



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARINDA TLR 2
(rs111200466) ve TLR 9 (rs187084) GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

ROSELINE EKE EMELE

TEMMUZ 2022

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARINDA TLR 2
(rs111200466) ve TLR 9 (rs187084) GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

ROSELINE EKE EMELE

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Songül BUDAK DİLER

Temmuz 2022

Roseline EKE EMELE tarafından **Prof. Dr. Songül BUDAK DİLER** danışmanlığında hazırlanan “**İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında TLR 2 (rs111200466) ve TLR 9 (rs187084) Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoteknoloji** Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Fikriye POLAT, Kocaeli Üniversitesi

Üye: Prof. Dr. Songül BUDAK DİLER, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye: Doç. Dr. Bengü TÜRKYILMAZ ÜNAL, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından /.... /20. . . . tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun /.... /20. . . . tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

..... /..... /2022

Prof. Dr. Murat GÖKÇEK
MÜDÜR V.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Roseline EKE EMELE

ÖZET

İNFLAMATUVAR BARSAK HASTALIKLARINDA TLR 2 (rs111200466) ve TLR 9 (rs187084) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

EKE EMELE, Roseline
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Songül BUDAK DİLER

Temmuz 2022, 48 sayfa

İnflamatuvar bağırsak hastalıklarından (İBH), crohn hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK), bazı duyarlı genlerin ve çevresel faktörlerin birleşik etkileri sonucu oluşan hastalıklardır. Bu hastalıklarda, inflamasyonu düzenleyen genlerdeki polimorfizmler ile genetik kalıtımın bir kısmı açıklanabilmektedir. Toll benzeri reseptör (TLR) genleri, bazı çalışmalarda CH ve ÜK için duyarlılık genleri olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada, Türk popülasyonunda CH ile ÜK hastalarında, TLR 9 (T-1486C) ve TLR 2 (–196 to –174del) gen polimorfizmi genotip dağılımı ve alel frekanslarının polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 79 CH, 77 ÜK hasta ile 105 kontrolden alınan DNA örnekleri kullanılmış ve sonuçlar lojistik regresyon ile analiz edilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, TLR 9 (T-1486C) ile TLR 2 (–196 to –174del) gen polimorfizmi için CH, ÜK hastaları ile kontrol grubu arasında hem genotip dağılımları hem de alel frekansları açısından istatistiksel olarak önemli bulgulara rastlanmamıştır ($p>0.05$).

Anahtar Sözcükler: Crohn hastalığı, ülseratif kolit, Polimorfizm, PCR-RFLP, TLR2 (–196 to –174del), TLR 9 (T-1486C), Türk popülasyonu

SUMMARY

INVESTIGATION OF TLR 2 (rs111200466) ve TLR 9 (rs187084) GENE POLYMORPHISMS IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

EKE EMELE, Roseline

Nigde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biotechnology

Supervisor : Prof. Dr. Songül BUDAK DİLER

July 2022, 48 pages

In this thesis, Inflammatory bowel diseases (IBD); Crohn's disease (CD), and ulcerative colitis (UC) are diseases that result from the combined effects of some susceptible genes and environmental factors. These diseases can be influenced by some genes through genetic inheritance of which their regulation is explained by polymorphism in the genes that regulate inflammation. In some studies, Toll-like receptor (TLR) genes have been identified as susceptibility genes for CD and UC. In this study, it was aimed to determine the genotype distribution and allele frequencies of TLR 9 (T-1486C) and TLR 2 (-196 to -174del) gene polymorphisms in comparison to allele frequencies in CD and UC patients in the Turkish population using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) methods. DNA samples from 79 CD, 77 UC patients and 105 controls were used in the study and the results were analyzed by logistic regression. According to the results of our study, no statistically significant findings were found between the CD, UC patients and the control group in terms of both genotype distributions and allele frequencies for TLR 9 (T-1486C) and TLR 2 (-196 to -174del) gene polymorphisms in Turkish population ($p>0.05$).

Keywords: Crohn Disease, ulcerative Colitis, Polymorphism, PCR-RFLP, TLR 2 (-196 to -174del), TLR 9 (T-1486C), Turkish Population

ÖN SÖZ

Bu yüksek lisans tezinde, inflamatuvar (iltihaplı) barsak hastalıklarından olan, ülseratif kolit ve crohn hastalığında TLR 2 (–196 to –174del) ve TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmleri çalışılmıştır.

Özellikle her şey için Tanrı'ya büyük bir teşekkür etmeye borç bilirim.

Bu tez çalışmamın her aşamasında değerli bilgilerini ve görüşlerini esirgemeyen, araştırma konusunun belirlenmesi ve gerekli literatürlere ulaşmada önerileri ile bana yol gösteren, Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Songül BUDAK DİLER'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan Mohammed Abdalrahman AHMED SALİM ve istatistiksel analizin yapılmasında bilgilerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Fikriye POLAT Hocama candan teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bu noktaya gelmemde büyük emekleri olan babam Johnson Eke EMELE, annem Nnenna Eke EMELE ve Kardeşlerime teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
FOTOĞRAF VB. MALZEMELER DİZİNİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1 İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH)	4
2.1.1 Ülseratif kolit (ÜK).....	5
2.1.2 Crohn hastalığı (CH).....	6
2.1.3 İBH epidemiyolojisi.....	7
2.1.4 İBH etiyolojisi	8
2.1.4.1 Çevresel tetikleyiciler	8
2.1.4.2 Genetik faktörler	10
2.1.5 İBH ve olası tedaviler	10
2.1.6 İBH'nin klinik özellikleri	11
2.1.6.1 Barsak tezahürü	11
2.1.6.2 Ekstraintestinal özellikler	12
2.1.7 İBH tanısı	13
2.1.7.1 Hematolojik testler.....	14
2.1.7.2 Endoskopik değerlendirme	14
2.1.7.3 Radyolojik çalışmalar	14
2.1.8 İBH tedavisi	15
2.1.8.1 ÜK tıbbi yönetimi	15
2.1.8.2 CH tıbbi yönetimi	15
2.2 Toll Benzeri Reseptörler	16
2.2.1 Barsakta TLR ifadesi	17

2.2.2 TLR sinyal yolları.....	20
2.3 İBH ve TLR ile ilişkisi	21
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT.....	23
3.1 Materyal	23
3.1.1 Hastalar	23
3.1.2 Primerler	23
3.1.3 Kimyasallar.....	24
3.1.4 Restriksiyon endonükleazlar.....	24
3.1.5 Standart tamponlar ve içerikleri.....	24
3.2 Yöntemler	25
3.2.1 DNA izolasyonu	25
3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu	25
3.2.3 Restriksiyon endonükleaz analizi	27
3.2.4 Agaroj jel elektroforezi	28
3.3 İstatistiksel Analizler	29
BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1 CH’de, TLR 9 (T-1486C) ve TLR2 (-196 to -174 del) Gen Polimorfizmleri	30
4.2 ÜK Hastalarında TLR 9 (T-1486C) ve TLR2 (-196 to -174 del) Gen Polimorfizmleri.....	32
BÖLÜM V SONUÇLAR.....	39
KAYNAKLAR	41
ÖZ GEÇMİŞ	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan PCR primer dizileri ve enzim	23
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan RFLP enzimi ve tampon çözeltisi.....	24
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan tampon ve içerikleri	25
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan PCR solüsyonu ve amplifikasyon protokolü	26
Çizelge 4.1. CH ile kontrol grubunun demografik özellikleri	30
Çizelge 4.2. CH ile kontrol grubunda, TLR 9 (T-1486C) genotip ve allel frekansları...	31
Çizelge 4.3. CH ile kontrol grubunda, TLR 2 (-196 to -174 del) genotip ve allel frekansları	32
Çizelge 4.4. ÜK hastaları ile kontrol grubunun demografik özellikleri	33
Çizelge 4.5. ÜK hastaları ile kontrol grubunda TLR 9 (T-1486C) genotip ve allel frekansları	34
Çizelge 4.6. ÜK hastaları ile kontrol grubunda TLR 2 (-196 to -174 del) genotip ve allel frekansı	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Ülseratif kolit hastalığı	5
Şekil 2.2. Crohn hastalığı.....	6
Şekil 2.3. Toll Benzeri reseptör sinyal yolağı.....	20



FOTOĞRAF VB. MALZEMELER DİZİNİ

Fotoğraf 3.1. PCR yöntemi ile çoğaltılan TLR 2 (–196 to –174del) geni % 2’lik jel görüntüsü.....	27
Fotoğraf 3.2. PCR yöntemi ile çoğaltılan TLR 9 (T-1486C) geni % 2’lik jel görüntüsü	27
Fotoğraf 3.3. RFLP yönteminde Afl II enzimi ile kesilen TLR 9 (T-1486C)geni bantları.....	28
Fotoğraf 3.4. PCR yöntemi TLR 2 (–196 to –174 del) geni % 3’lük jel bant görüntüsü	28
Fotoğraf 3.5. PCR yöntemi TLR 2 (–196 to –174 del) geni % 3’lük jel bant görüntüsü	28

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Simgeler	Açıklama
μ	Mikro
μl	Mikrolitre
mM	Milimolar
M	Molar
ml	Mililitre
g	Gram
dk	Dakika
sn	Saniye
V	Volt
cm	Santimetre
°C	Santigrat
%	Yüzde

Kısaltmalar

Kısaltmalar	Açıklama
ASCA	Anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Antikorları (Anti- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Antibodies)
BEH	Barsak Epitel Hücrelerinde (Intestinal Epithelial Cells IECs)
CH	Crohn Hastalığı (Crohn Disease)
GIT	Gastrointestinal Sistem (Gastrointestinal Tract)
İBH	İnflamatuvar (iltihaplı) Barsak Hastalıklar
İBS	İrritable (huzursuz) Barsak Sendromunu
İK	İndetermine Kolit (Indetermine Colitis)
PPR	Patojen Tanıma Reseptörleri (Pathogen Pattern Receptors)
PSC	Primer Sklerozan Kolanjit (Primary Sclerosing Cholangitis)
P-ANCA	Anti-Nötrofilik Sitoplazmik Antikoru (Perinuclear Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies)
PCR	Polimeraz Zincir Reksiyonu (Polimerase Chain Reaction)
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism)

SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single-Nucleotide Polymorphism)
TLR	Toll Benzeri Reseptörler (Toll Like Receptors)
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü- α (Tumor Necrosis Factor- α)
ÜK	Ülseratif Kolit (Ulcerative Colitis)
WGO	Dünya Gastroenteroloji Örgütü (World Gastroenterology Organization)



BÖLÜM I

GİRİŞ

İnflamatuvar (iltihaplı) barsak hastalıkları (İBH) temelde crohn hastalığı (CH) ve ülseratif kolit (ÜK) olup, bu her iki hastalığın arasında yer alan indetermine kolit (İK) gastrointestinal kanalın çeşitli bölge ve katmanlarını tutan önemli hastalıklardır (Fakhoury vd., 2014). Bu hastalıklar, deneysel olarak tanımlanmış gastrointestinal sistemin kronik inflamatuvar bozukluğu olup, klinik, patolojik, endoskopik ve radyolojik özellikleri belirlenmiştir (Brandl vd., 2010). İBH, özellikle Avrupa ile Asya popülasyonunda son on yılda küresel olarak muazzam bir şekilde artış göstermiş ve bu artışın günümüzde hala devam ettiği rapor edilmiştir (Ge vd., 2015; Kikut vd., 2018).

İBH'den olan CH, sindirim sistemi epitelini boyunca, barsak epitelinin herhangi bir bölgesinde tedavi edilebilir iltihaplanmaya neden olan bir hastalıktır. CH'de klinik bulgular, daha çok hastalığın lokalizasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte, ishal, karın ağrısı, ateş, subileus atakları ve rektal kanama en sık görülen semptomlar olarak saptanmıştır. Hastalık, anamnez (hasta öyküsü) ve fizik muayene ile endoskopik, radyolojik ve biyokimyasal bulguların bir arada değerlendirilmesi sonucu teşhis edilmektedir (Ünal, 2012). CH'nin etiyolojisinde, enfeksiyöz ajanlar, çeşitli enterik bakteriler, virüsler, klamidyalara, mikobakteriler ve diyet faktörlerinin yer aldığı saptanmıştır (Guagnozzi vd., 2004; Li vd., 2004).

İBH'nin diğer çeşidi olan ÜK ise, barsak epitelinin bir kısmında ve temel olarak sindirim sisteminin kolonunda uzun süreli iltihaplanmaya neden olan bir hastalıktır (Fakhoury vd., 2014). Bu hastalık, kolonda mukozal inflamasyona yol açan, kalın barsağın tutulan anatomik bölgesine göre (proktit, distal kolit, sol kolon koliti, yaygın kolit, pankolit) sınıflandırılan, etyolojisi net olarak bilinmeyen, fakat çevresel ve genetik faktörlerin katkısı olduğu düşünülen, genellikle gelişmiş ülkelerde görülen kronik iltihabi bir hastalıktır (Üzerk ve Çetinkaya, 2009).

İBH prevalansını, gastro enterit, diyet (gıda bileşenleri), bazı ilaçlar, sigara içme alışkanlığı ve alkol bağımlılığı gibi çevresel bileşenler ile genetik bileşenlerin etkilediği

ileri sürülmüştür. Bazı araştırmalar, doymuş yağ ve rafine şeker alımının bağırsak mikro ortamını değiştirdiğini ve İBH geliştirme riskini artırdığını göstermektedir (Ge vd., 2015).

ÜK ve CH'nin en önemli ortak özelliğinin genetik yatkınlık olduğu ve bu hastalıkların uzun sürmesinin ise hastalarda kanser riskini arttırdığı saptanmıştır (Kurzawski vd., 2004; Sjöqvist vd., 2004). Her iki hastalığın hem belirti ve bulgularının hem de seyirlerinin birbirlerine çok benzediği tespit edilmiştir (Erdman vd., 2009; Seril vd., 2007). Bu hastalıklar, bağırsak dışı organlarda oluşturdıkları komplikasyonlar ve malignite potansiyelleri nedeniyle, önemli kolon ve rektum hastalıkları grubuna dahil edilmiştir (Li vd., 2004). İBH'nin patogeneğinde en geçerli hipotez, genetik yatkınlık altında çeşitli faktörlerin (mikrobiyal antijen, otoantijen ve sigara gibi) etkisi ile gastrointestinal sistemde oluşan anormal inflamatuvar yanıtı olarak ifade edilmiştir. İmmün sistemin oluşturduğu korumaya yönelik olan bu inflamatuvar yanıtın, baskılanma ile kontrol edildiği, fakat genetik olarak yatkın kişilerde bu inflamasyonun baskılanmadığı için barsakta harabiyet gerçekleştiği gösterilmiştir (Podolsky, 2002). CH ve ÜK hastalarının periferik kan hücrelerinde bulunan yüzey antijenlerinin ekspresyonu sonucu elde edilen verilere göre, bu iki hastalık arasında önemli farklılıklar olduğu ileri sürülmüştür (Alkim vd., 2007; Scott vd., 1986). Ayrıca otoimmün hipoteze göre de bu hastaların barsak epitelinde eksprese olan otoantijenlerin immün sistemi tetikleyen farklı mekanizmalara neden olduğu rapor edilmiştir (Snook, 1990). Özellikle batı dünyasında, nüfusun büyük çoğunluğunu etkileyen ve genellikle genç erişkinlerde görülen bu hastalıklara olan genetik yatkınlık, 16. kromozomdaki NOD2/CARD15 geninde bulunan mutasyonların belirlenmesiyle ortaya çıkarılmıştır (Hugot vd., 1996). Yine bu hastalıkların etiyolojisinde, coğrafi ve etnik faktörlerin de önemli olduğu gösterilmiştir (Cavanaugh, 2006; Karban vd., 2005; Tukel vd., 2004).

İBH, insanlarda genellikle genç yetişkinlik evresinde görülmekte ve etkilenen bireylerin çoğu tedavi edilse bile, daha sonra bu bireylerde hastalığın ilerleyerek tekrar ettiği ve böylece de kronik hastalığa dönüştüğü belirlenmiştir (Brandl vd., 2010). Ayrıca CH'den etkilenen bireylerin herhangi bir yaşta klinik eğilime sahip oldukları rapor edilmiştir (Steppa vd., 2017). Son yıllarda hayvan modeli çalışmalarında, barsakta bol miktarda bulunan barsak yabancı antijen yüküne karşı, bağışıklığın baskılanmadığı ve bu durumun da iltihaplanmaya neden olduğu gösterilmiştir (Brandl vd., 2010). Bu hastalığın prevalansının zaman içinde artış gösterdiği, dengesiz bir inflamatuvar tepki ile

karakterize olduğu, barsak bakterilerine veya diğeryabancı biyolojik materyallere karşı otoimmün yanıtındaki sapmanın bir ürünü olarak ortaya çıkan otoimmün bir hastalık olduğu ifade edilmiştir (Bank vd., 2014; Cheng vd., 2015; Kikut vd., 2018). İBH’de yapılan genetik polimorfizm çalışmaları ile bireysel varyasyonların yani genetik farklılıkların bu hastalığın oluşumuna önemli katkıda bulunabileceğı de rapor edilmiştir. İBH’li bireylerdeki genetik farklılıkların belirlenmesi için yapılan gen polimorfizmi çalışmalarında, insanlarda bazı genlerde bulunan alellerin genetik yatkınlık oluşturualeller ile bağlantılı olabileceğı ve bu genlerden birinin de Toll benzeri Reseptör (Toll-like receptor; TLR) genlerinde görülen polimorfizmler olduğu ileri sürülmüştür (Cheng vd., 2015).

