



**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANTALYA KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

**ANTALYA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ**

**ÜLSERATİF KOLİT AKUT ALEVLENMESİNDE
BLASTOCYSTİS HOMİNİS'İN ROLÜ**

Dr. Mehmet KÖK

UZMANLIK TEZİ

ANTALYA, 2017

**T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
ANTALYA KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

**ANTALYA EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI KLİNİĞİ**

**ÜLSERATİF KOLİT AKUT ALEVLENMESİNDE
BLASTOCYSTİS HOMİNİS'İN ROLÜ**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ayhan Hilmi ÇEKİN

Dr. Mehmet KÖK

UZMANLIK TEZİ

ANTALYA, 2017

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli hocam Doç. Dr. Ayhan Hilmi Çekin'e,

Asistanlık sürecimde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Mustafa Yıldız, Prof. Dr. Erdal Kurtoğlu, Doç. Dr. Metin Sarıkaya, Doç. Dr. Funda Sarı, Doç. Dr. İbrahim Aslan, Doç. Dr. Banu Öztürk'e, Başasistan Uzm. Dr. Seyit Uyar ve Başasistan Uzm. Dr. Feyzi Bostan'a,

Bu çalışmada verilerin toplanmasında ve örneklerin çalışmasında destek veren Doç. Dr. Yeşim Çekin'e, Uzm. Dr. Fatma Gülsün Koçlar'a,

Zorlu asistanlık sürecinde her zaman yardıma hazır olan, sıkıntılı ve güzel günleri paylaştığım başta Dr. Süleyman Dolu, Dr. Gökhan Köker olmak üzere birlikte çalışmaktan keyif aldığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Her türlü fedakarlığı ve desteği esirgemeyen hayat arkadaşım Cancanım'a ve sadece bu tezin hazırlanmasında değil, tüm hayatım boyunca desteklerini hep yanımda hissettiğim, beni bugünlere ulaştıran aileme sonsuz teşekkürler...

Dr. Mehmet KÖK

Antalya, 2017

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR DİZİNİ	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
RESİMLER ve ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Ülseratif Kolit	2
2.1.1. Tanım ve tarihçe	2
2.1.2. Epidemiyoloji	2
2.1.3. Patofizyoloji	3
2.1.3.1. İnflamatuvar barsak hastalığı ve immün sistem	4
2.1.3.2. Mukozal immün sistem	4
2.1.3.3. Doğal immün sistem	6
2.1.3.4. Edinsel immün yanıt	9
2.1.3.5. İBH'nin immünolojik patogeneğinde bilinenler	12
2.1.3.6. Çevresel etkenler	15
2.1.3.7. İBH ve mikrobiyota	16
2.1.4. Klinik	23
2.1.4.1. Tanı	25
2.1.4.2. Hastalık aktivitesinin belirlenmesi	30
2.1.4.3. Ülseratif kolit ve alevlenme	32
2.1.4.4. Komplikasyonlar	35
2.2. Blastocystis Hominis	35
2.2.1. Tarihçe	35
2.2.2. Sınıflandırma	36
2.2.3. Morfoloji	37
2.2.4. Formların tanımlanması	38
2.2.4.1. Vakuoler form	38
2.2.4.2. Granüler form	39

2.2.4.3. Ameboid form	39
2.2.4.4. Kist formu	39
2.2.4.5. Diğer formlar	40
2.2.5. Hayat döngüsü	42
2.2.6. Epidemiyoloji ve prevalans	43
2.2.7. Patogenez ve klinik	43
2.2.8. Tanı	45
2.2.8.1. Mikroskopik tanı	45
2.2.8.2. Kültür yöntemi	45
2.2.8.3. Seroloji	45
2.2.8.4. Moleküler tanı	46
2.2.9. Tedavi	46
3. GEREÇ ve YÖNTEM	48
3.1. Hastalar ve Yöntem	48
3.2. Mikroskopik Tanı Yöntemleri	49
3.2.1. Serum fizyolojik yöntemi	49
3.2.2. Lugol yöntemi	49
3.2.3. PZR yöntemi	49
3.2.4. Real Time PZR	50
3.3. İstatistiksel Analiz	51
4. BULGULAR	52
4.1. Demografik Veriler	52
4.2. Hasta Gruplarının Değerlendirilmesi	53
4.3. Mayo Skoru ile Rachmilewitz Endoskopik Aktivite İndeksi ve Aktivite Belirteçlerinin Arasındaki İlişki	53
4.4. Blastosistis Hominis Tanı Yöntemlerini Karşılaştırma	54
4.5. Ülseratif Kolit ve B. hominis	54
4.6. Ülseratif Kolit Alevlenme Döneminde B. hominis Pozitifliğinin Önemi	55
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	62

KISALTMALAR DİZİNİ

ANCA	Anti-nötrofil sitoplazmik antikorlar
ASCA	Anti-Saccharomyces cerevisiae antikorlar
B. hominis	Blastocystis hominis
BT	Bilgisayarlı tomografi
CARD	Caspase activating recruitment domain
CD	Cluster of difererantiation
CH	Crohn Hastalığı
CRP	C-reaktif protein
EBI3	Epstein-Barr virüs-uyarılı gen
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ER	Endoplazmik retikulum
ESH	Eritrosit sedimentasyon hızı
FISH	Floresan in situ hibridizasyon
G-CSF	Granülosit koloni stimülan faktör
Ig	Immunoglobulin
IL	İnterlökin
İBH	İnflamatuvar barsak hastalığı
İBS	İrritabl bağırsak sendromu
MadCAM-1	Mukozal adressin hücrel adhezyon molekülü-1
MHC	Major histocompatibility complex
MMP3	Metallo-proteinazları
MUC	Mukus geni

NF-Kb	Nükler faktör kapa
NK	Doğal öldürücü hücreler
NLR	NOD benzeri reseptörler
NOD	Nükleotid bağlayıcı domain
NOS	Nitrik oksit sentaz
NSAİİ	Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
PRR	Desen tanıma reseptörleri
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RLR	RIG1 benzeri reseptörler
TGF-β1	Transforming growth factor-beta 1
Th	T Helper
TLR	Toll benzeri reseptörler
ÜK	Ülseratif kolit

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Tablo 2.1. Ülseratif kolitte başlangıç semptomları	24
Tablo 2.2. Ülseratif kolit'te ekstraintestinal bulgular, sıklığı ve hastalık aktivasyonu ile ilişkisi	24
Tablo 2.3. Biyolojik belirteçlerin duyarlılık ve özgüllükleri	27
Tablo 2.4. Truelove-Witts kriterleri	31
Tablo 2.5. Mayo skorlama sistemi	31
Tablo 2.6. Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi	32
Tablo 2.7. Blastosistozda etkili ilaçların dozları ve efikasiteleri	47
Tablo 3.1. Kullanılan primerler	51
Tablo 3.2. PZR amplifikasyonu için reaksiyon protokolü	51
Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikler	52
Tablo 4.2. Hasta gruplarının değerlendirilmesi	53
Tablo 4.3. Mayo skoru ile diğer aktivite belirteçlerinin karşılaştırılması	54
Tablo 4.4. B. hominis tanısında mikroskopik yöntem ile PZR'nin karşılaştırılması	54
Tablo 4.5. B. hominis saptananlarla saptanmayanlarının karşılaştırılması	55
Tablo 4.6. Aktivasyon döneminde B. hominis pozitifliğinin önemi	55

RESİMLER ve ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 2.1.	İnflamatuvar barsak hastalığı patogenezi
Şekil 2.2.	TLR sinyal yolu
Şekil 2.3.	NOD sinyal yolu
Şekil 2.4.	T hücre farklılaşması ve interlökinler
Şekil 2.5.	Edinsel immün yanıt
Şekil 2.6.	İBH’da dentrik hücrelerin rolü
Şekil 2.7.	İnsan gastrointestinal lümende baskın olan mikrobiyal türler
Şekil 2.8.	Yaşla birlikte barsak mikrobiyatındaki değişim
Şekil 2.9.	İnflamatuvar barsak hastalığında intestinal mikrobiyata
Şekil 2.10.	İBH’nin farklı dönemlerinde mikrobiyatadi değişim
Şekil 2.11.	Günümüzde İBH alevlenmesini belirlemede kullanılan yöntemler
Şekil 2.12.	Blastocystis spp.’nin hayat döngüsü
Resim 2.1.	Ülseratif kolit’in endoskopik görünümü
Resim 2.2.	ÜK histopatolojisi
Resim 2.3.	Blastocystis’in mikroskopik görünümleri
Resim 2.4.	Blastocystis trikrom boyama preparat görüntüsü
Resim 2.5.	Blastocystis kistlerinin nativ-lugol preparat görüntüsü

ÖZET

Ülseratif Kolit Alevlenmesinde Blastocystis Hominis'in Rolü

Giriş ve Amaç: İnflamatuvar barsak hastalardan (İBH) biri olan Ülseratif kolit (ÜK) rektum ve kolonu tutan, alevlenme ve remisyon dönemleriyle seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Yaklaşık bir asırdır bilinmesine rağmen etiyopatogenezi hala tartışmalıdır. Güncel görüşe göre, İBH'nin, mikrobiyata ile immun sistem arasındaki dengenin, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle bozulması (disbiyosiz) sonucu geliştiği düşünülmektedir. Bununla birlikte, remisyon ve alevlenme dönemindeki İBH'li hastaların mikrobiyatasının farklılık göstermesi, disbiyosizin alevlenmeyi de tetikleyebileceğini düşündürmüştür. Disbiyosizin İBH'nin ortaya çıkmasında ve alevlenmesindeki önemi anlaşıldıktan sonra birçok mikroorganizma ile İBH arasındaki ilişki araştırılmıştır. Son zamanlarda İBH ile ilişkisi araştırılan parazitlerin başında sebep olduğu klinik ve patolojik bulgularıyla ÜK'e benzerlik gösteren Blastocystis hominis (B. hominis) gelmektedir. Bu çalışmamızda ÜK akut alevlenmesinde, B. Hominis'in rolünü ortaya koymayı amaçladık.

Metod: Çalışmamıza Mayıs 2014 - Mayıs 2016 tarihleri arasında SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji polikliniğine başvuran veya Gastroenteroloji servisine yatışı yapılan, ÜK tanısı klinik, endoskopik, patolojik yöntemlerle ispatlanmış 18 yaş üstü hastalar dahil edilmiş olup, tanısı şüpheli olan (indeterminate kolit) ve ÜK dışında başka bir barsak hastalığı (Crohn, mikroskopik kolit,) enfeksiyöz kolit (B. hominis dışında), malignite vb. olan hastalar çalışma dışında tutulmuştur.

Çalışmamıza kontrol amaçlı başvuran 62 (%54.4), akut alevlenme ile başvuran 52 (%45.6) hasta dahil edilmiştir. Tüm hastaların dışkı örnekleri tek bir deneyimli uzman parazitolog tarafından incelendi. Her hastanın dışkı mikroskopisine ve dışkı kültürüne bakıldı. Ayrıca akut alevlenme ile başvuran hastaların dışkısında Clostridium difficile toksin A ve B, Entamoeba histolytica adhezin antijeni bakıldı. B. hominis dışında enfeksiyöz kolit saptanan hastalar çalışma dışında tutuldu. Hastaların alevlenme şiddetini belirlemek için Mayo skorlama sistemi kullanıldı.

Hastaların dışkıları mikroskopi (lugol) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile incelenerek B. hominis araştırıldı. Dışkı örneklerinde direkt bakıda sayıdan bağımsız olarak B. hominis her hangi bir formu görüldüğünde “B. hominis pozitif” olarak değerlendirildi. Eş zamanlı her hastadan 2 mg dışkı örneği alınarak PZR yöntemi ile B. hominis tarandı.

Bulgular: Çalışmamıza 64 (%56,1) erkek ve 50 (%43,9) kadın olmak üzere toplam 114 ÜK hastası dahil edilmiştir. Hastalarımızın yaş ortalaması 43±13 yıl olarak hesaplanmıştır. Hastaların 62’si (%54.4) remisyon, 52’si (%45.6) aktivasyon döneminde başvurmuştur.

Direkt bakı yöntemi kullanılarak, akut alevlenme ile gelen hastaların 8/52’sinde (%15.3) remisyon ile başvuran hastaların ise 5/62’sinde (%8) B. hominis saptandı. PZR yöntemi kullanılarak, akut alevlenme ile gelen hastaların 17/52’sinde (%32.6) remisyon ile başvuran hastaların 20/62’sinde (%32.2) B. hominis saptanmıştır. Remisyon ve akut alevlenme grubundaki B. hominis prelavalansı arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (p=0.961). PZR altın standart olarak alındığında, mikroskopik yöntemin sensitivitesi %21.6 spesifitesi %93.5 bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda akut alevlenme ve remisyon ile başvuran hastalardaki B. hominis sıklığını benzer, prelavalansını ise oldukça yüksek bulmamız (%32,4) B. hominis’in ÜK’de sık rastlanan bir parazit olmakla birlikte ÜK aktivasyonunda rolünün olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda B. hominis tanısında mikroskopik yöntemin duyarlılığını düşük özgünlüğünü yüksek bulmuş olmamız, bu testin B. hominis tanısında gerçekte B. hominis saptanan kişileri tespit etmede iyi bir yöntem olmadığını tarama yöntemi olarak ta kullanımının uygun olmadığını göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Ülseratif kolit, aktivasyon, remisyon, Blastocystis hominis

ABSTRACT

Role of Blastocystis Hominis in Acute exacerbation of Ulcerative Colitis

Intraduction and Aim: Ulcerative colitis (UC), as a part of inflammatory bowel diseases (IBD), is a chronic inflammatory disease characterized with exacerbation and remission periods. Although it has been known for nearly hundred years, its etiopathogenesis is still unclear. According to our knowledge, the disease arises as a consequence of impaired balance between immune system and microbiota by the effects of environmental and genetic factors. Microbiota of patients during remission and exacerbation periods is different from each other in studies relating to this subject. The differences in the microbiota of patients with IBD suggests that dysbiosis may also trigger exacerbations. Subsequently, many microorganisms have been investigated for this purpose in UC patients. Recently, because its clinical and pathological findings similar to UC Blastocystis hominis (B. hominis) is the leading cause of these microorganisms. In this study, we aimed to determine the role of B. hominis in acute exacerbation of UC.

Method: Patients with UC, diagnosed with clinical, endoscopical and pathological methods, older than 18 years old and applied to Antalya Education and Research Hospital Gastroenterology clinic for routine control or acute exacerbation between May 2014 and May 2015, were included in the study. Patients with indeterminate colitis and others bowel diseases (Crohn's disease, infectious colitis other than B. hominis, malignancy etc.) were excluded.

Fifty-two patients with acute exacerbation for UC and 62 patients in remission period as a control group were included the study. All patient's stool specimens were investigated by an expert parasitologist with direct microscopy and were cultured. Clostridium difficile toxin A and Entamoeba histolytica adhesion antigens were also investigated in stool specimens of patients with acute exacerbation. Patients with detected any infectious microorganisms other than B. hominis were excluded from the study.

Mayo scoring system was used to determine the severity of UC. Stool specimens were investigated with microscopy (lugol method was used) and polymerase chain reaction (PCR) for detection of *B. hominis*. Test was named as “*B. hominis* is positive” when any form of *B. hominis* was detected in stool.

Results: Totally 114 patients (64 male (56,1%) and 50 (43,9%) female) with UC were included in the study. Mean age of patients was 43 ± 13 years. 62 patients (54,4%) were in remission period and 52 patient (45,6%) were in acute exacerbation period.

B. hominis were detected in 8 (15,3%) patients in acute exacerbation group and 5 (8%) patients in remission group with direct microscopy. With PCR method, *B. hominis* was detected in 17 (32,6%) patients in exacerbation group and 20 (32,2%) patients in remission group. There was not a significant relation between exacerbation and remission periods in terms of *B. hominis* ($p=0.961$) with PCR method. When PCR method is accepted as gold standard, sensitivity of microscopic method was 21,6% and spescifity was 93,5%.

Conclusion: Although *B. hominis* prevalence was high in our study, it was not different in exacerbation and remission periods. As a result, *B. hominis* is a common parasite in UC patients however, it has no role for acute exacerbation of UC. We also found that sensitivity of microscopic method was low and specifity was high. So, microscopy is not an appropriate method for screening *B. hominis*.

Key words: Ulcerative colitis, Activation, Remission, Blastocystis hominis

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH), gastrointestinal sistemin akut ve kronik inflamasyonuyla karakterize alevlenme ve remisyon dönemleri ile giden hastalık grubudur. İBH'nın Crohn hastalığı (CH) ve Ülseratif kolit (ÜK) olmak üzere iki ana alt grubu vardır. ÜK ve CH aynı hastalık grubu içerisinde yer alsalar da etiyoloji, klinik seyir ve tedavi yöntemleri oldukça farklı iki hastalıktır. İki hastalık arasındaki en önemli fark; CH ağızdan anüse kadar tüm gastrointestinal kanalının segmenter tarzda ve transmural inflamasyonla karakterize iken ÜK rektumdan itibaren proksimale doğru değişik uzunluklarda, arada sağlam kısım bırakmaksızın sadece kolon mukozasını tutar (1). Yaklaşık bir asırlık bilinmesine rağmen, İBH'nın etyopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Güncel görüşe göre, İBH'nın, mikrobiyota ile immün sistem arasındaki dengenin, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle bozulması (disbiyosiz) sonucu geliştiği düşünülmektedir (2). Bununla birlikte, remisyon ve alevlenme dönemindeki İBH'li hastaların mikrobiyotasının farklılık göstermesi, disbiyosiz'in alevlenmeyi de tetikleyebileceğini düşündürmüştür (3). Disbiyosizin İBH'nin ortaya çıkmasında ve alevlenmesindeki önemi anlaşıldıktan sonra birçok mikroorganizma ile İBH arasındaki ilişki araştırılmıştır. Son zamanlarda İBH ile ilişkisi araştırılan parazitlerin başında sebep olduğu klinik ve patolojik bulgularıyla ÜK'e benzerlik gösteren *Blastocystis hominis* (B. hominis) gelmektedir. Bu çalışmamızda ÜK akut alevlenmesinde, B. hominis'in rolünü ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ülseratif Kolit

2.1.1. Tanım ve tarihçe

Ülseratif kolit (ÜK) ilk olarak 1859 yılında Samuel Wilks tarafından basilli dizanteriden ayırt edilmiş ve “Basit İdiopatik Kolit” olarak isimlendirilmiştir (4). Bankes ise; aynı tarihlerde şiddetli inflamasyonla karakterize dilate, incelmış, kolon hastalığını tarifleyip ‘İdiopatik Kolit’ adını kullanmıştır (5). Hawkins 1909 yılında hastalığın akut ataklarla veya kronik seyir gösterebileceğini ve bazen ilk atakta bile ölümcül olabileceğini ifade etmiştir (6). 1932’de ise Crohn ve arkadaşları terminal ileumun transmural iltihabını “Rejyonal İleitis” olarak tanımlamış ve ÜK’ten ayrı bir hastalık olduğunu belirtmiştir (7). Bununla birlikte günümüzde gelişmiş ayırıcı tetkiklere rağmen hastaların hala %10-15’inde ÜK ve Crohn (CH) arasında ayırım yapmak olanaksızdır ve bu durum indetermine kolit [mikst tip inflamatuvar barsak hastalığı (İBH)] olarak adlandırılır.

2.1.2. Epidemiyoloji

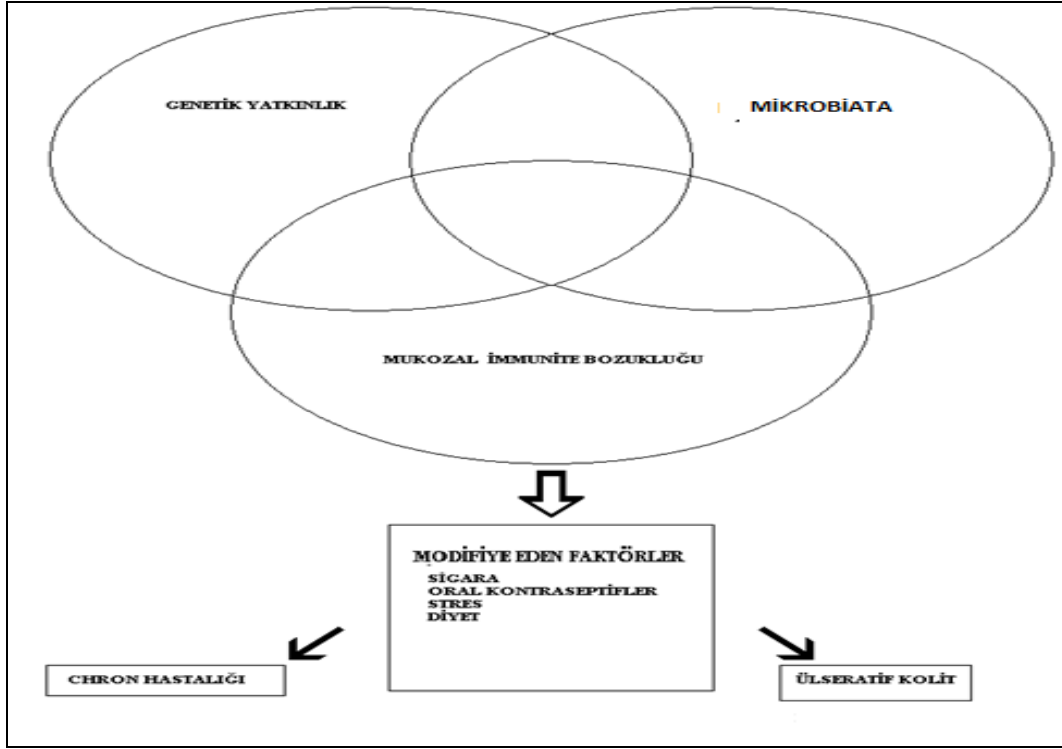
İBH insidans ve prevalansı coğrafi lokalizasyona cinsiyet ve yaşa göre değişmektedir. Coğrafi olarak Kuzey Avrupa ülkelerinde, ırk olarak beyaz ırkta, etnik köken olarak da Yahudilerde fazla görülmektedir. Bu oranlardaki değişikliklerin çevresel faktörlerin hastalığın ortaya çıkmasında belirgin rol oynadığını düşündürmektedir (8). Tüm dünyada İBH insidansının ÜK için yaklaşık 0.5- 24.5/100.000 kişi/yıl ve CH için 0.1-16/100.000 kişi/yıl oranında olduğu bildirilmiştir (9). Britanya, Kuzey Avrupa ve Amerika’da yüksek insidansın, Asya, Japonya ve Güney Amerika ise düşük insidansın bulunduğu bölgelerdir. Bölgeler arasında görülme sıklığı açısından 100 kat kadar fark olabilmektedir (10). Ülkemizde ise; 2001-2003 yılları arasında yapılan çok merkezli bir epidemiyolojik araştırmada ÜK insidansı 4.4/100.000 kişi/yıl, CH insidansı 2.2/100.000 kişi/yıl bulunmuştur (11). Bu verilere göre ülkemizde İBH insidansının Kuzey ve Batı Avrupa’dan daha az, Ortadoğu insidansına daha yakın olduğu, ÜK’nin doğu bölgelerimizde, CH’nin ise Marmara Bölgesi’nde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (12). ÜK erkeklerde biraz daha fazla görülürken, CH’de hafif düzeyde kadın predominansı mevcuttur. ÜK’te erkeklerdeki insidansı gittikçe artarken kadınlarda da insidansta azalma görülmektedir (13). CH ve ÜK, çoğunlukla genç popülasyonun hastalığıdır. Hastalık

başlangıcındaki yaş dağılımında iki pik dönem görülür. İlk pik 15-25 yaşları arasında, ikinci pik ise 55-65 yaşları arasında görülür (14,15). Türkiye verilerine göre yaş grupları dağılımına bakıldığında; ÜK'te 20-29 yaş arasında prevalans 1.95/100.000, 40-49 yaş arasında 4.77/100.000, 50-59 yaş arasında pik yapıp 6.55/100.000 olmaktadır (15). İBH, ayrıca ekonomik durumu ve eğitim düzeyi yüksek kişilerde ve şehirde yaşayan insanlarda daha sık görülmektedir (16,17).

2.1.3. Patofizyoloji

İBH yaklaşık bir asırdır bilinmesine rağmen etiyopatogenezi (çeşitli mekanizmalar açıklansa da) hala tam olarak bilinmemektedir. Etiyopatogenezdeki güncel yaklaşım; genetik yatkınlık, çevresel değişkenler, mukozal immunitenin bozulması, enterik mikrobiyatanın kendisinin veya etkilerinin değişmesi gibi faktörlerin bir veya birkaçının bir araya gelmesi sonucu hastalığın ortaya çıktığı veya tetiklendiği yönündedir (18) (Şekil 2.1).

Yapılan genetik çalışmalarda birçok genin İBH'nın oluşumunda, tedaviye cevapta ve klinik seyrinde önemli etkileri olduğu gösterilmiştir (19). Bunların büyük çoğunluğu CH ile ilgili olmakla beraber, son zamanlarda ÜK ile ilişkilendirilen genler de keşfedilmiştir. Örneğin; NOD (The nucleotide oligomerization binding domain) gen varyantları ve musin yapımından sorumlu mukus geni -1 (MUC1) ve MUC3 birçok çalışmada ÜK ile ilişkisi gösterildi. Bunlar, genellikle mukozal immün bariyer ve enterik mikroorganizmaların konaklamaları için kritik önem taşıyan fonksiyonel varyant genlerdir (20,21). Buna rağmen genetik altyapının İBH'nın oluşumuna katkısı %20'den fazla değildir (19). Bu da yaşanan coğrafi bölge, diyet, sigara, stres gibi çevresel etmenlerin ne kadar önemli olduğunu gözler önüne sermektedir. Son zamanlarda İBH hastalarında genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle barsaktaki kommensal mikroorganizmalara karşı immuntoleransın bozulduğu, bu durumun İBH gelişiminde önemli rol oynadığı saptanmıştır (22).



Şekil 2.1. İnflamatuvar barsak hastalığı patogenezi (18).

2.1.3.1. İnflamatuvar barsak hastalığı ve immun sistem

Gastrointestinal kanal her gün diyet, ilaç, oral patojen teması gibi nedenlerle binlerce antijene ve mikroorganizmaya maruz kalmasına rağmen, immun sistem ve barsak florasının katkısıyla patojenler ayırt edilerek fizyolojik inflamasyonla yok edilmektedir. Meydana gelen inflamasyon baskılayıcı (düzenleyici) immun sistem sayesinde patolojik düzeyde immun yanıt engellenmektedir. Bu durum oral tolerans olarak isimlendirilir (23,24). Bağırsak bakterileri veya bunların intestinal lümende bulunan ürünlerine karşı doğal ve edinsel bağışıklık sisteminin bozulması, veya mukozal bariyer fonksiyonlarındaki intrinsek değişikliklerden dolayı bağırsaktaki organizmalar için uygunsuz immun yanıt oluşması oral toleransı bozduğu ve İBH'nın oluştuğu düşünülmektedir (25,26).

2.1.3.2. Mukozal immun sistem

İntestinal lümenin maruz kaldığı antijenlerin içinden zararsız olanların ayrılması ve patojenlerin yok edilmesinde, ilk defans basamağını mukozal immun sistemin epitelyal bariyeri oluşturmaktadır. Epitelyal bariyer sayesinde immunojenik antijenlerin gastrointestinal kanalın immun olarak aktif bölgesine temasına engellenir (27). Epitelyal (mukus) bariyer goblet hücrelerinden salgılanan mukus, Paneth hücreleri tarafından

salgılanan defensinlerden oluşur. Bu mukozal tabakanın bozulması, goblet hücrelerinin azalması ÜK'nin karakteristik bulgusudur (28).

Musin sentezinden sorumlu birçok gen olmakla birlikte, büyük bir kısmı MUC2 tarafından sentezlenmekte ve bu gende gelişen delesyonlar kolite neden olduğu farelerde gösterilmiştir. (29). ÜK'li hastalarda yapılan çalışmalarda da benzer şekilde, da en fazla MUC2 olmak üzere birçok musin alt tipinin sentezinin azaldığı saptanmıştır (30,31). Aynı şekilde Paneth hücrelerinden salınan defensinler de intestinal hemoastaz için çok önemli rol oynamaktadır. Bu hücrelerde meydana gelen disfonksiyon kolon mikrobiyotasının bozulmasına (disbiyosiz) (ilerde ayrıntılı bahsedilecektir) ve intestinal inflamasyonun artmasına neden olmaktadır (32). Musin sentezindeki ve Paneth hücre fonksiyonundaki bozukların genetik nedenlerin yanında artmış endoplazmik retikulum (ER) stresi sorumlu tutulmaktadır (32,33). Bu nedenle, İBH tedavisinde ER stresinin azaltmaya yönelik tedaviler araştırılmaktadır. Bu konudaki bir çalışmada, ER stresini azaltan kimyasal saponin olan tauroursodeoxycholate ve 4-phenylbutyrate'ın farelerde intestinal inflamasyonu önlediği gösterilmiştir (34).

Diğer bir savunma sistemi ise gastrointestinal yol boyunca uzanan epitelyum hücrelerini apikalde ve bazal kutuplarda tutan sıkı bağlantılardır. Bu sıkı bağlantılardaki disfonksiyon intestinal geçirgenliğin artmasına İBH patogeneğinde etkili olan eksternal patojenlerin invazyonuna neden olmaktadır (35,36).

Epitel hücrelerinden salgılanan mukus, treofil peptidler, glikoproteinler, fosfolipidler, glikokaliks gibi salgılar da mikroorganizmaların hücre membranlarına bağlanmasını engeller ve mukozayı kimyasal hasara karşı da korurlar (37,38). Bununla birlikte intestinal epitelyal hücreleri, lümeninde antijenleri tanıyan bellek hücreleri salgılar ve lümendeki antijenleri nötralize eden immunoglobulinlerin (Ig), iki taraflı geçişine olanak sağlar. Örneğin, immunoglobulin reseptörü tarafından IgA'nın iki taraflı geçişi sağlanır. Böylece lümene ulaşan IgA, lümende virüslerin ve lipopolisakkaritlerin epitel hücreleri arasından geçişlerini engeller (39,40). Bu mekanizma, İBH'nın inflamatuvar ortamında bozulmaktadır (41). Sağlıklı insanlarda intestinal mukozadan salgılanan immunoglobulinin büyük bölümü IgA iken, İBH'da IgM ve IgG'de büyük artış gözlenir. İBH'da IgG alt sınıflarında da değişiklik ortaya çıkar. ÜK'de IgG1 ve IgG3, CH'da ise; IgG2'de artış vardır (42).

Bozulmuş mukozal immunitenin İBH patogenezindeki rolünü destekleyen gerçek vakalarla yapılan çalışmalarda klinik olarak remisyonda olup, kolonik biyopsilerinde mukozal inflamasyonu destekleyen bulguları (akut inflamatuvar hücre infiltrasyonu, kript absesi ve musin depleksyonu) olan ÜK'li hastaların benzer bulguları olmayan hastalara göre daha sık alevlenme görülmektedir (43).

Özetle; intestinal mukus tabakasında inceltme, mukus içeriğinde değişiklikler, mukus içinde bakteri sayısının fazlalığı ve artmış bağırsak geçirgenliği, İBH ile ilişkili bulunmuştur (44).

2.1.3.3. Doğal immun sistem

Doğal immun yanıt hazırda olan bir yanıttır, hemen başlar ve sadece kendinden olmayana yöneliktir. Epitel hücreleri, doğal öldürücü hücreler (NK), kompleman sistemi, makrofajlar, fibroblastlar doğal immun yanıtta rol alır. Doğal bağışıklık sistemi, NK hücreleri ile antijenlere karşı ilk savaşı başlatırken dentritik hücreler ve makrofajlar antijen sunan hücreler edinsel bağışıklık sistemine uyarı ve tanıtım görevinde bulunurlar (27). İBH'da normal floraya karşı mukozal toleransın bozulması nedeniyle gelişen kronik inflamasyonun İBH'ya neden olabileceği veya tetikleyebileceği düşünülmektedir (24).

