked oligomannosides from *Candida albicans* act as signals for tumor necrosis factor alpha production. *Infect Immun* 1995; **63**: 2378-2381.
50. Kılıç ZM, Tunç B, Ayaz S, Filik L, Aktaş S, Parlak E, Ülker A. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies in inflammatory bowel disease. *Turk Gastroenterol* 2004; **15**: 238-242.
51. Kirsner JB. Historical origins of current IBD concept. *World J Gastroenterol* 2001; **7**: 175-184
52. Krishnan A, Joshua R. Inflammatory bowel disease and environmental influences. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; **31**: 21-39.
53. Konstantinos A, Papadakis MD.. Current theories on the causes of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; **28**: 283-296.

54. Koutroubakis IE, Vlachonikolis IG. Appendectomy and the development of ulcerative colitis: results of a meta-analysis of published case-control studies. *Am J Gastroenterol* 2000; **95**: 171-176.
55. Lakatos L. Immunology of inflammatory bowel disease. *Acta Physiologica Hungarica* 2000; **87**: 355-372.
56. Lawrance IC, Hall A, Leong R, Pearce C, Murray K. A comparative study of goblet cell and pancreatic exocrine autoantibodies combined with ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2005; **11**: 890-897.
57. Lee HB, Kim JH, Yim CY, Kim DG, Ahn DS. Differences in immunophenotyping of mucosal lymphocytes between ulcerative colitis and Crohn's disease. *Korean J Intern Med* 1997; **12**: 7-15.
58. Liu Z, Colpaert S, D'Haens GR, Kasran A, de Boer M, Rutgeerts P, Geboes K, Ceuppens JL. Hyperexpression of CD40 ligand (CD154) in inflammatory bowel disease and its contribution to pathogenic cytokine production. *J Immunol* 1999; **163**: 4049-4057.
59. Main J, Mc Kenzie H, Yeaman GR, et al. Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) in Crohn's disease. *Br Med J* 1988; **297**: 1105-1106.
60. Malizia G, Calabrese A, Cottone M, Raimondo M, Trejdosiewicz LK, Smart CJ, Olivia L, Pagliaro L. Expression of leukocyte adhesion molecules by mucosal mononuclear phagocytes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol* 1991; **100**: 150-159.
61. Marshall JK, Hilsden RJ. Environment and epidemiology of inflammatory bowel disease. İçinde Satsangi J and Sutherland LR ,editors. *Inflammatory Bowel Disease*. ABD: Elsevier; 2003. pp. 17-28.
62. Monteleone I, Vavassori P, Biancone L, Monteleone G, Pallone F. Immunoregulation in the gut: success and failures in human disease. *Gut* 2002; **50**: iii60-iii64.
63. Müller-Ladner U, Schölmerich J. Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease. *Eur J Clin Invest* 1999; **29**: 46-47.

64. Nakamura RM, Matsutani M, Barry M. Advances in clinical laboratory tests for inflammatory bowel disease. *Clinica Chimica Acta* 2003; **335**: 9-20.
65. Neil GA, Summers RW, Cheyne BA, Capenter C, Huang WL, Kansas GS, Waldschmidt TJ. CD5+ B cells are decreased in peripheral blood of patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1992; **37**: 1390-1395.
66. Pallone F, Monteleone G, Monteleone I, Biancone L. The immun system in inflammatory bowel disease. İçinde Satsangi J and Sutherland LR, editors. *Inflammatory Bowel Disease*. ABD: Elsevier; 2003. pp. 85-93.
67. Papadakis KA, Targan SR. Current theories on the causes of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; **28**: 283-296
68. .Peeters M, Joossens S, Vermeire S, Vlientick R, Bossuyt X. Rutgeerts P. Diagnostic value of anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001; **96**: 730-734.
69. Picarelli A, Di Tola M, Sabbatella L, Vetrano S, Anania MC, Spadora A, et al. Anti-tissue transglutaminase antibodies in arthritic patients: a disease specific event? *Clin Chem* 2003; **49**: 2091-2094.
70. Plevy S. The immunology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; **31**: 77-92.
71. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002; **347**: 417-429.
72. Polese L, Angriman I, Scarpa M, Norberto L, Sturniolo GC, Cecchetto A, Ruffolo C, D'Amico DF. Role of CD40 and B7 costimulators in inflammatory bowel diseases. *Acta Bio Medica* 2003; **74**: 65-70.
73. Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien, Charrier G, Targan SR, Colombel JF, 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.