TLR, insanlarda doğuştan gelen bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan monositler, makrofajlar ve dendritik hücrelerde bulunan bir grup transmembran proteini oluşturan genler olarak rapor edilmiştir (Esposito vd., 2012). TLR'lerin genellikle antijen taşıyan hücreler tarafından ifade edildiğı ve barsaktaki kommensal bakteriler ile mukozal bağışıklık sistemi arasındaki dengenin korunmasında çok önemli düzenleyiciler oldukları belirlenmiştir (Cheng vd., 2015). Ayrıca, insanda barsaktaki iltihaplanma yollarının araçları olarak da, üstün rolleri olduğu saptanmıştır (Sameer ve Nissar, 2021). TLR gen ürünlerinin ligandlarına farklı şekilde tepki verme yeteneğinin, TLR genlerinde oluşan tek nükleotid polimorfizmlerinden (single-nucleotide polymorphism; SNP) kaynaklandığı ifade edilmiş ve bu genlerde oluşan genetik varyasyonlar, hastalıklara duyarlılıkla ilişkilendirilmiştir. SNP, genomdaki belirli bir lokasyondaki bir DNA'nın tek bir nükleotidindeki bir fark olarak tanımlanmıştır. SNP'ler, bir pürin-pürin (adenin→guanin), pirimidin-pirimidin (sitozin→timin) geçişi veya bir pürin pirimidin karşılıklı (guanin↔sitozin, adenin↔timin) değişimi olarak bilinen mutasyonlar olup, bu genlerdeki bilinen değişikliklerin en yaygın türü olarak rapor edilmiştir (Trejo-De La O vd., 2014).

Bu tez çalışmasında, klinik özellikleri ve epidemiyolojileri birbirine çok benzeyen CH ve ÜK hastalarında, TLR 9 (T-1486C) ve TLR 2 (–196 to –174del) gen polimorfizmlerinin, bu hastalıklar bakımından ayırt edici bir faktör olup olmadığı PCR-RFLP yöntemi ile Türk popülasyonunda incelenmiştir.

BÖLÜM II

KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH)

İBH'den olan CD ve ÜK tüm gelişmiş dünyada yaygın olarak bulunan, çocukların ve yetişkinlerin gastrointestinal hastalığın önemli nedenleri olarak kabul edilmiş hastalıklardır (Bischoff vd., 2020; Hendrickson vd., 2002). İBH, Birleşik Devletler, Birleşik Krallık ve İskandinavya gibi dünyanın bazı bölgelerde diğerlerine göre daha yaygın olmasına rağmen, genellikle dünya çapında görülen, insidansı yılda 4 ila 10/100.000 kişi ve prevalansı 40 ila 100/100.000 kişi arasında değişen bir hastalık olarak rapor edilmiştir. Bu hastalık, genellikle insan yaşamının üçüncü ve dördüncü dekatları arasında teşhis edilen, erkekler ile kadınlar arasında hiçbir fark göstermeyen yaygın bir hastalıktır. Yapılan bir araştırmada İBH'li tüm hastaların yaklaşık %20'sinde çocukluk döneminde semptomlar geliştiği ve bunların yaklaşık %5'inde hastalığın 10 yaşından önce teşhis edildiği belirlenmiştir. Burada etkilenen çocukların yaklaşık %25'inde ailede İBH öyküsü saptanmıştır. Bununla birlikte, normal çocuklar ve İBH'li çocuklar arasında cinsiyet, emzirme, formül intoleransı, önceki gastrointestinal hastalık veya duygusal stresler açısından herhangi bir fark kaydedilmemiştir (Hendrickson vd., 2002).

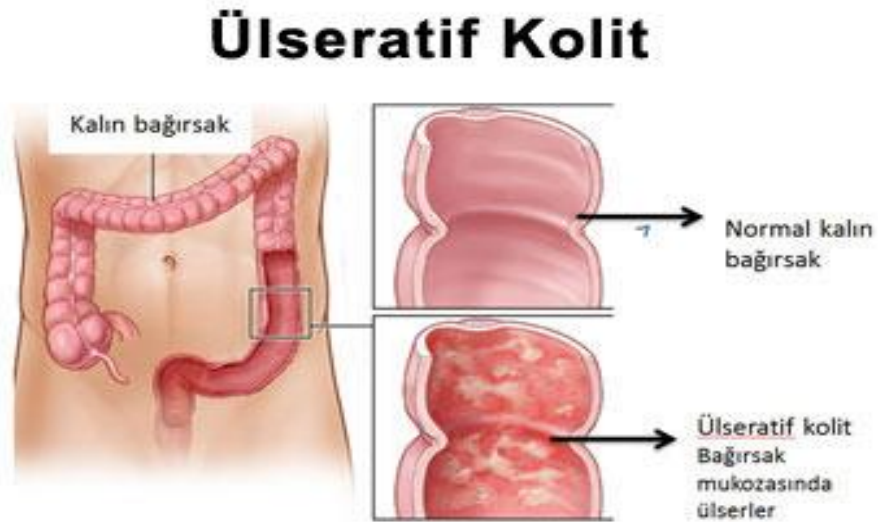
ÜK ve CH özellikle klinik, patolojik, endoskopik ve radyolojik yöntemlerle ampirik olarak tanımlanmış gastrointestinal sistemin kronik inflamatuvar bozuklukları olup, bu hastalıklarda sıklıkla malnütrisyon (beslenmede bozukluk, beslenmenin düzgün olmaması) görüldüğü ve bu durumun CH'de oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir. İBH'li hastaların malnütrisyon açısından yüksek riskli bir popülasyon oluşturması nedeniyle, hastalıkta yapılacak daha sonraki değerlendirme ve yönetim bakımında malnütrisyon taraması önerilmiştir (Bischoff vd., 2020). İBH'de, hem doğuştan gelen hem de adaptif bağışıklık sistemlerinin önemli olduğu ve hastalığın konak bağışıklığına bağlı olduğu ve ayrıca düzensiz bir inflamatuvar yanıt ile karakterize olduğu da saptanmıştır (Bank vd., 2014; Brandl vd., 2010).

İBH'de, transkripsiyon faktörü NFkB'nin, inflamasyonun merkezi bir düzenleyicisi olduğu ve TNFA, TNFAIP3, TLR2, TLR9, CD14, NFKBIA, NFKB1, IL1B, IL1RN, IL6,

IL10, IL17A ve IFNG dahil olmak üzere 150'den fazla genin ekspresyonunu düzenlediği belirlenmiştir. NFkB'nin, patojenler tarafından yaygın olarak paylaşılan ancak bakteri veya viral DNA, flagellin veya lipopolisakarit (LPS) gibi konakçı moleküllerden ayırt edilebilen molekülleri tanıyan TLR'ler tarafından aktive edildiği tespit edilmiştir (Bank vd., 2014). CH ve ÜK inflamatuvar değişikliklerin yeri ve doğası bakımından farklılık gösterse de, bu hastalıklar benzer semptomlar içerdiği için bir İBH formunun diğerine göre teşhisinin genellikle çok zor olduğu rapor edilmiştir (Fakhoury vd., 2014).

2.1.1 Ülseratif kolit (ÜK)

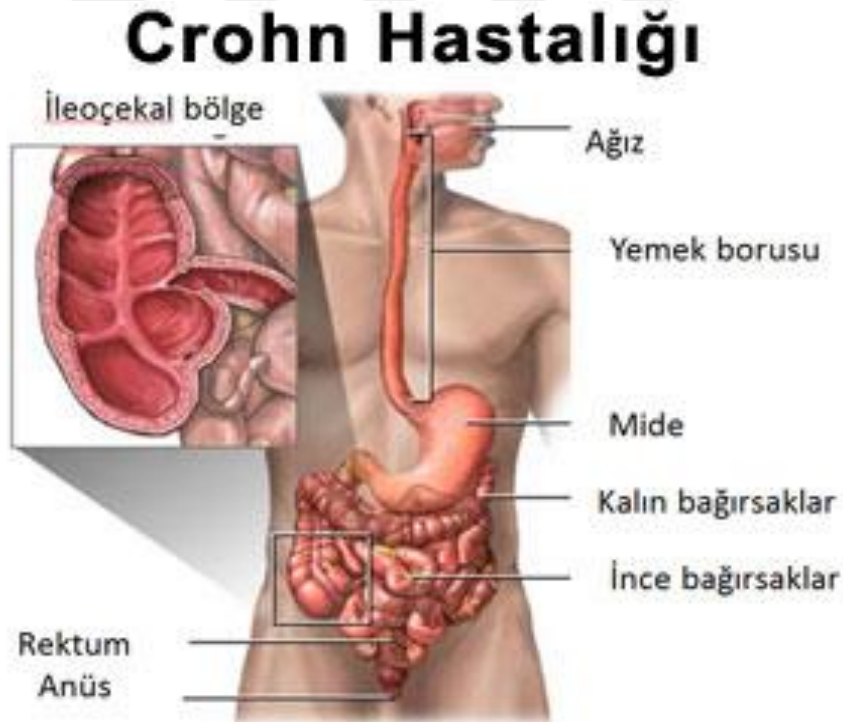
ÜK, kalın barsağa lokalize inflamasyon ile karakterize olup, mikroskopik düzeyde barsağın epitel tabakasıyla sınırlı bir hastalıktır (Fakhoury vd., 2014) (Şekil 2.1.). ÜK'de, inflamatuvar yanıt ile morfolojik değişikliklerin kolonla sınırlı kaldığı ve hastaların %95'inde rektumun, değişken derecelerde proksimal uzanım ile tutulum gösterdiği saptanmıştır. Hastalarda inflamasyon, öncelikle mukoza ile sınırlı olup, kolon boyunca ülserasyon, ödem ve kanama ile değişen şiddette sürekli tutulum belirlenmiştir (Hendrickson vd., 2002).



Şekil 2.1. Ülseratif kolit hastalığı (URL-1, 2022)

2.1.2 Crohn hastalığı (CH)

CH iltihabı, gastrointestinal sistemin herhangi bir bölümünü etkileyebilen ve mikroskopik düzeyde tüm barsak duvarını tutan bir İBH formudur (Şekil 2.2). CH prevalansı ileri düzeyde sanayileşmiş ülkelerde nispeten daha yüksek olup, insidansı 100.000 kişide beştir ve prevalansının batı ülkelerinde 100.000 kişide 30-50 olduğu tahmin edilmektedir (Fakhoury vd., 2014). CH’de, ÜK’nın aksine, orofarenksten perianal alana kadar gastrointestinal sistemin herhangi bir bölümünü tutabildiği ve hastalıklı segmentlerin sıklıkla normal barsağın araya girmesiyle ayrıldığı “atlama alan” formları oluşturduğu belirlenmiştir. İnflamasyonun transmural (bir organın veya boşluğun tüm duvarını etkileyen) olabildiği ve sıklıkla serozaya kadar uzanarak, sinüs yolları veya fistül oluşumu ile sonuçlandığı gösterilmiştir. En yaygın yerleşimin ileoçekal bölgede olduğu ve bunu tek başına terminal ileum, yaygın ince barsak veya azalan sıklık sırasına göre izole kolonik hastalığın izlediği saptanmıştır (Hendrickson vd., 2002).



Şekil 2.2. Crohn hastalığı (URL-2, 2022)

2.1.3 İBH epidemiyolojisi

Spesifik olmayan İBH'nin tam olarak açıklanamayan bir etiyolojiye sahip olduğu ileri sürülmektedir. Asya'da yapılan son karşılaştırmalı nüfus çalışmasında, İBH insidansının Asya'da 100.000 kişide 0.54 ila 3.44 arasında değiştiği gösterilmiştir. Avustralya'da yaş standardında (WHO World Standard Population) İBH, CH ve ÜK insidans oranı sırasıyla 25.2, 16.5 ve 7.6 / 100.000/yıl olarak belirlenmiştir. 2010 yılında yayınlanan Avustralya'daki nüfusa dayalı bir İBH çalışmasında, yıllık insidans oranları literatürde tanımlanan en yüksek oranlar arasında bulunmuştur (yılda 100.000'de 23.5-36.7). Japonya'da 2009'da yayınlanan çalışmada, ÜK 64/100.000 insidansı ve CH 21/100.000 insidansı ile bu hastalıkların prevalansı hakkında veri sağlanmıştır. Nüfus araştırmalarına göre, Avrupa'da CH ve ÜK insidansının %0,3 civarında olduğu ve hastaların 1/4'ünde hastalık belirtilerinin sürekli olarak ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Kikut vd., 2018).

Dünya Gastroenteroloji Örgütü'ne (DGÖ) göre, İBH'nin ortaya çıkışının şehirlerde kırsal alanlara göre daha yüksek olduğu ve en yüksek insidansın yaşamın üçüncü on yılında gerçekleştiği gösterilmiştir. Yapılan bu araştırmaya göre İBH'nin, esas olarak yetişkin popülasyonları etkilediği, fakat giderek daha genç hastalarda da ortaya çıktığı saptanmıştır. DGÖ, ayrıca yetişkin popülasyonda CH'nin kadınlarda daha sık görüldüğünü, çocuklarda ise tam tersi bir korelasyonun gözlemlendiğini bildirmiştir. Karakteristik semptomlar arasında, sindirim sistemi bozuklukları, ishal, karın ağrısı, anal kanama ile birlikte, eklemler, gözler veya cilt bozuklukları gibi parenteral semptomlar bildirilmiştir. Son olarak CH'nin tüm sindirim sistemini kaplarken, ÜK'nin genellikle kolon mukozasıyla sınırlı kaldığı da gösterilmiştir (Kikut vd., 2018).

Kuzey Amerika'da İBH prevalansının yüksek olduğu bölgelerde, insidansın 1960'lar ve 1980'ler arasında arttığı görülmüştür. Özellikle Amerika Birleşik Devletleri'nde, tahminen bir milyon kişinin İBH geçirdiği ve her yıl yaklaşık 30.000 yeni vakanın rapor edildiği bildirilmiştir. İBH'nin her yaşta ortaya çıkabildiği, fakat bu hastalığın başlangıç yaşının genellikle 15-30 yaşlarında görüldüğü ve vakaların yaklaşık %10'unun 18 yaşındaki bireylerden oluştuğu rapor edilmiştir. Hem ÜK hem de CH'nin, 50 ila 70 yaşındaki bireylerde meydana gelen ikinci, daha küçük bir tepe noktası ile iki modlu bir yaş dağılımına sahip olduğu saptanmıştır. ÜK erkeklerde biraz daha sık görülürken, CH kadınlarda marjinal olarak daha sık olarak belirlenmiştir (kadın-erkek oranı aralığı, 1:1

ila 1.8:1). Ayrıca her iki hastalığın da daha yüksek sosyoekonomik gruplarda ortaya çıkma eğilimi gösterdiği rapor edilmiştir. İBH'nin etnik ve ırksal gruplar arasındaki dağılımı, dinamikliğini korumakla birlikte, geçtiğimiz yıllarda, İBH'nin etnik veya ırksal azınlık gruplarında beyazlara kıyasla siyahlarda daha az sıklıkla meydana geldiği, bu durumun Afrikalı Amerikalılarda ve gelişmiş ülkelere göç eden ikinci nesil Güney Asyalılarda artan bir insidansa dönüştüğü düşünülmektedir (Hanauer, 2006).

2.1.4 İBH etiyojisi

Yapılan araştırmalara göre, İBH'nin ortaya çıktıktan sonra yaklaşık bir yüzyıl boyunca salgın haline gelmesinin birincil nedeninin gen veya diğer faktörlerden ziyade çevresel faktörler olabileceği yönünde kanıtlar elde edilmiştir. Bu durumu açıklamak için ikizlerde, ailelerde veya aynı etnik gruplarda yapılan araştırmalarda artan İBH riskinin, yalnızca gen değil, aynı zamanda diyet türü gibi çevresel faktörlere de bağlanabilir olduğu gösterilmiştir. Yapılan araştırmalar göre, sakarin, gelişmiş ülkelerde ofiste çalışan beyaz yakalıları tarafından sıklıkla kullanılan ve aynı zamanda gelişmekte olan ülkelere ucuzluğu nedeniyle daha düşük sınıftaki insanlar tarafından da aşırı derecede tüketilen bir ürün olduğu için geçen yüzyılda İBH'nin ortaya çıkması ve salgınına dönüşmesine büyük ölçüde katkıda bulunan temel nedensel faktör olarak öne sürülmüştür (Qin, 2012).