Doğal bağışıklık sistemi etkilerini üç reseptör aracılığı ile göstermektedir. Bunlar; patojenlerin opsonizasyonu için salgılanan mannan bağlayan reseptörler, fagositozu kolaylaştıran makrofaj çöpçü reseptörler ve patojenlerin tanınmasından sorumlu desen tanıma reseptörleri (PRR)'dir (45).

İBH patogenezinde önemli olan PRR'ler, Toll benzeri reseptörler (TLR), nükleotid bağlayıcı domain (NOD) benzeri reseptörler (NLR) ve RIG1 benzeri reseptörler (RLR) olmak üzere üç farklı reseptörden oluşur (46).

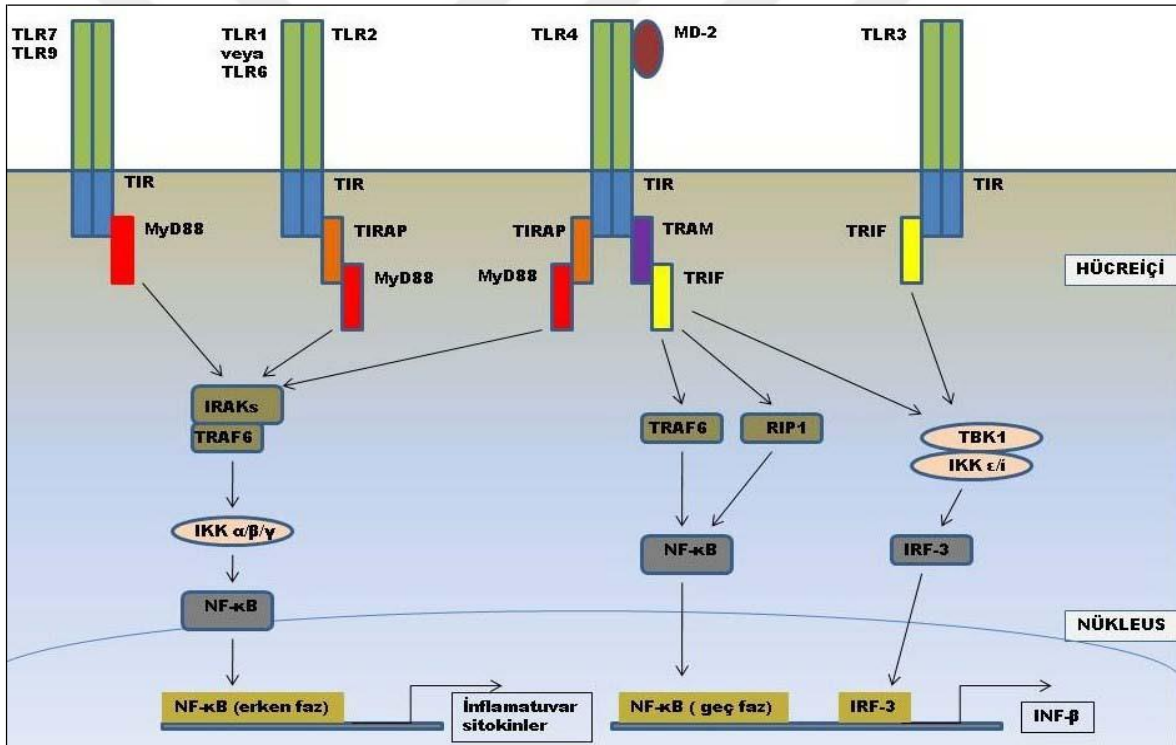
TLR'ler bakteri, fungus, virüs ve protozoa dahil birçok deseni tanıyabilme özelliğine sahipken, NLR'ler sadece bakteri yıkım ürünlerini tanıyabilmektedir. RLR'ler ise hücre içi viral sensörler olarak görev yapmaktadır (46,47). Bütün PRR'ler, mikroorganizmaların yaşaması için esansiyel olup, değiştirmesi zor olan patojen ilişkili moleküler patern denilen mikrobiyal komponentleri tanımaktadırlar (48).

TLR tüm gastrointestinal mukoza epitelinde, dendritik hücrelerde, miyofibroblastlarda ve lamina propriadaki immun hücrelerde bulunur (49). Bugün bilinen 11 TLR vardır. Bunların bazıları (TLR 1,2,4,5,9) hücre membranında, bazıları (TLR 3,7,8) ise intraselüler organellerde bulunmaktadır (50). TLR'ler nükleer faktör kapa (NF-Kb)

sinyal yolağı aktivasyonunu düzenleyerek bazı inflamatuvar sitokin ve hücre yüzey moleküllerinin ekspresyonunu kontrol eder (51). Böylece İBH'nın patogenezinde yer alan sayısız molekülün ekspresyonu uyarılır (Şekil 2.2.).

Bu yönde yapılan çalışmalarda İBH olgularında intestinal epitel hücrelerinde TLR9 ekspresyonunda artış saptanmıştır, bu reseptör direkt olarak bakteri DNA'sı ile uyarılır ve nötrofiller için kemoatraktan olarak kabul edilen interlökin (IL)-8 sekresyonunda artışa neden olur (51).

ÜK olgularında ise; CH'dan farklı olarak intestinal epitel hücrelerinde TLR4 ekspresyonu artmış olarak bulunmuştur (52). Bununla birlikte, TLR1[R80T] ve TLR2[R753G] ile ÜK'nin pankolit fenotipi arasında, TLR6[S249P] ile de ÜK'nin proktit fenotipi arasında ilişki olduğu bulunmuştur (53).



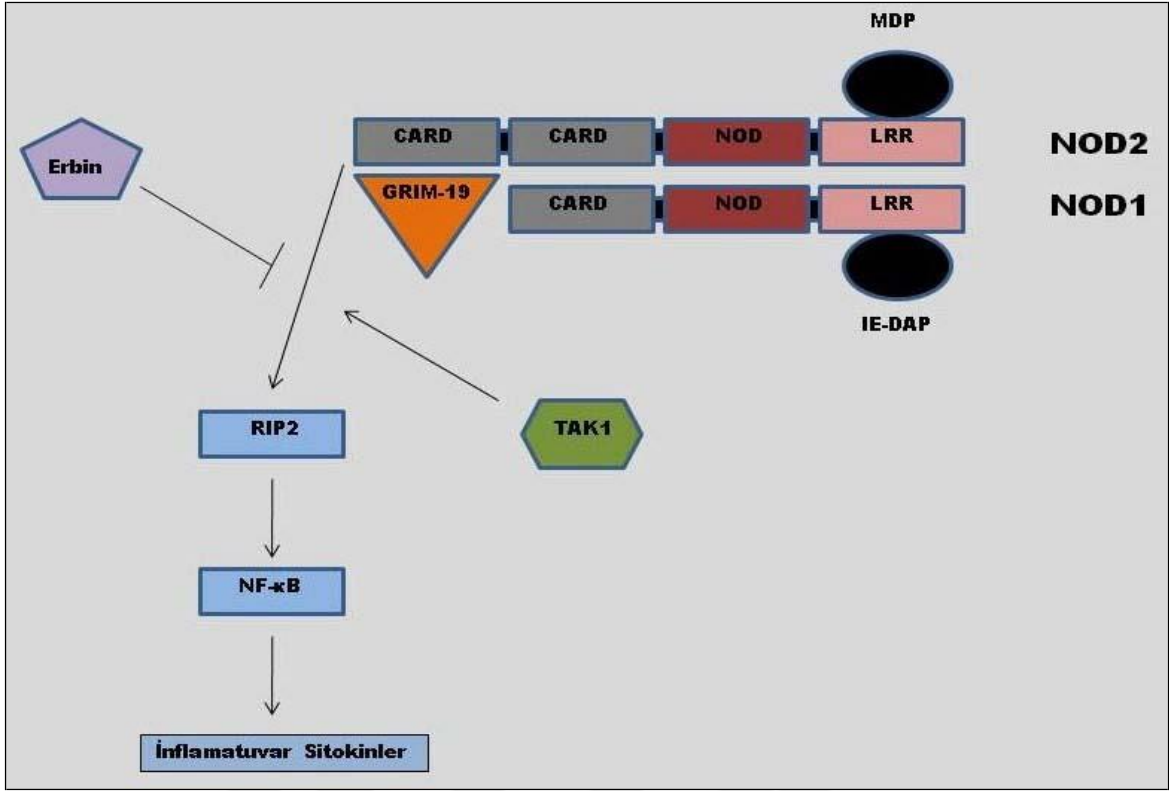
Şekil 2.2. TLR sinyal yolu. IKK: İκB kinaz, IRAK: IL-1 reseptör ilişkili kinaz, IRF3: İnterferon regülatör faktör-3, RIP1: Reseptör etkileşen serin/treonin protein kinaz-1, TBK1: TANK bağlayıcı kinaz, TRAF6: TNF reseptör ilişkili faktör 6, TRAM: TRIF ilişkili adaptör protein, TRIF: TIR domain içeren INF-β indükleyici adaptör, TIRAP: TIR domaini içeren adaptör proteini, MyD88: Myeloid differentiation response proteini (54)

TLR'lerden sonra 2000'li yılların başlarında hücre içi PRR'lerin yeni bir ailesi, Caterpillar gen ailesi tanımlanmıştır (55,56). Genelde, bu ailenin üyeleri protein-protein etkileşen kasetlerden oluşan amino-N terminal domaini, (caspase activating recruitment domain-CARDs, pyrins) ortada NOD ve spesifik ligantın tanımlanmasında görev alan karboksi-C terminal domain'den oluşur. Caterpillar ailesi kendi içinde N-terminal domaindeki moleküle göre sınıflandırılmaktadır. Bunlar içinde CARD molekülünü içeren NOD1 ve NOD2, bakterilerin hücre duvarı komponenti olan peptidoglikanları tanıyarak aktive olmaktadır (57). NOD proteinleri inflamatuvar yolağın ve apoptozisin regülasyonunu sağlar. NOD1 apoptozisi artırırken, NOD2 NF- κ B üzerinden sitokin ve antimikrobiyal salgıların sentezini düzenler (58). IL10 gibi antiinflamatuvar sitokinleri artırarak ve diğer PRR'lerin sentezini azaltarak immun yanıtı baskılar. Kommensal enterik bakterilere karşı toleransı sağlar (59). Diğer PRR'ler gibi bakterilerin otofaj ile öldürülmesini düzenler (60).

Genetik polimorfizm nedeniyle NOD2 fonksiyonundaki değişim başta NF- κ B sinyal sistemini bozarak ve birçok sitokinin ve antimikrobiyal peptitlerin salgılanmasını değiştirerek hem inflamasyonun başlamasına, hem de (diğer PRR'lerin sentezini artırmakta ve anti inflamatuvar sitokin IL10 sentezini bozarak) oluşan immun yanıtın kronikleşmesine neden olmaktadır (61,62,63). Bununla birlikte; bakterilerin otofajının da bozulması, MHC kompleksine antijen sunulmasını azaltarak immun yanıt baskılanmasına ve bakterilerin aşırı çoğalmasına neden olmaktadır (64) (Şekil 2.3.).

Genom çalışmalarında NOD1'in bulunduğu 7p14'de lokusundaki kompleks insersiyon/delesyon allelinin erken ortaya çıkan İBH ve ekstraintestinal bulgularla ilişkili, aynı zamanda terminal eksonundaki haplotipin de İBH ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (65). Bu çalışmalar mutant NOD1'in, İBH için duyarlılık oluşturduğunu ispatlamaktadır (66). NOD2 üzerindeki çalışmalar ise, mutant NOD2'nin özellikle CH için yatkınlık oluşturduğunu göstermiştir. Hatta NOD2'nin sentezinden sorumlu 16. kromozomun perisentromerik bölgesi NOD2 IBD1 geni olarak isimlendirilmiştir (67,68).

Özetle, TLR ve özellikle NOD2'de oluşan mutasyonlar, mukozal bariyer bozulmasına ve kommensal mikroorganizmaların kronik uyarısına karşı toleransın kaybolmasına ve barsak florasının değişmesine neden olmaktadır. Bunun da kronik inflamasyona neden olarak İBH'ya sebep olabileceği düşünülmektedir (62,69).



Şekil 2.3. NOD sinyal yolu. GRIM-19: Mortaliteyi indükleyen retinoid-INF ilişkili gen-19, TAK1: TGF- β aktive edici kinaz-1(45)

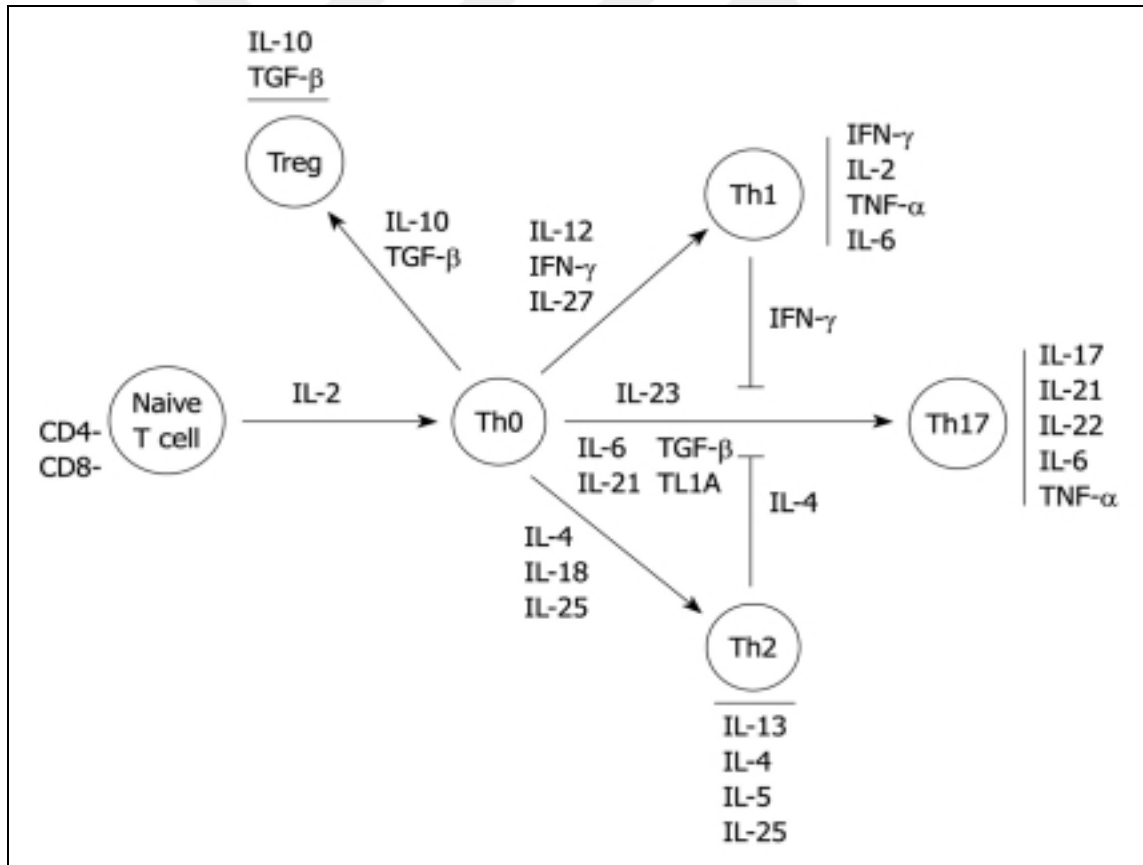
2.1.3.4. Edinsel immun yanıt

Edinsel immun yanıt, doğal immun yanıt hücreleri olan “profesyonel” antijen sunan hücreler (APC) tarafından sunulan yabancı antijenlere karşı cevap olarak tasarlanmıştır. Edinsel immun yanıtın aktivasyonu için doğal immun yanıt bir ön koşul olmasına karşın, edinsel immun yanıt İBH’da daha belirgin rol alır. Edinsel immun yanıt doğal immun yanıtın aksine daha geç olarak ortaya çıkar, antijen spektrumu daha geniş ve rastgeledir. Effektör hücreleri lenfositlerdir (27). İBH’da barsak epitel hücresi antijen sunan hücre olarak görev yaptığında, normal kişilerde T hücre toleransı gelişirken İBH’da mukozal bariyerin bozulması ve bu tolerans kaybolması nedeniyle T hücre aktivasyonu meydana gelir. Bunun sonucunda; fagositik hücreler, lenfositler ve terminal kompleman sistemi aktifleşerek villöz atrofi, kript hiperplazisi, vasküler ve doku hasarı gelişir (70,71).

Edinsel immun sistem; humoral ve hücreli immuniteden oluşur. Humoral immünite, bağırsakta büyük ölçüde IgA sınıfı antikor salgılayan B hücrelerine aracılık eder. Hücreli immünite CD4⁺ yardımcı T-hücreleri, CD8⁺ sitotoksik T-hücresi ve regülatuar T-hücrelerinden oluşur. CD4⁺ T hücreleri MHC sınıf II molekülleri aracılığı ile, CD8⁺ T hücreleri, tüm hücre yüzeylerinde bulunan MHC sınıf I molekülleri aracılığı ile sunulan

peptidlerle etkileşir (72). Naiv T hücreleri (CD4-, CD8-), MHC ile ilişkili antijen sunan hücreler (APC) tarafından sunulan yabancı antijenlerle etkileşir ve Th1, Th2, Th17, Treg, olmak üzere 4 ana farklı hücreye dönüşür. Naiv T hücreleri (CD4-, CD8-) önce IL-2 etkisi ile CD4+ (Th0) dönüşür. Th0 hücreleri de değişik biçimde farklılaşarak inflamatuvar sürecin gideceği yönü belirler. Farklılaşmada belirgin olan sitokinler IL-12, Interferon gama (IFN- γ) Th1 hücrelerinin, IL 23 ve IL-17, Th17 hücrelerinin, IL-4, IL-5 ve IL-13 Th2 hücrelerinin, IL-10, transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) ise; Treg hücrelerinin üretimini uyarırlar (73).

Th1 hücreleri, başta IL-2 ve IFN- γ salgılayarak hücrel immun cevabı düzenlerken, Th2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-13 salgılayarak humoral cevabı düzenler. Th17 hücreleri de IL-17 salgılayarak granülositlerin immun cevaba katılmalarını artırır (74). Treg hücreleri ise; Th1, Th2 ve Th17 hücrelerinin oluşturduğu immun yanıtı IL-10 ve TGF- β 1 aracılığı ile suprese eder (75) (Şekil 2.4.).



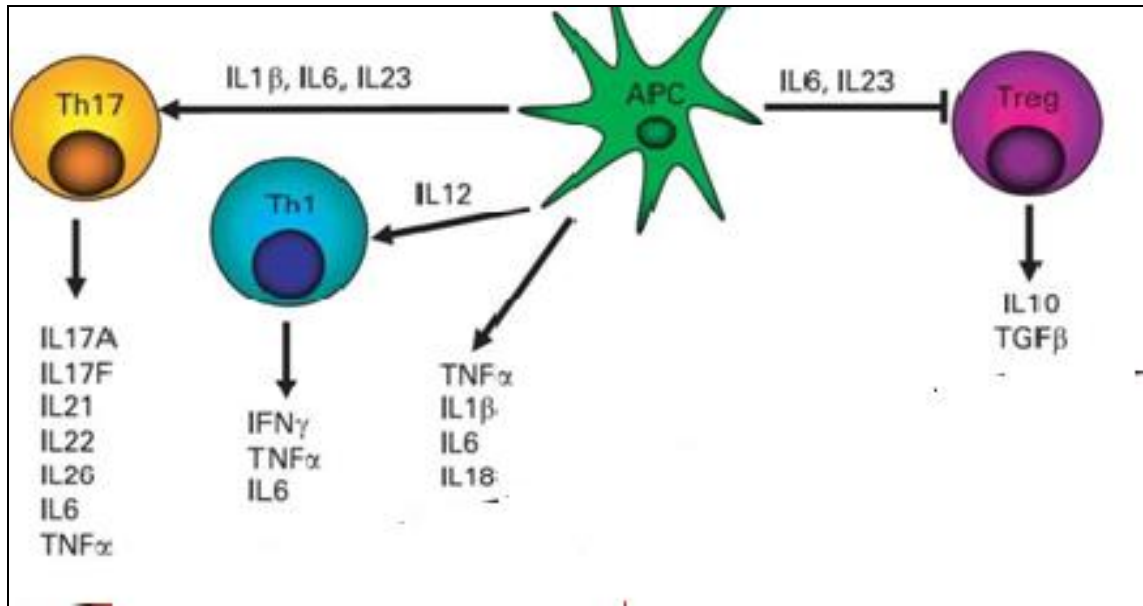
Şekil 2.4. T hücre farklılaşması ve interlökinler. IL: Interlökin; IFN: Interferon; TGF: Transforming growth faktör; TNF: Tümör nekrozis faktör; TL1A: TNF-like faktör 1A.

Son yıllarda, T-hücre yanıtının önemli mediyatörü olduğu anlaşılan yeni bir Th alt kümesi tanımlanmış, bu yeni hücelere salgıladıkları IL-17 nedeniyle Th17 adı verilmiştir (76). Antijenik stimülasyon sonucunda antijen sunan hücreler tarafından başta IL-23 olmak üzere salınan sitokinlerin etkisi ile Th17 hücre farklılaşması tetiklenir (72). Th17 hücreleri başta IL-17 olmak üzere, IL-6 ve granülosit koloni stimulan faktör (G-CSF) gibi birçok IL ve sitokin salgılar (77) (Şekil 2.5.).

Salınan proinflamatuvar sitokinler, çeşitli kemokinler, nitrik oksit sentaz (NOS)-2, metallo-proteinazları (MMP3) ve G-CSF, granülositlerin immun cevaba katılmalarını sağlamaktadır (74). Bu granülositler ekstrasellüler bakterilere karşı etki göstermenin yanında, makrofaj aktivasyonu ve kronik inflamasyon gelişmesinde çok önemli bir rol oynamaktadırlar.

Diğer taraftan IL-17'nin hücreler arasındaki sıkı bağlantıları (tight junction) güçlendirerek epitel tabakası üzerinde koruyucu etki gösterdiğini destekleyen birçok çalışma bulunmaktadır (78).

Özetle, normal bağırsakta Th17 hücrelerinin ana fonksiyonu epitel bariyer bütünlüğünün sağlanması iken, kronik inflamasyon varlığında özellikle IL-23 seviyelerinin artması ile antibakteriyel ve patojenik fonksiyonlar üstlendikleri söylenebilir (Şekil 2.5).



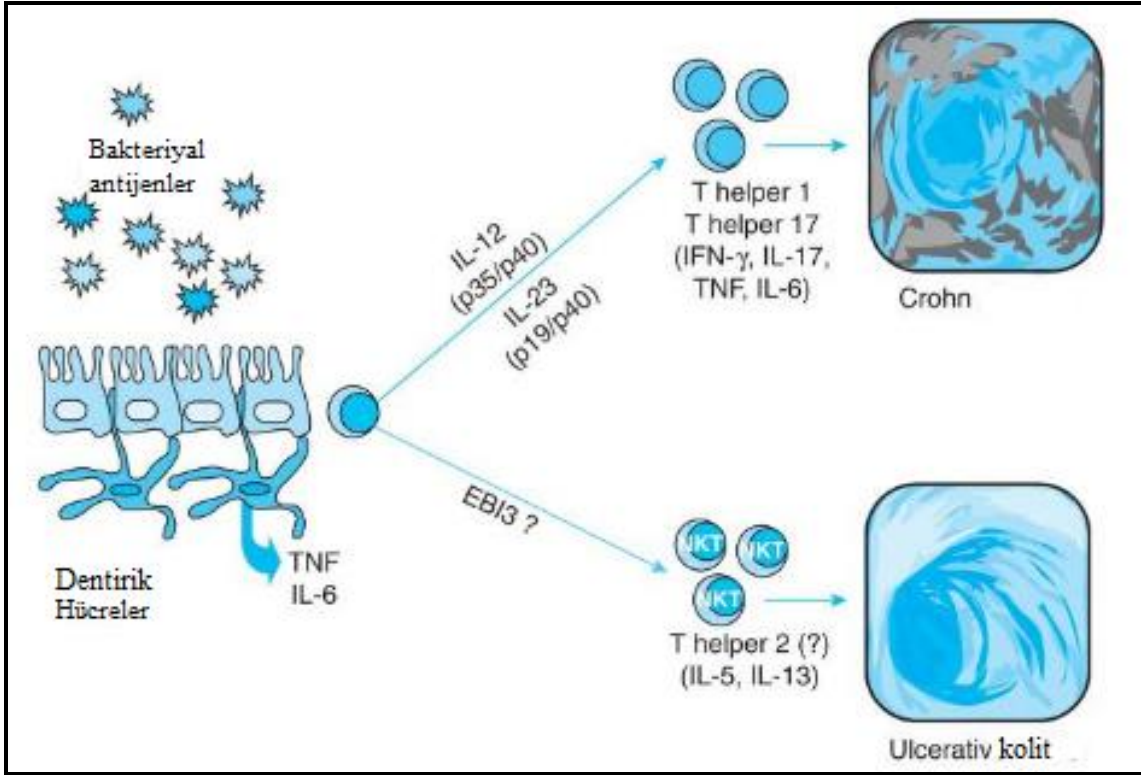
Şekil 2.5. Edinsel immun yanıt (73).

2.1.3.5. İBH'nin immunolojik patogenezinde bilinenler

Mukozal immun sistemde efektör (Th1/Th2/T regülasyon (Treg.) hücreleri) ve düzenleyici hücreler arasındaki denge mukozal homeostazisi sağlar. Bu dengenin bozulması mukozal inflamasyona neden olur (79).

CH'de mukozada Th1 lenfositler esas olarak birikirken ÜK'de Th2 hücreler baskındır (80,81). CH'da Th1 hücreleri tarafından sentezlenen IL-12 ve IFN- γ 'nin yüksek seviyelerde saptanmıştır. Bununla birlikte anti-IFN- γ mAb veya anti-IL12 (p40) mAB ile tedavinin hastalık gelişimini baskıladığı saptanmıştır (51). ÜK hastaların inflame kolon dokusunda ise, IL-13 ve 5 üreten non-klasik NK T hücrelerin arttığı, bu hücrelerin de epitelyum hücrelerine karşı sitotoksik olduğu gösterilmiştir. Bu veriler, ÜK'nin IL-13 ve 5 üreten NK T-hücrelerin farklı bir alt kümesi tarafından aracılık edilen atipik Th-2 yanıtla ilişkili olduğunu göstermiştir (73) (Şekil 2.6).

IL-13'ün epitel hücrelerine karşı sitotoksiteyi artırdığı, apoptozu indükleyerek ve epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı proteinlerinin yapısını değiştirerek epitelin bariyer fonksiyonunu bozduğu bilinmektedir (82). Bununla birlikte; IL-13, NK hücrelerinin üretimini de indükler. Kolonik epitelyal hücrelerinde IL-13'ün aktivasyonu için gerekli sitokin sentezinden sorumlu Epstein-Barr virüs-uyarılı gen (EBI3)'in CH ya da kontrol dokularına kıyasla ÜK hastalarında mukozasında daha yüksek saptanmıştır. EBI3 eksikliği olan fareler de zayıf Th2 yanıt sergilendiği ve hem naiv, hem de NK T-hücre sayısının azaldığı görülmüştür. Bu veriler, EBI3 ile ilişkili sitokinlerin, ÜK patogenezinde önemli yeri olan NK T-hücrelerin üretimi için gerekli olabileceğini gösterdi (83). Sonuçta, IL-13 ve NK hücrelerinin ÜK patogenezinde anahtar rol oynadıkları IL-13 blokajı ve NK hücrelerinin baskılanmasıyla kolit gelişiminin engellendiğinin gösterilmesiyle de ortaya konulmuştur (82).



Şekil 2.6. İBH’da dentirik hücrelerin rolü: Dentirik hücreler barsaktaki bakteriyel antijenleri tanır ve interlokin-6 (IL-6), tümör nekrosis faktör (TNF) gibi proinflamatuvar sitokinler salgılayarak immun yanıtı başlatır. Bundan sonra eğer IL12 ve IL23 sentezlenirse T hücreleri T hepler 1(Th1) ve Th17ye dönüşür, başlıca IL17, interferon gama (IFN-γ) sentezlenir ve Crohn gelişir. Ama Epstein-Barr virusun indüklediği gen3 (EBI3), sentezlenirse T hücreleri Th2 ye farklılaşır, başlıca IL-5 IL13 sentezlenir ve ülseratif kolit gelişir (84).

İBH hastalarında yapılan çalışmalarda inflame mukozada IL-17 mRNA ekspresyonunun hem CH hem de ÜK’de arttığı saptanmıştır (85,86). CH ve ÜK hastalarında yapılan bir çalışmada; IL-17 başta olmak üzere Th-17 tarafından salınan bütün sitokinlerin düzeylerinde artış gözlenmiş ve bu artışın ÜK ‘te daha belirgin olduğu saptanmıştır (87). Özellikle ÜK hastalarının kolon mukozasında IL-23p19 mRNA ekspresyonunun arttığı ve artışın lamina propriadaki CD4+ T hücreleri tarafından IL-17 üretimini indüklediği gösterilmiştir (88).

İntestinal inflamasyon, iki değişik şekilde sonlandırılır. Birincisi, intestinal inflamasyonda rol alan efektör hücre (Th1/Th2) popülasyonlarında azalma, ikincisi ise; immunsupresyondan sorumlu Treg hücrelerinin aktivasyonunda artış olmasıdır. İBH’lı hastaların T hücrelerinde IL-12 kaybı ile apoptozisin azalması ortaya konulmuştur (89,90). Apoptozise karşı oluşan direnç İBH’da inflamasyonun kronikleşmesine neden olmaktadır.

Bu nedenle T hücreleri ve diğer efektör hücrelerdeki apoptozis indüksiyonu, İBH'da gelecekte terapötik mekanizmalarından biri olabilir (91).

Mukozal inflamasyonun fare modelleri sonuçları, İBH'nın Treg hücre defektlerinden dolayı gelişebileceğini göstermiştir (92). Bu durum; İBH'da immün toleransın bozulmasıyla, kendi antijenlerine karşı oluşan inflamatuvar cevabın artmasına neden olur (93). İBH tanısı olan olguların inflame kolon bölgesinden, elde edilen hücrelerde, mononükleer hücreler üzerindeki adhezyon moleküllerinin ekspresyonunda ve lökositlerin endotelial hücrelere bağlanmasında artış tanımlanmıştır (94,95).

ÜK'de artış gösteren adhezyon moleküllerinden biri olan mukozal adressin hücresel adhezyon molekülü-1 (MadCAM-1), mukozada $\alpha 4\beta 7$ ligandıyla aktifleşerek lenfosit adezyonunu ve ekstrasvazasyonu artırır (96,97). MadCAM-1 veya ligandı $\alpha 4\beta 7$ 'ye karşı (Vedolizumab) veya $\beta 7$ subnitine karşı (Etrolizumab) geliştirilen otoantikorlar lökosit göçünü ve kolonik inflamasyonu azaltır (98).

İBH'lı olgularda dolaşımda B hücrelerinin ve otoantikorların artış göstermesi, anormal B hücre regülasyonunun hastalığın patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmektedir (27). Bu antikorlar ÜK olgularında CH'ye göre daha fazla bulunur. Perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikorlar (P-ANCA), İBH olgularında tespit edilmiştir. Ancak, İBH patogenezinde antikor üretiminin doğrudan rolü olduğu henüz hiçbir çalışmada gösterilmemiştir. ANCA titresi ile hastalık aktivitesi arasında da ilişki bulunmamıştır (99). Serum antikor ölçümü, CH ile ÜK ayrımı için yararlı olabilir. İBH'lilerde anti-saccharomyces cerevisiae antikorları (ASCA) negatifliği ve P-ANCA pozitifliği, ÜK için; ASCA pozitifliği ve P-ANCA negatifliği CH için daha spesifik olduğu gösterilmiştir (100).