74. Rogler G, Andus T, Aschenbrenner E, Vogl D, Falk W, Gross V. Alteration of the phenotype of colonic macrophages in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; **9**: 893-899.
75. Rump JA, Scholmerich J, Gross V, et al. A new type of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. *Immunobiol* 1990; **181**: 406-413.
76. Sandborn WJ. Nicotine therapy for ulcerative colitis: a review of rationale, mechanisms, pharmacology and clinical results. *Am J Gastroenterol* 1999; **94**: 1161-1171.
77. Sands BE. Therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol* 2000; **118**: 68-82.
78. Sartor SB. Intestinal microflora in human and experimental inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2001; **17**: 324-330.
79. Schuppan D, Hahn EG. MMPs in the gut inflammation hits the matrix. *Gut* 2000; **47**: 12-14.
80. Seibold P, Mörk H, Tanza S, Müller A, Holzhüter C, Weber P, Scheurlen M. Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease: a family study. *Gut* 1997; **40**: 481-484.
81. Sendid B, Colombel JF, Jacquinet PM, Faille C, Fruit J, Cortot A, Lucidarme D, Camus D, Poulain D. Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; **2**: 219-226.
82. Senju M, Wu KC, Mahida YR, Jewel DP. Two-color immunofluorescence and flow cytometric analysis of lamina propria lymphocyte subsets in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1991; **36**: 1453-1458.
83. Shi HN, Walker WA. T helper cell subclasses and clinical disease states. *Curr Opin Gastroenterol* 2002; **18**: 711-716.
84. Siegmund B, Zeitz M. Transglutaminases: new target molecules for inflammatory bowel disease. *Gut* 2005; **54**: 443-444.

85. Sjöberg K, Eriksson S, Tenngart B, Leffler H. Factor XIII and tissue transglutaminase antibodies in coeliac and inflammatory bowel disease. *Autoimmun* 2002; **35**: 357-364.
86. Spronk PE, Bootsma H, Horst G, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 1996; **35**: 625-631.
87. Stewenius J, Adnerhill I, Ekelund GR, et al. Operation in unselected patients with ulcerative colitis and indeterminate colitis: A long-term follow-up study. *Eur J Surg* 1996; **162**: 131-137.
88. Stronkhorst A, Tytgat GNJ, van Deventer SJH. Immunotherapeutical approaches to Crohn's disease in view of a possible pathogenic role of Mycobacterial antigens. Erişim 02.04.2005  
  
[alan.kennedy.name/crohns/research/immunmod/immuther.htm](http://alan.kennedy.name/crohns/research/immunmod/immuther.htm)
89. Suttan CL, Yang H, Li Z, Rotter JJ, Targan SR, Braun J. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease. *Gut* 2000; **46**: 58-63.
90. Tall AR. C-reactive protein reassessed. *N Engl J Med* 2004; **350**: 1450-1452.
91. Thompson NP, Montgomery SM, Pounder RE, Wakefield AJ. Is measles vaccination a risk factor for inflammatory bowel disease? *Lancet* 1995; **345**: 1071-1074.
92. Travis S, Jewell DP. Ulcerative colitis clinical presentation and diagnosis. İçinde Satsangi J and Sutherland LR, editors. *Inflammatory Bowel Disease*. ABD: Elsevier; 2003. pp. 169-81.
93. Trinel PA, Plancke Y, Gerold P, Jouault T, Delplace F, Schwarz RT, Strecker G, Poulain D. The Candida albicans phospholipomannan is a family of glycolipids presenting phosphoinositolmannosides with longer linear chains of beta -1, 2-linked mannose residues. *Biol Chem* 1999; **274**: 30520-30526.
94. Török HP, Folwaczny C. Pancreatic autoantibodies in Crohn's disease: a feasible diagnostic tool. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; **17**: 37-39.

95. Van Den Brande JM, Peppelenbosch MP, Van Deventer SJ. Treating Crohn's disease by inducing T lymphocyte apoptosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; **973**: 166-180.
96. Vasiliasauskas EA, Kam LY, Karp LC, Gaiennie J, Yang H, Targan SR. Marker antibody expression stratifies Crohn's disease into immunologically homogeneous subgroups with distinct clinical characteristics. *Gut* 2000; **47**: 487-496.
97. Vermeire S, Assche GV, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic or unnecessary toys. *Gut* 2006; **55**: 426-431.
98. Yuan YH, ten Hove T, Olle The F, Slors FM, van Deventer S, te Velde AA. Chemokine receptor CXCR3 expression in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2001; **7**: 281-286.
99. Wakefield AJ, Sawyerr AM, Hudson M, et al. Smoking, the oral contraceptive pill, and Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1991; **36**: 1147-1150
100. Walker-Smith JA. History of inflammatory bowel disease.İçinde Satsangi J and Sutherland LR, editors. *Inflammatory Bowel Disease*. ABD: Elsevier; 2003. pp. 3-8