İBH'de tek bir ailede birden fazla etkilenen üyenin olması, bu hastalığa yüksek genetik yatkınlık durumunu düşündürmektedir. Buna karşılık, İBH vakalarının çoğunluğunu oluşturan sporadik hastalığın, benzersiz bir çevresel tetikleyici tarafından veya enterik bağışıklık sistemi içindeki daha ince bir anormallik tarafından meydana getirilmesi durumu daha olası kabul edilmektedir. İBH ile ilgili mevcut etiyojistik teorilerin, çoğunlukla çevresel tetikleyicilere, genetik faktörlere, bağışıklık düzenleyici kusurlara ve mikrobiyal maruz kalmaya odaklandığı rapor edilmiştir (Hanauer, 2006).

2.1.4.1 Çevresel tetikleyiciler

Batılılaşma; İBH, Amerika Birleşik Devletleri, Birleşik Krallık ve İskandinavya dahil olmak üzere gelişmiş bölgelerde yaygın bir şekilde görülmektedir. Yirminci yüzyılda sanayileşmiş ülkelere, İBH vakalarındaki çarpıcı artışın nedeni olarak, çevresel faktörlerin hastalık gelişimine katkıda bulunduğu teorisini desteklemektedir. Bu durum aynı

zamanda, kırsal alanlara kıyasla, kentsel topluluklarda, kuzeyden güneye değişimi ve daha yüksek sıklığı da açıklamaktadır. Son yıllarda, güney ülkeleri, Asya ve birinci dünya ülkelerindeki göçmenler arasında insidanstaki artışların nedeni, beslenme, sigara içme ve güneş ışığına maruz kalma, kirlilik ve endüstriyel kimyasallara maruz kalmadaki farklılıklar gibi yaşam tarzının “batılılaşmasının” bir sonucu olduğu varsayılmıştır (Hanauer, 2006).

Sanitasyon ve enfeksiyona maruz kalma; İBH bir temizlik hastalığı olup, astım, multipl skleroz ve romatoid artrit hastalıklarında olduğu gibi, sanitasyon (hijyen için gerekli olan koşulların sağlanması ve korunması) derecesi ile ters ilişkili olduğu ve kötü sanitasyonun İBH'ye karşı koruma sağladığı rapor edilmiştir (Hanauer, 2006).

Meslek; Hem ÜK hem de CH'nin, mavi yakalı mesleklere kıyasla beyaz yakalılarda daha yaygın görüldüğü kaydedilmiştir. İBH'de yüksek ölüm oranı, tipik olarak yerleşik ve iç mekan çalışmalarını yürüten, yönetim, büro ve satış pozisyonlarındaki kişilerde saptanmıştır. Buna karşılık, çiftçiler ve inşaat işçileri arasında İBH'den kaynaklanan ölüm oranı daha düşük bulunmuştur (Hanauer, 2006).

Diyet; İBH'de diyet ile ilişkili çalışmalar genellikle sonuçsuz bulunmuş olmakla birlikte daha yüksek yağ asidi alımının İBH riskini artırdığına dair bazı kanıtlar rapor edilmiştir. Benzer şekilde, sık fast-food alımının İBH için 3 ila 4 kat daha fazla risk oluşturduğu da öne sürülmüştür (Hanauer, 2006).

Tütün içmek; İBH için en güçlü çevresel risk faktörü ve özellikle sigara tüketicileri arasında tütün içimi olarak saptanmıştır. İBH ve sigara arasındaki ilişki karmaşıktır ve hem ÜK hem de CH için benzersiz patofizyolojik faktörleri düşündürmektedir. Bu alanda yapılan çok sayıda vaka kontrol çalışması, mevcut sigara içmenin ÜK'ye karşı koruyucu olduğunu göstermiş (göreceli risk, sigara içmeyenlerin %40'ı) ve sonuçlar çeşitli coğrafi bölgelerde tutarlı bulunmuştur. Sigara içenlerde ÜK riskinin azalmasının doza bağımlı olduğu ve günümüzde halen sigara içmenin sklerozan kolanjit ile poşite karşı koruyucu olduğu da ileri sürülmüştür. Paradoksal olarak, eski sigara içenlerin ÜK geliştirme olasılığı hiç sigara içmeyenlere göre yaklaşık 1,7 kat daha fazla bulunmuştur. Ayrıca sigarayı bırakmış olanların halen sigara içenlere göre daha sık hastaneye yattıkları ve daha kötü bir hastalık seyrine sahip oldukları rapor edilmiştir. Yine bu grupta, şu anda sigara

içenlerin, hiç sigara içmemiş olanlara göre kolektomiye ihtiyaç duyma olasılıkları iki kat daha fazla bulunmuştur (Hanauer, 2006).

ÜK'nin aksine, sigara içimi CH gelişimi için önemli bir risk faktörü olarak tespit edilmiştir (RR, 1.15–3.9). CH'li sigara içenlerin, sigara içmeyenlere göre daha kötü bir hastalık seyrine sahip olduğu, daha yüksek hastalık nüksü, daha sık cerrahi müdahaleler ve immünosupresif ajana daha fazla ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir. Sigara içmenin artan CH geliştirme riski ile ilişkili olmadığı İsrail'de yaşayan Yahudi hastalarda yapılan bir çalışmada bir istisna olarak görülmüştür. İlginç bir şekilde, sigara içmenin bu grubu ÜK'ye karşı korumaya devam ettiğini ve bu da bilim insanlarını genetik faktörlerin çevresel etkileri geçersiz kılabileceğini yönünde düşündürmeye sevk etmiştir (Hanauer, 2006).

2.1.4.2 Genetik faktörler

Epidemiyolojik ve aile çalışmaları, İBH'ye yatkınlıkta genetik faktörlerin rol oynadığını göstermiştir. Ancak hastalık genetik olarak karmaşıktır ve tek başına tek bir gen modeliyle de açıklanamamaktadır. ÜK ve CH'nin duyarlılık lokuslarının hepsini olmasa da bazılarını paylaşan heterojen poligenik bozukluklar olabileceği düşünülmektedir. Büyük olasılıkla, hastalık fenotipi, bir dizi lokustaki alellik varyantlar arasındaki etkileşimin yanı sıra genetik ve çevresel etkilerin de dahil olduğu çeşitli faktörler tarafından belirlenen kanıtlar öne sürülmektedir. Sonuç olarak, mutasyona uğramış bir genin varlığının, İBH'nin gelişeceğini garanti etmediğini veya onu kimin geliştireceğini tahmin edemeyeceğimizi ve bu durumda hastalığı hızlandırmada kofaktörlerin de önemli olduğunu göstermiştir (Hanauer, 2006).

2.1.5 İBH ve olası tedaviler

İBH, sindirim sisteminde uzun süreli iltihaplanmaya neden olan bir grup barsak bozukluğu için bir şemsiye terim olarak ifade edilmiştir. İBH'nin gelişimi veya tekrarlama üzerinde genel olarak barsak bakteri popülasyonunun çok etkisi olduğu ileri sürülmüştür. Günümüzde İBH'nin tedavisi, terapötik sistemlere ağır bir yük getirebilecek anti-inflamatuvar ilaçlar, immün modülatör maddeler ve cerrahi kullanımına dayanmaktadır. Bazı araştırmacılar, bağırsak bakteri florası olmayan hayvan

modellerinde, İBH gibi inflamatuvar hastalıkların yayılmadığını göstermişlerdir. Fakat barsak mikrobiyotasının probiyotiklerle değiştirildiği birkaç çalışmada, İBH'nin iyileşebileceği ya da yüksek konsantrasyonda probiyotik verilmesi durumunda, bu hastaların bağırsaklarında aşırı inflamasyonun olabileceği saptanmıştır (Damoogh vd., 2021).

2.1.6 İBH'nin klinik özellikleri

ÜK ve CH hem barsak hem de barsak dışı belirtilerle ilişkili bulunmuş ve bunların barsak semptomlarından önce ya da bunlarla birlikte gelişebileceği gösterilmiştir. ÜK ve CH klinik görünümünde birtakım benzerliklere sahipken, karakteristik özellikleri aşağıda vurgulanmıştır (Hendrickson vd., 2002).

2.1.6.1 Barsak tezahürü

ÜK'nın en tutarlı özelliğinin, barsak hareketlerinin geçişi sırasında en yoğun olan alt karın kramplarının eşlik ettiği dışkı ile karışık kan ve mukus varlığı rapor edilmiştir. ÜK, genellikle semptomların başlangıcından hemen sonra teşhis edilirken, CH daha geç teşhis edilebilmektedir. Hastaların dışkısında brüt kan bulunması, bu kişilerin bir gastrointestinal problemle karşı karşıya olduğu ve karın ağrısının yeri, kolon tutulumunun derecesine bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte, ağrı distal hastalıkta sol alt kadranda, pankolitide ise tüm batına yayılmış şekilde görülmektedir. Pediyatrik hastalarda, pankolonik tutulum sıklığı fazla olmakla birlikte, hastalığın zaman içinde proksimale yayıldığı belirlenmiştir. Çocuklarda, yetişkin hastalara kıyasla daha yüksek kolektomi riski görüldüğü için bu hastalarda abdominal distansiyon, defans, barsak seslerinde azalma, palpasyona karşı rebound hassasiyeti ve toksik megakolon gelişme riski nedeniyle yakın gözetim yapılmalıdır (Hendrickson vd., 2002).

ÜK'nın aksine, genellikle CH'de sunumun belirsiz olması tanıda gecikmeye neden olmakta ve gastrointestinal semptomlar, barsak tutulumunun yeri, yaygınlığı, ciddiyetine bağlı olarak, ileokolonik tutulumu olan hastalarda karın ağrısı, tokluk ve özellikle çocuklarda periumblikal bölgeye sevki görülmektedir. Yaygın ince bağırsak hastalığının, karın ağrısı, iştahsızlık, ishal, kilo kaybı ve laktoz emilim bozukluğuna neden olduğu belirlenmiştir. Kolonik CH, ÜK'yı taklit edebilmekte ve genellikle dışkılama ile

rahatlayan kramplı alt karın ağrısı ile ilişkili kan ve mukuslu diyare ile kendini göstermektedir. Anal etiketler, derin anal fissürler ve fistüller gibi perianal hastalık şeklinde yaygın görülmektedir. Artan karın krampları, şişkinlik ve kusma, inflamatuvar sürecin kısmi veya tam tıkanıklık ile lokalize darlığa ilerlemesinin belirtileri gösterilmiştir (Hendrickson vd., 2002).

2.1.6.2 Ekstraintestinal özellikler

Başvuru anında İBH'li hastaların %40'ında ateş görülmekle birlikte, ateş, genellikle düşük dereceli ve kronik olarak tanımlanmaktadır (Hendrickson vd., 2002).

Kilo kaybı, hem yetişkinlerde hem de çocuklarda İBH'nin bir özelliği olup, özellikle çocuklarda kilo kaybı veya normal büyüme hızının sürdürülememesi İBH'nin en yaygın sistemik özelliğidir ve bu durum ÜK'ye göre CH'de daha sık gözlenmektedir. Büyüme geriliği ve gecikmiş cinsel olgunlaşma bazen çocuklarda CH'nin ilk göstergesi olarak gösterilmiştir. Gecikmiş büyümenin CH'de (%60 ila %88), ÜK'den (%6 ila %12) daha yaygın olduğu ve sıklıkla prepubertal çocuklarda görüldüğü bulunmuştur. Büyüme gecikmesinin, kronik kortikosteroid kullanımının bir sonucu olarak da ortaya çıkabileceği saptanmıştır. Gecikmiş cinsel olgunlaşma veya cinsel olgunlaşmanın durması, büyüme geriliği ile eş zamanlı olarak ortaya çıkabilmektedir (Hendrickson vd., 2002).

İBH'de artralji ve artrit sıklıkla meydana gelerek, bu durum bazen İBH'nin bağırsak belirtilerinden önce görülmekte ve genellikle hastalık aktivitesi ile örtüşürdüğü ve altta yatan bağırsak iltihabının tıbbi tedavisi ile düzeldiği saptanmıştır (Hendrickson vd., 2002).

Oral aftoid ülserlerin genellikle İBH ile ortaya çıktığı ve bu ülserlerin, bazen zayıflatıcı ağrıya neden olsalar da genellikle minimal rahatsızlığa neden oldukları saptanmıştır. Bunlar hastalık aktivitesine paralel olma eğiliminde olup, tedavi altta yatan hastalığa yönelik yapılmaktadır. Oküler komplikasyonların, İBH'nin kendisinden veya kronik kortikosteroid tedavisinden kaynaklandığı saptanmıştır. Tedavi pupilla dilatasyonu, ağrı ve fotofobiyi azaltmak için gözün kapatılması gibi lokal veya sistemik kortikosteroidlerin uygulanmasından oluşur. Ancak uzun süreli kortikosteroid kullanımının arka subkapsüler katarakt sıklığını ve göz içi basıncını arttırdığı tespit edilmiştir (Hendrickson vd., 2002).

Primer sklerozan kolanjit (PSC), fibrozan inflamasyon ve safra kanallarının obliterasyonu ile karakterize kronik kolestatik bir karaciğer hastalığı olup, bu hastalığın genellikle ÜK ile birlikte görüldüğü belirlenmiştir. Bu hastaların bazen İBH'de bağırsak semptomlarının gelişmesinden önce kaşıntı ve PSC ile başvurduğu gözlenmiştir. PSC'nin seyrinin altta yatan bağırsak hastalığı ile ilgisiz olduğu ve kolektomiden sonra ilerleyebildiği saptanmıştır (Hendrickson vd., 2002).

Bazı hastalarda, İBH ile ilişkili olduğu öne sürülen otoimmün hepatitin de görüldüğü belgelenmiştir. Bu hastalarda tanı, karaciğer biyopsisi sonrasında konur ve tedavi kortikosteroidler ve immünosupresif ilaçlarla yapılmaktadır (Hendrickson vd., 2002).

Nefrolitiazis, ağırlıklı olarak ÜK'de ürik asit taşı ve CH'de oksalat taşı olarak ortaya çıkan, uzun süreli yatak istirahati veya kortikosteroid tedavisinden kaynaklanan hiperkalsiüri risk faktörleri gibi görünen bir hastalıktır. Bu hastalarda sekonder amiloidoz oldukça nadir görülmekle birlikte CH'de varlığı bildirilmiştir. Ayrıca CH'de inflamatuvar kitleler veya enteroveziküler fistüller tarafından üreteral kompresyona bağlı olarak obstrüktif komplikasyonların da ortaya çıkabildiği tespit edilmiştir. Osteopeni (düşük kemik kütlesi) hem İBH başlangıcında hem de uzun süreli kortikosteroid kullanımının bir komplikasyonu olarak ortaya çıkabilen bir semtom olarak belirlenmiştir (Hendrickson vd., 2002).

2.1.7 İBH tanı

İBH'yi taklit edebilen patojenler arasında *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Yersinia*, *Escherichia coli* O157:H7, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *Histoplasma*, *Mycobacterium tuberculosis* ve *Entamoeba histolytica* bulunmuştur. İBH'li hastalarda, başlangıçta bu enfeksiyonların görülebildiği ve bu semptomlar karşı yapılan tedavinin etkili olmadığı ve daha sonra bu semptomların tekrarladığı rapor edilmiştir. Bu durumda enterik enfeksiyonlar dışlanarak, hastalık tanısında daha fazla çalışma başlatılmalı ve aşağıda verilen testler yapılmalıdır (Hendrickson vd., 2002).

2.1.7.1 Hematolojik testler

İBH için tarama testlerinde, tam kan sayımı, inflamatuvar belirteçler ve karaciğer enzimlerini içeren bir metabolik profil öngörülmektedir. CH'li pediatrik hastalarının yaklaşık %90'ında sedimantasyon hızı, C-reaktif protein ve serum orosomukoid seviyesi gibi akut faz reaktanlarının yükseldiği, ancak ÜK'de bu semptomların daha az görüldüğü saptanmıştır. Günümüzde perinükleer anti-nötrofilik sitoplazmik antikor (P-ANCA) ve anti-Saccharomyces cerevisiae antikor (ASCA) gibi yeni serolojik testler, İBH tanısını desteklemek veya ÜK'yi CH'den ayırmak için kullanılmaktadır. ASCA, CH'li çocukların %44-54'ünde, ÜK'li çocukların %89-%97'sinde, P-ANCA ise ÜK'li çocukların %66-83'ünde, CH'li çocukların ise %14-19'unda saptanmıştır (Hendrickson vd., 2002).

2.1.7.2 Endoskopik değerlendirme

İBH tanısında, tanıyı koymak için biyopsilerle endoskopik inceleme yapılmakta ve çoğu durumda histolojik inceleme ile ÜK ve CH kesin olarak ayırt edilebilmektedir. Ancak bazı kolit vakalarının özellikle atipik olabildiği ve bu durumun belirsiz kolit teşhisine yol açabildiği saptanmıştır (Hendrickson vd., 2002).