İBH hastalarında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, hastaların birinci derece akrabalarında İBH sıklığının arttığı (CH gelişme riski 35 kat, ÜK gelişme riski 15 kat), monozigotik ikizlerde hastalık rastlanma oranının dizigotik ikizlere oranla daha fazla olduğu ÜK'de hastalık olma oranı monozigotiklerde %6-17, dizigotiklerde %0-5, CH'da hastalık olma oranı monozigotiklerde %37-58, dizigotiklerde %3.9-12'dir (27,101,102). Hatta, akrabalar arasında hastalığın tipi ve davranışının büyük oranda benzerlik gösterdiğinin görülmesi, genetik faktörlerin İBH gelişiminde önemli rolü olduğunu ispatlamıştır (103). Nitekim 'Genom-çapı ilişkilendirme çalışmalarında' İBH için toplam 160'dan fazla riskli lokus bulunduğu ve bunların 110'unun ÜK ve CH için ortak olduğu tanımlanmıştır (104). Bunlar arasında, özellikle 16. kromozomdaki IBD1 ve 12.

kromozomdaki IBD2 lokusları ile İBH arasında güçlü ilişki saptanmıştır. IBD1 asıl olarak CH ile, IBD2 hem ÜK, hem de CH ile ilişkilendirilmiştir (105). IBD1 ile ilişkili tanımlanan NOD2 (veya CARD15) geni NOD2/CARD15 gen mutasyonları CH’da normal popülasyondan daha sık görülmektedir (105). İBH patogenezinde tanımlanan bir başka gen ise, IL23R genidir (106). Th17’nin anahtar sitokini olan IL-17 hem inflamatuvar bağırsak hastalıklarında, hem de deneysel T hücre aracılıklı oluşturulan kolit modellerinde yüksek miktarlarda bulunmuştur (107). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da kromozom 6 üzerindeki MHC (Major histocompatibility complex) genlerinden biri olan ve kompleksi çevreleyen İBH 3 ve İBH 6 lokuslarının ÜK’nin genetik predispozisyonunda rol aldığı saptanmıştır. Bu genin alleli olan HLA-DRB1 *0103’e sahip kişilerde ÜK’nin daha ağır seyrettiği gözlenmiştir (18).

2.1.3.6. Çevresel etkenler

Çevresel faktörlerin hastalığın gelişmesinde etkili olduğu düşünülmesine karşın, patogenez üzerindeki etkileri ile ilgili bilgiler yeterli değildir (108). Bu konuda birçok çevresel risk faktörü araştırılmış ve araştırılmaya devam edilmektedir. En çok üzerinde durulan etkenler; psikolojik faktörler, sigara, diyet, anne sütü ile yeterince beslenememe, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), antibiyotikler, prenatal olaylar, hijyen, bakteriyel, viral ya da paraziter ve çocukluk çağı enfeksiyonlarıdır.

İnflamasyon ve immün sistemin davranışsal ve duygusal faktörlerden etkilendiği mekanizmaların gösterilmesi ile psikolojik faktörlerin İBH patogenezinde rolü olabileceği düşünülmüştür. Remisyonadaki hastaların depresyon skorları arttıkça, hastalığın nüksetme risklerinin arttığı gösterilmiştir (109,110). Bu konu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Sigaranın CH için bir risk faktörü olduğu, hastalığın nüks ve cerrahiye gidiş sıklığını arttırdığı ve sigaranın bırakılmasının hastalığın düzelmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (111). Bununla birlikte, ÜK gelişme riski sigara içenlerde içmeyenlere göre daha düşüktür ve klinik daha hafif seyreder, aksine sigarayı bırakanların hiç sigara içmemiş olanlara göre, hastalığa yakalanma riski daha fazladır ve sigarayı bırakma alevlenmeye sebep olabilir (112,113).

Beslenme şeklinin İBH patogenezinde yer aldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda lif içeriği yüksek olan gıdaların alımı, bol miktarda meyve ve sebze tüketiminin İBH’a karşı koruyucu olduğu, modern hayat tarzının getirdiği beslenme alışkanlıklarının ise İBH görülme sıklığını arttırdığı gösterilmiştir (18,114). Anne sütü ile beslenmenin de İBH

gelişimine karşı koruyucu olduğu veya anne sütü alan bebeklerde İBH gelişim riskinin daha düşük olduğu saptanmıştır (12).

Birçok epidemiyolojik çalışma ile apendektomi ile İBH arasında negatif yönde bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (115). ÜK olgularında lamina propriadaki B lenfositlerin, tropomiyozine yönelik antikorlar oluşturduğu ve bu antikorların lenfoid dokudan zengin olan appendikste üretildiği gösterilmiştir. Appendektominin ise, antikor oluşumunu engelleyerek ÜK'ten koruyucu olduğu düşünülmektedir (116). NSAİİ kullanımıyla oluşan mukozal hasar ve inflamasyon; sağlıklı kişilerde baskılanabildiği halde, ÜK'te inflamasyon sürecini başlatarak relapsı indüklediği gösterilmiştir (27). Bununla birlikte, NSAİİ kullananlarda kullanmayanlara göre, İBH riskinin de arttığı görülmüştür (117).

İBH ile erken çocukluk çağında hijyen ve perinatal infeksiyonlar arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Perinatal infeksiyonlar, anne ya da infantta, İBH gelişimini etkileyebilmektedir. İsveç'te yapılan bir çalışmada perinatal sağlık sorunlarının (anne veya çocukta infeksiyon veya ciddi hastalık) İBH gelişimini 4 kat artırdığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada düşük sosyoekonomik seviyede ailelerin çocuklarında daha sonra İBH gelişme riskinin 3 kat fazla olduğu gösterilmiştir (118). Sık çocukluk çağı infeksiyonları veya daha fazla antibiyotik kullanımının da İBH için risk faktörü oluşturduğu düşünülmektedir (105).

2.1.3.7. İBH ve mikrobiyota

CH ve ÜK'nin en sık bakteri içeriği en yoğun olan distal ileum ve kolonu tutması; bakteri içeriğinin İBH patogenezinde önemli yeri olduğunu düşündürmüştür (119). Bu ilişki birçok çalışmayla da ortaya konulmuştur (119,120). Bu nedenle, günümüzde bağırsak florası, İBH'da inflamatuvar süreci sürükleyen esansiyel faktörlerden biri olarak görülmektedir (121). Bağırsak florasının bu etkilerinin anlaşılabilmesi için, önce normal floranın ve floranın gastrointestinal sistem üzerindeki etkisinin bilinmesi gerekir.

Tanım

Bakteri, virüs, parazit, mantar ve bazı tek hücreli ökaryotlardan oluşan trilyonlarca mikroorganizmanın bir araya toplanması ile meydana gelen barsak mikrobiyotası doğadaki en kompleks ekosistemlerden biridir. Çoğunluğunu bakterilerin oluşturduğu bu sistem; 1000'den fazla türde, 10^{14} üzerinde bakteri içerir ve sadece bu kısmı bile 1,5 kilogramın üzerinde bir organ gibidir (122). Mikrofloranın içerdiği bakteri sayısı; insan vücudundaki ökaryotik hücre sayısının yaklaşık 10 katı, toplam gen sayısı ise; insan genomunun

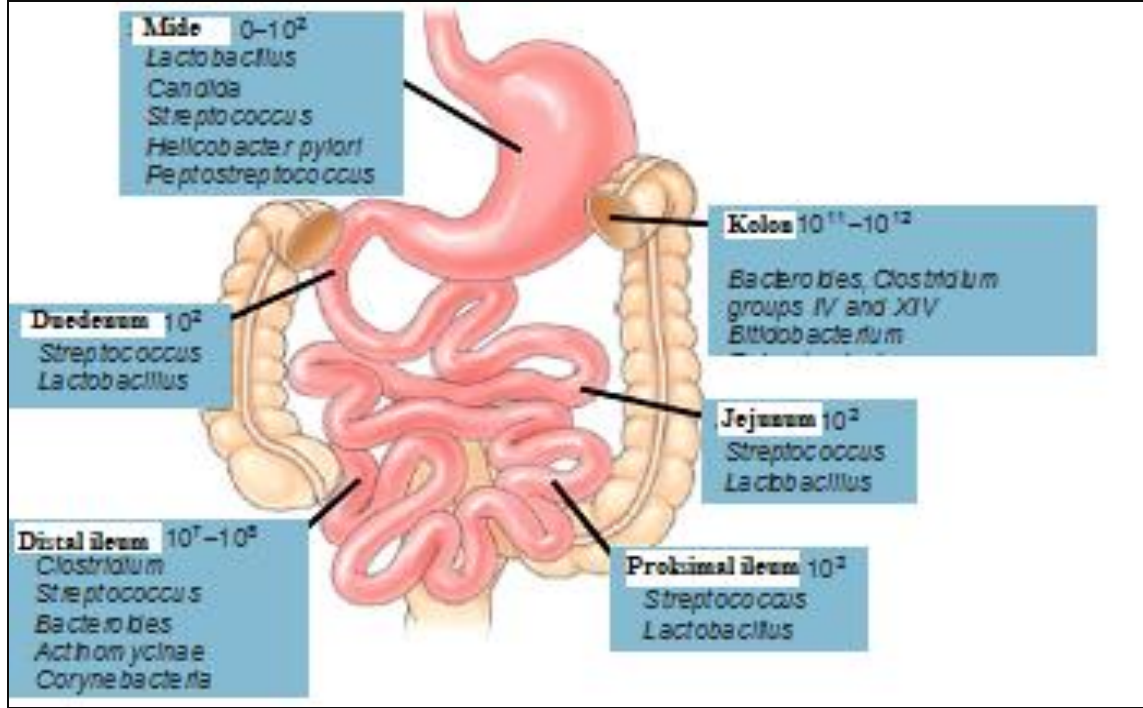
yaklaşık 50-100 katıdır (123). Bir başka deyişle insan, %10 insan ve %90 mikrobiyal hücrelerin birleşiminden oluşur (124). İnsan ve mikrobiyal genomlar (hologenom) zaman içinde beraber gelişmiş, metabolizmaları ve varlıklarını sürdürebilme özellikleri ayırlamaz şekilde birbirlerine karışmıştır. Bu simbiyotik ilişkinin bozulmasıyla normal barsak florasının değişmesine disbiyozis denir. Disbiyozis; günümüzde İBH etiyopatogenezinde en önemli köşetaşını oluşturmaktadır

Normal bağırsak florası

Normal bağırsak mikrobiyotasını belirlemek için yapılan çalışmalarda kültür bağımlı metodlar, polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile birleştirilen metodlar, floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve jel bazlı metodlar gibi yöntemler kullanılıyordu. Ama bu yöntemlerle birçok tür belirlenemiyordu. Ancak, son dönemlerde 16S RNA sekanslama gibi yeni nesil sekans analizlerinin kullanılması ile yeni türlerin tanımlanması ve sınıflandırılması hızlanmıştır (125). Bu çalışmalarda elde edilen verilerle, sağlıklı insanlarda barsak mikrobiyotası; Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacter, Actinobacter, Fusobacter ve Verrucomicrobia olarak 6 bakteriyel sınıfa ayrılmıştır (126). Bacteroidetes ve Firmicutes bağırsak mikrobiyotasının %90'ını (normal mikrobiyatanın yaklaşık %64'ünü Firmicutes, %23'ünü Bacteroidetes) oluşturur (127,128). Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria ve Verrucomicrobia filumları daha az yaygındır ancak insan sağlığı için önemli rol oynamaktadırlar.

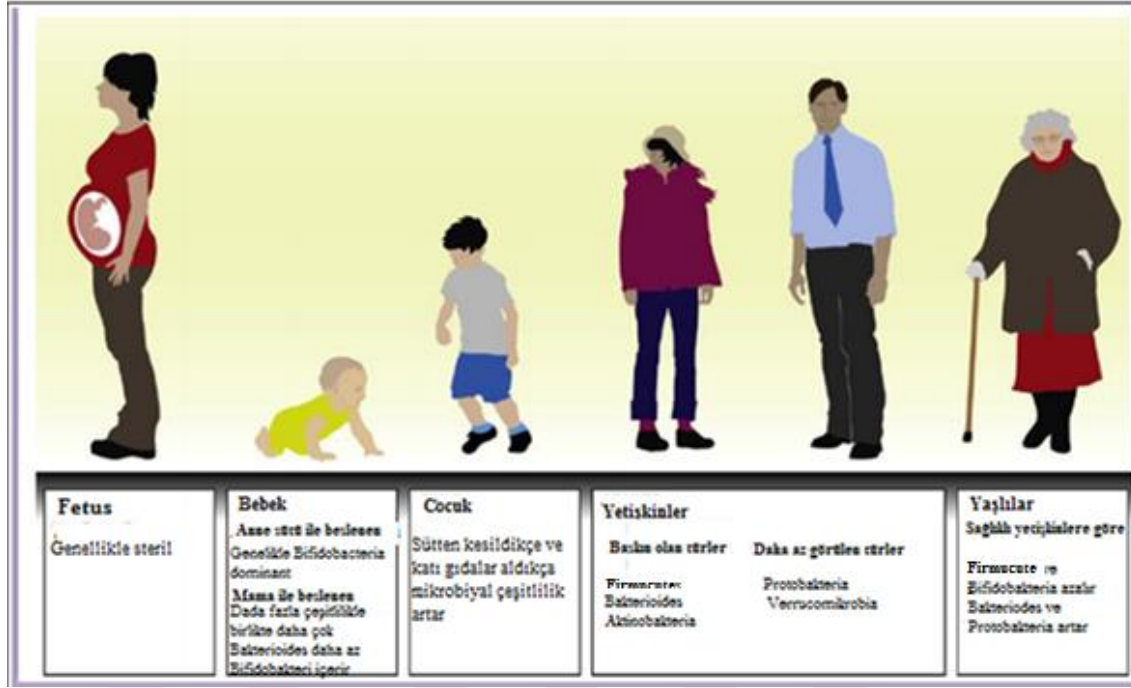
Mikrobiyatanın çeşitliliği ve yoğunluğu bağırsağın bölümlerine göre değişmektedir. Distale gidildikçe floranın sayısı ve çeşidi artar [Proksimal ileumda ortalama 10^2 organizma/ml'de ($0-10^5$ /ml) bulunurken, distal ileumda sayısı ortalama 10^5-10^6 organizma/ml'ye (10^3-10^9 /ml) ulaşır]. Duodenum bağırsağın diğer kısımlarına kıyasla çok az sayıda mikroorganizma barındırır, hatta duodenum ve jejunum sıklıkla “steril”dir, diyebiliriz. (Ortalama 10^2 organizma/ml içerir). Proksimal ince bağırsakta Clostridium, Bacteroides cinsi bakteriler ve koliformlar ya yok ya da çok az sayıda bulunurken; distal ileumda bu bakteriler baskın mikroorganizmalar olurlar. Laktik asit bakterilerine ilave olarak Bifidobacterium'lar sayıca artar, ayrıca Enterobacteriaceae ailesinden gram-negatif fakültatif aeroblar ve Bacteroides, Fusobacterium gibi zorunlu anaerobik cinsler görünürler (129,130) (Şekil 2.7).

Sağlıklı bir erişkinin kolon florası ise; büyük çoğunluğunu (yaklaşık %98'i) zorunlu anaeroblar; Bacteroides, Akkermansiaceae, Enterobacteriaceae, Bifidobacterium ve Clostridium groups IV ve XIV cinsleri oluşturmaktadır (119,127.131,132).



Şekil 2.7. İnsan gastrointestinal lümeninde baskın olan mikrobiyal türler (133).

Bağırsak florası stabil bir ekosistem olmasına rağmen, bu sistem çeşitli faktörler ve koşullar altında değişebilir. Mikrobiyal florayı etkileyen başlıca faktörler; konakçının genetik ve çeşitli fizyolojik durumları (yaş, stres, sağlık durumu, etnik çevre), diyet içeriği, çevresel faktörler (patojenlerle kontaminasyon, ilaç kullanımı vb.)'dir (Şekil 2.8.) (134). Yapılan çalışmalarda aynı ortamda yaşayan ve benzer beslenme alışkanlıkları olan bireylerin bağırsak mikroflorasının da benzer olduğu tespit edilmiştir (135,136).



Şekil 2.8. Yaşla birlikte barsak mikrobiyatındaki değişim (137).

İBH'li olguların barsak mikrobiyatası; sağlıklı insanlara göre daha az sayıda bakteri içerir ve değişkendir (138).

Mikrobiyatanın önemi / görevi

Mikrobiyatanın insan metabolizmasında ve immün sistem üzerinde önemli yeri vardır (139). İnsan tarafından sindirilemeyen karbonhidratların bakteriler tarafından fermentasyonu sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitleri, özellikle butirat, propiyonat ve asetat, hem bakteri hem de konakçı fizyolojisinde önemli role sahiptirler. Bu fermentasyon ile bakteriler kendileri için gerekli enerji ve besin maddelerini sağlarlar. Butiratın hemen tamamı kolon epitel tarafından alınır ve kolonositler için temel enerji kaynağını oluşturur (140,141). Bunların dışında, butiratın bağırsak mukozası üzerine diğer bir önemli etkisi de; müsin sekresyonunu ve antimikrobiyal peptidlerin üretimini indükleyerek mukozal bariyeri güçlendirmesidir (142). Ayrıca, bakteriler besin kaynakları için de yarışır. Örneğin; koliform basiller karbon için yarışarak, Shigella flexneri'nin çoğalmasını önleyebilirler (143).

Bağırsak florasının en önemli fonksiyonlarından biri, farklı mekanizmalarla mukozal bariyerin geçirgenliğinin düzenlenmesine yardımcı olmasıdır (144). Flora (daha önce bahsedildiği gibi) epitel hücrelerine gerekli besini sağlayarak, epitel hücrelerinin canlılığını devam ettirmesine ve maturasyonuna yardımcı olur. Kommensal bakteriler; epitel

hücrelerinin fırçamsı kenarındaki bağlanma bölgeleri için invaziv enteropatojen bakterilerle yarışarak, onların epitel içine girmesini önler (145). Örneğin, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*'un mukozal bariyeri geçmesini engeller (146).

Son olarak kommensal bakteriler; antibiyotik benzeri maddeler (bakteriosinler) üreterek veya immun sistemi aktive ederek, patojen mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ederler. En iyi bilinen bakteriosin, *E. coli* suşları tarafından üretilen "kolisin"dir (147). Yine, *Bacteroides* tarafından üretilen asetik ve propiyonik asit, *Shigella flexneri*'nin çoğalmasını azaltır (148). Bazı flora üyeleri ise, sekretuar IgA üretimini uyararak *Clostridia* gibi patojenlerden konağı korurlar (149).

İBH patogenezinde mikrobiyatanın rolü

İBH patogenezinde mikrobiyatanın rolü, İBH'ye yatkınlığı oluşturulan (İL10 sentezi engellenerek veya HLA-B27 ekspresyonu uyarılarak) fare modellerinde bakterisiz ortamda inflamasyonun gelişmediğinin, ama aynı farelere normal flora verildikten sonra kolit geliştiğinin gösterilmesiyle ortaya konmuştur (150,151). Bununla birlikte sağlıklı farelere, kolitli farelerin mikrobiyotası verildiğinde kolitin geliştiği de saptanmıştır (152).

Toplum çalışmalarında, İBH Avrupa ve Kuzey Amerika'da daha çok görülürken, son 50 yılda, gelişmişlik seviyesinin artmasına paralel Asya'da da artış göstermektedir. Bu durum "hijyen hipotezi" ile açıklanmaktadır. Bu hipoteze göre; hijyenik ortamlarda, mikroorganizmalarla temasın azalmasıyla normal enterik mikrobiyota gelişmemekte, bu da genetik yatkınlığı olan kişilerde inflamasyonu tetiklemektedir (153,154). Örneğin Hindistan'da temiz ortamlarda yaşama ve su içme imkanı olanlarda İBH insidansı, kirli ortamlarda hayvanlarla birlikte yaşayanlara göre daha fazla bulunmuştur (155).

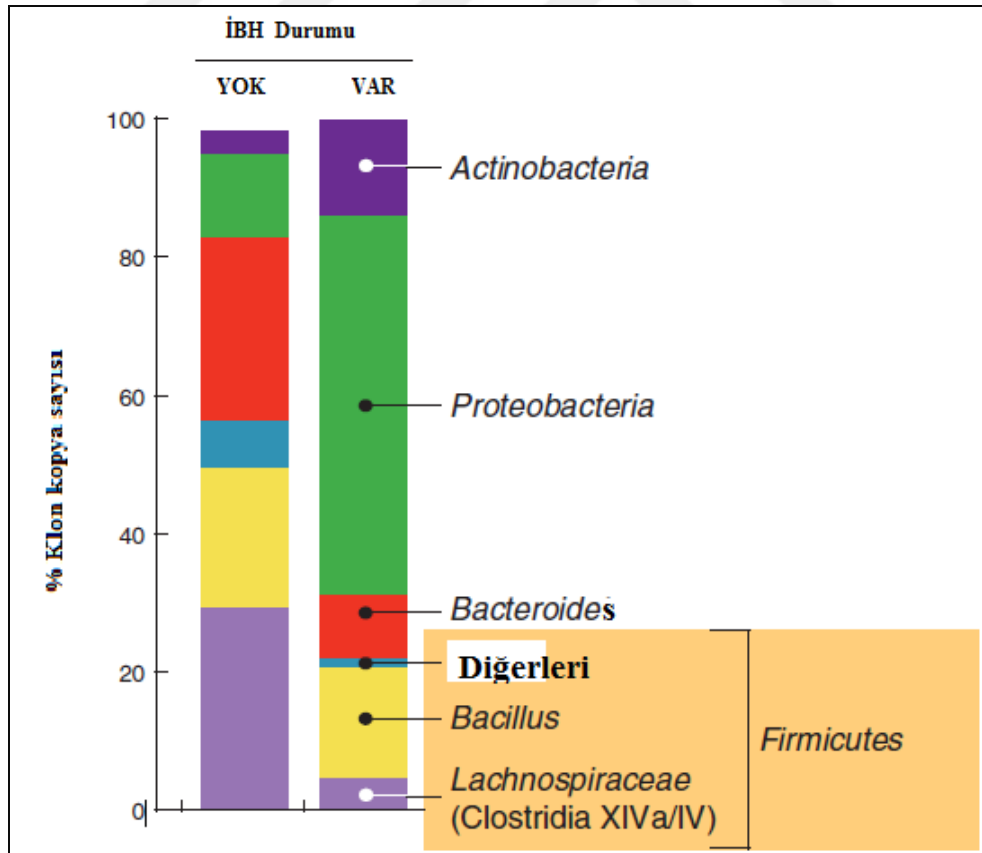
Deneyssel ve toplumsal çalışmalarla İBH ve mikrobiyata ilişkisi ortaya konmuştur. Ancak mikrobiyatanın İBH'yi hangi mekanizmalarla başlattığı veya tetiklediği tam olarak bilinmemektedir. Günümüzde İBH ve mikrobiyata arasındaki karmaşık ilişki dört farklı mekanizmayla açıklanmaktadır (133):

- 1) Floradaki disbiyozis, kronik inflamasyona neden olmaktadır.
- 2) Patojen bakteriler veya patojen hale geçen kommensal bakteriler inflamasyonu tetiklemektedir.
- 3) Genetik yapıdaki değişiklik mikrobiyatanın içeriğini değiştirerek kronik inflamasyona neden olmaktadır.
- 4) İmmun regülasyonun bozulması kronik inflamasyona sebep olmaktadır.

Bu mekanizmaların bir veya birkaçı bir araya gelerek immün sisteme sunulan bakteriyel antijenleri artırmakta ve/veya kommensal bakterilere karşı immün toleransı bozmakta, bu da kronik inflamasyona neden olmaktadır.

Disbiyozis

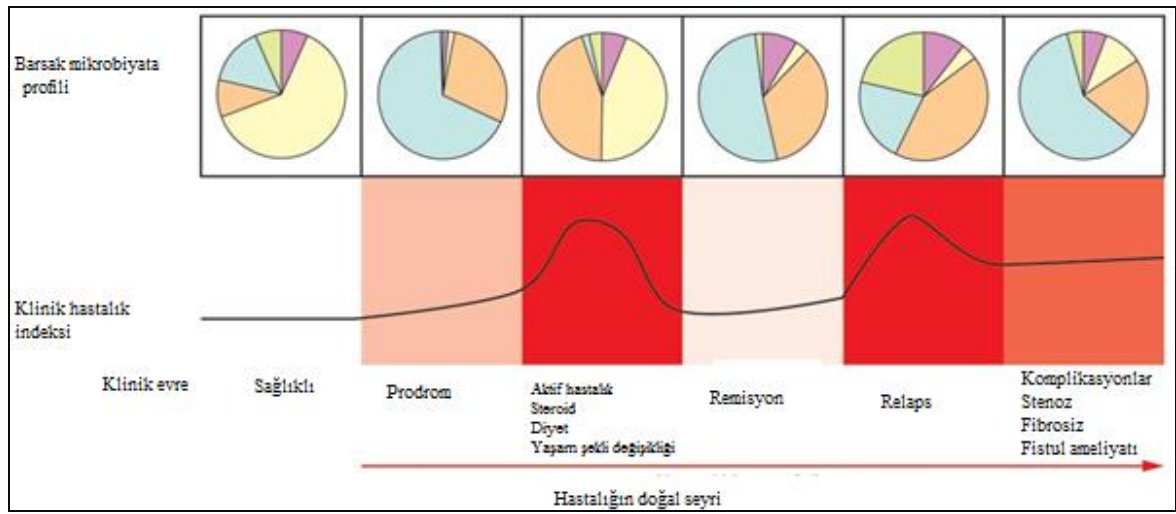
İBH'li hastaların bağırsaklarında bakteri konsantrasyonun, sağlıklı insanlara ve hatta remisyondaki hastalara göre arttığı, bakteri çeşitliliğinin ise azaldığı gösterilmiştir (119,120,156). Daha önce bahsedildiği gibi, sağlıklı insanların bağırsak florasının büyük bölümünü Firmicutes ve Bacteroides, çok az bir kısmını da Actinobacteria ve Proteobacteria oluşturmaktadır. İBH'li hastalarda ise, bu durum tam tersine dönmüştür. İBH'de Firmicutes ve Bacteroidetes belirgin olarak azalırken, Proteobacteria ve Actinobacteria genuslarında artış olduğu saptanmıştır (127,157,158). Alt grup analizlerinde ise; İBH olgularında Firmicutes genusundaki azalmanın özellikle Clostridium IX a ve VI gruplarında daha çarpıcı şekilde karşımıza çıktığı ortaya çıkmıştır (127) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. İnflamatuvar barsak hastalığında intestinal mikrobiyata (127).

Bunun yanı sıra, CH ve ÜK'li hastalarının mikrobiyatası da farklılık göstermektedir. Örneğin, *Fusobakterium* ve *Escherichia*, CH'de ÜK'ye göre oldukça fazladır. *Methanobrevibacter*, *Anaerostipes* ve sınıfı bilinmeyen *Christensenellaceae* türleri ise ÜK'de CH'da olduğundan çok daha fazladır (159). Ayrıca, remisyon ve alevlenme dönemindeki İBH'li hastaların mikrobiyatası da farklıdır (120). Yapılan çalışmalarda alevlenme dönemlerinde, *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) ve *Lactobacillus* türlerin azaldığı saptanmıştır (160,161) (Şekil 2.10).

Sonuç olarak, hem hayvanlar hem de insanlarda yapılan çalışmalar disbiyozisin İBH patogenezinde önemli rol oynadığını ortaya koymuştur (127,162,163).



Şekil 2.10. İBH'nin farklı dönemlerinde mikrobiyatanın değişimi: Grafiklerde mikrobiyatanın içeriği İBH'nin çeşitli dönemlerinde (aktivasyon, remisyon) farklılık gösterdiği görülmektedir (138).

Kommensal veya patojen bakteriler ve İBH

Mikrobiyatanın İBH patogenezinde önemi rol oynadığının anlaşılmasıyla, birçok mikroorganizma ile İBH arasında ilişki araştırılmıştır. En sık çalışılan bakteriler; *Mycobacterium avium* kompleksi, *Adherent-invasive E. coli*, *Desulfobacterales*, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni* ve *Helicobacteraceae*'dir (164-169). Bununla birlikte, son zamanlarda, *Fusobacterium varium* ve *Bacteroides fragilis* gibi kommensal segmental filamentöz bakterilerin de İBH'nin gelişmesinde rol oynadığını gösteren birçok kanıt bulunmasıyla, dikkatler patojen ajanlardan çok kommensal bakterilere doğru kaymıştır (170-173). Bakteri dışında, mantarlar, kızamık virus ve helmitler ve protozonlarla ilgili yapılmış çalışmalar da bulunmaktadır (174-178). Yapılan çalışmaların bazılarında anlamlı

sonuçlar bulunsa da, henüz İBH ile tam anlamıyla ilişkisi saptanan mikroorganizma bulunamamıştır (179,180).

Özetle, kommensal bakterilerin ve bunların mukoza koruyucu etkileri olan metabolik ürünlerinin miktarındaki azalma ile birlikte, patojen özellik kazanan bir takım kommensal bakteriler ve/veya patojen bakteriler baskın hale gelmektedir. Bu bakteriler bazı inflamatuvar sitokinleri indükleyerek veya salgıladıkları toksik metabolitlerle, bağırsakta kronik inflamasyona neden olmaktadır (181,182).

Genetik yapıdaki değişikliklerin mikrobiyata üzerindeki etkileri

Genetik yapının mikrobiyatanın içeriğini belirleyici bir faktör olduğu, ikizler üzerinde yapılan çalışmalarda, monozigotik ikizlerdeki mikrobiyatanın diğer kardeşlere göre daha benzer bulunmasıyla da ortaya konulmuştur (183). İBH patogeneğinde özellikle doğal immunitiyi düzenleyen genlerdeki değişikliğin önemli rol oynadığı düşünölmektedir (124). Nitekim ‘Genom apı ilişkilendirme çalışmalarında’ İBH riskini artırdığı saptanan 160’dan fazla genetik değişikliğin çoğu [NOD2, otofaj düzenleyen (ATG16L1) genler gibi] mukozal bariyerin fonksiyonu ve antijenlerin immun sisteme tanıtılması gibi doğal immuniteden sorumlu genlerde tespit edilmiştir. (104,184). Bu genlerdeki bozukluk bağırsak bakterilerine karşı düzensiz immun yanıt oluşmasına, bakterilerin mukozaya invazyonunda artmaya neden olmakta ve mikrobiyatayı etkilemektedir (185,186,187).

Bozulmuş immun regölasyon

Daha önce ayrıntılı anlatıldığı gibi inflamatuvar ve anti inflamatuvar sistem arasındaki dengenin bozulması, kronik inflamasyona, oral toleransın kaybolması mikrobiyatanın değişmesine neden olmaktadır.

2.1.4. Klinik

ÜK; rektum ve kolonu tutan, atak ve remisyon süreçleriyle seyreden, kolonun sadece mukozasını tutan, (kolon biyopsisinde) granölom içermeyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır (188). Hastanın klinik semptomları esas olarak kanlı diyare, acil dışkılama ihtiyacı ve tenesmusdur. Hastalığın neden olduğu rektal inflamasyon hastalığının en belirgin semptomu olan kanamaya, mukus deşarjına ve diyareye yol açar. Diyare sıklıkla nokturnal veya postprandiyaldir. Tenezm ise rektal ödeme sekonder ortaya çıkar (189). ÜK’te inflamasyon mukoza ve submukozada sınırlı olduğundan komplikasyon gelişmedikçe,

karın ağrısı sık beklenen bir semptom değildir. Bununla birlikte hastalığın aktivitesine ve tutulum tipine göre semptomların şekli ve şiddeti değişmektedir (190). Hafif ve sınırlı tutulum olanlarda semptomlar silik veya hiç olmayabilirken, yaygın tutulumu ve şiddetli aktiviteli ÜK’de sıvı kaybına ve toksiteye bağlı sistemik belirtiler; ateş, taşikardi, abdominal hassasiyet, distansiyon ve kilo kaybı görülebilir (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Ülseratif kolitte başlangıç semptomları (190).