## ETİK KURUL KARARI

### İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURUL TUTANAĞI

**Toplantı Tarihi:** 14.05.2003

**Toplantı Yeri :** Behçet Kütüphanesi Pembe Salonu

**Toplantı Sayısı:** 05

**Prot.No.Sayısı :**

Sorumlu araştırmacılığını Fakültemiz Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Selim BADUR'un üstlendiği Doktora Öğrencisi Pınar GÜZELAY'a ait "İnflamatuvar bağırsak hastalığının hücrel ve humoral immünite yönünden değerlendirilmesi" isimli (Crohn hastalığı ve ülseratif kolitte periferde ve dokuya infiltre olan lenfositlerin immunopatogeneze rolü ve otoantikor araştırması) tek merkezli araştırma kurumumuzda incelendi, etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Prof.Dr.Deniz **SARGIN**

Prof.Dr.Berrin **UMMAN**

Prof.Dr.Koray **ACARLI (Katılmadı)**

Prof.Dr.Aykan **CANBERK**

Prof.Dr.Beyhan **ÖMER**

Prof.Dr.Veli **UYSAL (Katılmadı)**

Prof.Dr.Nuran **YILDIRIM**

Prof.Dr.Mübeccel **DEMİRKOL**

Prof.Dr.Cahide **GÖKKUŞU**

Prof.Dr.Selim **BADUR**

Prof.Dr.Emin **DARENDELİLER**

Prof.Dr.Oğuzhan **ÇOBAN**

Prof.Dr.Kamil **PEMBECİ**

T.C  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ  
Yerel Etik Kurulu

Sayı : 360

Tarih: 12.06.2003

Sayın, Prof.Dr.Selim BADUR  
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji  
Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz Doktora Öğrencisi Pınar GÜZELAY'a ait "İnflamatuvar bağırsak hastalığının hücrel ve humoral immünite yönünden değerlendirilmesi" isimli (Crohn hastalığı ve ülseratif kolitte periferde ve dokuya infiltrate olan lenfositlerin immunopatogenezdeki rolü ve otoantikör araştırması) tek merkezli araştırma kurulumuzda incelendi, etik yönden bir sakınca taşımadığı görüldü, uygulamaya konulabileceğine karar verildi.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof.Dr.Deniz SARGIN  
İstanbul Tıp Fakültesi  
Etik Kurul Başkanı

Eki:Tutanak



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|                 |                                                            |                  |                               |
|-----------------|------------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------|
| <b>Adı</b>      | PINAR                                                      | <b>Soyadı</b>    | GÜZELAY                       |
| <b>Doğ.Yeri</b> | İSTANBUL                                                   | <b>Doğ.Tar.</b>  | 12/05/1970                    |
| <b>Uyruğu</b>   | T.C                                                        | <b>TC Kim No</b> | 37513663958                   |
| <b>Email</b>    | <a href="mailto:soguksup@yahoo.com">soguksup@yahoo.com</a> | <b>Tel</b>       | 4142000/32302<br>0505 3218801 |

### Eğitim Düzeyi

|                 | Mezun Olduğu Kurumun Adı                          | Mez. Yılı |
|-----------------|---------------------------------------------------|-----------|
| <b>Doktora</b>  |                                                   |           |
| <b>Yük.Lis.</b> | İ.Ü SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ<br>İMMÜNOLOJİ ABD. | 1996      |
| <b>Lisans</b>   | İ.Ü FEN FAK. BİYOLOJİ                             | 1991      |
| <b>Lise</b>     | BEYLERBEYİ LİSESİ                                 | 1987      |

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

|           | Görevi | Kurum                        | Süre (Yıl - Yıl) |
|-----------|--------|------------------------------|------------------|
| <b>1.</b> | BİOLOG | İ.Ü İ.T.F MİK.VE KLİ.MİK.ABD | 10               |
| <b>2.</b> | BİOLOG | İ.Ü İ.T.F MERKEZ ACİL LAB.   | 3                |
| <b>3.</b> |        |                              | -                |

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma* | KPDS/ÜD S Puanı | (Diğer) Puanı |
|-----------------|-------------------|----------|--------|-----------------|---------------|
| İngilizce       | iyi               | Zayıf    | Orta   | 57,5            |               |
|                 |                   |          |        |                 |               |

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

|                      | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel |
|----------------------|---------|--------------|-------|
| <b>LES Puanı</b>     |         |              |       |
| <b>(Diğer) Puanı</b> |         |              |       |

**Bilgisayar Bilgisi**

| <b>Program</b>        | <b>Kullanma becerisi</b> |
|-----------------------|--------------------------|
| Microsoft Office Word | iyi                      |
|                       |                          |
|                       |                          |

**Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**

**Özel İlgi Alanları (Hobileri):** Trekking, seyahat etmek