2.1.7.3 Radyolojik çalışmalar

Radyolojik değerlendirmeler genellikle CH'li hastalar için ince barsak ansları ve terminal ileumun tutulumunu ince bağırsak takip X-ray muayenesi yoluyla değerlendirmek için ayrılmıştır. Enterokliz (boyanın ince bağırsağa doğrudan damlatılması), hastanın rahatsızlığı nedeniyle ve jejunal tüp yerleştirilmesini gerektirdiği için nadiren yapılan ve standart röntgen muayenelerinde ince bağırsak anslarının yeterli şekilde görüntülenmesinin mümkün olmadığı durumlarda kullanılan yöntem olarak ifade edilmiştir (Hendrickson vd., 2002).

2.1.8 İBH tedavisi

2.1.8.1 ÜK tıbbi yönetimi

ÜK'lı hafif hastaların tedavisinde oral sülfasalazin tek başına veya topikal ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Günümüzde daha yeni 5-aminosalisilik asit ilaçları (mesalamin, olsalazin ve balsalazid) yan etkilerden dolayı sülfasalazin'i tolere edemeyen hastalarda faydalı görülmüştür. Bu hastalarda mesalamin ve steroid lavmanları, mesalamin fitilleri kullanılırken, kortikosteroid köpüğü dahil topikal preparatların ise sınırlı distal kolon hastalığı olan hastalarda semptomları azaltabildiği saptanmıştır (Hendrickson vd., 2002).

Orta ila şiddetli ÜK hastalığında, belirgin karın krampları, kanlı ishal, karın hassasiyeti, anemi ve hipoalbüminemisi olan hastaların yakın klinik gözlem ve intravenöz ilaçlar (kortikosteroidler), sıvılar ve beslenme için hastaneye yatırılması gerektiği rapor edilmiştir. Tedavide hastaların kan sayımları ve kimyaları yakından izlenmeli, karın krampları ve hematokezya azalıncaya kadar intravenöz steroid tedavisine devam edilmelidir. Başlangıçta yüksek lifli, yüksek kalıntılı ve baharatlı yiyeceklerden kaçınmayı içeren diyet kısıtlamaları uygun görülmüştür (Hendrickson vd., 2002).

2.1.8.2 CH tıbbi yönetimi

Günümüzde CH için tıbbi tedavi yaklaşımı, hastalık semptomlarının ciddiyetine, bağırsak tutulumunun derecesine ve yerine göre kişiselleştirilerek yapılması hedeflenmiştir. Bu amaçlar doğrultusunda, kortikosteroidler (1 mg/kg/gün) çoğu hastada hastalık aktivitesini azaltmada ve remisyona sağlamada etkili bulunmuştur. Ancak istenmeyen yan etkiler (kozmetik etkiler, çocuklarda lineer büyümenin baskılanması ve osteopeni) nedeniyle uzun süreli kortikosteroid kullanımı önerilmemekle birlikte günümüzde kortikosteroidlerin remisyona sürdürülmesi için etkili olduğu kanıtlanmamıştır (Hendrickson vd., 2002).

CH'li hastalarda sülfasalazin ve mesalamin, hafif ila orta dereceli hastalığı tedavi etmek ve kortikosteroidlerin neden olduğu remisyona sürdürmek için kullanılmakla birlikte, metronidazol ve siprofloksasin gibi antibiyotiklerin özellikle perianal hastalığı ve

enfeksiyöz komplikasyonları olan hastalarda, hafif ila orta dereceli hastalığın tedavisinde faydalı olduğu kanıtlanmıştır (Hendrickson vd., 2002)).

2.2 Toll Benzeri Reseptörler

Toll genlerinin, sitoplazmik ve ekstrasellüler bölgeden oluşan bir transmembran protein yapısında olan Toll benzeri reseptörleri (Toll-like receptors, TLR) kodlayan genler olduğu rapor edilmiştir. Bu genler, ilk defa 1985'te Nobel ödüllü Christiane Nüsslein-Volhard, Eric Weischaus ve arkadaşları tarafından meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) embriyosunda tanımlanmış ve mantar enfeksiyonlarına karşı immün cevapta önemli rol oynadığı saptanmıştır (Güven ve Murat, 2012).

Canlılarda evrim sırasında gelişen, tüm hayvan ve bitki sınıflarında var olan, doğal immünite patojenlerinin tanınması için TLR ailesinin kullanıldığı kaydedilmiştir (Kundakci ve Pirat, 2012). TLR'lerin, mikroplara karşı savunma sisteminin ilk hattını oluşturan önemli bir reseptör ailesi olduğu da yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Bu reseptörler hem istilacı patojenleri hem de ölmekte olan hücrelerden ve hasarlı dokulardan salınan endojen tehlike moleküllerini tanıyabilen, doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklığın bağlanması anahtar rol oynayan, bağışıklık sisteminde ve diğer vücut hücrelerinde geniş bir şekilde dağılım gösteren proteinler olarak rapor edilmişlerdir (El-Zayat vd., 2019).

TLR'lerin sitoplazmik bölgesi, IL-1 reseptörü ile yüksek derecede benzerlik gösterdiği için bu bölge Toll/IL-1 reseptör (TIR) bölgesi olarak adlandırılmıştır. Reseptörlerin ekstrasellüler bölgesinde her biri 24-29 amino asit içeren, lösinden zengin tekrar (LZT; LRR) motifleri bulunmuştur. Bu LZT bölgelerinin farklı patojenlerin tanınmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir. İnsanlarda TLR ailesinin tanımlanmış 10 üyesi (TLR1-10) mevcut olup, bunlardan TLR 1, 2, 4, 5, 6, 10 tiplerinin hücre yüzeyinde, TLR 3, 7, 8, 9'un ise sitoplazmada özellikle endozomlarda bulunduğu belirlenmiştir. Doğal immün sistem hücrelerinde bulunan TLR'lerin "patojenle ilişkili moleküler patternler (PAMP)" adı verilen bölgeleri tanıyan endojen veya eksojen ligandlar tarafından uyarıldığı ve aktivasyonları sonucu patojenlere karşı konakçı cevabı ve otoimmün yanıt oluşturdıkları saptanmıştır (Güven ve Murat, 2012; Lu vd., 2018).

TLR'lerin kanser, diyabet, ateroskleroz, renal hastalıklar, gastrointestinal hastalıklar, respiratuvar hastalıklar, santral sinir sistemi hastalıkları ve otoimmün hastalıklar gibi geniş bir hastalık grubuyla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Lu vd., 2018).

Yapılan araştırmalarda, TLR ligandlarına uygun şekilde yanıt verme yeteneği, TLR genleri içindeki SNP'ler tarafından bozulabildiği ve bu genlerdeki genetik varyasyonların hastalıklara duyarlılıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir. TLR geninde, fizyolojik anlamı olan mutasyonu gösteren ilk rapor, C3H/HeJ fare suşunda tespit edilen TLR4 proteininde amino asit (a.a) 712'de bir prolin-histidin değişimi olarak saptanmıştır. Son yıllarda insan TLR (TLR1-10) genlerinde farklı SNP'ler rapor edilmiş ve bu raporlarda SNP'lerin çeşitli insan hastalıkları üzerinde işlevsel bir etkisi ve tıbbi önemi olduğu ileri sürülmüştür (Trejo-De La O vd., 2014).

2.2.1 Barsakta TLR ifadesi

Vücut ve dış çevre arasındaki en büyük arayüze sahip olan bağırsak bağışıklık sistemi, patojenik ve patojenik olmayan mikroorganizmalar arasındaki en küçük moleküler farkı ayırt edecek şekilde gelişmiş bir sistemdir. Gastrointestinal sistemde (GIT), “düşman” çoğalmadan, hatta zararsız bakteriler tehlikeli olanlara dönüşmeden önce, herhangi bir zararlı tehdide karşı hızla tepki verme kapasitesi geliştiği gösterilmiştir. Bu nedenle GIT ve bağışıklık sistemi, homeostazi ve organizmanın optimal sağlığını garanti etmek için bakteri, maya, bakteriyofajlar ve bağırsak epitelisi arasında var olan hassas dengenin korunmasına katkıda bulunan sistemler olarak görülmüştür (Hug vd., 2018).

İstilacı bir patojenin neden olduğu bağışıklık reaksiyonu, aynı zamanda konakçı organizma için zararlı aşırı reaksiyonlar geliştirmeden uygun şekilde ele alınması ileri sürülmüştür (Hug vd., 2018). Bu nedenle, patojeni algılayan hücrelerin tanıdığı ilk sinyaller en önemli olanlar olarak belirlenmiştir. Potansiyel olarak patojenik bakteriler ile bağırsak bağışıklık hücrelerinin zarında ve ayrıca bağırsak epitelinin hücresel zarında bulunan TLR'ler arasında erken bir etkileşim noktası olduğu saptanmıştır. Bazı durumlarda, bağışıklık sisteminin aşırı uyarılmasını sınırlamada rolü olan TLR'lerin çözünür formlarının da mevcut olduğu kaydedilmiştir (Hug vd., 2018).

TLR'lerin, bağırsak homeostazını koruyan veya inflamatuvar hastalıklara katkıda bulunan transmembran proteinler olduğu belirlenmiştir. Günümüzde mevcut bilgi durumu dahilinde, TLR'lerin ve sinyal moleküllerinin, istilacı patojenlerin neden olduğu bağırsak inflamatuvar süreçlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (Wong vd., 2015).

Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin, konakçıya saldıran patojenlere karşı ilk savunma hattını oluşturduğu kanıtlanmıştır. Doğuştan gelen birkaç bağışıklık reseptörünün (patojen tanıma reseptörleri; PPR), ssRNA, CpG DNA veya lipoproteinler gibi patojenlerdeki (patojenle ilişkili moleküler modeller; PAMM) geniş bir moleküler bileşen repertuarını tanıdığı saptanmıştır. Günümüzde derinlemesine karakterize edilen PPR ailesi, TLR'ler ailesi olarak adlandırılmıştır. İnsanlarda 10 tane TLR tanımlanmış ve bunlardan bir kaçı plazma zarında (TLR1, 2, 4, 5, 6) diğerleri de endozomlarda (TLR3, 7, 8, 9) bulunmuştur. Bazı TLR'lerin homodimerize olduğu, diğerlerinin ise heterodimerler oluşturduğu belirlenmiştir (ör. TLR1 veya TLR6 ile TLR2). TLR10 farelerde eksprese edilmez ve insanlarda TLR2'nin immün hücrelerdeki aktivitesinde inhibitör bir role sahip olduğu görülmüştür. TLR'lerin, PAMM'lere ek olarak, hücre veya doku hasarından türetilen konakçı-ligandları, sözde hasarla ilişkili moleküler modelleri (DAMM veya alarminler) tanıyabildiği bulunmuştur. Bazı örneklerin, serum amiloid A—SAA-, yüksek mobilite grubu kutusu 1 -HMGB-1-, endojen nükleik asitler, sitriline fibrinojen veya hyaluronan fragmanlarını içerdiği tespit edilmiştir. Bazı durumlarda, TLR2, TLR4 ve TLR5 tarafından tanınabilen hyaluronan ve HMGB-1 durumunda olduğu gibi HİMM'lerin birkaç TLR ile (ayrıca kombinasyon halinde) bağlanabildiği saptanmıştır. Bu şekilde, aynı DAMM'nin, bir yaralanma ve hücre tipine özgü bir şekilde farklı tipte doğuştan gelen bağışıklık tepkilerini harekete geçirebildiği de gözlenmiştir. Bu tepkinin ayrıca DAMM'ın özellikleri ve kimyasal modifikasyonları (örneğin, hyaluronanın asetilasyonu ve moleküler ağırlık varyasyonları veya HMGB-1'in translasyon sonrası modifikasyonları) tarafından da yönlendirildiği kanıtlanmıştır (Santos-Sierra, 2021).

TLR'ler, farklı bir bölümlendirme nedeniyle reseptörleri ile etkileşime giremedikleri için fizyolojik koşullarda inert olarak kabul edilmişlerdir. Fizyolojik koşulların aksine patolojik durumlarda, endojen ligandlar hücreler tarafından pasif ve aktif olarak salınarak, spesifik TLR'ler (özellikle TLR2 ve TLR4) ile etkileşime girerek dokudaki inflamatuvar yanıtı düzenleyebilen mekanizma olarak belirlenmiştir (Hug vd., 2018).

TLR ekspresyonunun, immün sürveyanstaki rolleriyle tutarlı olarak, akciğer ve GIT gibi dış ortamlara maruz kalan dokularda, spesifik hücre tipleri için benzersiz paternlerle yükseldiği gösterilmiştir. Memelilerde 13 farklı TLR tanımlanmıştır (insan: TLR1-11; fare: TLR 1-9, TLR 11-13) ve bunların insanlarla fareler arasında birkaç fonksiyonel farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir (Hug vd., 2018).

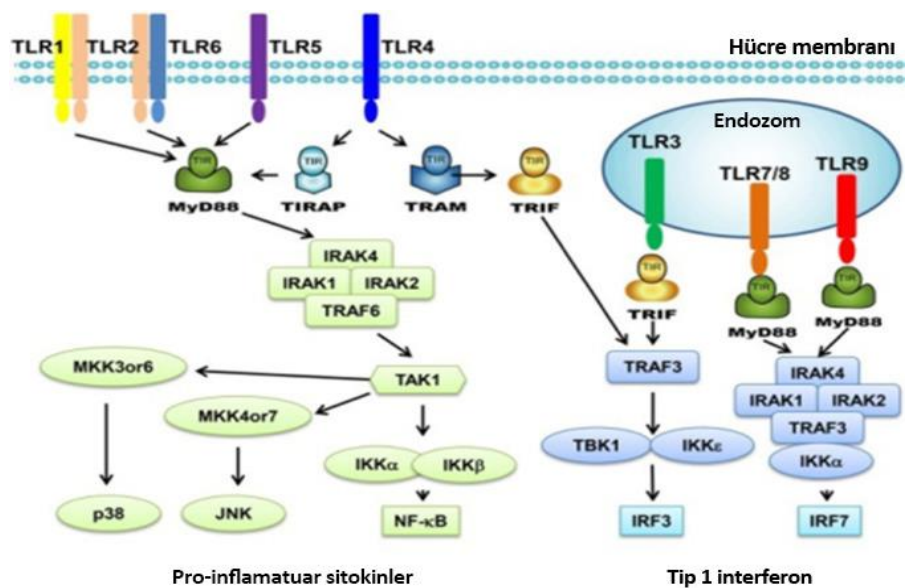
Genel olarak triaçil ve diasil lipoproteinler, lipopolisakkarit (LPS) ve flagellin gibi bakteriyel ürünlere yanıt veren TLR'ler, bağışıklık ve bağırsak epitel hücrelerinin hücresel membranlarında eksprese edilen transmembran reseptörleri olarak bildirilmiştir. TLR2'nin, heterodimer ortakları TLR1, TLR6 ve TLR5 ile birlikte bu kategoriye ait kabul edilmiştir. Buna karşılık, TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, TLR11, TLR12 ve TLR13 gibi nükleik asit algılayıcı TLR'lerin, yalnızca hücre içi bölmelerin zarında ifade edildiği belirlenmiştir. TLR4'ün ise hücre zarlarında (proinflamatuvar sinyal) ve hücre içi olarak (anti-inflamatuvar sinyal) ifade edildiği rapor edilmiştir (Hug vd., 2018).

Barsak epitelinin immünohistokimya, enzimatik ayırma ve lazer yakalama mikrodiseksiyonunun bir kombinasyonunu kullanarak, sağlıklı insan kolon dokularının barsak epitel hücrelerinde (BEH) daha düşük TLR2, TLR4 seviyeleri ve daha yüksek TLR5 seviyeleri içerdiği gösterilmiştir. BEH'ler tarafından TLR ifadesinin de polarize bir model gösterdiği tespit edilmiştir. TLR2 ve TLR4'ün esas olarak ince barsağın enterositlerinin bazolateral yüzeylerinde lokalize olurken, TLR5'in esas olarak kolondaki enterositlerin bazolateral yüzeylerinde lokalize olduğu belirlenmiştir. Bu bölümlendirme modeli, kommensal bakterilerin organizma tarafından inflamatuvar bir yanıt oluşturmamasını sağlamanın anahtarı ve bu nedenle patolojik durumların başlaması ve ilerlemesi için çok önemli bir model olarak kabul edilmiştir (Hug vd., 2018).

Spesifik TLR'lerin ekspresyon paterninin, TLR2, TLR4 ve TLR5'i eksprese eden Paneth hücreleri gibi bağırsak epitelinin diğer hücre tiplerine makrofajlar ve dendritik hücreler (DH) gibi bağışıklık sistemi hücrelerine de uzandığı kabul edilmiştir. Kanda bulunan DH'den farklı olarak, barsak DH'nin yalnızca küçük bir kısmı TLR2 ve TLR4'ü eksprese ederken, ileal ve kolonik dokularda bulunan DH'ler arasında önemli bir fark olmadığı saptanmıştır. Bilim insanları normal fizyolojik koşullarda düşük seviyelerde olan makrofajların bile TLR2 ve TLR4'ü de ifade ettiklerini göstermişlerdir (Hug vd., 2018).