Ülseratif kolitle görülen semtomlar ve sıklığı			
Semptom	%	Semptom	%
İshal	96	Cilt değişiklikleri	20
Dışkıda kan	89	İştahsızlık	15
Karın ağrısı	81	Oftalmopati	7
Kendini iyi hissetmeme	40	Bulantı	6
Kilo kaybı	38	Kusma	5
Artralji	28	Apseler	4
Ateş	20	Fistül	4

Ayrıca, ÜK hastalarında intestinal semptomların yanında oküler, oral, eklem, deri ve karaciğerle ilgili ekstra intestinal semptomlar da görülebilir. Ekstraintestinal bulguların bir kısmı ÜK’nin aktivitesi ile ilişkili iken bir kısmının hastalık aktivitesi ile ilişkisi bulunmamaktadır (Tablo 2.2). ÜK’in sık rastlanan ekstraintestinal bulguları arasında aftöz stomatit, eritema nodosum, pyoderma gangrenosum, seronegatif artropatiler, sakroileit, primer sklerozan kolanjit, yağlı karaciğer, konjonktivit, episklerit ve üveit sayılabilir (191) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Ülseratif kolit’te ekstraintestinal bulgular, sıklığı ve hastalık aktivasyonu ile ilişkisi (192).

Ülseratif kolit’te ekstraintestinal bulgular			
Ülseratif kolit aktivitesi ile paralel		Ülseratif kolit aktivitesinden bağımsız	
Periferik artropati (tip1)	%7-25	Primer sklerozan kolanjit	%2-7
Eritema nodozum	%3-10	Üveit	%1-3
Episklerit	%2-5	Pyoderma gangrenosum	%2-10
		Ankilozan spondilit	%2-12
		Periferik artropati (tip2)	%7-25

ÜK’te, kronik intermittan, kronik devamlı ve akut fulminan tip olmak üzere üç farklı klinik seyir görülür (193). İlk ataktan sonra hastaların %40-65’i relapslar ve remisyonlar ile seyreden kronik intermittan formunda, %5-10’u hiç remisyona girmeden sürekli

hastalığın semptomları ve bulguları görülen kronik devamlı formunda, %10'u ise sonunda kolektomi gerektirebilen akut fulminan kolit ile prezente olurlar (193). Akut fulminan kolitin bir tanımı olmamakla birlikte günde 10'dan fazla dışkılama, belirgin kanama, yüksek ateş, akut faz reaktanlarında aşırı artış ve kilo kaybı olan ÜK'li hastaları tanımlamak için kullanılır (194). Hastaların %1'i ise sadece bir atak geçirip, remisyonda kalır. Ancak, bu grup hastaların bazıları gerçekte enfeksiyöz koliti olan ve yanlışlıkla ÜK tanısı alan hastalardır (193).

2.1.4.1. Tanı

ÜK tanısı iyi bir anamnez ve fizik muayeneden sonra gaita tetkiki, biyokimyasal testler, üst ve alt gastrointestinal sistem endoskopik muayenesi, arkasından da histopatolojik değerlendirme ile konulmalıdır. Gerektiğinde radyolojik incelemeler, ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme de yapılabilir. Bu tetkikler arasında İBH tanısı için altın standart, kolonoskopi ve işlem sırasında alınan biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemesidir (195).

Öykü ve fizik muayene

Gastrointestinal dokudaki enfeksiyöz, inflamatuvar, iskemik ve neoplastik hastalıklar çoğu zaman benzer klinik tablo oluşturdıkları için hastalığın tanısı gecikebilir. Bu nedenle her hastada dikkatli şekilde öykü alınmalı ve fizik muayene bulguları tanıda kullanılan diğer incelemelerle birlikte değerlendirilmelidir (196).

Hastanın öyküsü alınırken dışkılama sıklığı, dışkıda kan-mukus varlığı, kilo kaybı, dışkının kıvamı, dışkının miktarı, ağrılı dışkılama, dışkılama sonrası rahatlama hissinin olup olmadığı, ekstra intestinal bulguların bulunup bulunmadığı, semptomların süresi ayrıntılı olarak sorgulanmalıdır. Bununla birlikte hastanın yaşı, yaşadığı yer, sigara içip içmediği, diyet alışkanlıkları, kullandığı ilaçlar, eşlik eden hastalıklar, seyahat öyküsü, ailede ÜK varlığı tanı ve ayırıcı tanıda önemlidir (Bakınız: Çevresel etkenler).

Hafif orta şiddetteki hastalıkta fizik muayene genellikle normaldir ya da tutulan bağırsak segmentinde derin palpasyonda hafif hassasiyet ve rektal tuşede kan saptanabilir. Şiddetli hastalıkta ise, hastaların genel durumu genellikle kötüdür. Bu hastalarda karında daha belirgin hassasiyet ve distansiyonun yanında, sıvı ve elektrolit kaybına ve anemiye bağlı bulgular ve ateş gözlenebilir. Ayrıca konjunktivit, eritema nodozum, piyodermi veya büyük eklemlerde artrit gibi ekstraintestinal bulgular da saptanabilir.

Gaita tetkikleri

ÜK'in başlangıç tanısında semptomatik kolite neden olan enfeksiyöz nedenler dışlanmalıdır. Hem İBH hem de enfeksiyöz kolitte, dışkı mikroskopik incelemesinde, inflamatuvar hücreler, eritrositler ve eozinofiller görülebilir. Taze gaita özellikle de amebiazis yönünden değerlendirilmelidir (197). Shigella ve Salmonella'ya yönelik rutin kültürle birlikte, eğer tanıda şüphe varsa, anamneze göre, Escherichia coli 0157:H7, Campylobacter ve Yersinia türlerine spesifik kültürler, amip dışındaki diğer parazitlerin dışkıda taraması ve Clostridium difficile toksin A ve B istenebilir (198). İmmünsüpresif hastalarda ise başta Sitomegalovirüs olmak üzere diğer fırsatçı enfeksiyonlar araştırılmalıdır (194).

Laboratuvar testleri

Laboratuvar testleri hastalığın tanısını destekleme, hastalığın şiddetini belirleme, seyrini tahmin etme, tedavinin düzenlemesi, takibi ve alevlenmelerin tespitinde faydalıdır. C-reaktif protein (CRP), trombosit sayısı, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) artış gösterirken, hemoglobin değerinde düşer. Şiddetli seyreden hastalarda serum albumin seviyeleri hızlı bir düşüş gösterebilir. Lökositoz görülse de hastalığın aktivitesini gösteren spesifik bir belirteç değildir (199). Fekal calprotectin seviyeleri histolojik inflamasyonla korelasyon gösterirken, relapsın tahmininde ve tespitinde kullanılabilir (200).

Serolojik testler

ÜK'de hastalığın tanı, ayırıcı tanı, prognoz ve tedavisinde serolojik belirteçlerin önemi giderek artmaktadır. En geniş çalışılan serolojik markerlar: Perinükleer Antinötrofil Sitoplazmik Antikorlar (p ANCA) ve anti-Saccharomyces cerevisiae antikorlar (ASCA)'dır.

ANCA, ilk olarak 1980'lerde İBH ve özellikle de ÜK ile ilişkilendirilmiştir. ANCA, nötrofil ve monositlerin sitoplazmasındaki antijenlere karşı oluşmuş, IgG alt sınıfından bir grup antikorlu ifade etmektedir. İndirekt immunfloresan yöntemlerle belirlenmiş üç yapı bulunmaktadır. Bunlar; sitoplazmik (c), perinükleer (p) ve atipik (a) ANCA'dır (201). İntestinal mukozadaki B hücreleri muhtemelen kendisine ait bir epitopa ya da bağırsak mukozasına yerleşmiş bir patojene karşı p-ANCA üretmektedir. p-ANCA ÜK'li hastalarda %65'e kadar, CH'de ise %10'dan az vakada pozitif olarak bulunmuştur. pANCA'nın sensitivitesi %65, spesifitesi %85 ve pozitif prediktif değeri %74'tür (190,202,203). ASCA,

mayaların - kısmen mannan gibi hücre duvar bileşenlerine karşı yanıt olarak üretilmektedir ve daha çok CH'da saptanır (204). ASCA (-) ve p-ANCA (+) birliktelik, ÜK için sensitivitesi %87, pozitif prediktif değeri ise %93'dür. P-ANCA ve ASCA'nın birlikte değerlendirilmesi özellikle indeterminate kolitlerde önemlidir (190,205). Günümüzde bu belirteçlerin sınırlı duyarlılığı nedeniyle ÜK'nin tanısında ve tedavi kararı verilmesinde rutin olarak kullanımı klinik olarak kanıtlanmamıştır (188).

Tablo 2.3. Biyolojik belirteçlerin duyarlılık ve özgüllükleri (206).

Biyolojik belirteçler	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
CRP	50-100	65- 100
ESH	23-85	68-91
Fekal Calprotectin	76-100	83-95
ASCA	50-70	80-95
pANCA	65-70	80-85

CRP: C-reaktif protein, ESH: Eritrosit sedimentasyon hızı, ASCA: anti-Saccharomyces cerevisiae antikor, p-ANCA: Perinükleer Antinötrofil Sitoplazmik Antikorlar

Endoskopik tanı

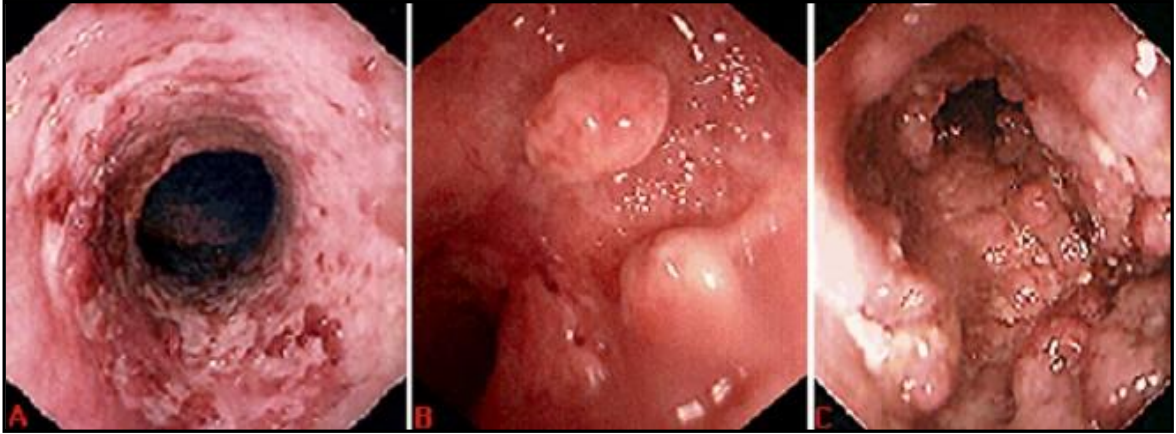
İnflamatuvar bağırsak hastalığında kolonoskopik muayene tanı, ayırıcı tanı, hastalığın tutulum yeri, aktivitesi, displazi ve kanser gelişmesinin saptanması gibi tanısal amaçların yanı sıra polipektomi veya striktürlerin dilatasyonu gibi tedavi amacıyla da yapılır.

Ülseratif kolitte hastalık rektumdan başlar, diffüz tutulum yaparak, proksimale doğru ilerler ve endoskopik aktivite ile klinik büyük ölçüde korelasyon gösterir. Hafif ÜK'de mukozada eritem, ödem ve anormal vasküler patern izlenir. Bu bulgulara, kaba granülarite, yüzeysel erozyonlar ve ülserler, temas sonrası veya minimal travma ile oluşan kanamalar eklenmesi, orta şiddette ÜK'i düşündürür. İnflamasyonun şiddetinin artması, mukozada mukopürülan eksüdasyon ile kaplı yaygın ülserasyonlar, frabilite ve spontan kanamaların varlığı, şiddetli ÜK olarak adlandırılır (207). Uzun süreli ÜK'de kronik inflamasyon, mukozal atrofi, müküler hipertrofi ve haustra kaybı, sonuçta kolonda kısalma ve çapta azalma oluşturur (Resim 2.1.A) İnflamatuvar psödotipolipler şiddetli ÜK'de saptanır ve remisyon döneminde de kaybolmaz, tedavi ile gerilemez, genel anlamda malignite potansiyeli olmadığı kabul edilir (208) (Resim 2.1.B, C).

ÜK tutulum yerlerine göre başlıca 4 tipe ayrılır. Distal tipte, rektum ve sigmoid kolon tutulmuştur. Sol tipte, splenik fleksurayı aşmayacak şekilde sigmoid kolonun

proksimalinde tutulum vardır. Ekstensif tipte, inflamasyon splenik fleksuranın proksimaline doğru ilerler ancak tüm kolon tutulmaz. Pankolitide ise tüm kolon tutulmuştur (209). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, ÜK hastalarının yaklaşık üçte birinde proktit, üçte birinde sol kolit ve üçte birinde pankolit olarak tutulum bildirilmiştir (10,210). Bununla birlikte zaman içerisinde tutulan kısımlar da değişebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, proktit tanısı alan hastaların 10 yıl içerisinde proksimale ilerleme ihtimali %41-54 oranında iken, bu oran sol kolon tutulumu olan hastalarda daha fazla saptanmıştır (211).

Buna karşın 10 yıl içinde hastalığın gerileme ihtimali, %1,6-71 oranında bildirilmiştir (212). ÜK’de ince bağırsak tutulumu olmaz ancak; pankolitli hastaların az bir kısmında ileoçekal valvde meydana gelen deformasyon sonucu kolon içeriği terminal ileuma reflü olarak “**backwash ileit**” denen inflamasyona neden olabilir.



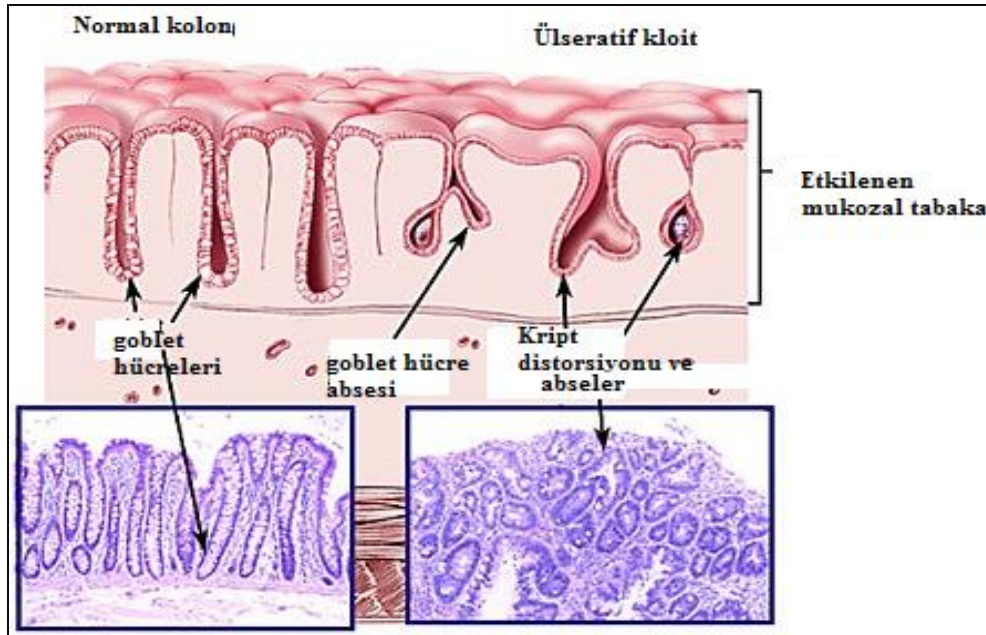
Resim 2.1. Ülseratif kolit’in endoskopik görünümü **A:** Mukozada yaygın ülserasyon ÜK’in en sık endoskopik bulgusudur. Mukoza düzensiz, eritamatöz ve normal vasküler işaretlerin kaybı mevcut. **B:** Psödopolipler rejeneratif inflamatuvar nodüllerdir. **C:** Psödopolipler bazen yaygın olabilir (213).

Histoloji

ÜK’de görülen en temel histolojik bulgu mukozadaki glandüler yapının bozulması ve inflamasyon bulgularının varlığıdır (214). Patognomonik histolojik ölçüt olmamasına rağmen mukozal bütünlüğün bozulması, ÜK’i enfeksiyöz kolitten ayıran en önemli özelliktir. ÜK’de histolojik bulgular endoskopik görünüm ve klinik gidişat ile korelasyon gösterir (215). Hafif şiddetli ÜK biyopsisinde makroskopik olarak mukoza hiperemik, ödemli ve granüler izlenir. Hastalık ilerledikçe mukoza hemorajik hale gelir ve ülserler oluşur. Kronik, ağır seyirli olgularda mukozada düzleşme, atrofi ve psödopolipler görülebilir. Mikroskopik olarak ise, akut fazda yüzeyde ülserasyon, mukozada yoğun inflamasyon ve kriptlerde değişiklikler ile karakterizedir. Kriptlerde aşırı genişleme ve

dallanma, boyutlarında kısılma ve atrofi, muskularis mukozadan diffüz ayrılma ve mukozal yüzeyde villus benzeri yapılanma tipiktir. Lamina propriada inflamatuvar hücre sayısında artış görülür. Kript epitelinde nötrofil infiltrasyonu olarak adlandırılan kriptit ve kript lümenleri içerisinde nötrofil toplanması olarak bilinen kript abseleri akut fazda ortaya çıkar. Kript abseleri ÜK için spesifik olmayıp CH veya diğer kolit türlerinde de görülebilir ancak çok belirgin olması ve hemen hemen tüm kriptleri tutması ÜK'yi düşündürür. Bununla birlikte, mukozal tabakanın bozulması, goblet hücrelerinin kaybı ÜK'nin karakteristik bulgusudur (28).

Remisyon döneminde ise; başlangıçtaki vasküler dilatasyonda azalma ile birlikte kript absesi ve akut inflamasyonda gerileme görülür. Bu fazda epitelin rejenerasyonu söz konusudur. Lenfositler ve plazma hücrelerinin sayısı azalır, inflamasyon kontrol edilmeye çalışılır. Aktif fazda görülenden daha az vasküler konjesyon, kript absesi, nötrofil infiltrasyonu görülür. Müsin içeriği düzelmeye başlar (216). Kronik remisyon döneminde ise; submukoza normal, inflame, hiperemik, yağ ile infiltre veya fibrotik görülebilir. Bu dönemde müsin içeriğinin yerine konulma durumuna göre mukoza makroskopik olarak normal izlenebilir. Mikroskopik olarak düzensiz şekilli, dallanmalar gösteren gland yapıları ve paneth hücre metaplazisi görülebilir (216) (Resim 2.2).



Resim 2.2. ÜK histopatolojisi (217).

Görüntüleme yöntemleri

Bilgisayarlı tomografi (BT), ÜK’de kolonik değişikliklerin yanında perikolonik değişiklikleri de gösterebilir (218). Kolon duvarındaki inflamatuvar değişiklikler, intravenöz kontrast madde kullanıldığında boyanan 2-3 katman şeklinde daha belirgin hale gelebilir. “**Water halo sign**” ve “**fat halo sign**” kolon duvarındaki boyanan katmanların kesitsel görünümünün tanımlanmasında kullanılmaktadır. Bu görünüm “**target sign**” olarak da bilinirler. “**Water halo sign**” ÜK ve CH’nin akut fazlarında izlenirken, “**fat halo sign**”, daha sık ÜK’te görülmek üzere kronik faz hastalık bulgusudur (213). BT ayrıca, apse veya perforasyon gibi komplikasyonları göstermede de yararlıdır.

Tam olarak belirlenemeyen koliti olan hastalarda kapsül endoskopi CH’nin varlığını ekarte etmek için kullanılabilir, fakat kapsül endoskopinin küçük lezyonları belirlemede endoskopi ve ince bağırsak radyografisine üstünlüğü bulunmamaktadır (219).

2.1.4.2. Hastalık aktivitesinin belirlenmesi

ÜK’nin klinik seyrinin ve prognozunun saptanması, uygulanacak olan tıbbi veya cerrahi tedavilerin planlanması için tutulum tipinin ve aktivitesinin bilinmesi gerekir. Bu amaçla, aktivitenin belirlenmesinde biyokimyasal belirteçlerle, klinik ve endoskopik aktivite kriterleri kullanılır.

ÜK’de aktivasyonu gösteren laboratuvar bulguları; hemogloblin seviyesi, lökosit ve trombosit sayısı, CRP, ESR ve dışkı calprotectindir. Özellikle, CRP, ESR ve dışkı kalprotektinin, ÜK’de klinik ve endoskopik aktivite ile koreledir (220,221,222).

ÜK aktivitesinin değerlendirilmesi için farklı klinik skorlama sistemleri geliştirilmiştir. Bu amaçla en sık kullanılanlar, Truelove-Witts sınıflaması ve Mayo skorlama sistemi’dir (194). Truelove-Witts kriterlerine göre hastalığın klinik şiddeti, klinik ve laboratuvar bulgularına göre hafif, orta ve ağır olarak sınıflandırılır (194). Truelove-Witts sınıflaması klinik pratikte kullanım için güvenilir ve basit bir sınıflamadır. Yaygın kolitli hastalarda kullanım için uygun olmasına karşın sınırlı hastalığı olanlarda hastalık şiddetinin değerlendirilmesi için yeterli değildir. Truelove-Witts sınıflaması, hastalık şiddetinin değerlendirilmesi için endoskopik bulguları dikkate almaz (223) (Tablo 2.4.).

Tablo 2.4. Truelove-Witts kriterleri.

Truelove-Witts kriterleri			
	Ağır	Orta	Hafif
Dışkılama	İshal günde 6'dan daha fazla kanlı dışkılama	Aradaki bulgular	Günde 4'den daha az dışkılama, çok az miktarda kan içerebilir
Ateş	> 37.5°C		Yok
Taşikardi	Dakikada 90'dan fazla nabız sayısı		Yok
Anemi	Hb 7.5 gr/dL'den az		Hafif
Sedimentasyon Hızı	> 30 mm/saat		< 30 mm/saat

Sınırlı hastalığı olanlarda ve klinik araştırmalarda daha yararlı olan bir sayısal aktivite değerlendirme yöntemi Mayo skoruması sistemidir. Mayo skoruması; defekasyon sıklığı, rektal kanama, endoskopik değerlendirme ve klinisyenin global değerlendirmesi olmak üzere dört parametreden oluşmaktadır (Tablo 2.5.). Parsiyel Mayo skorumasında ise endoskopik değerlendirme yoktur. Yapılan bir çalışmada ÜK aktivitesini belirlemede, parsiyel Mayo skorunun, endoskopik değerlendirmenin de yapıldığı tam skorlu Mayo skoruması ile eşdeğer olduğu görülmüştür (224). Bu hastalık aktivite indeksi elde edilen skor 0-12 arasında değişir. Genel olarak 0-2 puan alanlar remisyonda kabul edilir. Eğer skor 10'dan fazla ise; hastalığın şiddetli olduğunu gösterir. Başlangıç skoruna göre 3 puan veya daha fazla azalma tedaviye klinik cevap olarak kabul edilir (221).

Tablo 2.5. Mayo skoruması sistemi.

Mayo Skoruması Sistemi	
Skor	Kriter
Dışkı sayısı	0 Normal
	1 Normale göre günde 1-2 dışkılama fazla
	2 Normale göre günde 3-4 dışkılama fazla
	3 Normale göre günde 5 ve daha fazla dışkılama
Rektal kanama	0 Yok
	1 Çizgi tarzında kan
	2 Belirgin kanlı
	3 Bol kanlı
Mukozanın görünümü	0 Normal
	1 Hafif friabl
	2 Orta derecede friabl
	3 Eksüstasyon, spontan kanama
Hekimin global değerlendirmesi	0 Normal
	1 Hafif
	2 Orta
	3 Şiddetli

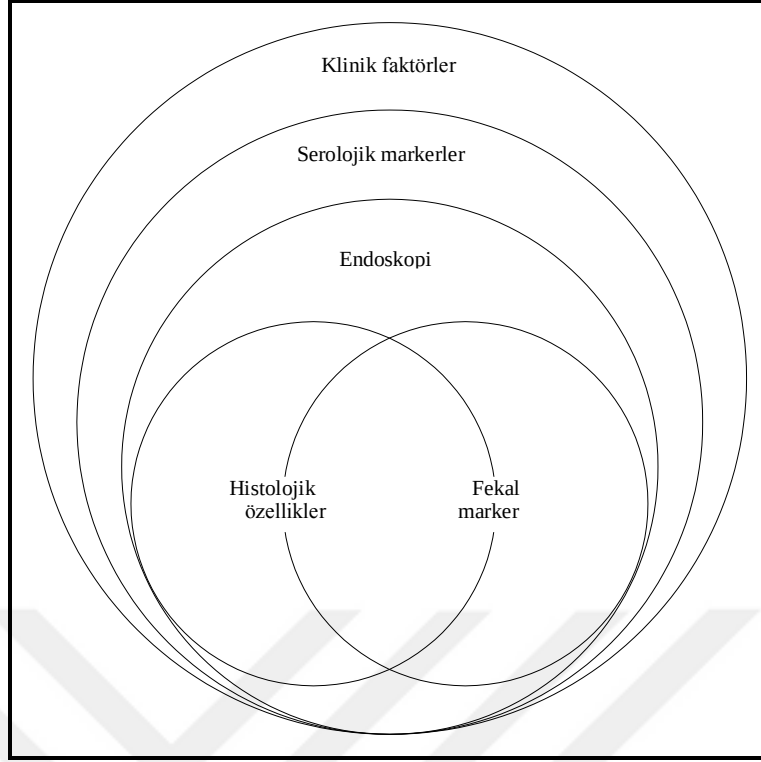
ÜK şiddetini derecelendirmek için çok sayıda endoskopik sınıflandırmalar bulunmaktadır. En sık kullanılan Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi (225).

Tablo 2.6. Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi: Toplam skor 4 ise aktif, <4 ise remisyon anlamına gelir (221).

Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi		
Kriterler	Bulgular	Skor
1. Granülasyon	Var	0
	Yok	2
2. Vasküler görünüm	Normal	0
	Azalmış	1
	Kaybolmuş	2
3. Frajilite	Yok	0
	Dokunma ile kanama	2
	Spontan kanama	4
4. Mukozal hasar (mukus, fibrin, eksuda, erozyon, ülser)	Yok	0
	Hafif	2
	Belirgin	4

2.1.4.3. Ülseratif kolit ve alevlenme

ÜK, yaklaşık bir asırdır bilinmesine rağmen etyopatogenezi tam olarak anlaşılmamıştır. Bunun yanında, günümüzde total kolektomi dışında tam kür sağlayan bir tedavi de olmadığı için tedaviyle remisyon sağlamak ve alevlenmeyi geciktirmek amaçlanır. Güncel görüşe göre: ÜK, mikrobiyotik ile immün sistem arasındaki dengenin, genetik ve çevresel faktörlerin de etkisiyle bozulması sonucu gelişmekte veya alevlenmektedir. Bununla birlikte tedavi ile klinik remisyon sağlansa bile subklinik mukozal inflamasyon devam edebilmekte ve ileride semptomatik alevlenmeye neden olmaktadır (226). Her alevlenmede, hem hastalığın progresyonunu hem de hastanın psikososyal durumunu kötü yönde etkilemektedir. Bu nedenle alevlenme nedenlerini bulma, alevlenmeyi önceden tahmin edebilmek için çok önemlidir. Bu amaçla; günümüzde klinik, endoskopik, histolojik, serolojik ve fekal belirteçler kullanılmaktadır.



Şekil 2.11. Günümüzde İBH alevlenmesini belirlemede kullanılan yöntemler (227).

Epidemiyolojik çalışmalar, ÜK'in genç yaşta (özellikle 20-30 yaş arasında) başlamasının ve kadın cinsiyetin daha sık alevlenmeyle ilişkili olduğunun ortaya koymuştur (228,229,230). Bununla birlikte, ÜK alevlenmesinde; yaşam şeklinin, çevresel faktörlerin ve ilaçların da rolü olabileceği düşünülmüştür (231). Özellikle diyetin İBH gidişatını etkileyebileceği birçok çalışmada gösterilmiştir. Örneğin, Kanada'da yapılan bir çalışmada; alkol, patlamış mısır, çekirdek, çerez, baklagil, dondurulmuş gıda ve işlenmiş etler gibi besinlerin, alevlenmeyi tetikleyebileceği gösterilmiş ve hastaların bu tür gıdalardan kaçınılması gerektiği önerilmiştir (232). Diğer bir çalışmada ise, özellikle çocuklarda sülfürden zengin besinlerin (et içeren) alevlenme için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (233). Diyetin, İBH'da alevlenmeye nasıl yol açtığı tam olarak bilinmemekle birlikte, disbiyozise sebep olduğu düşünülmektedir. Nitekim, diyet alışkanlığının barsak mikrobiyotasını etkilediği bir çok çalışmayla ortaya konmuştur (234,235). Sigara da hastalığın seyrini etkileyen güçlü bir prediktör faktördür. Sigara CH riskini ve alevlenmeyi artırırken ÜK'de tam tersi etki göstermektedir (111, 112,113).

Günümüzde kullanılan ilaçların birçoğu kolon mukozasını ve mikrobiyotasını etkilemekte ve İBH yatkınlığı olanlarda hastalığı tetikleyebilmektedir (27). Bu etki özellikle en sık NSAİİ ve antibiyotiklerde görülmektedir. NSAİİ kullanımıyla oluşan mukozal hasar

ve inflamasyon; sağlıklı kişilerde baskılanabildiği halde, ÜK'e yatkınlığı olanlarda inflamasyon sürecini başlatarak alevlenmeye sebep olduğu gösterilmiştir (27). Hatta, NSAİİ'lerin İBH alevlenmesinin yaklaşık %20'sinden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (236). Antibiyotikler de, etki spektrumu, tipi ve kullanım süresine göre kolon mikrobiyotasını etkilemektedir. Özellikle geniş spektrumlu antibiyotikler disbiyozise neden olarak atağı tetikleyebilmektedir (105,127). Bunun yanında bazı CH hastalarında uygun antibiyotiğin doğru zamanda kullanılması disbiyozisi düzelterek, alevlenme sıklığını azalttığı gösterilmiştir. Ama, bu etki ÜK'de gösterilememiştir (237).

Disbiyozisin İBH'ya neden olduğunun gösterilmesiyle başta bakteriler olmak üzere mantarlar ve parazitler gibi bir çok mikroorganizma ile İBH arasındaki ilişki araştırılmıştır (119,178,238). Yapılan çalışmalarda İBH'da Bacteroidetes ve Firmicutes phyla türlerinin azaldığı, Enterobakterler özellikle de Escherichia coli'nin arttığı saptanmıştır (239,240). Bunun yanında remisyon ve alevlenme dönemindeki İBH'lı hastaların mikrobiyotasının da farklılık gösterdiği ve bu değişimin atak riskini artırdığı da gösterilmiştir (181). Örneğin, ÜK'de Faecalibacterium prausnitzii ve Lactobacillus türlerin azalmasının atak riskini artırdığı ortaya konmuştur (160,161).

İBH'da şimdiye kadar başta ASCA ve pANCA olmak üzere birçok oto antikor tanımlanmıştır. Bazıları ÜK ve CH ayrımında kullanılsa da hiçbirinin alevlenmeyi belirlemede yeri yoktur (241). Fakat, son yıllarda tanımlanan makrofaj koloni-situmulan oto antikor, hem ÜK hem de CH'da alevlenmeyi erken tanımda umut vaat etmektedir (242). Yine İBH'da özellikle subklinik alevlenmeyi erken belirlemek için birçok inflamatuvar belirteçler araştırılmıştır. Bunlar arasında son zamanlarda fekal Calprotectin ön plana çıkmaktadır (243). Fekal Calprotectin, özellikle subklinik alevlenme geçiren ÜK hastalarını belirlemede oldukça hassastır (244,245).

Örneğin yapılan bir çalışmada, fekal Calprotectin'in 150 µg/g üzerine çıktığı remisyondaki ÜK'li hastaların alevlenme riskinin 14 kat arttığı saptanmıştır (246).

İBH'da tutulum tipi ve şiddeti hastalık gidişatının güçlü bir göstergesidir. Örneğin; kolonoskopi de pankoliti ve şiddetli tutulumu olan, biyopside plazmosit infiltrasyonu görülen hastalarda prognoz kötü seyretmekte ve sık alevlenme görülmektedir (230,247). Yine, remisyondaki hastalarda devam eden subklinik inflamasyon alevlenme riskini artmaktadır (43).

2.1.4.4. Komplikasyonlar

ÜK'de hem intestinal, hem de ekstraintestinal komplikasyonlar görülebilir. Toksik megakolon, kolon perforasyonu, masif kanama, displazi ve kanser gelişimi intestinal komplikasyonlardır. Ekstraintestinal komplikasyonlar ise; vitamin ve mineral eksikliklerine bağlı anemi, gece körlüğü, osteomalazi, kas atrofisi, osteomalazi, gelişme geriliği, immun yetmezlik, oligospermi ve protein eksikliğine bağlı ödem şeklindedir (248).

2.2. Blastocystis Hominis

İBH patogenezinde mikrobiyatanın rolünün anlaşılmasından sonra birçok mikroorganizma ile İBH arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bunlardan biri de son yıllarda üzerinde çok fazla çalışma yapılan *Blastocystis hominis* (*B. hominis*)'dir. Yapılan çalışmalarda özellikle ÜK'de *B. hominis* daha sık görülmesi, İBH ile ilişkisinin olabileceğini düşündürmüştür. *B. hominis* ile ÜK ilişkisini anlamak için öncelikle *B. hominis*'in iyi bilinmesi gerekir (177,178).

2.2.1. Tarihçe

Sistematik yeri ve patojenitesi halen tartışmalı olan *Blastocystis hominis*, ilk defa 1911 yılında Alexeieff tarafından *Blastocystis enterecola* olarak isimlendirilmiştir. 1912 yılında Brumpt değişik konaklarda *Blastocystis*'in farklı türlerinin olduğunu tespit etmiş ve insanlardan izole edilen türe *B. hominis* ismini vermiştir. Görüntüsünün mantara benzemesi, ısıtılmadan psödopodların görülememesi, dışkıda görülen *Blastocystis* spp., nükleuslarının belirlenememesi boyutlarındaki değişkenliğin herhangi bir protozoondan beklenenden çok daha geniş sınırlarda olması ve tomurcuklanma ile üremesi nedeniyle önce mantar olarak düşünülmüştür. Daha sonra yapılan çalışmalarla *B. hominis*'in morfolojik ve fizyolojik özellikleri belirlenmiş ve *Blastocystis* spp. Zierdt tarafından 1988'de protozoon olarak tanımlanmıştır (249). *B. hominis* insan dışında birçok hayvanda bulunan enterik protozoondur. Dünyanın hemen hemen her yerinde görülmesine ve yaklaşık 100 yıldır bilinmesine rağmen ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla *B. hominis*'in biyolojisi belirlenmeye başlamış ve patojen olabileceği gösterilmiştir.

2.2.2. Sınıflandırma

B. hominisin bir asırdır bilinmesine ve hakkında yapılan birçok çalışmaya rağmen taksonomisi halen tartışmalıdır. İlk defa 1911 yılında Alexiff tarafından B. enterocola olarak adlandırılmış ve mantar olarak sınıflandırılmıştır. Ancak, daha sonraki yıllarda B. hominis'in üzerinde yapılan çalışmalar B. hominis'in protozoon olması gerektiğini göstermiştir (249,250).

Çünkü:

- B. hominis mantar besiyerinde üreyememesine karşın bağırsak protozoonları için hazırlanan besiyerlerinde üremektedir.
- Protozoon gibi kültürde ürerken bakterilere gereksinim duyar.
- Amfoterisine dirençli, protozoonlara etkili ilaçlara karşı duyarlıdır.
- Protozoonlarınkine benzer hücre çeperi vardır.
- Protozoon gibi endodiyogeni ile çoğalır ve yavaş hareket eden psödopodları vardır.

B. hominis önceleri Sporozoa alt şubesinde farklı bir takım olan Sarcodina içinde sınıflandırılmıştır (251). Daha sonra, small – subunit ribozomal ribonükleik asit (ssr RNA) sequencing teknikleri kullanılarak B. hominisin sacrodinia ile monofitik olarak yakından bir ilişkisi olmadığı gösterilmiştir (252). Yine aynı teknik kullanılarak parazit, Stramenopiles içerisine yerleştirilmiştir. Fakat parazitin kamçı ve kılıfının olmaması, ayrıca anaerobik olup belirgin mitokondriyal metabolik fonksiyonlarının olmaması nedeniyle Silbnerman Stramenoplies içerisinde sınıflanamayacağı ortaya konulmuştur. Son olarak da Cavalier-Smith 1998'de Stramenopile'in Chromista aleminin altındaki Heterokonta bölümüyle (infrakingdom) aynı olduğunu belirterek Blastocystis'in Heterokontid Chromista olduğunu ifade etmiştir. Sarcomastigophora sınıfında, Blastocystea takımında Blastocystidae ailesinde Blastocystis cinsi ve Hominis türü olarak tanımlanmıştır (253). 18S rRNA analizi ve moleküler yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalar sonucu sınıflandırmada son şeklini almıştır (254):

Alem : Chromista
Alt alem : Chromobiota
Bölüm : Heterokonta
Alt şube : Opalinata
Sınıf : Blastocystea
Takım : Blastocystida

Aile : Blastocystidae
Cins : Blastocystis
Tür : Blastocystis hominis

Daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda Blastocystis'in insan dışında farklı konaklarda yaşayan türlerinin olduğu gösterilmiş (B. galli-tavuk, B. anatis-evcil ördek, B. anseri-kaz, B. lapemi-deniz yılanı gibi) ve insandan izole edilen tür Blastocystis hominis olarak adlandırılmıştır. Fakat; Noel ve ark.'nın 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada insanları enfekte eden tek bir Blastocystis türü olmadığı bildirilmiştir (255).

2006 yılında Puthia ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada genetik farklılıklara dayalı dokuz farklı türün insanları enfekte edebildiği tespit edilmiştir (256). 2007 yılında Stensvold ve ark. Blastocystis hominis terimi yerine insanlardan ve hayvanlardan izole edilen türler için "Blastocystis sp. subtype nn" şeklinde bir kullanım önermişlerdir. Bu adlandırmada "nn" genetik olarak tanımlanmış 9 türe ait numarayı bildirmektedir. Bu adlandırmanın organizmaya göre yapılan adlandırmadan daha doğru olduğu bildirilmiştir (257). Çin'de yeni bir 10. tür bildirilmiştir. (258). 2009'da Stensvold ve ark.'nın yaptığı çalışma sonucunda primatlar da dahil diğer hayvanlardan izole edilen farklı bir 10. türün olduğunu saptamışlar ancak bu türün henüz insanlardan izole edilemediğini bildirmişlerdir (259).

2.2.3. Morfoloji

Polimorfik bir protozoon olan Blastocystis'in şu ana kadar vakuoler, granüler, ameboid, kist ve daha az rastlanılan diğer bazı formları bildirilmiştir. Ameboid form çok nadir görülmektedir. Kültürde ise vakuoler ve granüler forma daha sık rastlanmaktadır. Blastocystis spp. kültürde çok farklı formların bir arada üreyebildiği de gözlemlenmektedir (260). Morfolojisindeki bu farklılıkların, organizmanın genel hücre biyolojisinde ve biyokimyasındaki farklılıkları yansıtır yansıtmadığı henüz anlaşılamamıştır.

Blastocystis spp.'nin ışık mikroskopundaki morfolojileri, merkezi vakuol, iç gövde veya rezerv gövde olarak da adlandırılan geniş merkezi bir gövde ve bunu çevreleyen sitoplazmadan oluşan küresel hücrelerdir. Aynı zamanda organizmayı çevreleyen kalın yapışkan bir kılıf ve birden fazla çekirdeğin bulunduğu belirlenmiştir. Hücre çapı genellikle 5-20 µ arasında değişmekle birlikte bazı raporlarda daha küçük formların bulunduğu söz edilmektedir. Bu küçük form kalın bir duvar ile kaplı durumdadır ve bu formun organizmanın dirençli dönemi olduğu düşünülmektedir. Bu formda vakuol

yoktur, fakat glikojen ve lipid varlığından söz edilmektedir (261). Tarayıcı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan araştırmalarda, *Blastocystis* spp.'nin genellikle küresel veya oval bir şekle sahip olduğu, aynı zamanda organizmanın içine doğru uzayan por ve boşlukların bulunduğu belirlenmiştir. Kültürden elde edilen organizmalarda ise iki tip dış yüzey fark edilmiştir. Birinci yüzey, kılıf veya kalıntıları şeklinde çok pürüzlü bir yüzey, ikincisi ise sadece oluk ve porlara sahip düzgün bir yüzeydir. Hem pürüzlü hem de düzgün yüzeyli yapılara bakterilerin yapıştığı gözlenmiştir (261). Konvansiyonel transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda organizmanın hem dış zarında hem de merkezi vakuol zarında porların mevcut olduğu bildirilmiştir. Ancak daha sonra zar formasyonları ve bileşenlerinin görüntülenmesi ile *Blastocystis* spp.'nin dış hücre zarında porların olduğu ancak merkezi vakuolde rastlanılmadığı ortaya konmuştur (261).

2.2.4. Formların tanımlanması

2.2.4.1. Vakuoler form

‘Santral vakuoler’ form olarakta adlandırılan vakuoler form; kültür ve dışkılarda en sık gözlenen ve *B. hominis* enfeksiyonu tanısında kullanılan formdur. Hücre kültürlerinde düzensiz şekilli görülseler de genelde küresel hücrelerdir (262). Büyüklük olarak 2 µm ile 200 µm arasında oldukça fazla değişkenlik göstermekle birlikte ortalama büyüklük 4–15 µm ve hücre hacminin yaklaşık %90’ını büyük bir santral vakuol kaplar (249). Santral vakuol de periodik asit schiff ile karbonhidrat, Sudan Black B boyası ile lipid varlığının gösterilmesi bu vakuolün depo görevi üstlendiğini düşündürmektedir (263). Bunun yanında bu vakuolün parazitin olgunlaşması için uygun ortam sağlayarak şizogoni benzeri üremeyi sağladığı da ileri sürülmüştür (266). Vakuoller, çok sayıda granüler formun oluşumunu sağlamakta; bu nedenle gerçek vakuol olmadığı, ancak granüler forma geçiş esnasında granüllerin gelişmesini sağlayan bir organel olduğu kabul edilmiştir (261). Sitoplazmanın kalınlaşmış bölümlerinde ökaryotlarda bulunan organeller vardır. Konvansiyonel transmisyon elektron mikroskobu ile bir veya daha fazla nükleus, golgi cisimciği, endosom benzeri vakuoller, mikrotübüller ve mitokondri benzeri organeller içermekle birlikte, mikroorganizma sıklıkla değişik kalınlıkta olan yüzeysel bir kapsülle sarılıdır. Bu kapsül ilk izolasyonda kalın iken uzayan kültürlerde incelmektedir (264). Kapsülün; bakterileri tutmak, osmotik şoka karşı hücreyi korumak ve önemli plazma membran proteinlerini immun sistemden korumak için bir bariyer görevi yaptığı düşünülmektedir (263).

2.2.4.2. Granüler form

Granüler form vakuoler formdan oluşmaktadır ve santral vakuol içeriği dışında vakuoler forma benzer özellikler gösterir, merkezi vakuolünde vakuoler formundan farklı olarak miyelin benzeri cisimcikler, küçük veziküller, kristal granüller bulunmaktadır (264,265). Boyutları vakuoler formdan biraz daha büyüktür. Heterojenite gösteren intraselüler granüllerin yapılan sitokimyasal çalışmalarla miyelin benzeri inklüzyonlar, küçük veziküller, kristal granülleri, fosfolipit ve yağ damlaları oldukları saptanmıştır (264).

2.2.4.3. Ameboid form

Vakuoler formdan farklılaşma gösteren ameboid form yaklaşık olarak 2,6 - 7,8 µm çapında, düzensiz ve psödopodlarının varlığıyla tanımlanmaktadır (266). Çok nadir görülen bu form dışkı örneklerinde lökositleri taklit ettiğinden tanı için büyük zorluklar oluşturmaktadır. Ancak gram boyama yapıldığında daha kolay tanınabilmektedir (249). (Konvansiyonel transmisyon elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda, psödopod benzeri uzantıların sitoplazma içerisinde bir santral vakuolün, çok sayıda golgi cisimlerin, endoplazmik retikulumun ve mitokondrilerin olduğu gösterilmiştir (260). Bu form pseudopod benzeri sitoplazmik çıkıntılar gözlenmesine rağmen hareketsizdir (263). Pseudopodların beslenme ve patogeneizde rol oynadığı düşünülmektedir. Ameboid formun yapısı ve hayat döngüsündeki görevi konusunda bilgiler yetersiz olmakla birlikte, vakuoler ve kist formlar arasında bir geçiş form olduğu düşünülmektedir (266).

2.2.4.4. Kist formu

Vakuoler ve granüler formlar 100 yıldır bilinmesine rağmen, kist formunun çok küçük (3 - 10 µm) olması ve dışkıdaki artefaktlarla kolayca karıştırılması nedeniyle morfolojisi ve yaşam döngüsündeki rolü son zamanlarda keşfedilmiştir (260,267). Dışkıda ve aksenik kültürler içerisinde morfolojik olarak farklı şekillerde görülse de genellikle küresel ve oval şekildedir, diğer protozoon kistlerindeki gibi kalın hücre duvarlı olup yoğun sitoplazmaya sahiptirler (268). Sitoplazma; çekirdek, mitokondri, glikojen ve küçük vakuoller içerebilir (263).

Blastocystis spp.'nin kist formları, vakuoler ve granüler forma göre dış çevre koşullarına daha dayanıklıdır. Örneğin; su içerisinde parçalanmazlar ve oda sıcaklığında 19 gün yaşayabilirler (260,269). Bu nedenle kist formlarına dışkı örneklerinde daha sık rastlanmakta ve bu durumda organizmanın dış ortamda hayatta kalma şansı artmaktadır.

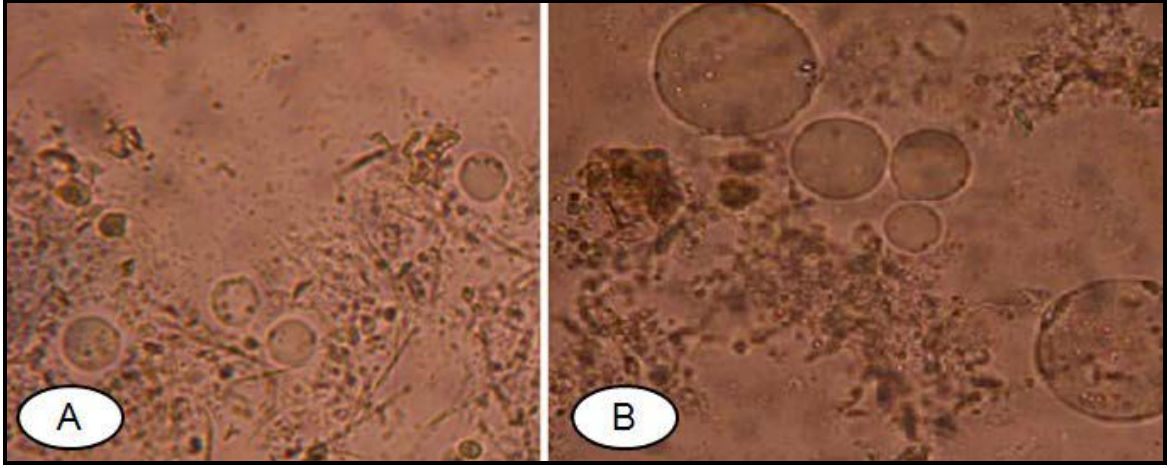
Fakat aşırı sıcak ve soğuk koşullara ve dezenfektanlara karşı genellikle duyarlı oldukları bildirilmiştir (270). *Blastocystis* spp.'nin kist formu, dış ortamda hayatta kalma mekanizmasını temin eden ve aynı zamanda kişiler arasında geçişi sağlayan bir formudur.

Blastocystis spp.'nin dışkıda görülen kistlerinin in vitro ortamlarda gelişmesi incelendiğinde; bir saat içerisinde tipik kist formları görülebilmektedir. Altı saatte kist duvarlarını kaybetmekte ve ince yüzey tabakası yerine geçmektedir. Bu kist duvarları parçalandığında 5 µm iken dokuz saat sonunda 7-9 µm'ye kadar gelişmektedir. Bu hücrelerin gelişmesi yanında kistlerden çok sayıda küçük vakuoler yapılar meydana gelmektedir. Granüler formlar vakuolların içinde de görülmektedir. Santral vakuollerin birleşmesi ile sonuçta granüler formlar meydana gelmektedir. On iki saatte tipik vakuoler ve granüler formlar ortaya çıkmakta ve ikiye bölünerek çoğalmaktadır. Bölünmeden sonra parazit kist duvarı materyali ile etrafını çevrilir ve 4 tane dişi hücre bir araya gelerek bir kisti meydana getirmektedir (267).

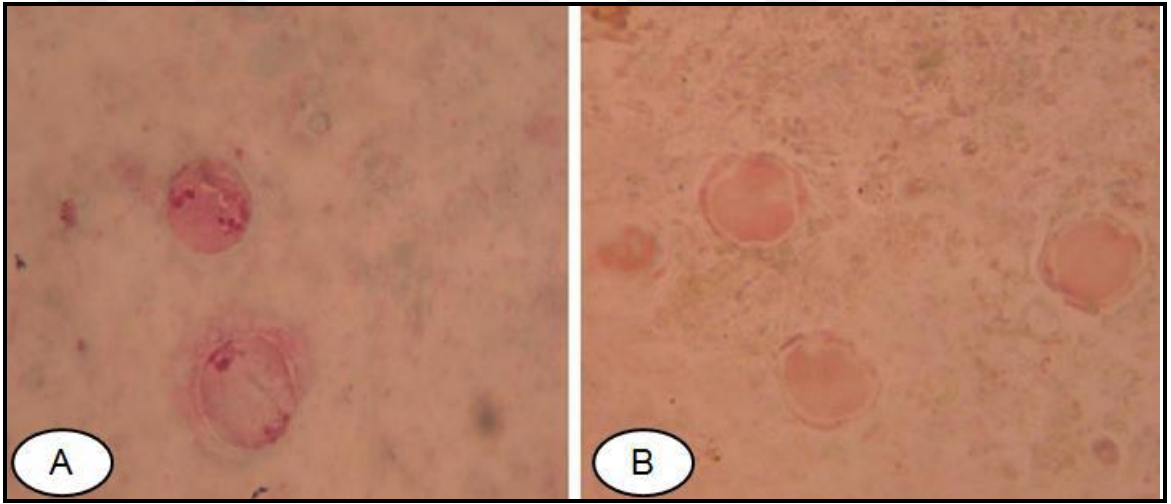
2.2.4.5. Diğer formlar

Blastocystis spp.'nin vakuoler, granüler, ameboid ve kist formlarının yanında nadir görülen formları da bilinmektedir (271,272). Bu formlardan biri santral vakuoller olmayan avakuoler formlardır. Diğer formlardan farklı olarak çok küçük (5µm) türler ve yüzey tabakaları ve mitokondrileri yoktur (261,272). Hücrenin dejenere olmasıyla kalıntı halinde bulunan merkezi vakuol diğer hücre kalıntılarıyla karıştırılabildiği için kültür içerisinde tanımlanamayabilir.

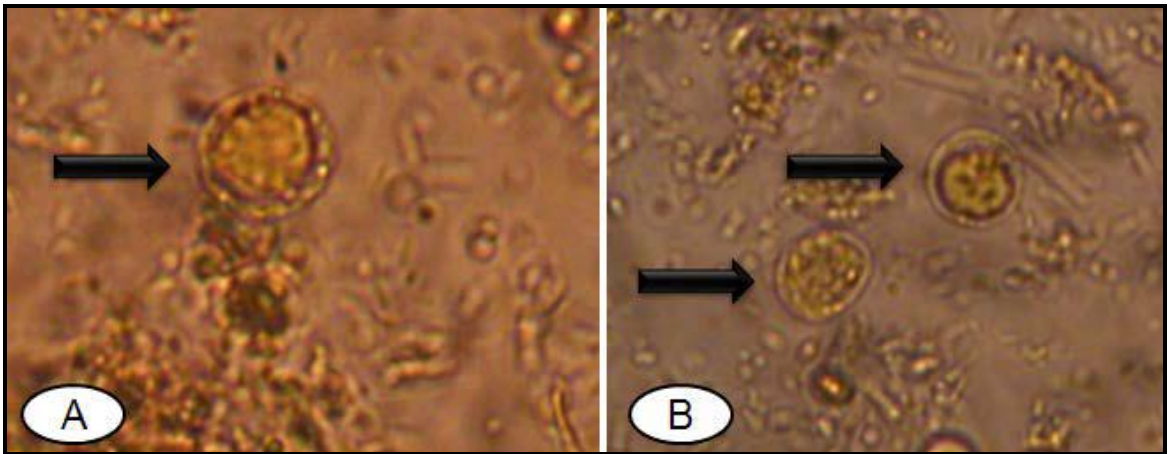
Diğer bir form ise çok az rastlanan, şizont formu da denilen multivakuoler formdur. Bu form hem vakuoler hücrelerden hem de vakuoler formların değişikliğe uğrayıp, santral vakuolün birleşmesiyle meydana gelmektedir (261). Multivakuoler formların dışkı kistlerinin gelişmesinde rol aldığı belirtilmektedir. *In vitro* kültürler içerisinde kaybolmakta ve sonradan vakuoler form olarak ortaya çıkmaktadır. Bu form, *Blastocystis* spp.'nin hayat döngüsü içerisinde kısa süreli bir dönem olarak bilinmektedir (261).



Resim 2.3. Blastocystis'in mikroskopik görünümleri: Blastocystis örneklerinde farklı hastalardan alınan kültürlerin mikroskopik incelemesinde farklı boyutlardaki Blastocystis görüntüleri (40X büyütme) (273).



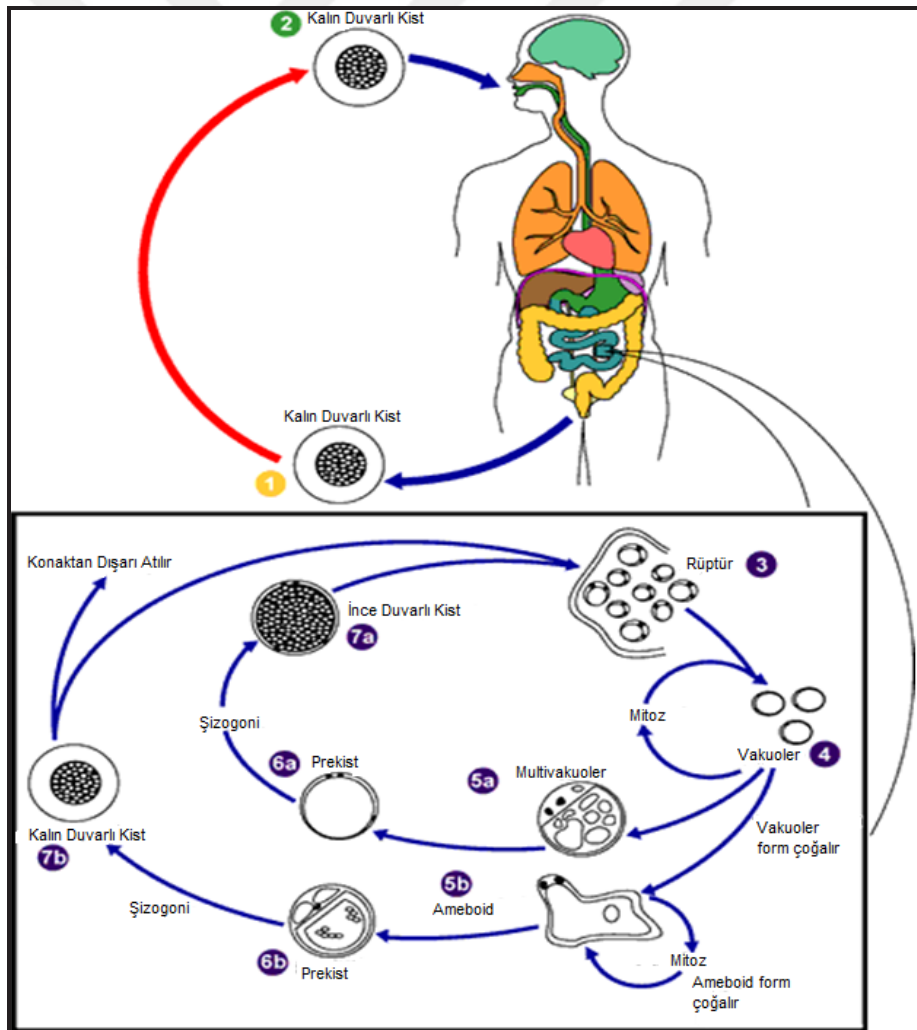
Resim 2.4. Blastocystis trikrom boyama preparat görüntüsü (100X büyütme) A: granüler form, B: vakuoler form) (273).



Resim 2.5. Blastocystis kistlerinin nativ-lugol preparat görüntüsü (40X büyütme) A,B: kist form (273).

2.2.5. Hayat döngüsü

Blastosistis spp'nin pleomorfik yapısı nedeniyle yaşam döngüsü için şizogoni, tomurcuklanma endodiyogeni gibi farklı hipotezler atılmıştır. Günümüzde yaygın kabul gören iki farklı kist formu içeren çoğalma biçimidir. Buna göre Blastosistis spp'nin yaşam döngüsünde vakuoler, ameboid, multivakuoler ve kist olmak üzere dört form görülür (266). Burada vakuoler form mitotik bölünme ile çoğalarak ya ameboid ya da multivakuoler forma dönüşmektedir. Daha sonra ameboid formdan ve multivakuoler formlardan prehistler meydana gelmektedir. Ameboid formdan oluşan prehistler şizogani ile kalın duvarlı kistleri oluştururken multivakuoler formlardan meydana gelen prehistler ince duvarlı kistleri oluşturmaktadır. Kalın duvarlı kistler konaktan dışarı dışkıyla atılır ve suları, besinleri kontamine ederler. İnce duvarlı kistlerin ise otoinfeksiyondan sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (266).



Şekil 2.12. Blastocystis spp.'nin hayat döngüsü (274).

2.2.6. Epidemiyoloji ve prevalans

Blastocystis spp. epidemiyolojik çalışmalarda en sık saptanan ve hemen hemen dünyanın her yerinde görülen bir parazittir (249). Prevalansı ülkeden ülkeye veya aynı ülke içinde farklı topluluklar arasında değişebilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde prevalansını %60'a kadar çıkarken gelişmiş ülkelerde bu oran %1,5 - 10 arasında değişmektedir (275,276). Ülkemizde ise %0,48-44,4 arasında değişmektedir (277). Prevalansın geniş sınırlarda yer almasının sebebi bazı araştırmacıların X40 objektifle incelenen mikroskop sahasında beş ve daha fazla sayıda *Blastocystis*'i bildirdikleri, bazılarının ise sayıyı dikkate almadan bildirim yapmaları olarak görülmektedir (278,279).

PZR yöntemi kullanarak yapılmış uluslararası epidemiyolojik çalışmalarda en sık subtip 3 görülürken, bunu subtip 1 ve 6 izlemiştir (263). Özyurt ve ark. çalışmasında ülkemizdeki *Blastocystis* alt tür dağılımı diğer ülkelerle büyük bir benzerlik göstermiştir. Çalışmada insandaki enfeksiyonlarda özellikle subtip 3'ün, ayrıca subtip 1, 2 ve 4'ün de izole edildiği tespit edilmiştir. Subtip 5-9'un insanlarda enfeksiyona nadiren neden olduğu gösterilmiştir (275).

Son yıllarda yapılan çalışmaların çoğu *Blastosistis*'in bir patojen olduğunu göstermektedir. Ancak insan ve diğer canlılarda *Blastosistis*'in neden olduğu hastalıklar tam olarak belirlenemese de bazı hastalıklarda daha sık saptanması, hastalıkların patogeneğinde etken olabileceğini düşündürmektedir. İrritabl bağırsak sendromu (İBS) olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada olguların (150 olgu) %32'sinde mikroskopik incelemede, %46'sında ise kültürde *Blastosistis* saptanmış, İBS'li olmayan ishallerli kontrol grubunda ise bu oran %7 olarak belirlenmiştir. *Blastosistis*'in İBS etyolojisinde rol oynayabileceği hipotezi ortaya çıkmıştır (280). Gastrointestinal semptomlarla gelen hastalarda yapılan çalışmada ÜK'li olgularda (%8,7) kontrol grubuna (%3,1) göre daha sık saptanmıştır (177).

2.2.7. Patogeneze ve klinik

Çok sayıda çalışmaya rağmen günümüzde *Blastocystis*'in patojenik belirsizliği hala devam etmektedir. Bazı yazarlar görülen klinik belirtilerden *Blastocystis* spp.'nin sorumlu olmadığını savunurken araştırmacıların çoğu etkenin en azından potansiyel bir patojen olduğunu düşünmektedir (281,282,283). *Blastocystis* spp.'den başka patojenin bulunmadığı ishal vakalarıyla yapılan ve parazitin eradikasyonu ile şikayetlerin geçtiğini bildiren plasebo kontrollü çalışmalarda bu parazitin patojenik potansiyeli olduğunu

desteklemektedir (284). Patogeneze yönelik çalışmalar; kolonoskopi ve biyopsi sonuçlarından elde edilen veriler Blastocystis'in kolon mukozasını invaze etmediği ancak ödem ve inflamasyon oluşturduğunu göstermiştir (285). Gnotobiotik kobaylarda yapılan bir çalışma parazitin epitelyum hücrelerinde inflamasyona neden olduğu ispatlamıştır (286). Long ve ark. yaptığı çalışmada Blastocystis'in IL-8 ve granulosit-makrofaj koloni stimülasyon faktörlerinde 24 saat sonunda artışa neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca Blastocystis'in enfeksiyonun başlangıç aşamasında konağın bağışıklığını düşürerek diğer fırsatçı patojenlerin konakta enfeksiyona sebep olmasını kolaylaştırdığı gözlemlenmiştir (287).

Blastocystis'e bağlı olduğu düşünülen enfeksiyonlarda özgün olmayan semptomlar görülür. En sık diyare, karın ağrısı, gaz görülmekle birlikte; kabızlık, tenezmus, rektal kanama, mide bulantısı, iştahsızlık, kramp, gibi semptomlar da görülebilmektedir (288,289). Nadiren bazı olgularda ateş, rektal kanama, hepatomegali ve splenomegali, deri döküntüleri ve kaşıntıya rastlandığı bildirilmektedir (290). Bunun yanında asemptomatik olgularda tahmin edilenden fazladır. Hastaların dışkılarında mukus, eritrosit ve lökosit, kanda %4-12 oranında eozinofili saptanabilmektedir (281).

IBS ve Blastocystis arasında kesin olmamakla birlikte bir ilişki olduğu düşünülmektedir (291). IBS hastalığı olan kişilerde, lamina propriada artmış T hücre aktivasyonu olduğu T hücre sitokinlerinin fazlaştığı, buna bağlı olarak da T hücre fonksiyonları arttığı gözlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise; IBS patogenezinde IgG2 oranının önemli olduğu gösterilmiştir. B. hominis'in de kolon mukozasında T hücre aktivasyonunu arttırması, IBS olan ve Blastocystis enfeksiyonu saptanan hastalarda IgG2 subtipinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunun gösterilmesi ve prevalans çalışmalarında IBS'li olgularda daha fazla saptanması bu ilişkiyi desteklemektedir (280,292).