2.2.2 TLR sinyal yolları

TLR'lerin, PPR ailesine ait olduğu belirlenmiştir. Bunların toplu olarak patojenle ilişkili moleküler modeller (pathogen-associated molecular pattern; PAMP) ve mikropla ilişkili moleküler modeller (microbe-associated molecular pattern; MAMP) olarak adlandırılan patojenler tarafından geniş çapta paylaşılan molekülleri tanıdıkları ve en son genellikle yerleşik mikrobiyota tarafından ifade edildikleri rapor edilmiştir. Ayrıca, TLR'lerin hasarla ilişkili moleküler model (damage-associated molecular pattern; DAMP) molekülleri olarak tanımlanan doku hasarından türetilen endojen molekülleri tanıdığı da saptanmıştır. Yapılan çalışmalar her TLR'nin, PAMP, DAMP veya MAMP'nin tanınmasından sorumlu, lösin açısından zengin bir ektodomain, bir transmembran alanı ve sinyalleme kaskadı başlatan bir sitoplazmik Toll-IL-1 reseptör (TIR) alanından oluştuğu gösterilmiştir. TLR'de bulunan TIR alanının (belirli TLR'nin etkinleştirilmesi üzerine) daha sonra belirli bir biyolojik yanıttan sorumlu olan farklı bağdaştırıcılarla da etkileşebildiği belirlenmiştir. Bunlar; MYD88, TRIF, TIRAP/MAL ve TRAM olarak rapor edilmiştir (Şekil 2.3.). MYD88, tüm TLR'ler tarafından kullanılırken, TRIF'in, TLR3 ve TLR4 tarafından alındığı tespit edilmiştir. TRAM'ın ise seçici olarak TLR4 tarafından kullanıldığı ve TRIF-TLR4 ilişkisine aracılık ettiği gösterilmiştir. TIRAP'ın, hem hücresel hem de hücre içi zarlarda ifade edilen TLR'lere spesifik proteinlerin alınmasına aracılık eden bir sıralama adaptörü olarak iş gördüğü belirlenmiştir (Hug vd., 2018).



Şekil 2.3. Toll Benzeri reseptör sinyal yolağı (URL-3, 2022)

TLR2'nin, bakteri hücre duvarı bileşenlerinin tanınmasında rol oynadığı ve çok çeşitli ligandları tanıdığı (peptidoglikan, lipoteikoik asit, lipoproteinler, lipoarabinomannan, mikobakteri ve zymosan) saptanmıştır. Bunlar arasında en iyi karakterize edilen, tüm bakterilerde bulunan ve gram-pozitif bakterilerin dış zarında yüksek oranda eksprese edilen lipoproteinler rapor edilmiştir. TLR2'nin, ligandlarla bağlanarak TNF-a, IL-2, IL6 ve IL-12'nin salgılanmasını indüklediği gösterilmiştir (Dąbrowski vd., 2017; Hug vd., 2018).

Genel olarak, TLR2'nin aktivasyonu, MYD88'in bağlanması, ardından CREB, AP-1 ve NF-KB gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun indüklenmesi ve daha sonra transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu indüklenmesi şeklinde gerçekleştiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, TLR2'nin pro veya anti-inflamatuvar yanıtları indükleme kapasitesi, TLR1 veya TLR6 ile dimerize edebileceği farklı yardımcı reseptör ile ilişkili olduğunda bulunmuştur. Spesifik olarak, TLR2-TLR6 heterodimerleri, interlekin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-a) gibi pro-inflamatuvar moleküllerin transkripsiyonundan sorumlu sinyalleşme kaskadı yolunu aktive ederek, TLR2-TLR1 heterodimerleri ise IL-10 ekspresyonu yoluyla bir anti-inflamatuvar yanıtı indükleyerek iş gördükleri rapor edilmiştir (Hug vd., 2018). TLR9, virüslerin, bakterilerin ve bunların sentetik homologlarının (oligodeoksinükleotitler) DNA'sında yaygın olarak bulunan metillenmemiş CpG-yoğun dizilerin tanınmasında rol oynayan ve ayrıca endozomal bölmelerdeki hücrelerin içinde bulun bir reseptör olarak belirlenmiştir (Dąbrowski vd., 2017).

2.3 İBH ve TLR ile İlişkisi

TLR genlerinin, hastalık koşulları sırasında anormal bir bağışıklık tepkisine yol açan SNP'ye sahip olduğu saptanmıştır. Günümüzde yapılan çalışmalarla, TLR polimorfizmlerinin İBH dahil çeşitli hastalıklarla ilişkisi gösterilmiş ve bu araştırmalara göre; TLR genlerindeki mutasyonlar, bağırsak iltihabını artırabilir veya bastırabilir şekilde rapor edilmiştir (Meena vd., 2015).

TLR'lerin, anti-inflamatuvar veya inflamatuvar yanıtın indüklenmesinde ve ardından adaptif immün yanıtların aktivasyonunda vazgeçilmez bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Bunlar hücre yüzeyinde ifade edilen hücre zarı TLR'leri (TLR1 ve TLR6 ve TLR4-5-6

ile TLR2'nin heterodimerleri dahil), endozom, lizozom veya endoplazmik retikulumda lokalize olan hücre içi TLR'ler olarak sınıflandırılmışlardır. TLR sinyal yolları, tüm TLR'lerin (TLR3 hariç) kullandığı ve birçok farklı inflamatuvar sitokin salınımına yol açabilen MyD88'e bağlı yolu içerdiği belirlenmiştir. Ayrıca TLR3 ve 4 aracılığıyla kullanılan TRIF'e bağlı sinyal yolun, interferon tip-1'in indüklenmesine yol açan yol olduğu saptanmıştır (Damooğ vd., 2021).

TLR sinyal yolunun, doğuştan gelen bağışıklık sisteminde TLR ekspresyonunun değişmesi ile İBH'ye katkıda bulunabilecek şekilde kilit bir role sahip olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, anormal veya işlevsiz TLR sinyalinin, İBH'de akut ve kronik barsak inflamatuvarının gelişimine katkıda bulunabileceği ve bağırsak homeostazını bozabileceği rapor edilmiştir (Damooğ vd., 2021).

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Hastalar

2013-2015 yılları arasında Niğde Devlet Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği'ne başvuran, klinik, endoskopik veya histopatolojik olarak, ÜK (77) ve CH (79) tanısı konmuş 156 hasta ile kontrol grubu olarak, daha önce hiçbir barsak hastalığı geçirmeyen 105 sağlıklı bireyden alınan periferik kanlardan izole ettiğimiz DNA örnekleri kullanılmıştır. Bu örnekler, Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 06.12.2013 tarihli 2013/729 sayılı kararı ile "İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında NOD2/CARD15 Gen Polimorfizmleri" adlı çalışmada kullanılan örnekler olup, bu çalışma yine Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun (İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında Bazı Genetik Polimorfizmlerin araştırılması) 10.06.2016 tarih ve 2016/349 sayılı kararı üzerine yapılmıştır.

3.1.2 Primerler

Polimeraz zincir reaksiyonunda (Polimerase Chain Reaction; PCR) kullanılan primerler, BM Lab. tarafından, metabion international AG, ALMANYA'ya sentezlettirilmiş ve Çizelge 3.1.' de verilmiştir. Ayrıca bu çizelgede, PCR sonucu oluşan DNA fragmentleri ve RFLP yönteminde kullanılacak enzimler de gösterilmiştir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan PCR primer dizileri ve enzim

Gen Adı	SNP No	Primer	Parça boyutu	Enzim
TLR 2 -196 to -174 del	22-bp deletion rs111200466	F: 5'-CAC GGA GGC AGC GAG AAA-3' R: 3'-CTG GGC CGT GCA AAG AAG-5'	286 bp, ins/ins 286 bp, 264 bp, ins/del 264 bp, del/del	
TLR 9 T-1486C	rs187084	F: 5'-TCC CAG CAG CAA CAA TTC ATT A-3' R: 3'-CTG CTT GCA GTT GAC TGT GT-5'	327 bp, 172 bp, TT 499bp, 327 bp, 172 bp, TC 499bp, CC	Afl II

3.1.3 Kimyasallar

5XTaq Master Mix	vivantis, MALEZYA
RedSafe (Nucleic Acid Staining solution)	Republic of Korea
100 bp DNA Ladder	abm, KANADA
Agaroz (Biyoteknoloji Grade)	sigma, ALMANYA
Tris- Acetate- EDTA buffer	sigma, ALMANYA
6X DNA Loading Dye	thermo scientific, AMERİKA
DNA izolasyon Mini Kit	QIAGEN GmbH, Maryland, AMERİKA

3.1.4 Restriksiyon endonükleazlar

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism; RFLP) reaksiyonunda kullanılan enzim tanıma ve kesim bölgesi, tavsiye edilen tampon çözeltileri, önerilen sıcaklık ve enzimi sağlayan firmalar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan RFLP enzimi ve tampon çözeltisi

Restriksiyon endonükleaz	Kesim bölgesi	Tampon çözelti	Uygun sıcaklık	Üretici firma
Afl II	*C↓TTAAC	33mM tris acetat, 10mM magnezyum asetat, 66mM potasyum asetat, 0,1MG/mlBSA (pH7,9)	37 °C	Fermantas, (Amerika)

3.1.5 Standart tamponlar ve içerikleri

Çalışmada jel hazırlamada kullanılan standart tamponlar ve içerikleri Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan tampon ve içerikleri

Standart Tampon	İçerik
Tris-Asetat EDTA Tamponu (TAE)(50X)	242g Tris, 57,1 ml Glasiyal asetik asit, 0,05M (pH:8.0) EDTA, ddH ₂ O ile 1000ml'ye tamamlandı.
Agaroz jel yükleme tamponu (6X)	%15 fikol, %0.05 bromofenol mavisi, %0.05 ksilen siyanol.

3.2 Yöntemler

3.2.1 DNA izolasyonu

Bu çalışmada daha önce yapılan "İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında NOD2/CARD15 Gen Polimorfizmleri" adlı çalışmada kullanılan DNA örnekler kullanılmıştır.

Kandan DNA izolasyonu, DNA izolasyon kit kullanılarak (QIAGEN GmbH, Maryland, USA), ve kit protokolüne göre aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

Bir ependorfa 200µl. Örnek + 200µl. Binding Buffer + 40µl. Proteinaz K konulur ve +70°C'de 10 dak. bekletildi. Üzerine 100µl. Isopropanol eklendi ve karıştırıldı. Bu karışım filtreli tüpler konularak, 1 dak. 8000 g'de santrifüj edildi. Alttaki tüp atılarak, yerine temiz tüp konuldu. Filtreli tüpün üzerine 500µl. İnhibitor Removal Buffer konularak, tüp alt üst edildikten sonra 1 dak. 8000 g'de santrifüj edildi. Alttaki tüp atılarak, yerine temiz tüp konuldu. Filtreli tüpün üzerine 500µl. Wash Buffer ilave edilerek, tüpler 1 dak. 8000 g'de santrifüj yapıldı. Tekrar alttaki tüp atılarak, yerine temiz tüp konuldu. Sonra alttaki tüpün içindeki sıvı döküldü ve tekrara filtreli tüpün altına kondu ve maksimum hızda 13.000 Xg'de tekrar santrifüj edildi. Daha sonra normal 1.5ml ependorf tüpe numara yazılarak, filtreli tüp bu ependorfun içine konuldu ve üzerine 200µl. (+70°C'de) ısıtılmış Elution Buffer ilave edilerek, 1 dak. 8000X'g de santrifüj edildi. Tüm bu işlemlerden sonra elde edilen DNA -20°C'de saklanarak istenen amaçlar doğrultusunda kullanıldı.

3.2.2 Polimeraz zincir reaksiyonu

Genotipleme, PCR-RFLP yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Daha önce izole edilen genomik DNA'dan TLR2 (-196 to -174 del) ve TLR 9 (T-1486C) gen bölgeleri, Çizelge

3.1’de yer alan uygun primer çiftleri ile Çizelge 3.4.’de gösterilen PCR solüsyonu ve amplifikasyon protokolü kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltılmıştır (Karaali vd., 2019; Messaritakis vd., 2018). Bu genlerin PCR ürünleri %2’lik agaroz jelde yürütülüp, UV görüntüleme cihazıyla görüntülenerek, fotoğrafları çekilmiştir (Fotoğraf 3.1., Fotoğraf 3.2.).

TLR 2 (–196 to –174 del; rs111200466) gen polimorfizmi PCR dizisinin sekansı:

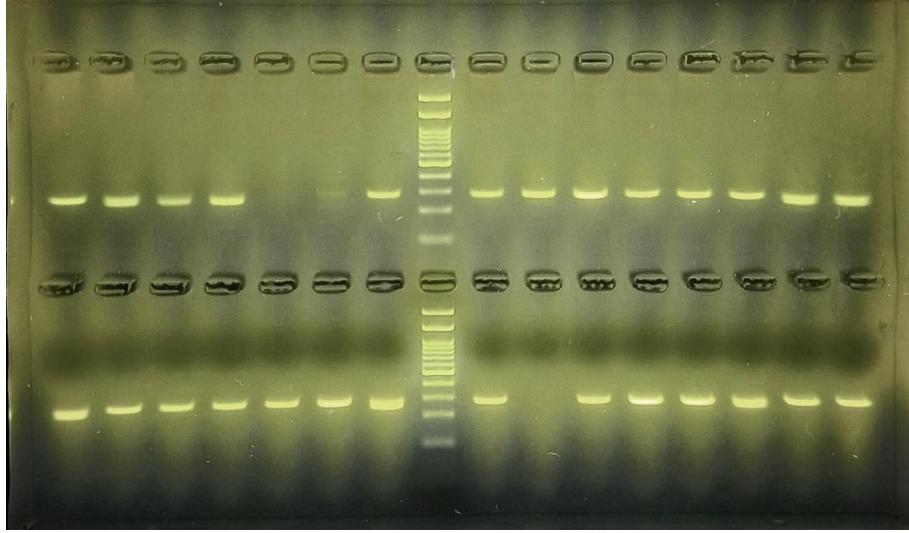
CTCGGAGGCAGCGAGAAAGCGCAGCC**AGGCGGCTGCTCGGCGTTCTCTC**
 AGGTGACTGCTCGGAGTTCTCCCAGGTACGTCGTGCGCTCCCCACTCGTGTG
 GTCTCTCTGCACCCCTTCCTGGGGTCGGGTCGGGCAGGGGCGGAGGGGAGC
 CGCAGCCCGGTCACGGGCTCTGGGGAACCCGGGCTCCCGTTCCGGCTGCACC
 TGGGCCCTAGCTCCTGTCCGGGCGGGGATAGCGGGAAGCGCACCAAGGCCC
 CCGGGACGCCGGTGCTTCTTTGCACGGCCCAG

TLR 9 (T-1486C; rs187084) gen polimorfizmi 5'upstream Sequence (5'UPS) bölgesinde yer almakta ve PCR dizisinin sekansı:

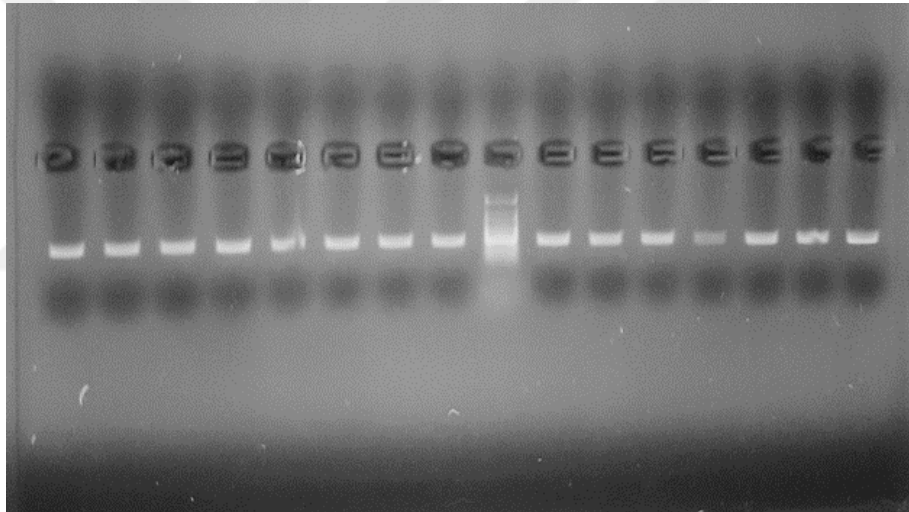
TCCCAGCAGCAACAATTCATTAATTCATTCATTCAGCCTTCACTCAGAAAT
 ACCCTCTCTGTGCCTGCCAGAGCTGACTGCTGGGTGTACATAATTCAGCAG
 ATATCAAGCACTTACTATGTGCTGGGCACTGTACTGGATCCTGGGGATGCAG
 ATAAAAGATCACTGCCCTT/CAAGAAGCTGACATTCCAGCAGGGGAATAAG
 ACGATATAACAATAAACCATGAAAGATCAATGATCCGGTGTCTAGCAGTTAA
 AAAATGTTAGGACAAAGAGAAACATAGACCAGGCAAAGGAGCTCAGGAGT
 GCCAGATCTGGGGTGGGAGGTTTGTGAAGAAGGCTGGATGGCCCTGTTGAGA
 GGGTGACATGGGAGCAGAGACATAATGGAGGCAAAGGAGGGGTCATATGA
 GACTTGGGGGAGTTTTTCAGGCAGAGGGAACAGCACATCCCAAGGCCCTGAG
 GCAGGAGAATGCCAGGGGCT**ACACAGTCAACTGCAAGCAG**

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan PCR solüsyonu ve amplifikasyon protokolü

Genler	PCR solüsyonu 25µL	PCR Amplifikasyon Protokolü
TLR2 (–196 to- 174del)	5XTaq Master Mix; 4µL, forward primer; 0,5 µL, reverse primer; 0,5 µL, su;18 µL, DNA; 2µL,	Denatürasyon: 94°C’de 2 dak. 35 Döngü : 94°C’de 30 saniye, 62°C’de 30 saniye ve 72°C’de 30 saniye, Extensyon: 72°C’de 5 dak.
TLR9 (T1486C)	5XTaq Master Mix; 4µL, forward primer; 0,5 µL, reverse primer; 0,5 µL, su;18 µL, DNA; 2µL,	Denatürasyon: 94°C’de 4 dak. 35 Döngü : 94°C’de 30 saniye, 60°C’de 20 saniye ve 72°C’de 30 saniye, Extensyon: 72°C’de 5 dak.