B. hominis, intestinal epitelyal hücrelerden inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını uyarması İBH için tetikleyici bir unsur olabileceği düşünülmektedir (289). Çekin ve ark. gastrointestinal semptomlarla gelen hastaların dışkı örneklerinde B. hominis taramışlar, ülseratif kolitli olgularda kontrol grubuna göre daha yüksek oranda saptamışlar (177). Yine bir başka çalışmada dışkı incelemelerinde B. hominis saptanan tedaviye dirençli semptomları olan altı ülseratif kolit hastası 14 günlük tedavi sonrası tamamen düzeldiği görülmüştür (293).

2.2.8. Tanı

2.2.8.1. Mikroskopik tanı

Tanıda en çok kullanılan yöntem ışık mikroskopisidir, özellikle vakuollü formunun görülmesiyle tanı kolay konulabilir. Ancak Blastocystis'in polimorfik yapıda olması mikroskopide mantarlarla, Cyclospora spp, Entamoeba histolytica gibi protozoonlarla ve yağ globülleri ile karıştırılması, yanı sıra dışkıda baskın olmayan küçük kist formuyla tanı koymak güçleşebilmektedir (263,271). Lugol solüsyonu ile hazırlanan taze preparatlar ve asid-fast, Giemsa ve trikrom boyamalar tanıda uygulanmakta, bunlar arasında en sık trikrom kullanılmaktadır (263). Distile su ve diğer protozoonlar için kullanılan konsantrasyon metodları, Blastocystis'in vakuollü, granuler ve multivakuollü formlarını parçaladığı için, bunun yerine izotonik tuzlu su kullanılmalıdır (294).

Blastocystis'in rapor edilmesinde önerilen genel yaklaşım; nativ-lugol ile (X400) veya boyalı preparatlarda (X1000) her sahada beş veya daha fazla parazitin görülmesidir (295).

Bazı çalışmalar parazit yoğunluğu ile semptomlar arasında bir paralellik olduğunu belirtirken bazı çalışmalar ise böyle bir paralelliğin olmadığını göstermektedir (275,296). Bu farklılığın nedeni açık olmamakla birlikte genotipik farklılıklar ve konak faktörleri olabileceği ileri sürülmektedir (263).

2.2.8.2. Kültür yöntemi

En sık kullanılan direkt dışkı inceleme metoduna göre kültür metodu daha özgündür (297).

37°C sıcaklıkta anaerobik ortamda üreme gösteren Blastocystis için bir çok özgün besi yeri geliştirilmekle birlikte Jones besiyeri insan örneklerinden izolasyon için en sık kullanılan ksenik besiyeridir (291,298). İn vitro kültür yöntemi, dışkıda kistlerin tanı için yetersiz veya şüpheli olduğu durumda tanı için yararlı olabilir. Bunun yanında parazitin ilaç direnci ve alt türe göre ilaç tedavisinin araştırılmasında da kullanılmaktadır.

2.2.8.3. Seroloji

Blastocystis spp.'ye karşı gelişen IgG ve IgA yanıtı IFA ve ELISA testleri ile belirlenmektedir. Zierdt ve ark. 1:50 ve 1:1600 arasında tespit edilen yüksek ELISA titrelerinin semptomatik enfeksiyonla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bunun tersi bazı çalışmalarda ise; semptomatik hastaların serum titrelerinde çok az bir artış olduğu

bildirilirken kronik enfeksiyonlarda anlamlı artışın olduğu bildirilmiştir (299,300). Bu farklılıklar antijen elde edilen suşların antijenik ve genotipik farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir. Sonuç olarak Blastocystis türlerine karşı konak yanıtı ve antijenik farklılıklarla ilgili bilgiler kısıtlı olduğu için, rutin laboratuvar tanısında seroloji kullanılması önerilmemektedir (263).

2.2.8.4. Moleküler tanı

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) hastalık etkeni olan mikroorganizmaya ait hedef nükleik asit zincirlerinin primer olarak adlandırılan spesifik ısıya dayanıklı polimeraz enzimleri (Taq), komplementer ve oligonükleotitler kullanılarak in vitro olarak çoğaltılmasını sağlayan özgün ve güvenilir moleküler biyolojik bir yöntemdir (301). Blastocystis spp tanısı için PZR temelli birçok tanısal test geliştirilmiştir. Çalışmaların çoğu, direkt dışkıdan yapılan boya ve kültür yöntemlerine göre PZR yönteminin üstün olduğunu göstermiştir (302). Stensvold ve ark. geliştirdiği PZR yöntemi dışkıdan Blastocystis spp. tanısında %100 özgüllük göstermiş ve dışkıda az parazit bulunması ve parazitlerin dejenere olması durumunda bile çalışmıştır (303). PZR tabanlı metodlar Blastocystis spp'nin alttür tayini, sınıflandırılma ve filogenetik analizler için etkin bir yöntem olarak kullanılmaktadır (304).

2.2.9. Tedavi

Günümüzde hala Blastocystis spp'nin patojenitesi tartışmalıdır. Bu nedenle Blastocystis spp. ile infekte olmuş hangi hastanın tedaviye uygun olduğu ve eğer tedavi edilecekse hangi ilacın kullanılması gerektiği tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte tedavi de yanıt için parazitin hiç saptanmaması mı gerektiği, yoksa az da olsa parazitin saptanması ama kliniğin düzelmesinin yeterli mi olduğu da belirsizdir.

Tedavi için en sık tercih edilen metranidazoldür (284,305). Metranidazol tek başına ya da paramomisin gibi ajanlarla kombine halde önerilmektedir (306). Tedavi başarısız olursa daha ileri tedavinin seçimi ampiriktir. Trimetoprim-sülfametaksazol veya aminoglikozid ikinci tedavi seçeneği olarak en uygun seçimdir (307). Bunun yanında tedavide çok etkili veya orta düzeyde etkili furazolidon, quinacrine, ornidazol, tinidazol, ve ketokonazol gibi ilaçlar da bildirilmiştir (308,309). Refrakter ülseratif koliti olan 122 hastadan Blastocystis enfeksiyonu belirlenen altı hastaya 10-14 gün boyunca metronidazol tedavisi uygulandığında hastaların tedaviye yanıt verdiği görülmüştür (310). Ancak yapılan

çalışmaların hemen hemen hiçbirinde olguların tamamının başarılı tedavi edildiği bir grup olmamıştır, Hatta aynı ilaç için farklı bölgelerden çok farklı duyarlılıklar bildirilmiştir (311). Bunun nedeninin bölgesel ilaç direnci ve farklı izolatların farklı duyarlılık profillerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Blastosistozda etkin tedavi uygulayabilmek için geliştirilecek standart bir anti-paraziter ilaç duyarlılık testine gereksinim duyulmaktadır (312).

Ülkemizde ise; Blastocystis'e karşı antiprotozoal ilaçların etkisinin araştırıldığı çalışmada en etkili ilaçlar sırasıyla ornidazol, metronidazol, azitromisin, itrakonazol, trimetoprim-sülfametoksazol olarak saptanmıştır (313).

Tablo 2.7. Blastosistozda etkili ilaçların dozları ve efikasiteleri (314).

Tedavi (Doz)	Efikasite (%)
Iodoquinol (650 mg t.i.d)	0
Emetin (100 µg/ml)	50
Metronidazol (2000 mg s.i.d)	0
Metronidazol (1500 mg s.i.d)	100
Metronidazol (750 mg t.i.d)	100
Metronidazol (750 mg t.i.d)	100
Metronidazol (500 mg t.i.d)	100
Metronidazol (250- 750 mg t.i.d)	33
Metronidazol (750 mg t.i.d)	100
Metronidazol (1500 mg s.i.d)	80
Metronidazol (800 mg t.i.d)	0
Metronidazol (30 mg/kg günde iki kez)	67
Nitazoxanid (500 mg t.i.d)	100
Nitazoxanid (100-200 mg b.i.d çocuklar için)	86
Nitazoxanid (500 mg t.i.d)	100
Ornidazol (500 mg t.i.d)	50
Paromomsin (25 mg/kg t.i.d)	100
Paromomsin (500 mg t.i.d)	100
Paromomsin (25 mg/kg t.i.d)	100
Paromomsin (1000 mg b.i.d) & MZ (750 mg t.i.d)	100
Saccharomyces boulardii (250 mg b.i.d)	78
Trimetoprim-SMX	22
Trimetoprim-SMX (6 mg/kg TMP, 30 mg/kg SMX s.i.d)	95
Trimetoprim - SMX (320 mg TMP, 1600 mg SMX s.i.d)	93
Trimetoprim - SMX (80 mg TMP, 400 mg SMX t.i.d)	100
Üçlü tedavi (nitazoxanid, furazolidon ve secnidazol)	0

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hastalar ve Yöntem

Mayıs 2014 - Mayıs 2016 tarihleri arasında SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniğine başvuran veya Gastroenteroloji Servisine yatışı yapılan ÜK tanılı hastalar çalışma popülasyonumuzu oluşturmuştur. Çalışmamıza ÜK (klinik-endoskopik-patolojik yöntemlerle ispatlanmış) tanılı 18 yaş üstü hastalar dahil edilmiş olup, tanısı şüpheli olan (indeterminate kolit) ve ÜK dışında başka bir barsak hastalığı (CH, mikroskopik kolit, malignite, vb.) olan hastalar çalışma dışında tutulmuştur. Hastaların demografik özellikleri, hastalık süresi ve tulum yeri, kullandığı ilaçlar, özgeçmiş bilgileri, klinik ve laboratuvar verileri (hemogloblin, nötrofil, lenfosit, eozinofil, CRP) başvuru nedeni (takip, alevlenme) hazırlanmış olan standart kayıt formlarına kaydedilmiştir. Çalışmaya alınan her hastadan dışkı örneği alınmıştır.

ÜK tutulum yeri Montreal sınıflamasına göre 4 tipe ayrıldı. Buna göre rektum ve sigmoid kolon distali tutulumu proktit, splenik fleksurayı aşmayacak şekilde sigmoid kolonun proksimaline kadar olan tutulum sol kolon ve splenik fleksuranın proksimalini geçen tutulum ekstansif, tüm kolon tutulumu ise pankolit olarak sınıflandırıldı. Çalışmamızda ekstansif kolitli hasta olmadığı için hastalar proktit, sol kolon ve pankolit tutulumlu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Hastaların tutulum şiddetini belirlemek için Mayo Skorum Sistemi kullanıldı. Buna göre 2 ve altı remisyon, 3-5 arası hafif, 6-10 arası orta, 11 ve üstü şiddetli tutulum olarak gruplandı. Kolonoskopi yapılmayan hastalar için Parsiyel Mayo skorlaması kullanıldı. Buna göre 2 ve altı arası remisyon, 3-4 arası hafif, 5-6 arası orta, 7 ve üstü şiddetli hastalık olarak değerlendirildi. Kolonoskopi yapılan hastaların tutulum şiddeti ayrıca Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi ile değerlendirildi. Toplam skor 4 ve altı remisyon, bunun üstündeki değerler alevlenme olarak değerlendirildi ve bu aktivite indeksine göre hastaların aldıkları toplam puanlar ayrıca belirtildi. inflamasyon splenik fleksuranın proksimaline doğru ilerler ancak tüm kolon tutulmaz. Pankolitte ise tüm kolon tutulmuştur.

Tüm hastaların dışkı örnekleri tek bir deneyimli uzman parazitolog tarafından incelendi. Her hastanın dışkı mikroskopisine ve dışkı kültürüne bakıldı. Ayrıca akut alevlenme ile başvuran hastaların dışkısında Clostridium difficile toksin A ve B, Entamoeba histolytica adhezin antijeni bakıldı. B. hominis dışında enfeksiyöz kolit saptanan hastalar çalışma dışında tutuldu. Çalışmaya dahil edilen hastaların dışkıları

mikroskopi (lugol) ve PZR yöntemi ile incelenerek B. hominis araştırıldı. Dışkı örneklerinde direkt bakıda sayıdan bağımsız olarak B. hominisin herhangi bir formu görüldüğünde “B. hominis pozitif” olarak değerlendirildi. 5 ve üzeri kist görüldüğünde ise ayrıca belirtildi. Eş zamanlı her hastadan 2 mg dışkı örneği daha sonra PZR çalışmak için ayrılarak saklandı.

3.2. Mikroskopik Tanı Yöntemleri

3.2.1. Serum fizyolojik yöntemi

Bir lam üzerine serum fizyolojik damlatılarak plastik baget yardımıyla yaklaşık 2 mg. dışkı alınıp karıştırılarak X400 büyütmede mikroskopik bakısı yapılmıştır.

3.2.2. Lugol yöntemi

Bu yöntemde parazitlerin iyot ile boyanmalarını sağlamak için boya solüsyonu aşağıdaki gibi hazırlanmıştır.

Kullanılan maddeler;

- 1- Potasyum İyodür (KI) 10 g,
- 2- Toz halindeki iyot kristalleri 5 g,
- 3- Distile su 100 ml.

Yöntem

Potasyum iyodür distile suyun içinde çözündürülmüştür. Solüsyon doyuncaya kadar iyot kristalleri eklenmiştir. Solüsyon ışık geçirmeyen kahverengi bir cam şişenin içine süzölmüştür. Kırmızımsı kahverengi renk solduğu zaman taze solüsyon hazırlanmıştır. Bu solüsyon stok Lugol solüsyonudur ve bu şekliyle taze bakı amacıyla kullanılmamıştır. Kullanılmadan önce bir birim stok Lugol solüsyonu, 5 birim distile suyla sulandırılmıştır. Doğrudan bakıda kullanılan bu solüsyon her hafta yenilenmiştir. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda X400 büyütmede incelenmiştir.

3.2.3. PZR yöntemi

DNA izolasyonu

Dışkı örneklerinden DNA elde etmek için, Exgene stool DNA mini (GeneAll, Seoul, Korea) ekstraksiyon kiti çalışma prosedürüne uygun olarak kullanılmıştır.

Stool DNA mini kit protokolü

1. İki ml'lik tüplere 200 mg kadar stool örneğinden eklenilir.
2. Bir ml PBS Buffer eklenir ve vorteks yapılır. Örnek kaldıysa homojenizatör de kullanılabilir.
3. Oda sıcaklığında 30 saniye bekletilir.
4. En yüksek devirde 2 dakika santrifüj edilir. Süpernatant uzaklaştırılır.
5. Üzerine 1.3 ml FL Buffer eklenir. Pipetaj yapılır.
6. Beş dakika oda sıcaklığında bekletilir. 10,000 g'de 5 dk santrifüj yapılır.
7. Süpernatant kısmı EzPass (beyaz kolon)'a aktarılır.
8. 10,000 g'de 1 dakika santrifüj edilir. Eğer numune fazla ise (700 µl'den) bu işlem tekrarlanır.
9. Kolonun altında ki tüp yenisi ile değiştirilir.
10. Üzerine 100 µl EB Buffer eklenir ve 1 dakika oda sıcaklığında bekletilir.
11. 10,000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
12. Altta kalan sıvı kısma 500 µl PB Buffer eklenir ve pipetaj yapılır.
13. Bu karışım yeşil renkli G tipi kolona aktarılır.
14. 10,000 g'de 1 dk santrifüj edilir.
15. Alttaki tüp değiştirilir. Üzerine 500 µl NW Buffer eklenir.
16. 10,000 g'de 1 dk santrifüj edilir. Alttaki tüp yenisi ile değiştirilir.
17. Daha sonra en yüksek devirde 1 dakika santrifüj edilir.
18. Kolon temiz 1,5 ml'lik tüplere alınır.
19. 50 µl EB Buffer eklenir. 1 dk oda sıcaklığında bekletilir ve 10,000 g'de 1 dk santrifüj edilir.

3.2.4. Real Time PZR

Real time PZR 20 µL hacimle çalışılmıştır. Kullanılan maddeler: 1 M primerler (Tablo 3.1.), 300 nM probe (Blastocystis), 1X Real time PZR Mix (Genmark-Turkey). Hazırlanan mastermix CFX 96 real-time PZR system (Biorad, US)'e yüklenmiştir. PZR protokolü Tablo 3.2'deki gibi oluşturulmuştur.

Tablo 3.1. Kullanılan primerler.

Kullanılan primerler		
Primer adı	Sekanslar	
Blasto FWD F5	GGTCCGGTGAACACTTTGGATTT 1641–1663 in AY244621	
Blasto R F2	CCTACGGAAACCTTGTTACGACTTCA 1734–1759 in AY244621	
Blastocystis FAM	probe	TCGTGTAAATCTTACCATTAGAGGA-BHQ1 1705-1730 in AY244321b

Tablo 3.2. PZR amplifikasyonu için reaksiyon protokolü.

PZR amplifikasyonu için reaksiyon protokolü		
Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
95	15 dk	1
95	15 sn	45
60	1 dk	1

Çalışmamız prospektif bir çalışma olup, Etik Kurul onayı SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulundan alınmıştır (Karar No:67\4 – Tarih: 02.07.2015). Tüm hastalardan çalışma hakkında sözel bilgi verildikten sonra yazılı onamları alınmıştır.

3.3. İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı istatistikler frekans, yüzde, ortalama (mean), standart sapma (SD) ve medyan (ortanca), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile sunulmuştur. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin analizinde Fisher's Exact Test veya Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.

Normallik testinde gruptaki örneklem sayısı 50'den küçük olduğunda Shapiro Wilks, büyük olduğunda Kolmogorov-Smirnov testi kullanılmıştır. İki grubun ölçüm değerleri arasındaki farkın analizinde, normal dağılıma uymadığı durumda Mann-Whitney U testi, uyduğu durumda Student t testi kullanılmıştır. Üç grubun parametrik olmayan karşılaştırmasında Kruskal Wallis testi, anlamlı çıkan durumlar için post-hoc test olarak Bonferroni-Dunn testi kullanılmıştır. Hasta olanları ve olmayanları belirli ölçümlere göre ayırt etmek ve kesim noktası belirlemek için ROC (Receiver Operating Characteristic) Analizi yapılmıştır. Tüm belirteçler için Eğri Altında Kalan Alan (AUC), kesim (cut-off) noktaları, duyarlılık, seçicilik, PPV (Pozitive Predictive Value), NPV (Negative Predictive Value) değerleri sunulmuştur. Analizler SPSS 21.0 paket programı ile yapılmıştır. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmamıza 64 (%56,1) erkek ve 50 (%43,9) kadın olmak üzere toplam 114 ÜK hastası dahil edilmiştir. Hastalarımızın yaş ortalaması 43 ± 13 yıl olarak hesaplanmıştır. Hastaların 62'si (%54,4) remisyon, 52'si (%45,6) aktivasyon döneminde başvurmuştur. Çalışmaya dahil edilen 22 (%19,3) hasta proktit, 51 (%44,7) hasta sol kolon tutulumlu ve 41 (%36) hasta pankolit tutulumlu olarak tespit edilmiştir. Direkt bakı yöntemi kullanılarak 13 (%11,4) hastaya ve PZR yöntemi kullanılarak 37 (%32,5) hastada *B. hominis* saptanmıştır. Hastaların ortalama Hb değeri $12,8 \pm 2,2$ gr/dl eozinofil medyan değeri 200 (0-1100), CRP medyan değeri 4 (0-216) olarak bulunmuştur. Hastaların ortalama RAI $9,8 \pm 2,2$ olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri.

n:114		
Yaş, yıl ort $\pm$ ss		43 $\pm$ 13
Cinsiyet	Erkek, n (%)	64 (56,1)
	Kadın, n (%)	50 (43,9)
Grup	Remisyon, n (%)	62 (54,4)
	Aktivasyon, n (%)	52 (45,6)
Tutulum yeri	Pankolit, n (%)	41 (36,0)
	Sol kolon, n (%)	51 (44,7)
	Proktit, n (%)	22 (19,3)
Mayo skoru	Hafif, n (%)	5 (9,6)
	Orta, n (%)	29 (55,8)
	Şiddetli, n (%)	18 (34,6)
B. hominis varlığı		
Direkt bakı	Pozitif, n (%)	13 (11,4)
	Negatif, n (%)	101 (88,6)
PZR	Pozitif, n (%)	37 (32,5)
	Negatif, n (%)	77 (67,5)
Hb, (gr\dl) ort$\pm$ss		12,8 $\pm$ 2,2
Eizonofil, (10³/mm³) medyan (min-max)		200 (0-1100)
CRP, (mg\L) medyan (min-max)		4 (0-216)
RAI, ort$\pm$ss		9,8 $\pm$ 2,2

Ort: ortalama SS: Standart sapma RAI: Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi CRP: C-reaktif protein

4.2. Hasta Gruplarının Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen hastalar başvuru şekline göre remisyon ve aktivasyon dönemi olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Başvuru şekli ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktur ($p=0,651$). Başvuru şekli ile tutulum yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktur ($p=0,129$). Aktivasyon grubunun CRP değeri remisyon grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek ($p<0,001$), Hemoglobin ortalaması ise daha düşük saptandı ($p<0,001$). Grupların yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,119$).

Tablo 4.2. Hasta gruplarının değerlendirilmesi.

	n: 114		P
	Remisyon (n=62)	Aktivasyon (n=52)	
Cinsiyet, n (%)			
Erkek	36 (58,1)	28 (53,8)	0,651
Kadın	26 (41,9)	24 (46,2)	
Yaş, yıl ortalama±ss	44,19±12,1	40,52±12,9	0,119
Tutulum Yeri, n (%)			
Pankolit	22 (35,5)	19 (36,5)	0,129
Sol Kolon	24 (38,7)	27 (51,9)	
Proktit	16 (25,8)	6 (11,6)	
CRP (mg/L) Medyan (min-max)	3 (0-47)	14 (0-216)	<0,001
Hemoglobin (gr/dl) ortalama±ss	13,5±1,7	11,9±2,5	<0,001

Ort: ortalama SS: Standart sapma CRP: C-reaktif protein

4.3. Mayo Skoru ile Rachmilewitz Endoskopik Aktivite İndeksi ve Aktivite Belirteçlerinin Arasındaki İlişki

Hafif grupta 4 hasta olduğu için istatistik yapılamamıştır. Bu nedenle hafif gruptaki hastalar orta grup ile birleştirildi ve hastalar Mayo skoruna göre iki gruba ayrıldı. Toplam Mayo skoru ile RAI, Hemoglobin ve CRP değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırayla: $p=0,221$; $p=0,955$; $p=0,137$; $p=0,129$).

Tablo 4.3. Mayo skoru ile diğer aktivite belirteçlerinin karşılaştırılması.

	Mayo Skoru		P
	Hafif - Orta (n=34)	Şiddetli (n= 18)	
RAI, medyan (min-max)	10 (5-12)	12 (7-12)	0,193
Hemoglobin, ort±ss	12±2,4	11,6±2,6	0,604
CRP, (mg\L) medyan (min-max)	12,5 (0-104)	24 (0-216)	0,360

Ort: ortalama SS: Standart sapma RAI: Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi CRP: C-reaktif protein

4.4. Blastosistis Hominis Tanı Yöntemlerini Karşılaştırma

PZR altın standart olarak alındığında direkt bakının gerçekte hasta olanları tespit etmede iyi bir ölçüt olmadığı, gerçekte hasta olmayanların belirlenmesinde ise iyi bir ölçüt olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.4. B. hominis tanısında mikroskopik yöntem ile PZR'nin karşılaştırılması.

Sensitivite	%95 GA	Spesifite	%95 GA	PTD	%95 GA	NTD	%95 GA
21,62	9,8 - 38,2	93,51	85,5 - 97,9	61,5	31,6 - 86,1	71,3	61,4 - 79,9

PTD: Pozitif tahmini değer; NTD: Negatif tahmini değer

4.5. Ülseratif Kolit ve B. hominis

Hastalar PZR yöntemiyle B. hominis saptananlar (B. hominis pozitif) ve saptanmayanlar (B. hominis negatif) olmak üzere iki gruba ayrıldı. B. hominis pozitifliği ile cinsiyet, yaş, hastalık durumu (remisyon, alevlenme) ve tutulum yeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı. Grupların Hemoglobin ortalamaları, eozinofil, CRP medyan değerleri ve RAI skorları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo 4.5. B. hominis saptananlarla saptanmayanların karşılaştırılması.

B. hominis varlığı	PZR		p
	Yok (n=77)	Var (n=37)	
Cinsiyet, n (%)			
Erkek	45 (58,4)	19 (51,4)	0,475
Kadın	32 (41,6)	18 (48,6)	
Grup, n (%)			
Remisyon	42 (54,5)	20 (54,1)	0,961
Aktivasyon	35 (45,5)	17 (45,9)	
Yaş, yıl ort±ss	41,57±13,1	44,49±11,3	0,246
Tutulum Yeri, n (%)			
Pankolit	27 (35,1)	14 (37,8)	0,268
Sol kolon	32 (41,6)	19 (51,4)	
Proktit	18 (23,4)	4 (10,8)	
CRP, medyan (min-max) (mg\L)	4 (0-216)	6 (0-104)	0,060
Hemoglobin, (gr\dl) ort±ss	13±2,2	12,4±2,2	0,165
Toplam Mayo skoru, n (%)			
Hafif - Orta	23 (65,7)	11 (64,7)	0,943
Şiddetli	12 (34,3)	6 (35,3)	
RAI, medyan (min-max)	10 (6-12)	10 (5-12)	0,591
Eizonofil ($10^3/mm^3$) medyan (min-max)	200 (0-1100)	100 (0-800)	0,965

Ort: ortalama SS: Standart sapma RAI: Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi CRP: C-reaktif protein

4.6. Ülseratif Kolit Alevlenme Döneminde B. hominis Pozitifliğinin Önemi

Çalışmaya dahil edilen 52 aktif ÜK hastası PZR ile B. hominis saptananlar (pozitif) saptanmayanlar (negatif) olarak 2 gruba ayrıldı. Her iki grup arasında ortalama hemoglobin, CRP, RAI değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişkisi saptanmadı.

Tablo 4.6. Aktivasyon döneminde B. hominis pozitifliğinin önemi.

	Aktivasyon (n:52)		P
	PZR		
	Pozitif (n:17)	Negatif (n:35)	
Hemoglobin, gr\dl ort±ss	11±2,2	12,3±2,5	0,081
CRP (mg\L) medyan (min-max)	27 (0-104)	14 (0-216)	0,488
RAI medyan (min-max)	10 (5-12)	10 (6-12)	0,591
Mayo skoru toplam n (%)			
Hafif - Orta	11 (64,7)	23 (65,7)	0,943
Şiddetli	6 (35,3)	12 (34,3)	

Ort: ortalama SS: Standart sapma RAI: Rachmilewitz endoskopik aktivite indeksi CRP: C-reaktif protein

5. TARTIŞMA

ÜK yaklaşık bir asırdır bilinmesine rağmen etiyopatogenezi hala tartışmalıdır. Fakat, İBH'nin en sık bakteri içeriği en yoğun olan distal ileum ve kolonu tutması; bakteri içeriğinin İBH patogenezinde önemli yeri olduğunu düşündürmüştür. Nitekim, İBH'ye yatkınlığı oluşturulan (İL10 sentezi engellenerek veya HLA-B27 ekspresyonu uyarılarak) fare modellerinde bakterisiz ortamda inflamasyonun gelişmediği, ama aynı farelere normal flora verildikten sonra kolit geliştiğinin gösterilmiştir (150,151). Bununla birlikte sağlıklı farelere, kolitli farelerin mikrobiyatası verildiğinde kolitin geliştiği saptanmıştır (152). Bu nedenle, günümüzde bağırsak florasının değişmesi (disbiyosiz), İBH'da inflamatuvar süreci sürükleyen esansiyel faktörlerden biri olarak görülmektedir (121). Ama bu değişimin bir tetikleyen mi, yoksa tetikleyici başka bir faktörün (genetik, çevresel vb.) sonucu mu olduğu bilinmemektedir. Çünkü mikrobiyata stabil bir eko sistem olmasına rağmen, genetik, çevresel faktörler (patojenlerle kontaminasyon, sigara, ilaç kullanımı, diyet vb.) ve çeşitli fizyolojik durumlar (yaş, stres, sağlık durumu, etnik çevre) sonucu değişebilmektedir (134,135,136).

Özetle bu gelişmeler, İBH'nın, mikrobiyata ile immun sistem arasındaki dengenin, genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle bozulması (disbiyosiz) sonucu geliştiğini göstermiştir (18,315).

Disbiyozisin İBH'ya neden olduğunun gösterilmesiyle birçok mikroorganizma ile İBH arasındaki ilişki araştırılmıştır (119,127). Daha çok mikrobiyatanın büyük bir kısmını oluşturan bakterilerle yapılan bu çalışmaların sonucunda İBH'li hastaların mikrobiyatasında bakteri çeşitliliğinin ve konsantrasyonun, sağlıklı insanlara göre değiştiği gösterilmiştir. İBH'de sağlıklı kontrol grubuna göre Firmicutes ve Bacteroides belirgin olarak azalırken, Proteobacteria ve Actinobacteria genuslarında artış olduğu görülmüştür (119,127,157). İBH'li hastalar ile sağlıklı gruplar arasındaki bu değişim ortaya konulduktan sonra, CH ve ÜK'li hastaların mikrobiyatası karşılaştırılmış ve Fusobakterium ve Escherichia, CH'de ÜK'ye göre oldukça fazla iken Methanobrevibacter, Anaerostipes ve sınıfı bilinmeyen Christensenellaceae türleri ise ÜK'de CH'da olduğundan çok daha fazla olduğu saptanmıştır (159). Böylece mikrobiyatanın hem inflamasyonu tetiklediği, hem de inflamasyonun yönünü (Th1 veya Th2) belirlediği gösterilmiştir. Bu sayede gelecekte CH ve ÜK ayrımı yapılamayan (indetermine) kolitin ayırıcı tanısında tanımlanacak mikroorganizmalar kullanılabilecektir.

Mikrobiyata'nın İBH patogeneğinde önemi gösterildikten sonra alevlenmede de tetikleyici olabileceği düşünülmüştür. Bu yöndeki çalışmalarda remisyon ve alevlenme dönemindeki İBH'li hastaların mikrobiyatasının farklılık gösterdiğini ve bu değişimin atak riskini artırdığı gösterilmiştir (120,181). Örneğin, ÜK'de *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Lactobacillus* türlerin azalmasının atak riskini artırdığı ortaya konmuştur (160,161). Bu gelişmelere rağmen henüz alevlenmeye ilişkisi tam olarak gösterilen bir mikroorganizma yoktur. Gelecekte alevlenmeye sebep olan mikroorganizmaların gösterilmesiyle, ÜK'nin atak tedavisi daha spesifik ve kolay yapılabilecektir.

Mikrobiyatanın büyük bir kısmını bakteriler oluştursa da parazitlerde önemli yer teşkil etmektedir. Kommensal parazitlerin azalması veya patojen parazitlerin artması disbiyosize neden olmakta, konakçının immun yanıtını bozmaktadır. Sonuçta, İBH alevlenmesini tetiklemekte ya da alevlenme şiddetinin artırmaktadır (316,317,318). Son zamanlarda İBH ile ilişkisi araştırılan parazitlerin başında sebep olduğu klinik ve patolojik bulgularıyla ÜK'e benzerlik gösteren *B. hominis* gelmektedir.

B. hominis, insandaki en yaygın intestinal parazitlerden birisi olmasına ve yaklaşık 100 yıldır bilinmesine rağmen, tanısı, patogeneitesi ve tedavisi hala tartışmalıdır. Apatojen olduğu düşünülen bu parazit ile yapılan çalışmalarda *B. hominis* ile enfekte edilen farelerin kolon biyopsilerinde, lamina propria da ödem, mukozalarda dökülmeler saptanmıştır (270). Etkilenen kolonik epitel hücrelerde ise, *B. hominis*'in sitopatik etki yaratmamasına karşın, birçok proinflamatuvar sitokin salınmasını indükleyerek inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (287,319).