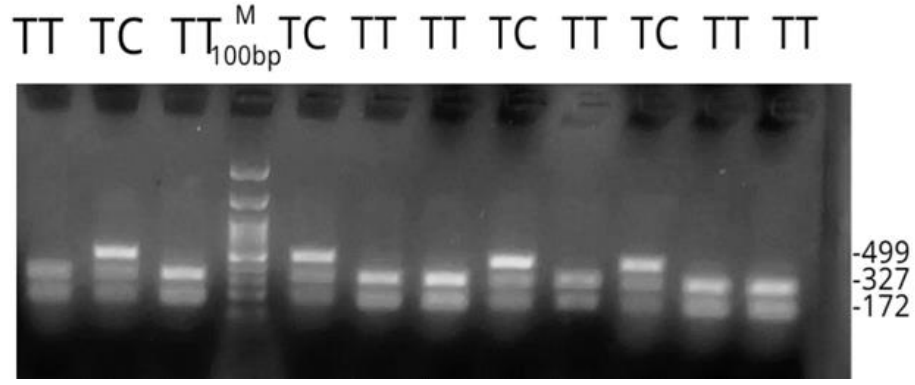
Fotoğraf 3.1. PCR yöntemi ile çoğaltılan TLR 2 (–196 to –174del) geni % 2’lik jel görüntüsü



Fotoğraf 3.2. PCR yöntemi ile çoğaltılan TLR 9 (T-1486C) geni % 2’lik jel görüntüsü

3.2.3 Restriksiyon endonükleaz analizi

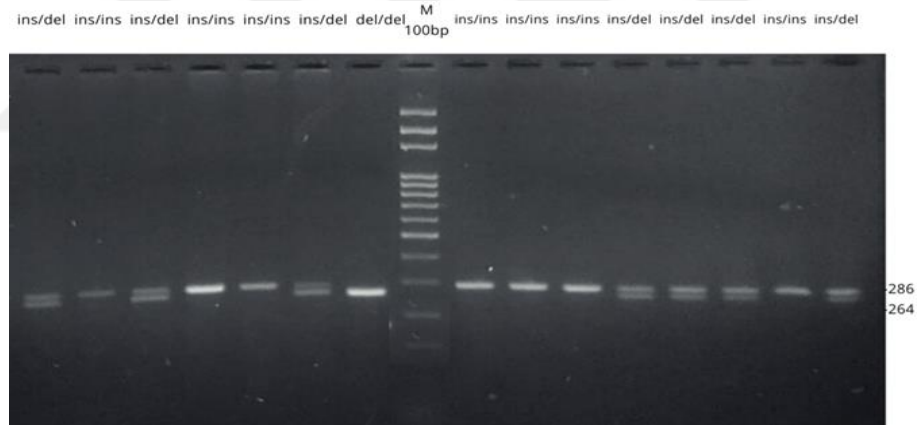
Hasta ve kontrollerin DNA’larından elde edilen PCR ürünleri Çizelge 3.1.’de yer alan uygun restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılarak kesilmiştir (Messaritakis vd., 2018). TLR 9 (T-1486C)geninin, rs187084 bölgesi için Afl II enzimi, restriksiyon endonükleaz reaksiyonu için üretici firmanın önerilerine göre, modifiye edilerek kullanılmıştır. Enzim kesim reaksiyonu, üretici firma tarafından önerilen sıcaklıkta (37°C) bir saat bekletilerek gerçekleştirilmiş ve örneklerin %3’lük agaroz jel görüntüsü elde edilmiştir (Fotoğraf 3.3.).



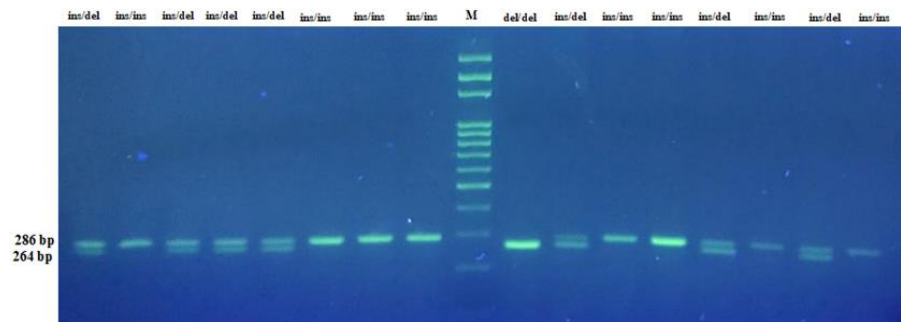
Fotoğraf 3.3. RFLP yönteminde Afl II enzimi ile kesilen TLR 9 (T-1486C)geni bantları

3.2.4 Agaroz jel elektroforezi

PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde (Fotoğraf 3.1., Fotoğraf 3.2.) ve restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilen ürünler %3'lük agaroz jelde (Fotoğraf 3.4., Fotoğraf 3.5.) yürütülüp, UV görüntüleme cihazıyla görüntülenerek fotoğrafları çekilmiştir.



Fotoğraf 3.4. PCR yöntemi TLR 2 (-196 to -174 del) geni % 3'lük jel bant görüntüsü



Fotoğraf 3.5. PCR yöntemi TLR 2 (-196 to -174 del) geni % 3'lük jel bant görüntüsü

3.3 İstatistiksel Analizler

İnflamatuvar barsak hastaları ile kontrol gruplarında yer alan bireylerin istatistiksel analizi, SPSS 22.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Demografik özelliklerden yaş değişkeninin analizi için Kolmogorov-Smirnov testi ile normal dağılım analizi yapılmış ve veriler normal dağılıma uymadığı için non-parametrik test olan Mann-Whitney U (M-W) testi uygulanmıştır. TLR 2 (–196 to –174del) ve TLR 9 (T-1486C) genlerindeki homozigot, heterozigot genotip frekansı ile allelik frekanslar, hasta (CH, ÜK) ve kontrol gruplarında Binary lojistik regresyon ve Khi Kare (χ^2) analizi ile karşılaştırılmıştır. Bu programda hasta ve kontrol grupları arasındaki genotip ilişkisini belirlemek için risk oranları (OR: odds ratio) ile güvenilirlik aralıkları (CI: %95 confidence interval) tespit edilmiştir. Daha sonra aynı analiz yaş ve cinsiyet ayarlanarak anlamlılık testi yapılmıştır. Bütün testler $p < 0.05$ 'e eşit ve küçük olduğunda istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada hasta ve kontrol gruplarında Hardy-Weinberg analizi için Michael H. Court'un (2005-2008) online hesaplama işlemi kullanılmıştır.

BÖLÜM IV

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 CH’de, TLR 9 (T-1486C) ve TLR2 (-196 to -174 del) Gen Polimorfizmleri

Bu çalışmada CH ile kontrol grubunda istatistiksel olarak değerlendirilen demografik özellikler (yaş ve cinsiyet) Çizelge 4.1.’de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analize göre CH ile kontrol grubunun demografik özellikler bakımından p değeri 0.029 bulunduğu ve bu değer $p<0.05$ olduğu için önemli kabul edilmiştir (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. CH ile kontrol grubunun demografik özellikleri

Parametreler		CH (n = 79)	Kontrol (n = 105)	P değeri
Yaş		44.78±12.75	41.32±14.22	0.029*
Cinsiyet	Erkek	42	44	0.130
	Kadın	37	61	

Bu araştırmada, 79 CH ve 105 kontrol grubunun PCR-RFLP tekniği ile analiz edilen DNA örneklerinin TLR 9 (T-1486C) ve TLR2 (-196 to-174 del) gen polimorfizmlerine ait istatistik sonuçları Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.3.’de yüzde (%) değerler, ham değerler, yaş ve cinsiyet göre ayarlanmış değerler şeklinde verilmiştir.

CH ile kontrol grubu arasında TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmi yüzde (%) değerleri, genotip dağılımları ve allel frekansları Çizelge 4.2.’de verilmiştir. CH TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizminde, homozigot yabani TT genotipinde 31 kişi (%39.24), heterozigot mutant TC genotipinde 37 kişi (% 46.80) ve homozigot mutant CC genotipinde 11 kişi (% 13.90), kontrol grubunda ise, TT genotipinde 39 kişi (%37.14), TC genotipinde 49 kişi (% 46.67) ve CC genotipinde 17 kişi (% 16.19) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2.). TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmi için CH ile kontrol grubu arasında hem genotip dağılımları hem de allel frekansları açısından istatistiksel olarak önemli bulgulara rastlanmamıştır ($p>0.05$). CH’de, hem TC genotipinin (OR:1.228, CI:0.503-3.001, $p=0.652$) hem de CC genotipinin kontrole (OR:1.053, CI:0.557-1.989, $p=0.874$) göre istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.2.). Ayrıca bu

polimorfizminde, C alleli frekansı da gruplar arasında önemli bulunmamıştır (OR: 1.097, CI:0.717-1.677, p=0.670) (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. CH ile kontrol grubunda, TLR 9 (T-1486C) genotip ve allel frekansları

Gen/ Genotipler		CH n=79(%)	Kontrol n=105(%)	Ham değerler (Crude Values)			Ayarlanmış değerler (Adjusted Values)		
				P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)	P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)
TLR 9 (T-1486C) Alleller	TT	31 (39.24)	39 (37.14)	-		-			
	TC	37 (46.80)	49 (46.67)	0.652	1.228	0.503-3.001	0.596	1.278	0.516-3.168
	CC	11(13.90)	17 (16.19)	0.874	1.053	0.557-1.989	0.953	1.020	0.533-1.950
	T	99 (62.66)	127(60.48)	-		-			
	C	59 (37.34)	83 (39.52)	0.670	1.097	0.717-1.677			
Resesif model									
TT+TC		68 (86.08)	88 (83.81)	-		-			
CC		11 (13.92)	17 (16.19)	0.672	1.194	0.525-2.716			
Dominant model									
TT		31 (39.24)	39 (37.14)	-		-			
TC+CC		48 (60.76)	66 (62.86)	0.772	1.093	0.599-1.993			-

CH TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizminin genotip dağılımları, Hardy-Weinberg eşitliği bakımından incelendiğinde, hem hasta ($\chi^2= 0.0001$, p=0.99) hem de kontrol grubunda ($\chi^2= 0.060$, p=0.81) normal olduğu ve böylece HW ile uyumlu çıktığı gözlenmiştir.

CH ile kontrol grubu arasında TLR2 (-196 to -174 del) gen polimorfizmi yüzde (%) değerleri, genotip dağılımları ile allel frekansları Çizelge 4.3.'de verilmiş ve bu gen polimorfizmi için CH ile kontrol grubu arasında hem genotip dağılımları hem de allel frekansları açısından istatistiksel olarak önemli bulgulara rastlanmamıştır (p>0.05). CH TLR2 (-196 to -174 del) gen polimorfizminde, homozigot yabani ins/ins genotipinde 55 kişi (% 69.62), heterozigot mutant ins/del genotipinde 20 kişi (% 25.32) ve homozigot mutant del/del genotipinde 4 kişi (% 5.06), kontrol grubunda ise, ins/ins genotipinde 79 kişi (% 75.24), ins/del genotipinde 22 kişi (% 20.95) ve del/del genotipinde 4 kişi (% 3.81) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3.). CH'de, hem ins/del genotipinde (OR: 0.909, CI: 0.200-4.125, p=0.902) hem de del/del genotipinde kontrole göre istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir (OR: 1.306, CI: 0.651-2.620, p=0.453). Yine bu polimorfizmde, del

alleli frekansı da gruplar arasında önemli bulunmamıştır (OR: 0.774, CI: 0.441-1.358, p=0.371), (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. CH ile kontrol grubunda, TLR 2 (-196 to -174 del) genotip ve allel frekansları

Gen/Genotipler		CH n=79(%)	Kontrol n=105(%)	Ham değerler (Crude Values)			Ayarlanmış değerler (Adjusted Values)		
				P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)	P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)
TLR 2 -196 to -174del	ins/ins	55 (69.62)	79 (75.24)	-		-			
	ins/del	20 (25.32)	22 (20.95)	0.902	0.909	0.200-4.125	0.536	0.799	0.392-1.628
	del/del	4 (5.06)	4 (3.81)	0.453	1.306	0.651-2.620	0.684	0.740	0.173-3.161
Alleller	ins	130(82.28)	180 (85.71)	-		-			
	del	28 (17.72)	30 (14.29)	0.371	0.774	0.441-1.358			
Resesif model									
ins/ins+ins/del		75 (94.94)	101 (96.19)	-		-			
del/del		4 (5.06)	4 (3.81)	0.680	0.743	0.180-3.065			
Dominant model									
ins/ins		55 (69.62)	79 (75.24)	-		-			
ins/del+del/del		24 (30.38)	26 (24.76)	0.396	0.754	0.393-1.449			

CH ve kontrol grubu TLR2 (-196 to -174 del) gen polimorfizmi genotip dağılımlarının, Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu çıktığı, hastalarda ($\chi^2=1.374$, p=0.24) ve kontrol grubunda ($\chi^2=2.191$, p=0.14) bir sapma olmadığı belirlenmiştir (p>0.05).

4.2 ÜK Hastalarında TLR 9 (T-1486C) ve TLR2 (-196 to -174 del) Gen Polimorfizmleri

ÜK hastaları ile kontrol grubunun demografik özellikleri yaş ve cinsiyet bakımından incelenerek, Çizelge 4.4.'de gösterilmiştir. Bu çalışmada, 77 ÜK hasta ile 105 kontrol grubunun verileri SPSS 22.0 paket programında analiz edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen örneklerin, yaş ve cinsiyet parametreleri karşılaştırılmış ve bu parametreler bakımından ÜK hastaları ile kontrol grubu arasında farkın (p=0.011) istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır (p<0.05) (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. ÜK hastaları ile kontrol grubunun demografik özellikleri

Parametreler		ÜK (n = 77)	Kontrol (n = 105)	p değeri
Yaş		46.70±15.79	44.07±14.22	0.011*
Cinsiyet	Erkek	42	44	0.09
	Bayan	35	61	

ÜK hastaları (77) ile kontrol grubunun (105) TLR 9 (T-1486C) ve TLR2 (-196 to-174 del) gen polimorfizmi verileri istatistiksel olarak değerlendirilerek, bu veriler Çizelge 4.5. ve Çizelge 4.6.'da yüzde (%) değerler, ham değerler, yaş ve cinsiyet göre ayarlanmış değerler şeklinde verilmiştir.