Klinik çalışmalarda ise en sık en sık diyare, bulantı, kusma ve karın ağrısı rapor edilmiştir (320,321). Ayrıca bazı olgularda ateş, rektal kanama, eozinofili, hepatomegali ve splenomegali, deri döküntüleri ve kaşıntıya rastlandığı da bildirilmektedir (281,290). Bu nedenle sık görülen *B. hominis*'in apatojen olmayıp İBH gibi inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rolü olabileceği düşünülmüştür.

İnsanlarda henüz *B. hominis*'in neden olduğu hastalık tablosu tam olarak tanımlanamamıştır. Daha önce merkezimizde yapılan çalışmada *B. hominis* ile gastrointestinal semptomların ilişkisi araştırılmış, ÜK hastalarında sağlıklı kontrollere göre *B. hominis* prevalansı daha yüksek bulunmuştur (ÜK'li hastalarda %8.7, kontrol grubunda %3.1) (177). Ancak ülkemizde %44,4'e varan sıklıkta görülen bir parazit olan *B. hominis*'in ÜK grubunda daha sık saptanması bu parazitin ÜK patolojisinde rol oynayıp oynamadığı göstermez (277,322,323,324). Bu çalışmamız daha önceki çalışmamızın zayıf

yönü olarak belirttiğimiz ÜK aktivasyonunda B. hominis rolünü ortaya çıkarmak için dizayn edilmiştir. Bu amaçla 52 aktif olmak üzere ÜK tanısı olan 114 hastada önce mikroskopik (nativ lugol) sonra PZR ile B. hominis taranmıştır. Tüm dışkı örnekleri tek bir uzman parazitolog tarafından değerlendirilip, sayıdan bağımsız olarak B. hominis'in herhangi bir formu görüldüğünde rapor edilmiştir. Sonuçta, nativ lugol yöntemiyle 8'i aktif olmak üzere 13 hastada, PZR yöntemi ile 17'si akut alevlenme olmak üzere 37 hastada B. hominis saptanmıştır. Çalışmamız bir prevalans çalışması olmamakla birlikte, B. hominis prevalansı %32,4 bulunmuştur.

Literatüre bakıldığında B. hominis ile ÜK ilişkisini inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yamamoto ve arkadaşlarının 215 ÜK hastasında trikom boyama yöntemiyle protoza taradıkları çalışmada en sık B. hominis (%10) saptanmıştır (178). Ancak bu çalışma sensitivitesi düşük bir metod (Trikom boyama) ile yapılmış, sadece protozoa taranmış ve karşılaştırma sağlıklı grup ile yapılmıştır. Tai WP ve arkadaşları, dışkı incelemelerinde B. hominis saptanan tedaviye dirençli semptomları olan 6 ÜK hastasının 14 günlük antibiyotik tedavisi sonrası tamamen düzeldiğini rapor etmiştir (293). Bu çalışmada hastalara verilen antibiyotik (metranidazol) B. hominis yanında birçok parazite ve bakteriye karşı etkili olduğu için, tedaviye direncin sebebinin B. hominis olup olmadığı söylenemez. Buna rağmen bu bulgularla B. hominis'in İBH patogenezinde rolü olduğu düşünülebilir.

Bu çalışmaların aksine; Rossen ve arkadaşları, aktif ÜK'li ve sağlıklı kontrol grubunda üçlü fekal test yöntemiyle B. hominis taramışlar ve aktif ÜK hastalarda kontrol grubuna göre daha düşük bulmuşlardır (ÜK'li hastalarda %13,3, kontrol grubunda %32,5) (314). Peterson ve ark. İBH'lı hastalarda PZR yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada ÜK hastalarında sağlıklı kontrol grubuna oranla B. hominis prevalansını daha düşük bulmuşlardır (ÜK %4 kontrol grubunda %19). Her iki çalışmada da B. hominis tanısında sensitivitesi yüksek iki yöntem (üçlü fekal test ve PZR) kullanılmıştır. Fakat bu çalışmalara dahil edilen hasta sayısı azdır (sırayla: 45 ve 41 hasta) ve karşılaştırmalar sağlıklı kontrol grubu ile yapılmıştır (325). Coşkun ve ark. ise; 150 ÜK'li hastanın dışkı kültüründe B. hominis prevalansını incelemiş ve aktif hastalarda, remisyondakilere göre daha düşük bulmuşlardır (Aktif ÜK'de %3,8 remisyondaki ÜK'de %11,8) (326). Bu çalışmada da aktif ÜK hasta sayısının düşük (n:12) ve B. hominisi tanısında PZR'ye göre sensitivitesi daha düşük olan kültür yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda; remisyon ve atak dönemindeki ÜK gruplarının B. hominis prevalansının benzer saptanması, (Remisyon %32.2, aktivasyon %32,6 p=0.961) B. hominis'in ÜK alevlemesinde rolünün olmadığını düşündürmüştür. Ancak, yapılan çalışmaların çoğunda ÜK'li hastalarda B. hominis prevalansı daha düşük bulunmuştur (297,315,327). Bu çalışmalarda B. hominis'in ÜK'de daha az saptanması, disbiyozise bağlı kronik inflamatuvar hastalıkların artmasını açıklayan hijyen hipoteziyle açıklanmaktadır. Bu hipoteze göre; intestinal immun regülasyon için normal mikrobiyata gerekmektedir. Ancak; hijyenik ortamda barsak mikrobiyatasının gelişmemesi (bozulması), immun disregülasyona neden olup kronik inflamasyona yol açmaktadır (328). Bir başka deyişle B. hominis'in az saptanması disbiyosizin bir göstergesi olabilir. Ancak çalışmamızda akut alevlenme ve remisyon ile başvuran hastalarda B. hominis prevalansını benzer ve yüksek çıkması B. hominis'in disbiyosiz göstergesi olarak kullanılmasının uygun olmadığını düşündürmüştür.

Çalışmamızda B. hominis prelevansının diğer çalışmalara göre daha yüksek (%32,4) saptanmasını B. hominis'in ülkemizde çok sık görülmesine bağlanmıştır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda B. hominis prevalansı %1,4 - 44,3 arasında değiştiği bildirilmektedir. (278,279,322). Ayrıca çalışmamızda PZR ile karşılaştırıldığında nativ lugol yönteminin duyarlılığını %21.6, özgüllüğünü %93,5 saptanmıştır. Adıyaman ve ark., B. hominis tanısında kültür yöntemi ve nativ-lugol yöntemini karşılaştırmışlar ve nativ lugol yönteminin duyarlılığını %65, özgüllüğü %100 saptamışlardır (273). Sabuncu'nun tez çalışmasında mikroskopik bakı yöntemleri (doğrudan bakı, yoğunlaştırma ve trikrom boyama) ile PZR'yi karşılaştırılmış ve her iki yöntemin duyarlılık ve özgünlüğü arasında fark bulunmamıştır (nativ lugol için duyarlılık %85.7, özgünlük %100) (329). Mikroskopik yöntemin duyarlılığının diğer çalışmalara göre düşük saptanmasının nedeni; mikroskopik incelemelerde Blastosistis'in farklı boyut ve morfolojik tiplerinin bulunması ve özellikle de hasta popülasyonumuzu oluşturan ÜK tanılı hastaların dışkılarında B. hominis kistleri ile karışan lökositlerle oldukça sık rastlanmasına bağlanmıştır.

Günümüzde ÜK'nin cerrahi dışında küratif tedavisi olmadığı için, çalışmalar daha çok alevlenme nedenini bulmaya yönelmiştir. Bununla birlikte ÜK'nin tedavi ve prognozunu doğru belirlenmesi için, hastalığın ve hastanın aktivite şiddetinin doğru olarak belirlenmesi de önemlidir. Daha önce bahsedildiği gibi gelecekte tanımlanacak mikroorganizmaların tespiti ile alevlenme tanısı ve şiddeti daha spesifik ve objektif değerlendirilebilecektir. Ama günümüzde ÜK aktivitesinin belirlenmesinde

kullanılabilecek ideal bir test (spesifik ve objektif) tanımlanmadığı için de klinik, endoskopik, histolojik ve laboratuvar verilerinin bir arada kullanılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla, biyokimyasal belirteçler, klinik ve endoskopik aktivite indeksleri kullanılır.

En sık kullanılan biyokimyasal belirteçler; hemoglobin seviyesi, lökosit, CRP, ESR ve dışkıda calprotektindir. Tüm laboratuvar belirteçleri arasında CRP en çok üzerinde çalışılan ve şimdiye kadar faydası gösterilmiş en iyi belirteç gibi görünmektedir. Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak aktif ÜK hastalarında CRP daha yüksek ($p < 0,001$) hemoglobin ise daha düşük bulunmuştur ($p < 0,001$). Buna rağmen her iki belirteç inflamasyon derecesini tam olarak göstermekte ve ÜK'yi enfeksiyöz ve diğer nedenlerden ayırmada yeterli değildir (330,331).

Aktivitenin değerlendirilmesi için birçok farklı klinik skorlama sistemleri geliştirilse de, klinik aktivite için Truelove-Witts ve Mayo, endoskopik aktivite için RAİ en sık kullanılan skorlama sistemleridir (194,225). Genellikle klinik pratikte Truelove-Witts, sınırlı hastalığı olanlarda ve klinik araştırmalarda Mayo skorlama sistemi tercih edilir. Çalışmamızda Mayo skoru kullanılmıştır. PZR ile B. hominis saptananlar ile saptanmayanların Mayo skoru arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Bunun yanı sıra Mayo skoru ile RAİ, hemoglobin ve CRP değerleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu da bize ÜK aktivasyonda günümüzde kullanılan belirteçlerin tek başına ideal bir belirteç olmadığını ve birlikte değerlendirilmesi gerektiğini bir kez daha göstermiştir. Ayrıca Mayo Klinik Skorlaması ile RAİ arasında da istatistiksel bir ilişki bulunmaması, klinik aktivite ile endoskopik aktivitenin paralel seyretebileceğini göstermektedir.

Çalışmamızın güçlü yanı; remisyon ve atak dönemindeki hastalar karşılaştırılmış olması ve B. hominis tanısında en sensitif metodlardan biri olan PZR kullanılmasıdır. Ek olarak diğer çalışmalara göre B. hominis saptanan hasta sayısı çalışmamızda daha fazladır (n:37). Çalışmamız zayıf yönleri ise çalışmamıza son altı ayda antibiyotik, probiyotik gibi ilaçlar kullanılan hastalarında dahil edilmemekle birlikte hastalar son bir yıl içinde bu tür ilaçlar kullanmış olabilir. Ayrıca çalışmamız tek merkez ve tek bölgeyle sınırlıdır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda akut alevlenme ve remisyon ile başvuran hastalardaki *B. hominis* sıklığını benzer, prevalansını ise oldukça yüksek bulmamız (%32,4), *B. hominis*'in ÜK'de sık rastlanan bir parazit olmakla birlikte ÜK aktivasyonunda rolünün olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda *B. hominis* tanısında mikroskopik yöntemin duyarlılığını düşük özgünlüğünü yüksek bulmuş olmamız, bu testin *B. hominis* tanısında gerçekte *B. hominis* saptanan kişileri tespit etmede iyi bir yöntem olmadığını, tarama yöntemi olarak ta kullanımının uygun olmadığını göstermiştir. Sonuçlarımıza göre *B. hominis* tanısında direkt mikroskopi ilk istenen test olmasına rağmen, *B. hominis* bir hastalıkla, özellikle de tedaviye cevap vermeyen İBH ile ilişkilendiriliyorsa tanıya gitmek için PZR yönteminin kullanılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Friedman SL, McQuaid KR, Grendell JH. Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology. Second edition. McGraw-Hill Company 2003; 108-30.
2. Wirtz S, Neurath MF. Mouse models of inflammatory bowel disease. Adv Drug Deliv Rev 2007; 59: 1073–83.
3. Bullock NR, Booth JC, Gibson GR. Comparative composition of bacteria in the human intestinal microflora during remission and active ulcerative colitis. Current Issues in Intestinal Microbiology 2004; 5(2), 59-64.
4. Siegmund B, Zeitz M. Ulcerative colitis? Guidelines 2004. Praxis. 2005; 94: 1599-1604.
5. Kirsner JB. Historical aspects of inflammatory bowel disease. J Clin Gastroenterol 1988; 10: 286-97.
6. Hawkins HP. An address on the natural history of ulcerative colitis and its bearing on treatment. BMJ 1909; 1: 765-70.
7. Ng SC, Bernstein CN, Vatn MH. Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. Gut 2013; 62: 630-49.
8. Göktürk S, Karaca Ç. İnflamatuvar barsak hastalıkları epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri J Gastro-entérohepatol. Special Topics 2012; 5(3):11-6.
9. Lakatos PL. Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down? World J Gastroenterology 2006; 12: 6102–8.
10. Lakatos L, Lakatos PL. Is the incidence and prevalence of inflammatory bowel diseases increasing in Eastern Europe? Postgrad Med J 2006; 82: 332-7.
11. Tozun N, Atug O, Imeryuz N. Members of the Turkish IBD Study Group. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. J Clin Gastroenterology 2009; 43: 51-7.
12. Tezel A, Dökmeci G, Eskiocak M. Epidemiological features of ulcerative colitis in Trakya, Turkey. J Int Med Res 2003; 31: 141-8.
13. Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence and environmental influences. Gastroenterology 2004; 126(6): 1504-17.
14. Saunders MD, Surawicz CM. Crohn's disease of the colon. Clinical Practice of Gastroenterology (Brandt LJ, ed). Philadelphia 1999; Vol. 1(16): 685-95.
15. Dağlı ÜK, Törüner M, Hamzaoglu H, Tezel A, Ensari A. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları El Kitabı (Dağlı Ü, ed), 2006.
16. Sonnenberg A, McCarty DJ, Jacobsen SJ. Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. Gastroenterology 1991; 100: 143-9.

17. Boggild H, Tuchsén F, Orhede E. Occupation, employment status and chronic inflammatory bowel disease in Denmark. *Int J Epidemiol* 1996; 25: 630-7.
18. Lukas M, Bortlik M, Maratka Z. What is the origin of ulcerative colitis? Still more questions than answers. *Postgrad Med J* 2006; 82: 620-5.
19. Halme L, Paavola-Sakki P, Turunen U, Lappalainen M, Farkkila M, Kontula K. Family and twin studies in inflammatory bowel disease, *World J Gastroenterol* 2006; 12(23): 3668-72.
20. Zaimoğlu, G. Aktif ve inaktif ülseratif kolit hastalarında çözünür endotelial protein C reseptörü ve trombomodulin düzeyleri, Uzmanlık Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi 2009.
21. Buisine MP, Desreumaux P, Debailleul V, Gambiez L, Geboes K, Ectors N, et al. Abnormalities in mucin gene expression in Crohn's disease, *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5(1): 24-32.
22. Lakatos PL, Fischer S, Lakatos L, Gal I, Papp J. Current concept on the pathogenesis of inflammatory bowel disease-crosstalk between genetic and microbial factors: pathogenic bacteria and altered bacterial sensing or changes in mucosal integrity take "toll" ?, *World J Gastroenterol* 2006; 12(12): 1829-41.
23. Brandzaeg P. Mucosal Immunity. *Vaccine* 2003; 24: 3382.
24. Sands BE. Crohn's Disease. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, (Feldman M, ed). Eighth edition. Saunders 2006; 2459-98.
25. Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2007; 448(7152): 427-34.
26. Cho JH. The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(6): 458.
27. Tezel A. Ülseratif kolit etyoloji ve patogenezi. *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics* 2009; 2: 7-12.
28. Jass JR, Walsh MD. Altered mucin expression in the gastrointestinal tract: a review. *J Cell Mol Med* 2001; 5: 327-51.
29. Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velcich A, Meijerink J P, Van Goudoever, JB, Einerhand AW. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 2006; 131(1): 117-29.
30. Van Klinken BJ, Van der Wal JW, Einerhand AW, Buller HA, Dekker J. Sulphation and secretion of the predominant secretory human colonic mucin MUC2 in ulcerative colitis. *Gut* 1999; 44: 387-93.
31. Myerscough N, Warren B, Gough M, Corfield A. Expression of mucin genes in ulcerative colitis, *Biochem Soc Trans* 1995; 23(4): 536.

32. Kaser A, Zeissig S, Blumberg RS. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 573-621.
33. Heazlewood CK, Cook MC, Eri R, Price GR, Tauro SB, Taupin D, Adams R. Aberrant mucin assembly in mice causes endoplasmic reticulum stress and spontaneous inflammation resembling ulcerative colitis. *PLoS Med* 2008; 5(3): e54.
34. Cao SS, Zimmermann EM, Chuang BM, Song B, Nwokoye A, Wilkinson JE, Eaton KA, Kaufman RJ. The unfolded protein response and chemical chaperones reduce protein misfolding and colitis in mice. *Gastroenterology* 2013; 144: 989-1000.
35. Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y, Shih DQ. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6-21.
36. Bruewer M, Samarin S, Nusrat A. Inflammatory bowel disease and the apical junctional complex. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1072: 242-52.
37. Dignass AU, Baumgart DC, Sturm A. Review article: the aetiopathogenesis of inflammatory bowel disease--immunology and repair mechanisms. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 4: 9-17, 122.
38. Dignass AU. Mechanisms and modulation of intestinal epithelial repair. *Inflamm Bowel Dis* 2001 Feb.
39. Lamm ME. Current concepts in mucosal immunity, IV: how epithelial transport of IgA antibodies relates to host defense. *Am J Physiol* 1998; 274: 614-7.
40. Fernandez M, Pedron T, Tournebise R. Anti-inflammatory role for intracellular dimeric immunoglobulin a by neutralization of lipopoly-saccharide in epithelial cells. *Immunity* 2003; 18: 739-49.
41. Yang P, Berin M, Yu L. Enhanced intestinal transepithelial antigen transport in allergic rats is mediated by IgE and CD23 (FcεR2). *J Clin Invest* 2000; 106: 879-86.
42. Yamada T, David HA, Owyang C. *Textbook of Gastroenterology* 2003; 2.
43. Frøslie KF, Jahnsen J, Moum BA, Vatn MH. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: results from a Norwegian population based cohort. *Gastroenterology* 2007; 133: 412-22 [PMID:17681162].
44. Kim DH, Cheon JH. Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Recent Advances in Biologic Therapies. *Immune Network* 2017; 17(1): 25-40.
45. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, Ho GT, Arnott ID, Wilson DC, et al. Genetics of the innate immune response in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13(3): 338-55.
46. Creagh EM, O'Neill LA. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol* 2006; 27(8): 352-7.

47. Seong SY, Matzinger P. Hydrophobicity: an ancient damage-associated molecular pattern that initiates innate immune responses, *Nat Rev Immunol* 2004; 4(6): 469-78.
48. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124(4): 783-801.
49. Hart AL, Al-Hassi HO, Rigby RJ, Bell SJ, Emmanuel AV, Knight SC, et al. Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2005; 129(1): 50-65.
50. Levin A, Shibolet O. Toll-like receptors in inflammatory bowel disease-stepping into uncharted territory. *World J Gastroenterol* 2008; 14(33): 5149-53.
51. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369(9573): 1627-40.
52. Scaldaferri F, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: progress and current concepts of etiopathogenesis. *J Dig Dis* 2007; 8(4): 171-8.
53. Pierik M, Joossens S, Van Steen K, Van Schuerbeek N, Vlietinck R, Rutgeerts P, et al. Toll-like receptor-1, -2, and -6 polymorphisms influence disease extension in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12(1): 1-8.
54. Latz E, Schoenemeyer A, Visintin A, Fitzgerald KA, Monks BG, Knetter CF, et al. TLR9 signals after translocating from the ER to CpG DNA in the lysosome. *Nat Immunol* 2004; 5(2): 190-8.
55. Harton JA, Ting JP. Class II transactivator: mastering the art of major histocompatibility complex expression, *Mol Cell Biol* 2000; 20(17): 6185-94. PMID: 86093.
56. Inohara N, Nunez G. The NOD: a signaling module that regulates apoptosis and host defense against pathogens, *Oncogene* 2001; 20(44): 6473-81.
57. Strober W, Murray PJ, Kitani A, Watanabe T. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2, *Nat Rev Immunol* 2006; 6(1): 9-20.
58. Chamaillard M, Hashimoto M, Horie Y, Masumoto J, Qiu S, Saab L, et al. An essential role for NOD1 in host recognition of bacterial peptidoglycan containing diaminopimelic acid, *Nat Immunol* 2003; 4(7): 702-7.
59. Noguchi E, Homma Y, Kang X, Netea MG, Ma X. A Crohn's disease-associated NOD2 mutation suppresses transcription of human IL10 by inhibiting activity of the nuclear ribonucleoprotein hnRNP-A1. *Nat Immunol* 2009; 10: 471-479 [PMID: 19349988 DOI: 10.1038/ni.1722].
60. Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, Ferguson DJ, Campbell BJ, Jewell D, Simmons A. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med* 2010; 16: 90-97 [PMID: 19966812 DOI: 10.1038/nm.2069].

61. Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, Shen B, et al. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 18129–34.
62. Hedl M, Li J, Cho JH, Abraham C. Chronic stimulation of Nod2 mediates tolerance to bacterial products, *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(49): 19440-5. PMID: 2148308
63. Hedl M, Abraham C. Secretory mediators regulate Nod2-induced tolerance in human macrophages. *Gastroenterology* 2011; 140: 231-41 [PMID: 20854823 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.09.009].
64. Plantinga TS, Joosten LA, Netea MG. ATG16L1 polymorphisms are associated with NOD2-induced hyperinflammation. *Autophagy* 2011; 1074-5.
65. McGovern DP, Hysi P, Ahmad T, van Heel DA, Moffatt MF, Carey A, et al. Association between a complex insertion/deletion polymorphism 46 in NOD1 (CARD4) and susceptibility to inflammatory bowel disease. *Hum Mol Genet* 2005; 14(10): 1245-50.
66. Satsangi J, Parkes M, Louis E, Hashimoto L, Kato N, Welsh K, et al. Two stage genome-wide search in inflammatory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 and 12. *Nat Genet* 1996; 14(2): 199-202.
67. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease, *Nature* 2001; 411(6837): 603-6.
68. Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S, et al. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations, *Lancet* 2001; 357(9272): 1925-8.
69. Netea MG, Ferwerda G, de Jong DJ, Jansen T, Jacobs L, Kramer M, et al. Nucleotide-binding oligomerization domain-2 modulates specific TLR pathways for the induction of cytokine release. *J Immunol* 2005; 174: 6518-23 [PMID: 15879155].
70. Mullin GE, Lazenby AJ. Increased interleukin-2 mRNA is in the intestinal mucosal lesions of Crohn's disease but not of UC. *Gastroenterology* 1992; 102: 1620.
71. Caradonna L, Amati L, Lella P. Phagocytosis, killing, lymphocyte-mediated antibacterial activity, serum autoantibodies, and plasma endotoxins in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(6): 1495-502.
72. Shih DQ, Targan SR. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14(3): 390-400.
73. Bouguen G, Chevux JB, Biroulet L. Recent advances in cytokines: Therapeutic implications for inflammatory bowel diseases *World J Gastroenterol* 2011 February 7; 17(5): 547–56.
74. Romagnani S. Human Th17 cells. *Arthritis Res Ther.* 2008; 10(2): 206.

75. Andoh A, Yagi Y, Shioya M, Nishida A, Tsujikawa T, Fujiyama Y. Mucosal cytokine network in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5154-61.
76. Stockinger B, Veldhoen M. Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr Opin Immunol* 2007; 19(3): 281-6.
77. Renzi D, Pellegrini B, Tonelli F. Substance P (neurokinin-1) and neurokinin A (neurokinin-2) receptor gene and protein expression in the healthy and inflamed human intestine. *Am J Pathol* 2000; 157: 1511-22.
78. Kinugasa T, Sakaguchi T, Gu X, Reinecker HC. Claudins regulate the intestinal barrier in response to immune mediators. *Gastroenterology* 2000; 118(6): 1001-11.
79. Sanchez MF, Dominguez LA, Yamamoto Furushko JK. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *WJG* 2008 June 21; 14(27): 4280-8.
80. Mosman TR, Cofmann RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7: 145-73.
81. Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M. Disparate CD4⁺ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease: Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of INF-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol* 1996; 157: 1261-70.
82. Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, et al. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 2005; 129(2): 550-64.
83. Nieuwenhuis EE, Neurath MF, Corazza N, Iijima H, Trgovcich J, Wirtz S, et al. Disruption of T helper 2-immune responses in Epstein-Barr virus-induced gene 3-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 16951-6.
84. Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. *Nat Med* 2002; 8: 567-73.
85. Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut* 2003; 52(1): 65-70.
86. Sugihara T, Kobori A, Imaeda H, Tsujikawa T, Amagase K, Takeuchi K, et al. The increased mucosal mRNA expressions of complement C3 and interleukin-17 in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2010; 160(3): 386-93.
87. Kobayashi T, Okamoto S, Hisamatsu T, Kamada N, Chinen H, Saito R, et al. IL23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 2008; 57(12): 1682-9.
88. Seiderer J, Elben I, Diegelmann J, Glas J, Stallhofer J, Tillack C, et al. Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD): upregulated colonic IL-17F

expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14(4): 437-45.

89. Nakamura K, Kitani A, Strober W. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J Exp Med*. 2001; 194: 629-44.
90. Nakamura K, Kitani A, Fuss I. TGF-beta 1 plays an important role in the mechanism of CD4+CD25+ regulatory T cell activity in both humans and mice. *J Immunol* 2004; 172: 834-42.
91. Greenstein RJ. Is Crohn's disease caused by a mycobacterium? Comparisons with leprosy, tuberculosis, and Johne's disease. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 507-14.
92. Maul J, Loddenkemper C, Mundt P. Peripheral and intestinal regulatory CD4+ CD25(high) T cells in inflammatory bowel disease. *Astroenterology* 2005; 128: 1868-78.
93. Duchmann R, Kaiser I, Hermann E ve ark. Tolerance exists towards resident intestinal flora but is broken in active inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol* 1995; 102: 448-55.
94. Koizumi M, King N, Lobb R, Benjamin C, Podolsky DK. Expression of vascular adhesion molecules in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1992; 103(3): 840.
95. Salmi M, Granfors K, MacDermott R, Jalkanen S. Aberrant binding of lamina propria lymphocytes to vascular endothelium in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 1994; 106(3): 596.
96. Briskin M, Winsor-Hines D, Shyjan A, et al. Human mucosal addressin cell adhesion molecule-1 is preferentially expressed in intestinal tract and associated lymphoid tissue. *Am J Pathol* 1997; 151: 97-110.
97. Panes J, Granger DN. Leukocyte-endothelial cell interactions: molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. *Gastroenterology* 1998; 114: 1066-90.
98. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis, *Lancet* 2012; 380: 1606-19.
99. Roozendaal C, Pogány K, Hummel EJ, Horst G, Dijkstra G, Nelis GF, et al. Titres of antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease are not related to disease activity. *QJM* 1999; 92(11): 651.
100. Ruemmele FM, Targan SR, Levy G, Dubinsky M, Braun J, Seidman EG. Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1998; 115(4): 822.
101. Kılıç ZMY, Uysal S, Nadir I. İnflamatuvar barsak hastalıklarında etyopatogenez. *Güncel Gastroenteroloji* 2007; 11: 34-9.

102. Feagan B, Rishmond SY. Epidemiology of inflammatory bowel disease. In: Lichenstein GR, ed. The clinician's guide to inflammatory bowel disease. USA; Slack 2003; 1-6.
103. Satsangi J, Grootcholten C, Hold H. Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. Gut 1996; 38(5): 738-41.
104. Ellinghaus D, Bethune J, Petersen BS, Franke A. The genetics of Crohn's disease and ulcerative colitis—status quo and beyond. Scand J Gastroenterol 2015; 50: 13–23.
105. Dağlı Ü. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı: Epidemiyoloji, Risk Faktörleri ve Genetik. Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics 2009; 2(1): 1-6.
106. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. Science 2006; 441: 231-4.
107. Yen D, Cheung J, Scheerens H, Poulet F, McClanahan T, McKenzie B, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. The Journal of Clinical Investigation 2006; 116(5), 1310-6.
108. Kirsner JB, Haubrich WS, Schaffner F, Berk JE, Overview of etiology, pathogenesis and epidemiology of inflammatory bowel disease Bockus Gastroenterology 1995; 1293-317.
109. Mittermaier C, Dejaco C, Waldhoer T. Impact of depressive mood on relapse in patients with inflammatory bowel disease: A prospective 18-month follow-up study. Psychosomatic Medicine 2004; 66: 79–84.
110. Mayer EA. The neurobiology of stress and gastrointestinal disease. Gut 2000; 47: 861–9.
111. Danese S, Fiocchi C. Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases. World J Gastroenterol 2006; 12: 4807-12.
112. Beaugerie L, Massot N, Carbonnel F, Cattani S, Gendre JP, Cosnes J. Impact of cessation of smoking on the course of ulcerative colitis. Am J Gastroenterol 2001; 96(7): 2113-6.
113. Lakatos PL, Szamosi T, Lakatos L. Smoking in inflammatory bowel diseases: good, bad or ugly? World J Gastroenterol 2007; 13(46): 6134-9.
114. Amre DK, D'Souza S, Morgan K, Seidman G, Lambrette P, Grimard G, Imbalances in dietary consumption of fatty acids, vegetables, and fruits are associated with risk for Crohn's disease in children. Am J Gastroenterol 2007; 102: 2016-25.
115. Derby LE, Jick H. Appendectomy protects against ulcerative colitis. Epidemiology (Cambridge, Mass.) 1998; 9(2): 205–7.
116. Ekblom A, Montgomery SM. Environmental risk factors (excluding tobacco and microorganisms): critical analysis of old and new hypotheses. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2004; 18(3): 497-508. Goldman, Ausiello and Unal, Cecil Medicine 2011, 214: 1526-9.

117. Ananthakrishnan AN, Higuchi LM, Huang ES, Khalili H, Richter JM, Fuchs CS, Chan AT. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and risk for Crohn disease and ulcerative colitis: a cohort study. *Ann Intern Med* 2012; 156(5): 350.
118. Ekblom A, Adami HO, Helmick CG, Jonzon A, Zack M. Perinatal risk factors for inflammatory bowel disease: a case-control study. *Am J Epidemiol* 1990; 132(6): 1111.
119. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 44-54.
120. Andoh, Akira, et al. Multicenter analysis of fecal microbiota profiles in Japanese patients with Crohn's disease. *Journal of Gastroenterology* 2012; 47(12): 1298-307.
121. Shanahan F. Inflammatory bowel disease: Immunodiagnostics, immunotherapeutics, and ecotherapeutics. *Gastroenterology* 2001; 120: 622-35.
122. Sommer, Felix, and Fredrik Bäckhed. The gut microbiota-masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology* 2013; 11(4): 227-38.
123. Bengmark S. Ecological control of gastrointestinal tract: the role of the probiotic flora. *Gut*, 1998; 42: 2-7. -Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292(5519): 1115-8.
124. Lederberg, Joshua. Infectious history. *Science* 2000; 288.5464: 287-93.
125. Claesson MJ, O'Sullivan O, Wang Q. Comparative analysis of pyrosequencing and a phylogenetic microarray for exploring microbial community structures in the human distal intestine. *PLoS ONE* 2009; 4: e6669.
126. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489: 220-30.
127. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 13780-5.
128. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 307-17.
129. Wilson KH. The Gastrointestinal flora. In: *Textbook of Gastroenterology*, Yamada T (ed), 3th edition, 1999, chapter 27.
130. Holzapfel WH, Haberer P. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998; 41: 85-101.
131. Turan İ, Özütemiz Ö. Intestinal microflora. *Güncel Gastroenteroloji* 2005; 9: 2.
132. Lavelle A. Spatial variation of the colonic microbiota in patients with ulcerative colitis and control volunteers. *Gut* 2015: gutjnl-2014.
133. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008; 134: 577-94.