ÜK hastaları ile kontrol grubu arasındaki TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmi, yüzde (%) değerleri, genotip dağılımları ve allel frekansları Çizelge 4.5.'de verilmiştir. ÜK hastalarında TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizminde, homozigot yabani olan TT genotipinde 30 kişi (%38.96), heterozigot mutant TC genotipinde 33 kişi (%42.86) ve homozigot mutant CC genotipinde 14 kişi (%18.18), kontrol grubunda ise, TT genotipinde 39 kişi (%37.14), TC genotipinde 49 kişi (%46.67) ve CC genotipinde 17 kişi (%16.19) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5.). Bu hasta ve kontrol grupları arasında TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizminin genotip ve allel frekansları bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). ÜK hastalarında, hem TC genotipinin (OR: 0.934, CI: 0.398-2.191, $p=0.875$) hem de CC genotipinin (OR: 1.142, CI: 0.597-2.186, $p=0.688$) kontrole göre istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.). Ayrıca bu polimorfizminde, C alleli frekansı da gruplar arasında önemli bulunmamıştır (OR: 0.996, CI: 0.651-1.524, $p=0.987$) (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4.5. ÜK hastaları ile kontrol grubunda TLR 9 (T-1486C) genotip ve allel frekansları

Gen/ Genotipler		ÜK n=77(%)	Kontrol n=105(%)	Ham değerler (Crude Values)			Ayarlanmış değerler (Adjusted Values)		
				P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)	P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)
TLR 9 (T-1486 C) Alleller	TT	30 (38.96)	39 (37.14)	-		-			
	TC	33 (42.86)	49 (46.67)	0.875	0.934	0.398-2.191	0.943	1.032	0.429- 2.483
	CC	14 (18.18)	17 (16.19)	0.688	1.142	0.597-2.186	0.657	1.163	0.598- 2.264
	T	93 (60.39)	127(60.48)	-		-			
	C	61 (39.61)	83 (39.52)	0.987	0.996	0.651-1.524			
Resesif model									
TT+TC		63 (81.82)	88 (83.81)	-		-			
CC		14 (18.18)	17 (16.19)	0.724	0.869	0.399-1.892			
Dominant model									
TT		30 (38.96)	39 (37.14)	-		-			
TC+CC		47 (61.04)	66 (62.86)	0.803	1.080	0.590-1.979			

ÜK hastaları ile kontrol grubu TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmi genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu olduğu ve ne hastalarda ($\chi^2= 0.836$, $p=0.30$) ne de kontrol grubunda ($\chi^2= 0.060$, $p=0.81$) herhangi bir sapma olmadığı gözlemlenmiştir.

TLR2 (-196 to -174 del) gen polimorfizmi için ÜK hastaları ile kontrol grubu arasında yüzde (%) değerleri, genotip dağılımları ve allel frekansları açısından istatistiksel olarak bulgular Çizelge 4.6.'da değerlendirildi. ÜK hastalarında TLR2 (-196 to -174 del) gen polimorfizminde, homozigot yabani olan ins/ins genotipinde 54 kişi (% 70.13), heterozigot mutant ins/del genotipinde 20 kişi (% 25.97) ve homozigot mutant del/del genotipinde 3 kişi (% 3.90), kontrol grubunda ise, ins/ins genotipinde 79 kişi (% 75.24), ins/del genotipinde 22 kişi (% 20.95) ve del/del genotipinde 4 kişi (% 3.81) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6.). ÜK hasta ve kontrol grupları arasında TLR2 (-196 to -174 del) gen polimorfizmi genotip ve allel frekansları bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Bu hastalarda, hem ins/del genotipinin (OR: 0.911, CI: 0.196-4.236, $p=0.906$) hem de del/del genotipinin (OR: 0.752, CI: 0.374-1.510, $p=0.423$) kontrole göre istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.6.). Ayrıca bu polimorfizminde, del alleli frekansı da gruplar arasında önemli bulunmamıştır (OR: 0.821, CI: 0.463-1.454, $p=0.497$) (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. ÜK hastaları ile kontrol grubunda TLR 2 (-196 to -174 del) genotip ve allel frekansı

Gen/ Genotipler		ÜK n=77(%)	Kontrol n=105(%)	Ham değerler (Crude Values)			Ayarlanmış değerler (Adjusted Values)		
				P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)	P değeri	Odds ratio (OR)	95% (CI)
TLR2 -196 to - 174del	ins/ins	54 (70.13)	79 (75.24)	-		-			
	ins/del	20 (25.97)	22 (20.95)	0.906	0.911	0.196-4.236	0.803	1.223	0.251-5.976
	del/del	3 (3.90)	4 (3.81)	0.423	0.752	0.374-1.510	0.594	0.823	0.402-1.685
Alleller	ins	128(83.12)	180 (85.71)	-		-			
	del	26 (16.88)	30 (14.29)	0.497	0.821	0.463-1.454			
Resesif model									
ins/ins+ins/del		74 (96.10)	101 (96.19)	-		-			
del/del		3 (3.90)	4 (3.81)	0.976	0.977	0.212-4.497			
Dominant model									
ins/ins		54 (70.13)	79 (75.24)	-		-			
ins/del+del/del		23 (29.87)	26 (24.76)	0.443	0.773	0.400-1.494			

Bu çalışmada, ÜK hastaları ile kontrol grubu TLR 2 (-196 to -174 del) gen polimorfizmi genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg eşitliği ile uyumlu çıktığı ve ne hastalarda ($\chi^2=0.428$, $p=0.51$) ne de kontrol grubunda ($\chi^2=2.191$, $p=0.14$) bir sapma olamadığı belirlenmiştir.

Farklı toplumlarda TLR genlerindeki çeşitli polimorfizmler tanımlanmış ve bu polimorfizmlerin mide karsinomu, meme kanseri ve mesane kanseri gibi çeşitli malignitelerle duyarlılığı ilişkilendirilmiştir (Liu vd., 2015; Messaritakis vd., 2018; Singh vd., 2013; Tahara vd., 2007). Son zamanlarda, TLR4 genleriyle ilgili iki farklı polimorfizmin (Asp299Gly ve Thr 399Ile) İBH ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Arbour vd., 2000). Emingil vd. (2007)'de, Türk popülasyonunda TLR2 (Arg753Gln ve Arg677Trp) ve TLR4 (Asp299Gly ve Thr399Ile) gen polimorfizmlerinin genelleşmiş agresif periodontitis hastalarındaki duyarlılığını araştırmışlar ve bu hastalar ile sağlıklı denekler arasında TLR2 (Arg753Gln ve Arg677Trp) ve TLR4 (Asp299Gly ve Thr399Ile) genotiplerinin dağılımında ve allel frekanslarında anlamlı bir farkın olmadığını bulmuşlardır ($p>0.05$) (Emingil vd., 2007). İBH patogenezinin şüpheli listesinde yer alan bakterisidal/geçirgenlik artırıcı proteini (BPI), gram negatif bakterilerin konakçının doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından tanınmasında ve nötralize edilmesinde önemli bir role sahip olup, bu BPI genindeki Lys216Glu adı verilen polimorfizm, Türk

popülasyonunda CH ve ÜK hastalarında çalışılmıştır. Yapılan bu çalışmada BPI (Lys216Glu) polimorfizmi hem CH hem de ÜK ile ilişkili bulunmuştur (Akın vd., 2011). Ancak, Türk popülasyonunda TLR genlerinin polimorfizmleri ile CH ve ÜK'ya, duyarlılığı hakkında çok çalışmaya rastlanmamıştır. Biz bu araştırmada, özellikle TLR 2 geni için -196 to -174del ve TLR 9 geni için T-1486C; rs187084 polimorfizmlerinin CH ve ÜK hastalarındaki duyarlılık durumlarını belirlemeye çalıştık. TLR 2 (-196 to -174del) ve TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmleri 79 CH, 77 ÜK ve 105 sağlıklı kontrolde incelenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar göre, TLR 2 (-196 to -174del), genotipleri ve allellerinde her iki hastalık grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bizim yaptığımız çalışmaya benzer şekilde Japon popülasyonunda mide kanseri riski ile TLR 2 (-196 to -174del) polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmış ve bu çalışmada da hastalık ile TLR 2 (-196 to -174del) gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Hishida vd., 2010). Yeni Zelanda Kafkas popülasyonunda, 182 CH ve 188 kontrol grubunda TLR 2, TLR 4 ve TLR 9 genleri üzerine yapılan bir çalışmada, TLR 2, TLR 4 ve TLR 9 gen polimorfizmi genotip ve alel frekanslarında farkın anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (Hong vd., 2007). Fakat, Bank vd. (2014) araştırmacılar tarafından Danimarka'da aday gen yaklaşımı kullanılarak yapılan çalışmada, inflamasyonu düzenleyen TLR 2 ve TLR 9'un da dahil olduğu 26 gendeki 39 SNP, 624 CH'li, 411 ÜK'lı hasta ile 795 kontrolden oluşan bir grupta değerlendirilmiş ve inflamasyonun düzenlenmesinde rol oynayan 13 gendeki (TLR 2 ve TLR 9 dahil) 16 polimorfizmin, CH ve/ veya ÜK riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Bank vd., 2014). Yine Türk toplumunda tip 2 diyabet ve komplikasyonları üzerine yapılan bir çalışmada, TLR 2 (-196 to -174del ve Arg753Gln) varyantlarının hasta patogenezindeki olası rolü araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada, TLR-2 del/del genotipi (P=0.003), ins/del genotipi (P=0.009) ve del alleli (P=0.001) frekansları kontrolle (98 kontrol) kıyaslanan hastalarda (100 hasta) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Karaali vd., 2019). TLR 2, 3, 4 ve 9 genlerinin polimorfizmleri, Kuzey Çin'de mide karsinomu, özellikle Epstein-Barr virüsüyle ilişkili mide karsinomuna (EBVaGC) için 52 EBVaGC, 157 EBV-negatif GC (EBVnGC) ve 94 sağlıklı bireyden alınan periferik kan örneğinde incelenmiştir. TLR2 (-196 to -174del) geni için, hasta ile kontrol grubu genotipleri arasında anlamlı bir fark olmadığı, ancak del allelinde farkın anlamlı olduğu bulunmuştur (Liu vd., 2015).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda TLR genlerinin, birçok patojenle ilişkili molekülün ve immün aktivasyonla ilişkili endojen proteinlerin sinyalleşmesinde önemli roller oynadığı

saptanmıştır (Tahara vd., 2007). TLR 2 geninin de çeşitli mikrobiyal bileşenleri tanıyarak, konak savunmasında yer alan ilk insan TLR'si olduğu belirlenmiş ve ayrıca bu genin kromozomda 4q32'de yer alan iki ekzonu bulunduğu saptanmıştır (Trejo-De La O vd., 2014). Yine TLR 2 -196 to -174del gen polimorfizminin, TLR 2 genini etkileyerek, bu genin promotör aktivitesini değiştirdiği belirlenmiştir. Tahara vd. (2007)'de, TLR 2 (-196 to -174del) polimorfizmini, Japon popülasyonunda kalp dışı mide kanserli, 289 hasta, karın ağrısı şikâyeti olan 309 kanser dışı hasta ve 146 sağlıklı kontrol grubunda araştırmıştır. Bu çalışmada, mide kanserli hastalarda TLR 2 (-196 to -174del) del/del genotipinin, sağlıklı kontrollere göre önemli ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir (OR = 6.06; CI= 1.86–19.72). Ayrıca bu del/del genotip sıklığı, kanserli hastalarda, kanser olmayan hastalardan önemli ölçüde daha yüksek bulunmuş (OR = 2.02; CI = 1.22-3.34) ve bu del/del genotipinin Japon popülasyonunda mide kanseri riskini artırabileceğini ileri sürmüştür (Tahara vd., 2007).

İnsanda TLR 9 geni, 3p21.2 kromozom bölgesinde yer alan ve iki ekson sayısına sahip olan bir genidir. TLR 9 geninin, ligandları tarafından uyarılması, tüm TLR genleri için ortak bir sinyal yolunu tetiklemesine, bunun da nükleer faktör-kB (NF-kB) transkripsiyon faktörünün aktivasyonu ve tümör nekroz faktörü- α ve interlökin-6 dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ile sonuçlandığı rapor edilmiştir. Liu vd. (2015)'de, TLR 9 T-1486C (rs187084) polimorfizmini, Kuzey Çin'de mide karsinomlu, özellikle Epstein-Barr virüsüyle ilişkili mide karsinomlu (52 EBVaGC, 157 EBV-negatif GC, 94 sağlıklı birey) kişilerde incelenmişler ve bu gen polimorfizminde hasta ile kontrol grubu arasındaki farkın anlamlı olmadığını göstermişlerdir (Liu vd., 2015). Yine Çin popülasyonunda Osteoartrit (OA) hastalarında, TLR 9'un rolünü incelemek için 215 diz OA hastası ile 215 kontrolü içeren bir vaka-kontrol çalışması yapılmış ve bu çalışmada TLR 9 geni rs187084 polimorfizminin, diz OA riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, TLR 9 geni rs187084 polimorfizmi, özellikle yaşlı insanlar arasında diz OA'ya duyarlılık ile pozitif olarak ilişkili bulunmuştur (Zheng vd., 2017). Balbaloglu vd. (2017) tarafından, Türk toplumunda TLR 9 T-1486C SNP ile diz OA duyarlılığı, 272 diz OA'lı hasta ve 296 kontrol grubu kişide, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, TLR 9 promotörü T-1486C polimorfizminde, CC genotipinin OA için daha yüksek bir risk taşıdığını ve TT ile CT genotiplerinin OA gelişimine karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu ortaya çıkartılmıştır. Bu çalışma, Türk popülasyonunda TLR 9 T-1486C gen polimorfizmi ile

ileri diz OA arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir (Balbaloglu vd., 2017). Fakat bizim bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlarda, TLR 9 T-1486C gen polimorfizminin CH ve ÜK hastaları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark göstermediği yönündedir. Yine İran’da da bizim çalıştığımız TLR 9 (-T1486C) gen polimorfizmi ile TLR 4 (Asp299Gly, Thr399Ile) gen polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemiyle, 124 tüberküloz tanısı konmuş hasta ile 149 sağlıklı kontrol üzerinde incelenmiş ve bu çalışmada da hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Jahantigh vd., 2013). Messaritakis vd. (2018)’de Yunanistan’da, kolorektal kanser gelişimi, ilerlemesi riskinde TLR 2 (-196 to -174del), TLR 4 (Asp299Gly ve Thr399Ile) ve TLR 9 (T1237C ve T-1486C) gen polimorfizmlerini araştırmışlar ve çalıştıkları tüm polimorfizmler ile metastatik hastalık arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ve bu durumun da genel sağ kalımı kısalttığını rapor etmişlerdir (Messaritakis vd., 2018). Bizim bu çalışmadan elde ettiğimiz TLR 2 (-196 to -174del) ve TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmi verilerini, daha önce dünya çapında görülen farklı hastalık ve farklı toplumlarda yapılan gen polimorfizmi verileri ile karşılaştırdık. Bu çalışmadan elde ettiğimiz veri kümelerinin daha anlamlı olabilmesi için ileri düzey genetik çalışmalar yapılması ve bu sonuçların bir meta-analiz testiyle doğrulanmasının bilimsel bilgi gelişimimize daha fazla katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

BÖLÜM V

SONUÇLAR

İBH hastalıkları ile SNP'lerinin duyarlı olduğu düşünülen TLR genlerinden, TLR 9 (T-1486C) ve TLR 2 (–196 to –174del) gen polimorfizmi genotip dağılımları ve allel frekansları PCR-RFLP yöntemleri kullanılarak, Türk CH ve ÜK'li hastalarda belirlenmiş ve elde ettiğimiz sonuçlar diğer toplumlarla karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, Türk popülasyonunda CH ve ÜK hastalıklarında TLR 9 (T-1486C) ve TLR 2 (–196 to –174del) gen polimorfizmleri için yeni ve önemli verileri sağlamıştır. Bu kapsamlı TLR 9 (T-1486C) ve TLR 2 (–196 to –174del) gen polimorfizmi verilerinin, hem Türk popülasyonuna hem de dünya popülasyonuna büyük bir katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Ayrıca ileride bu genlerle ilgili çeşitli hastalıkları kapsayan daha geniş popülasyon çalışmalarının yapılması, bu genlerin etkisinin belirlenmesinde ve riskli bireylerin tanımlanmasında önemli olacaktır. Toplumumuzda, bu tür hastalıkların tedavisi için yapılacak çalışmalarda, bu TLR 9 (T-1486C) ve TLR 2 (–196 to –174del) genleri arasındaki ilişkiyi belirlemek ve bu genlerin klinikteki etkisini ortaya koymak için daha çok çalışma yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde ettiğimiz bulgulara göre, TLR 2 (–196 to –174del) ve TLR 9 (T-1486C) polimorfik varyantlarının sağlıklı kontrol grubu verileri ile karşılaştırıldığı zaman CH ve ÜK gelişimine yatkınlık ile ilgili önemli bir rolü olmadığı gösterilmiştir. Yapmış olduğumuz bu retrospektif çalışmada, hasta ve kontrol grubunda bulunan örneklerin sayısı dikkate alınarak, sonuçlar yorumlanmalıdır. Ayrıca elde ettiğimiz bu verilerin, gelecekteki çalışmaların rasyonel tasarımı için değerlendirilecek veriler olarak hizmet edebileceği düşüncesindeyiz.

Bu çalışma, Türk popülasyonunda CH ve ÜK hastalarında, TLR 2 (–196 to –174del) ve TLR 9 (T-1486C) gen polimorfizmi dağılımlarının değerlendirildiği ilk çalışmadır. TLR genlerinin diğer polimorfizmlerinin de bu hastalıklara yatkınlıkla bağlantılı olup olmadığını daha iyi anlamak için ileriye dönük çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindeyiz.

Günümüzde farklı alanlarda yapılan çalışmalarla, kişiye özgü tedavi yaklaşımlarının her geçen gün daha fazla önem kazandığı görülmektedir. Çeşitli insan hastalıklarında, SNP analizin özelliikle kanser hastalarına uygulanan kemoterapi ya da radyoterapinin etkinliği ve toksisitesinin kontrol altına alınmasında, bu hastalıklarda bireye özgü dozun belirlenmesinde ve bu sayede kişisel tedavi şemasının oluşturulmasında önemli olduğu ileri sürülmektedir. Bireylerde görülen farklı ilaç metabolizması ile bu gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin anlaşılması sayesinde, gelecekte uygulanacak olan bireyselleştirilmiş tedavi için daha etkin bir tedavi sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada yaptığımız gibi, çeşitli hastalıklarında yapılacak, SNP polimorfizm çalışmaları sayesinde daha ekonomik tedavi alternatiflerini sağlamak mümkün olacaktır. Farklı toplumlardan elde edilen bu sonuçlar kişiye özel tedavi yaklaşımının klinikte uygulanması açısından yol gösterici nitelikte olacaktır.

KAYNAKLAR

Akın, H., Tahan, G., Türe, F., Eren, F., Atug, Ö., Tahan, V., Hamzaoglu, İ., İmeryüz, N., Tözün, N. and Hamzaoglu, H.O., "Association between bactericidal/permeability increasing protein (BPI) gene polymorphism (Lys216Glu) and inflammatory bowel disease", *Journal of Crohn's and Colitis*, 5(1), 14-18, 2011.

Alkim, C., Balci, M., Alkim, H., Dagli, Ü., Parlak, E., Tezel, A. and Ülker, A., "The importance of peripheral immune cells in inflammatory bowel disease", *Turkish Journal of Gastroenterology*, 18(2), 82-88, 2007.

Arbour, N.C., Lorenz, E., Schutte, B.C., Zabner, J., Kline, J.N., Jones, M., Frees, K., Watt, J.L. and Schwartz, D.A., "TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans", *Nature Genetics*, 25(2), 187-191, 2000.

Balbaloglu, O., Sabah Ozcan, S., Korkmaz, M. and Yilmaz, N., "Promoter polymorphism (T-1486C) of TLR-9 gene is associated with knee osteoarthritis in a Turkish population", *Journal of Orthopaedic Research*, 35(11), 2484-2489, 2017.

Bank, S., Andersen, P.S., Burisch, J., Pedersen, N., Roug, S., Galsgaard, J., Turino, S.Y., Brodersen, J.B., Rashid, S. and Rasmussen, B.K., "Associations between functional polymorphisms in the NFκB signaling pathway and response to anti-TNF treatment in Danish patients with inflammatory bowel disease", *The Pharmacogenomics Journal*, 14(6), 526-534, 2014.

Bischoff, S.C., Escher, J., Hébuterne, X., Kłęk, S., Krznaric, Z., Schneider, S., Shamir, R., Stadelova, K., Wierdsma, N. and Wiskin, A.E., "ESPEN practical guideline: Clinical Nutrition in inflammatory bowel disease", *Clinical Nutrition*, 39(3), 632-653, 2020.

Brandl, K., Sun, L., Neppl, C., Siggs, O.M., Le Gall, S.M., Tomisato, W., Li, X., Du, X., Maennel, D.N. and Blobel, C.P., "MyD88 signaling in nonhematopoietic cells protects

mice against induced colitis by regulating specific EGF receptor ligands", ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, 107(46), 19967-19972, 2010.

Cavanaugh, J., "NOD2: ethnic and geographic differences", ***World Journal of Gastroenterology***, 12(23), 3673-3677, 2006.

Cheng, Y., Zhu, Y., Huang, X., Zhang, W., Han, Z. and Liu, S., "Association between TLR2 and TLR4 gene polymorphisms and the susceptibility to inflammatory bowel disease: a meta-analysis", ***Plos One***, 10(5), e0126803, 2015.

Dąbrowski, M., Jakimiuk, E., Gajęcka, M., Gajęcki, M.T. and Zielonka, Ł., "Effect of deoxynivalenol on the levels of toll-like receptors 2 and 9 and their mRNA expression in enterocytes in the porcine large intestine: a preliminary study", ***Polish Journal of Veterinary Sciences***, 20(2), 213-220, 2017.

Damoogh, S., Vosough, M., Hadifar, S., Rasoli, M., Gorjipour, A., Falsafi, S. and Behrouzi, A., "Evaluation of *E. coli* Nissle1917 derived metabolites in modulating key mediator genes of the TLR signaling pathway", ***BMC Research Notes***, 14(1), 1-7, 2021.

El-Zayat, S.R., Sibaii, H. and Mannaa, F.A., "Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: an overview", ***Bulletin of the National Research Centre***, 43(1), 1-12, 2019.

Emingil, G., Berdeli, A., Baylas, H., Saygan, B.H., Gürkan, A., Köse, T. and Atilla, G., "Toll-like receptor 2 and 4 gene polymorphisms in generalized aggressive periodontitis", ***Journal of Periodontology***, 78(10), 1968-1977, 2007.

Erdman, S.E., Rao, V.P., Poutahidis, T., Rogers, A.B., Taylor, C.L., Jackson, E.A., Ge, Z., Lee, C.W., Schauer, D.B. and Wogan, G.N., "Nitric oxide and TNF- α trigger colonic inflammation and carcinogenesis in *Helicobacter hepaticus*-infected, Rag2-deficient mice", ***Proceedings of the National Academy of Sciences***, 106(4), 1027-1032, 2009.

Esposito, S., Molteni, C.G., Zampiero, A., Baggi, E., Lavizzari, A., Semino, M., Daleno, C., Groppo, M., Scala, A. and Terranova, L., "Role of polymorphisms of toll-like receptor

(TLR) 4, TLR9, toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor protein (TIRAP) and FCGR2A genes in malaria susceptibility and severity in Burundian children", *Malaria Journal*, 11(1), 1-8, 2012.

Fakhoury, M., Negrulj, R., Mooranian, A. and Al-Salami, H., "Inflammatory bowel disease: clinical aspects and treatments", *Journal of Inflammation Research*, 7, 113-120, 2014.

Ge, J., Han, T.J., Liu, J., Li, J.-S., Zhang, X.H., Wang, Y., Li, Q.Y., Zhu, Q. and Yang, C.M., "Meat intake and risk of inflammatory bowel disease: A meta-analysis", *Turkish Journal of Gastroenterology*, 26(6), 492-497, 2015.

Guagnozzi, D., Cossu, A., Viscido, A., Corleto, V., Annese, V., Latiano, A., Delle Fave, G. and Caprilli, R., "Acute intestinal obstruction and NOD2/CARD15 mutations among Italian Crohn's disease patients", *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 8(5), 179-185, 2004.

Güven, B. and Murat, C., "Çeşitli hastalıklarda Toll benzeri reseptörlerin rolü", *Sakarya Tıp Dergisi*, 2(1), 1-10, 2012.

Hanauer, S.B., "Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities", *Inflammatory Bowel Diseases*, 12(Suppl_1), 3-9, 2006.

Hendrickson, B.A., Gokhale, R. and Cho, J.H., "Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease", *Clinical Microbiology Reviews*, 15(1), 79-94, 2002.

Hishida, A., Matsuo, K., Goto, Y., Naito, M., Wakai, K., Tajima, K. and Hamajima, N., "No associations of Toll-like receptor 2 (TLR2)-196 to-174del polymorphism with the risk of *Helicobacter pylori* seropositivity, gastric atrophy, and gastric cancer in Japanese", *Gastric Cancer*, 13(4), 251-257, 2010.

Hong, J., Leung, E., Fraser, A.G., Merriman, T.R., Vishnu, P. and Krissansen, G.W., "TLR2, TLR4 and TLR9 polymorphisms and Crohn's disease in a New Zealand

Caucasian cohort", *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22(11), 1760-1766, 2007.

Hug, H., Mohajeri, M.H. and La Fata, G., "Toll-like receptors: regulators of the immune response in the human gut", *Nutrients*, 10(2), 203-219, 2018.

Hugot, J.P., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Olson, J.M., Lee, J.C., Beaugerie, L., Naom, I., Dupas, J.L., Van Gossum, A. and Orholm, M., "Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16", *Nature*, 379(6568), 821-823, 1996.

Jahantigh, D., Salimi, S., Alavi-Naini, R., Emamdadi, A., Owaysee Osquee, H. and Farajian Mashhadi, F., "Association between TLR4 and TLR9 gene polymorphisms with development of pulmonary tuberculosis in Zahedan, southeastern Iran", *The Scientific World Journal*, 2013, 1-8, 2013.

Karaali, Z.E., Candan, G., Aktuğlu, M.B., Velet, M. and Ergen, A., "Toll-like receptor 2 (TLR-2) gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus", *Cell Journal (Yakhteh)*, 20(4), 559-563, 2019.

Karban, A., Atia, O., Leitersdorf, E., Shahbari, A., Sbeit, W., Ackerman, Z., Mualem, R., Levine, A., Nesher, S. and Safadi, R., "The relation between NOD2/CARD15 mutations and the prevalence and phenotypic heterogeneity of Crohn's disease: lessons from the Israeli Arab Crohn's disease cohort", *Digestive Diseases and Sciences*, 50(9), 1692-1697, 2005.

Kikut, J., Konecka, N., Ziętek, M. and Szczuko, M., "Inflammatory bowel disease etiology: current knowledge", *Pteridines*, 29(1), 206-214, 2018.

Kundakci, A. and Pirat, A., "Toll benzeri reseptörler", *Türk Yogun Bakım Dergisi*, 10(2), 63-73, 2012.

Kurzwaski, G., Suchy, J., Kładny, J., Grabowska, E., Mierzejewski, M., Jakubowska, A., Debniak, T., Cybulski, C., Kowalska, E. and Szych, Z., "The NOD2 3020insC mutation and the risk of colorectal cancer", *Cancer Research*, 64(5), 1604-1606, 2004.

Li, J., Moran, T., Swanson, E., Julian, C., Harris, J., Bonen, D.K., Hedl, M., Nicolae, D.L., Abraham, C. and Cho, J.H., "Regulation of IL-8 and IL-1 β expression in Crohn's disease associated NOD2/CARD15 mutations", **Human Molecular Genetics**, 13(16), 1715-1725, 2004.

Liu, S., Wang, X., Shi, Y., Han, L., Zhao, Z., Zhao, C. and Luo, B., "Toll-like receptor gene polymorphisms and susceptibility to Epstein–Barr virus-associated and-negative gastric carcinoma in Northern China", **Saudi Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association**, 21(2), 95-103, 2015.

Lu, Y., Li, X., Liu, S., Zhang, Y. and Zhang, D., "Toll-like receptors and inflammatory bowel disease", **Frontiers in Immunology**, 9, 72-81, 2018.

Meena, N.K., Ahuja, V., Meena, K. and Paul, J., "Association of TLR5 gene polymorphisms in ulcerative colitis patients of north India and their role in cytokine homeostasis", **PLoS One**, 10(3), e0120697, 2015.

Messaritakis, I., Stogiannitsi, M., Koulouridi, A., Sfakianaki, M., Voutsina, A., Sotiriou, A., Athanasakis, E., Xynos, E., Mavroudis, D. and Tzardi, M., "Evaluation of the detection of Toll-like receptors (TLRs) in cancer development and progression in patients with colorectal cancer", **PloS One**, 13(6), e0197327, 2018.

Podolsky, D.K., "Inflammatory bowel disease", **The New England Journal of Medicine**, 347(417-429), 2002.

Qin, X., "Etiology of inflammatory bowel disease: a unified hypothesis", **World Journal of Gastroenterology**, 18(15), 1708-1722, 2012.

Sameer, A.S. and Nissar, S., "Toll-like receptors (TLRs): Structure, functions, signaling, and role of their polymorphisms in colorectal cancer susceptibility", **BioMed Research International**, 2021, 1-14, 2021.

Santos-Sierra, S., "Targeting Toll-like receptor (TLR) pathways in inflammatory arthritis: two better than one?", **Biomolecules**, 11(9), 1291-1307, 2021.

Scott, M.G., Nahm, M.H., Macke, K., Nash, G.S., Bertovich, M.J. and MacDermott, R.P., "Spontaneous secretion of IgG subclasses by intestinal mononuclear cells: differences between ulcerative colitis, Crohn's disease, and controls", ***Clinical and Experimental Immunology***, 66(1), 209-215, 1986.

Seril, D.N., Liao, J. and Yang, G.Y., "Colorectal carcinoma development in inducible nitric oxide synthase-deficient mice with dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis", ***Molecular Carcinogenesis***, 46(5), 341-353, 2007.

Singh, V., Srivastava, N., Kapoor, R. and Mittal, R.D., "Single-nucleotide polymorphisms in genes encoding toll-like receptor-2,-3,-4, and-9 in a case-control study with bladder cancer susceptibility in a North Indian population", ***Archives of Medical Research***, 44(1), 54-61, 2013.

Sjöqvist, U., Tribukait, B., Öst, A., Einarsson, C., Oxelmark, L. and Löfberg, R., "Ursodeoxycholic acid treatment in IBD-patients with colorectal dysplasia and/or DNA-anueploidy: a prospective, double-blind, randomized controlled pilot study", ***Anticancer Research***, 24(5B), 3121-3128, 2004.

Snook, J., "Are the inflammatory bowel diseases autoimmune disorders?", ***Gut***, 31(9), 961-963, 1990.

Steppa, R., Cieślak, A., Szumacher-Strabel, M., Bielińska-Nowak, S., Bryszak, M., Stanis, M. and Szkudelska, K., "Blood serum metabolic profile and fatty acid composition in sheep fed concentrates with Camelina sativa cake and distillers dried grains with solubles", ***Small Ruminant Research***, 156, 20-26, 2017.

Tahara, T., Arisawa, T., Wang, F., Shibata, T., Nakamura, M., Sakata, M., Hirata, I. and Nakano, H., "Toll-like receptor 2-196 to 174del polymorphism influences the susceptibility of Japanese people to gastric cancer", ***Cancer Science***, 98(11), 1790-1794, 2007.

Trejo-De La O, A., Hernández-Sancén, P. and Maldonado-Bernal, C., "Relevance of single-nucleotide polymorphisms in human TLR genes to infectious and inflammatory diseases and cancer", *Genes & Immunity*, 15(4), 199-209, 2014.

Tukel, T., Present, D., Rachmilewitz, D., Mayer, L., Grant, D., Risch, N., Shalata, A. and Desnick, R.J., "Crohn disease: frequency and nature of CARD15 mutations in Ashkenazi and Sephardi/Oriental Jewish families", *The American Journal of Human Genetics*, 74(4), 623-636, 2004.

URL-1, <https://ankara.baskenthastaneleri.com/uploads/ulseratif1.jpg>, 01 Haziran 2022.

URL-2, <https://ankara.baskenthastaneleri.com/uploads/crohn.jpg>, 01 Haziran 2022.

URL-3, <https://www.bezelyedergi.net/post/patern-tan%C4%B1ma-resept%C3%B6rleri-toll-like-resept%C3%B6rlerin-yap%C4%B1lar%C4%B1-ve-fonksiyonlar%C4%B1>, 01 Haziran 2022.

Ünal, H.Ü., "Crohn hastalığında tedaviye güncel bakış", *Güncel Gastroenteroloji*, 16(1), 11-25, 2012.

Üzerk, M. and Çetinkaya, H., "Ülseratif kolitin klasik tedavisine genel bakış ve anti-TNF ajanların rolü", *Güncel Gastroenteroloji*, 13(1), 41-47, 2009.

Wong, D.V.T., Lima-Junior, R.C.P., Carvalho, C.B.M., Borges, V.F., Wanderley, C.W.S., Bem, A.X.C., Leite, C.A., Teixeira, M.A., Batista, G.L.P. and Silva, R.L., "The adaptor protein Myd88 is a key signaling molecule in the pathogenesis of irinotecan-induced intestinal mucositis", *PloS One*, 10(10), e0139985, 2015.

Zheng, M., Shi, S., Zheng, Q., Wang, Y., Ying, X. and Jin, Y., "Association between TLR-9 gene rs187084 polymorphism and knee osteoarthritis in a Chinese population", *Bioscience Reports*, 37(5), 1-20, 2017.

ÖZ GEÇMİŞ

..... tarihinde’da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi 2013 yılında Abia’da tamamladım. Gregory Üniversitesi Biyoloji ve Sağlık Bilimleri, İnsan Anatomisi Bölümü’nden 2017’de mezun oldum. Erasmus öğrencisi olarak Langston Üniversitesi, Oklahoma ABD’de Biyoloji okudum. 2019 Abuja Nijerya’da Bloom Health teknolojisinde gönüllü olarak ve aynı zamanda SKG pharmaceutical Şirket’inde uzman olarak çalıştım. 2020 yılından beri Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Biyoteknoloji Bölüm’ünde Yüksek Lisans çalışmalarımı sürdürmekteyim. Hayat bilimlerine ilgi duyan meraklı bir öğrenciyim ve özellikle ileride sağlık sektöründe çalışmalar yapmak istiyorum.