134. Mitsuoka T. Intestinal flora and aging. *Nutr Rev* 1992; 50: 438-46.
135. Zoetendal EG, Vaughan EE, de Vos WM. A microbial world within us. *Mol Microbiol* 2006; 59: 1639-50.
136. Louis P, Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. *J Appl Microbiol* 2007; 102: 1197-208.
137. Duncan SH, Flint HJ, Maturitas 2013 <http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2013.02.004>
138. Dalal, Sushila R, Chang EB. The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *The Journal of Clinical Investigation* 2014; 124(10): 4190-6.
139. Kamada N, Seo SU, Chen GY, Nunez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology* 2013; 13: 321-35.
140. Sokol H. *Faecalibacterium prausnitzii* is an antiinflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 16731-6. doi:10.1073/pnas.0804812105
141. Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 1987; 28: 1221-7.
142. Segain JP, Raingeard de la Bl  ti  re D, Bourreille A. Butyrate inhibits inflammatory responses through NF  kappaB inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut* 2000; 47: 397-403.
143. Freter R. In-vivo and in-vitro antagonism of intestinal bacteria against *Shigella flexneri*. II. The inhibitory mechanism. *J Inf Dis* 1962; 110: 38-46.
144. Garcia-Lafuente A. Modulation of colonic barrier function by the composition of the commensal flora in the rat. *Gut* 2001; 48(4): 503-7.
145. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR. *Lactobacillus acidophilus* LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut* 1994; 35: 483-9.
146. Hudault S, Guignot J, Servin AL. *Escherichia coli* strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against *Salmonella typhimurium* infection. *Gut* 2001; 49(1): 47-55.
147. Luckey TD. Bicentennial overview of intestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 1977; 30: 1753-61.
148. Hentges DJ, Maier BR. Inhibition of *Shigella flexneri*. III. Interactions with *Bacteroides fragilis* strains in vitro. *Infect. Immun* 1970; 2: 364-70.
149. Tennyson CA, Friedman G. Microecology, obesity, and probiotics. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008; 15: 422-7.
150. Sellon RK, Tonkonogy S, Schultz M, Dieleman LA, Grenther W, Balish E et al. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun* 1998; 66: 5224-31

151. Onderdonk AB, Franklin ML, Cisneros RL. Production of experimental ulcerative colitis in gnotobiotic guinea pigs with simplified microflora. *Infect Immun* 1981; 32: 22531
152. Garrett, Wendy S. Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. *Cell* 2007; 131(1): 33-45.
153. Molodecky NA. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142(1): 46–54.
154. Thia KT, Loftus EVJ, Sandborn WJ, Yang S-K. An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia. *Am J Gastroenterol* 2008; 103(12): 3167–82.
155. Pugazhendhi S, Sahu MK, Subramanian V, Pulimood A, Ramakrishna BS. Environmental factors associated with Crohn's disease in India. *Indian J Gastroenterol* 2011; 30(6): 264–9.
156. Andoh A, Kuzuoka H, Tsujikawa T, Nakamura S, Hirai F, Suzuki Y, Matsui T, Fujiyama Y, Matsumoto T. Multicenter analysis of fecal microbiota profiles in Japanese patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2012; 47: 1298–307.
157. Gophna U, Sommerfeld K, Gophna S. Differences between tissue- associated intestinal microfloras of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 4136-41.
158. Macfarlane S, Furrie E, Cummings JH, Macfarlane GT. Chemotaxonomic analysis of bacterial populations colonizing the rectal mucosa in patients with ulcerative colitis. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1690-9.
159. Pascal V, Pozuelo M, Borrueal N, Casellas F, Campos D, Santiago A, Vermeire S. A microbial signature for Crohn's disease. *Gut* 2017. [gutjnl-2016](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-032016).
160. Varela E, Manichanh C, Gallart M, Torrejón A, Borrueal N, et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2013; 38(2): 151-61.
161. Bullock NR, Booth JC, Gibson GR. Comparative composition of bacteria in the human intestinal microflora during remission and active ulcerative colitis. *Current issues in Intestinal Microbiology* 2004; 5(2), 59-64.
162. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 313-23.
163. Sartor RB. Genetics and environmental interactions shape the intestinal microbiome to promote inflammatory bowel disease versus mucosal homeostasis. *Gastroenterology* 2010; 139: 1816-9.
164. Selby W. Two-year combination antibiotic therapy with clarithromycin, rifabutin, and cefazolin for Crohn's disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 2313–9. doi:10.1053/j.gastro.2007.03.031.

165. Martinez-Medina, Margarita. Molecular diversity of *Escherichia coli* in the human gut: new ecological evidence supporting the role of adherent-invasive *E. coli* (AIEC) in Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases* 2009; 15(6): 872-82.
166. Pitcher MCL, Beatty ER, Cummings JH. The contribution of sulphate reducing bacteria and 5-aminosalicylic acid to faecal sulphide in patients with ulcerative colitis. *Gut* 2000; 46: 64–7.
167. Kang, Seungha. Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray. *Inflammatory Bowel Diseases* 2010; 16(12): 2034-42.
168. Gradel KO. Increased short- and long-term risk of inflammatory bowel disease after salmonella or campylobacter gastroenteritis. *Gastroenterology* 2009; 137: 495-501 [PMID: 19361507 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.001].
169. Huijsdens, Xander W. Detection of *Helicobacter* species DNA by quantitative PCR in the gastrointestinal tract of healthy individuals and of patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 2004; 41(1): 79-84.
170. Ohkusa T. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut* 2003; 52(1): 79-83.
171. Prindiville TP, Sheikh RA, Cohen SH. *Bacteroides fragilis* enterotoxin gene sequences in patients with inflammatory bowel disease. *Emerg Infect Dis* 2000; 6: 171-4.
172. Ivanov, Ivaylo I. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 2009; 139(3): 485-98.
173. Guarner F, Malagelada JR. Role of bacteria in experimental colitis, *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003; 17(5): 793-804.
174. Ott SJ. Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43(7): 831–41.
175. Pardi DS, Tremaine WJ, Sandborn WJ, Loftus EV Jr, Poland GA, Melton LJ, 3rd. Perinatal exposure to measles virus is not associated with the development of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5: 104-6.
176. Wang LJ, Cao Y, Shi HN. Helminth infections and intestinal inflammation. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 5125.
177. Cekin AH, Cekin Y, Adakan Y, Tasdemir E, Koclar FG, Yolcular BO. Blastocystosis in patients with gastrointestinal symptoms: a case-control study. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 122.
178. Yamamoto-Furusho JK, Torijano-Carrera E. Intestinal protozoa infections among patients with ulcerative colitis: prevalence and impact on clinical disease course. *Digestion* 2010; 82(1): 18-23.

179. Matsuoka, Katsuyoshi, and Takanori Kanai. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Seminars in Immunopathology*. Springer Berlin Heidelberg 2015; Vol. 37. No. 1.
180. Becker, Christoph, Markus F. Neurath, and Stefan Wirtz. The intestinal microbiota in inflammatory bowel disease. *ILAR Journal* 2/15; 56(2): 192-204.
181. Dalal, Sushila R, Chang EB. The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *The Journal of Clinical Investigation* 2014; 124(10): 4190-6.
182. Çelebi G, Uygun A. İntestinal Mikrobiyota ve Fekal Transplantasyon, *Güncel Gastroenteroloji* 2013; 17: 2.
183. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480–4.
184. Jostins Luke. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 2012; 491: 7422: 119-24.
185. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet* 2007; 39: 207–11.
186. Plantinga TS, Joosten LAB, Netea MG. ATG16L1 polymorphisms are associated with NOD2-induced hyperinflammation. *Autophagy* 2011; 7(9): 1074-5.
187. Frank Daniel N. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases* 2011; 17(1): 179-84.
188. Stange EF, Travis SPL, Vermeire S. European evidence based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis. *Journal of Crhon's and Colitis* 2008; 2: 1-23.
189. Collins P, Rhodes J. Ulcerative colitis: Diagnosis and management. *BMJ* 2006; 333: 340-3.
190. Dolar ME. Ülseratif kolit tanı ve ayırıcı tanısı. *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol Special Topics* 2009; 2: 22-9.
191. Judge TA, Gary R. Linchtenstein. Inflammatory Bowel Disease. In Scott L. Friedman, Kenneth R. Mc Quaid, James H. Grendell. *Diagnosis and Treatment in Gastroenterology*, 2nd Section I: 108.
192. Zeybel M, Yüceyar H. Ülseratif kolitte ekstraintestinal tutulumlar. *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics* 2009; 2(1): 73-80.
193. Nak SG. Ülseratif kolitin klinik özellikleri, doğal seyir ve komplikasyonları. *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics* 2009; 2: 13-21.
194. Kornbluth A, Sachar DB. Ulcerative colitis practise guidelines in adult (update). *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1371-85.
195. Aygün B. İnflamatuvar barsak hastalıklarında p-ANCA ve ASCA'nın tanındaki rolü. *Uzmanlık Tezi, Adana Çukurova Üniversitesi* 2008.

196. Jewell DP. Ulcerative Colitis. In: Feldman M, Sleisenger MH, Scharschmidt BF, eds. Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease Pathophysiology / Diagnosis/Management. 9th ed. Philadelphia; WB Saunders Company 2006; 2499-549.
197. Rahier JF, Yazdanpanah Y, Colombel JF. The European (ECCO) consensus on infection in IBD: what does it change for the clinician? Gut 2009; 58: 1313-5.
198. Thielman NM, Guerrant RL. Clinical practice. Acute infectious diarrhea. N Engl J Med 2004; 350: 38-47). Issa M, Vijayapal A, Graham MB. Impact of Clostridium difficile on inflammatory bowel disease. Clin Gastroenterol Hepatol 2007; 5: 345-51.
199. Langan RC, Gotsch PB, Krafczyk MA, Skilling DD. Ulcerative colitis: diagnosis and treatment. Am Fam Physician 2007; 76: 1323-30.
200. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Trummel M, Renzulli P, Seibold F. Ulcerative colitis: Correlation of the Rachmilewitz endoscopic activity index with fecal calprotectin, clinical activity, C-reactive protein, and blood leukocytes. Inflammatory bowel diseases, 2009; 15(12): 1851-8.
201. Cima RR, Pemberton JH. Medical and surgical management of chronic ulcerative colitis. ARCH SURG 2005; 140: 300-10.
202. Jess T, Riis L, Vind I. Changes in clinical characteristics, course, and prognosis of inflammatory bowel disease during the last 5 decades: A population-based study from Copenhagen, Denmark. Inflamm Bowel Dis 2007; 13: 481-9.
203. Joossens S, Daperno M, Shums. Interassay and interobserver variability in the detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with ulcerative colitis. Clinical Chemistry 2004; 50: 1422-5.
204. Aygün B. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarında p-ANCA ve ASCA'nın tanıdaki rolü. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 2008.
205. Desplat-Jégo S, Johanet C, Escande A. Update on anti-saccharomyces cerevisiae antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: Results of a multicenter study. World J Gastroenterol 2007; 28(13): 2312-8.
206. Demirbulut A. Ülseratif kolit ve crohn hastalarının demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri ve bulguların hastalık aktivitesi ile korelasyonu. Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı 2013.
207. Leighton JA, Shen B, Baron TH, Adler DG, Davila R, Egan JV, et al; Standards of Practice Committee, American Society for Gastrointestinal Endoscopy. ASGE guideline: endoscopy in the diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease. Gastrointest Endosc 2006; 63(4): 558-65.

208. Göral V. Ülseratif kolitte endoskopik bulgular. Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics 2009; 2(1): 34-40.
209. Judge TA, Lichtenstein GR. Inflammatory Bowel Disease. In: Friedman SL, McQuaid KR, Grendell JH, eds. Current diagnosis and treatment in gastroenterology. 2nd ed. New York; Lange Medical Books/McGraw-Hill: 2003. p.108-30.
210. Ozin Y, Kilic MZ, Nadir I. Clinical features of ulcerative colitis and Crohn's disease in Turkey. J Gastrointestin Liver Disease 2009; 18: 157-62.
211. Yıldırım B. Ülseratif kolit hastalarında FMF gen mutasyonu sıklığı ve hastalığın seyrine etkisi. Yandal Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Gastroenteroloji Anabilim Dalı Ankara 2008.
212. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. Gut 2006; 55: 749-53.
213. Sargin GZ. Ülseratif kolit hastalarında hastalık aktivitesi ile nöropeptit düzeyindeki değişiklikler. (Uzmanlık Tezi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı 2013.
214. Tanaka M, Riddell RH, Saito H. Morphologic criteria applicable to biopsy specimens for effective distinction of inflammatory bowel disease from other forms of colitis and of Crohn's disease from ulcerative colitis. Scand J Gastroenterol 1999; 34: 55.).
215. D'Haens G, Geboes K, Peeters M et al. Patchy cecal inflammation associated with distal ulcerative colitis: A prospective endoscopic study. Am J Gastroenterol 1997; 92: 1275-9.
216. Yerçi Ö, Aytaç B. Ülseratif kolitte histopatolojik değerlendirme. Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics 2009; 2(1): 41-6.
217. Johns Hopkins Medicine Gastroenterology & Hepatology web site.
218. Bruining DH, Loftus EV. Evolving diagnostic strategies for inflammatory bowel disease. Curr Gastroenterol Rep 2006; 8: 478.
219. Costamagna G, Shah SK, Riccioni ME. A prospective trial comparing small bowel radiographs and video capsule endoscopy for suspected small bowel disease. Gastroenterology 2002; 123: 999.
220. Sachar DB, Luppescu NE, Bodian C, Shlien RD, Fabry TL, Gumaste VV. Erythrocyte sedimentation as a measure of Crohn's disease activity: opposite trends in ileitis versus colitis. J Clin Gastroenterol 1990; 12(6): 643-6.
221. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. Br Med J 1995; 29: 1041-8.

222. Solem CA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11(8): 707-12.
223. Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B, Roseth A, Sigthorsson G, Bridger S, et al. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut*. 2000;47(4):506-13.
224. Lewis JD, Chuai S, Nessel L. Use of the non-invasive components of the mayo score to assess clinical response in Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14(12): 1660–6.
225. Langhorst J, Elsenbruch S, Mueller T. Comparison of 4 neutrophil-derived proteins in feces as indicators of disease activity in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 1085-91.
226. Riley SA, Mani V, Goodman MJ, Dutt S, Herd ME. Microscopic activity in ulcerative colitis: what does it mean? *Gut* 1991; 32: 174-78 [PMID: 1864537].
227. Liverani E, Scaioli E, Digby RJ, Bellanova M, Belluzzi A. How to predict clinical relapse in inflammatory bowel disease patients. *World Journal of Gastroenterology* 2016; 22(3): 1017.
228. Solberg IC, Vatn MH, Høie O, Stray N, Sauar J, Jahnsen J, IBSEN Study Group. Clinical course in Crohn's disease: results of a Norwegian population-based ten-year follow-up study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2007; 5(12): 1430-8.
229. Hoie O, Wolters FL, Riis L, Bernklev T, Aamodt G, Clofent J, Vatn M. Low colectomy rates in ulcerative colitis in an unselected European cohort followed for 10 years. *Gastroenterology* 2007; 132(2): 507-15.
230. Bitton A, Peppercorn MA, Antonioli DA, Niles JL, Shah S, Bousvaros A, Stevens AC. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2001; 120(1): 13-20.
231. Martin T D, Chan SS, Hart AR. Environmental factors in the relapse and recurrence of inflammatory bowel disease: a review of the literature. *Digestive Diseases and Sciences* 2015; 60(5): 1396-405.
232. Vagianos K, Clara I, Carr R, Graff LA, Walker JR, Targownik LE, et al. What are adults with inflammatory bowel disease (IBD) eating? A closer look at the dietary habits of a population-based Canadian IBD cohort. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2014. doi:10.1177/0148607114549254.
233. Jowett SL. Influence of dietary factors on the clinical course of ulcerative colitis: a prospective cohort study. *Gut* 2004; 53: 1479-84.
234. Wu GD. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011; 334: 105–8.
235. David LA, Maurice CF, Carmody RN. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014; 505: 559–66.

236. Kvasnovsky CL, Aujla U, Bjarnason I. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and exacerbations of inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2015; 50(3): 255-63.
237. Levenstein S, Prantera C, Varvo V, Scribano ML, Andreoli A, Luzi C, Marcheggiano A. Stress and exacerbation in ulcerative colitis: a prospective study of patients enrolled in remission. *The American Journal of Gastroenterology* 2000; 95(5): 1213-20.
238. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 13780-5 (PMID: 17699621)
239. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Doré J. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflammatory Bowel Diseases* 2009; 15(8): 1183-9.
240. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser AL, Barnich N, et al. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; 127: 412-21 (PMID: 15300573).
241. Rieder F, Kugathasan S. Circulating antibodies against bacterial wall products: are there arguments for early immunosuppression?. *Digestive Diseases* 2013; 30(Suppl. 3): 55-66.
242. Däbritz J, Bonkowski E, Chalk C, Trapnell BC, Langhorst J, Denson LA, Foell D. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor auto-antibodies and disease relapse in inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology* 2013; 108(12): 1901-10.
243. Lehmann FS, Burri E, Beglinger C. The role and utility of faecal markers in inflammatory bowel disease. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 2015; 8(1): 23-36.
244. Yamamoto T, Shiraki M, Bamba T, Umegae S, Matsumoto K. Fecal calprotectin and lactoferrin as predictors of relapse in patients with quiescent ulcerative colitis during maintenance therapy. *Int J Colorectal Dis* 2014; 29: 485-91 [PMID: 24343276 DOI: 10.1007/s00384-013-1817-3].
245. Scaioli E, Scagliarini M, Cardamone C, Liverani E, Ugolini G, Festi D, Bazzoli F, Belluzzi A. Clinical application of faecal calprotectin in ulcerative colitis patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2015; 27: 1418-24 [PMID: 26308711 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000461].
246. Costa F, Mumolo MG, Ceccarelli L, Bellini M, Romano MR, Sterpi C, Bottai M. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut* 2005; 54(3): 364-8.
247. Allez M, Lémann M. Role of endoscopy in predicting the disease course in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2626-32 [PMID: 20518084 DOI: 10.3748/wjg.v16.i21.2626].

248. Tremaine WJ, Sandborn WJ, Loftus EV. A prospective cohort study of practice guidelines for inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 2401–6.
249. Zierdt CH. *Blastocystis hominis*--past and future. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4(1): 61-79.
250. Tan TC, Suresh KG. Predominance of amoeboid forms of *Blastocystis hominis* in isolates from symptomatic patients. *Parasitol Res* 2006; 98(3):189-93.
251. Zierdt CH, Donnelly CT, Muller J, Costantopoulos G. Biochemical and ultrastructural study *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 965-70.
252. Johnson AM, Thanou A, Boreham PFL, Boverstock PR. *Blastocystis hominis* phylogenetic affinities determined by Rna sequence comparison. *Exp Parasitol* 1989; 68: 283-8.
253. Doğruman AF, Hökelek M. *Blastocystis hominis* Fırsatçı Bir Patojen mi?. *Türkiye Parazitoloji Derg* 2007; 31: 28-36.
254. Cavalier-Smith TA. Revised six-kingdom system of life. *Biol Rev* 1998; 73: 203-66.
255. Noel C, Dufernez F, Gerbod D, Edgcomb VP, Delgado-Viscogliosi P, Ho LC, et al. Molecular Phylogenies of *Blastocystis* Isolates from Different Hosts: Implications for Genetic Diversity, Identification of Species, and Zoonosis. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 348-55.
256. Puthia MK, Sio SW, Lu J, Tan KSW. *Blastocystis ratti* induces contactindependent apoptosis, F-actin rearrangement, and barrier function disruption in IEC-6 cells. *Infect Immun* 2006; 74: 4114-22.
257. Stensvold CR, Suresh GK, Tan KSW, Thompson RCA, Traub RJ, Viscogliosi E, Yoshikawa H, Clark CG. Terminology for *Blastocystis* subtypes-a consensus. *Trends Parasitol* 2007; 23: 93-6.
258. Li LH, Zhang XP, Lv S, Zhang L, Yoshikawa H, Wu Z, Steinmann P, et al. Cross-sectional surveys and subtype classification of human *Blastocystis* isolates from four epidemiological settings in China. *Parasitol Res* 2007; 102: 83-90.
259. Stensvold CR, Alfellani MA, Nørskov-Lauritsen S. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new *Blastocystis* sp. subtype. *Int J Parasitol* 2009; 39: 473-9.
260. Tan KSW, Singh M, Yap EH. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *International Journal for Parasitology* 2002; 32: 789–804.
261. Boreham PFL, Stenzel DJ. *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootiology. *Adv Parasitol* 1993; 32: 1-70.
262. Matsumoto Y, Yamada M, Yoshida Y. Light-microscopical appearance and ultrastructure of *Blastocystis hominis*, an intestinal parasite of man. *Zentralbl Bakteriol Microbiol Hyg Hyg Ser A* 1987; 264: 379-85.

263. Tan KSW. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21(4): 639-65.
264. Dunn LA, Boreham PFL, Stenzel DJ. Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. *Int J Parasitol* 1989; 19: 43-56.
265. Stenzel DJ, Boreham PF. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(4): 563-84.
266. Singh M, Suresh K, Ho L C, Ng GC, Yap EH. Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res* 1995; 81: 446-50.
267. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan KSW, Chen XQ, Yap EH. Development of *Blastocystis hominis* cysts vakuoler forms in vitro. *Parasitol Res* 1999; 85: 103-8.
268. Mehlhorn H. *Blastocystis hominis*, Brumpt, 1912: are there different stages or species?. *Parasitol Res* 1988; 74: 393-5.
269. Zaman V, Howe J, Ng ML. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* cyst. *Parasitol Res* 1995; 81: 465-9.
270. Moe KT, Singh M, Howe J, Ho LC, Tan SW, Ng GC, Chen XQ, Yap EH. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitol Res* 1996; 82: 439-44.
271. Stenzel DJ, Boreham PFL, McDougall R. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* in human stool samples. *Int J Parasitol* 1991; 21: 807-12.
272. Stenzel DJ, Boreham PFL. A cyst-like stage of *Blastocystis hominis*. *Int J Parasitol* 1991; 21: 613-5.
273. Adıyaman Korkmaz G, Doğruman AF, Mumcuoğlu İ. Dışkı Örneklerinde *Blastocystis* spp. Varlığının Mikroskopik, Kültür ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *Mikrobiyol Bülteni* 2015; 49(1): 85-97.
274. <http://www.cdc.gov/dpdx/blastocystis/index.html>
275. Özyurt M, Kurt Ö, Molbak K, Nielsen HV, Haznedaroglu T, Stensvold CR. Molecular epidemiology of *Blastocystis* infections in Turkey. *Parasitology Int* 2008; 57: 300-6.
276. İnceboz T, Usluca S. *Blastocystis hominis* bağırsak hastalığı için potansiyel bir tehlike olabilir mi? *DEÜ Tıp Fakültesi Derg* 2009; 23.
277. Malatyalı E, Özçelik S. *Blastocystis* spp.'nin İnsandan İzolasyonu ve Besiyerinde Farklı Evrim Şekillerinin İzlenmesi. *Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 19-22.
278. Aykan B, Çağlar K, Kuştimur S. Gaita örneklerindeki protozoonların Trikom boyası kullanılarak değerlendirilmesi. *Türkiye Parazitol Derg* 2005; 29(1): 34-8.
279. Yazar S, Yaman O, Gözenç N, Şahin İ. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalarda bağırsak parazitlerinin dağılımı. *Türkiye Parazitol Derg* 2005.

280. Yakoob J, Jafri W, Jafri N, Khan R, Islam M, Beg MA, Zaman V. Irritable bowel syndrome: in search of an etiology: role of *Blastocystis hominis*. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70: 383-5.
281. Senay H, MacPherson D. *Blastocystis hominis*: epidemiology and natural history. *J Inf Dis* 1990; 162: 987-90.
282. İnceboz T, Üner A. *Blastocystis hominis*' in Epidemiyolojisinin Araştırılması. *Türkiye Parazit Derg* 2001; 25(2): 135-8.
283. Koutsaulis AT, Valiquette L, Allard R, Soto J. *Blastocystis hominis*: A new pathogen in day-care centres? *Canada Communicable Disease Report* 2001; 27(9): 76-89.
284. Nigro L, Larocca L, Massarelli L, Patamia I, Minniti S, Palermo F, Cacopardo B. A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metronidazole. *J Travel Med* 2003; 10: 128-30.
285. Dagci H, Ustun S, Taner M. S, Ersoz G, Karacasu F, Budak S. Protozoon infections and intestinal permeability. *Acta Tropica* 2002; 81: 1-5.
286. Zuckerman MJ, Watts MT, Ho H, Meriano FV. *Blastocystis hominis* infection and intestinal injury. *Am J Med Sci* 1994; 308(2): 96-101.
287. Long HY, Handschack A, Konig W, Ambrosch A. *Blastocystis hominis* modulates immune responses and cytokine release in colonic epithelial cells. *Parasitol Res* 2001; 87(12): 1029-30.
288. Cirioni O, Giacometti A, Drenaggi D, Ancarani F, Scalise G. Prevalence and clinical relevance of *Blastocystis hominis* in diverse patient cohorts. *Eur J Epidemiol* 1999; 15(4): 389-93.
289. Üstün Ş, Turgay N. *Blastocystis hominis* ve Bağırsak Hastalıkları. *Türkiye Parazit Derg* 2006; 30(1): 73-7.
290. Tasova Y, Sahin B, Koltas S, Paydas S. Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. *Acta Med Okayama* 2000; 54: 133-6.
291. Ramirez-Miranda ME, Hernandez-Castellanos R, Lopez-Escamilla E, Moncada D, Rodriguez-Magallan A, Pagaza-Melero C, Maravilla P. Parasites in Mexican patients with irritable bowel syndrome: a case-control study. *Parasites & Vectors* 2010; 3(1): 96.
292. Hussain R, Jaferi W, Zuberi S, Baqai R, Abrar N, Ahmed A, Zaman V. Significantly increased IgG2 subclass antibody levels to *Blastocystis hominis* in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56(3): 301-6.
293. Tai WP, Hu PJ, Wu J, Lin XC. Six ulcerative colitis patients with refractory symptoms co-infective with *Blastocystis hominis* in China. *Parasitol Res* 2011; 108: 1207-10.
294. Miller RA, Minshew BH. *Blastocystis hominis*: An Organism in Search of a Disease *Reviews of Infectious Diseases* 1998; 10(5): 930-8.

295. Kaya S, Sesli ÇE, Cicioğlu Arıdoğan B, Arıkan S, Demirci M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, A Clinical Reevaluation. *Türkiye Parazitoloj Derg* 2007; 31(3): 184-7.
296. Ok UZ, Girginkardeşler N, Balcıoğlu C, Ertan P, Pırıldar T, Kilimcioğlu AA. Effect of trimethoprim-sulfamethaxazole in *Blastocystis hominis* infection. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3245-7.
297. Tungtrongchitr A, Manatsathit S, Kositchaiwat C, Ongrotchanakun J, Munkong N, Chinabutr P, Leelakusolvong S, Chaicumpa S. *Blastocystis hominis* infection in irritable bowel syndrome patients Southeast Asian J Trop Med Public Health 2004; 4(3): 35.
298. Suresh K, Smith H. Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 509.
299. Kaneda Y, Horiki N, Cheng X, Tachibana H, Tsutsumi DY. Serologic response to *Blastocystis hominis* infection in asymptomatic individuals. *Tokai J Exp Clin Med* 2000; 25: 51-6.
300. Tan KSW, Ng GC, Quek E, Howe J, Ramachandran NP, Yap EH, Singh M. *Blastocystis hominis*: a simplified, high-efficiency method for clonal growth on solid agar. *Exp Parasitol* 2000; 96: 9-15.
301. Persing HD. Polymerase chain reaction: Trends to benches. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1281-5.
302. Termmathurapoj S, Leelayoova S, Aimpun P, Thathaisong U, Nimmanon T, Taamasri P, Mungthin M. The usefulness of short-term in vitro cultivation for the detection and molecular study of *Blastocystis hominis* in stool specimens. *Parasitol Res* 2004; 93: 445-7.
303. Stensvold CR, Arendrup MC, Jespersgaard C, Mølbak K, Nielsen HV. Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2007; 59(3): 303-7.
304. Yakoob J, Abbas Z, Beg MA, Naz S, Awan S, Hamid S, et al. In vitro sensitivity of *Blastocystis hominis* to garlic, ginger, white cumin, and black pepper used in diet. *Parasitol Res* 2011; DOI 10.1007/s00436-011-2265-z.
305. Taşova Y, Şahin B, Koltas S, Poydas S. *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. *Acta Med Okayama* 2000; 54: 133-6.
306. Pasqui AL, Savini E, Saletti M, Guzzo C, Puccetti L, Auteri A. Chronic urticaria and *Blastocystis hominis* infection: a case report. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2004; 8: 117-20.
307. Dunn LA, Boreham PFL. The in-vitro activity of drugs against *Blastocystis hominis*. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27: 507-16.
308. Narkewicz, MR, Janoff EN, Sokol RJ, Levin MJ. *Blastocystis hominis* gastroenteritis in a hemophiliac with acquired immune deficiency syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989; 8: 125-8.

309. Hahn P, Fleischer NFK. Blastocystis hominis - is it of clinical importance? Trop Med Parasitol 1985; 36: 7–8.
310. Hoevers J, Holman P, Logan K, Hommel M, Ashford R, Snowden K. Restriction-fragment-length polymorphism analysis of small subunit rRNA genes of Blastocystis hominis isolates from geographically diverse human hosts. Parasitol Res 2000; 86: 57-61.
311. Moghaddam DD, Ghadirian E, Azami M. Blastocystis hominis and the evaluation of efficacy of metronidazole and trimethoprim/ sulfamethoxazole. Parasitol Res 2005; 96: 273-5.
312. Doğruman-AF, Adıyaman G, Yantra TN, Hasgür S, Bağrıaçık Ü. Anti-paraziter Etkili İlaçların Blastocystis İzolatlarının Canlılıkları Üzerine Etkilerinin MTT Testi ile Belirlenmesi. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012; 18: 167-70.
313. Doğan N, Demirüstü C, Aybey A. Eskişehir Osmangazi Üniversitesinin Beş Yıllık Bağırsak Paraziti Prevalansının Türlerine ve Cinsiyetlere Göre Dağılımı. Türkiye Parazitol Derg 2008; 32(2): 120-5.
314. Roberts T, Stark D, Harkness J, Ellis J. Update on the pathogenic potential and treatment options for Blastocystis sp. Gut Pathogens 2014; 6(1): 1.
315. Rossen NG, Bart A, Verhaar N, van Nood E, Kootte R, de Groot PF, van Gool T. Low prevalence of Blastocystis sp. in active ulcerative colitis patients. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 2015; 34(5): 1039-44.
316. De Silva NR, Brooker S, Hotez PJ, Montresor A, Engels D, Savioli L. Soil-transmitted helminth infections: updating the global picture. Trends Parasitol 2003; 19: 547-51.
317. Ruysers NE, De Winter BY, De Man JG, Loukas A, Pearson MS, Weinstock JV, et al. Therapeutic potential of helminth soluble proteins in TNBS-induced colitis in mice. Inflamm Bowel Dis 2009; 15: 491-500.
318. Elliott DE, Summers RW, Weinstock JV. Helminths as governors of immune-mediated inflammation. Int J Parasitol 2007; 37: 457-64. Whelan RA, Hartmann S, Rausch S. Nematode modulation of inflammatory bowel disease. Protoplasma 2012; 249: 871-86.
319. Iguchi A, Yoshikawa H, Yamada M, Kimata I, Arizono N. Expression of interferon gamma and proinflammatory cytokines in the cecal mucosa of rats experimentally infected with Blastocystis sp. strain RN94-9. Parasitol Res 2009; 105(1): 135–40.
320. Leder K, Hellard ME, Sinclair MI, Fairley CK, Wolfe R. No correlation between clinical symptoms and Blastocystis hominis in immunocompetent individuals. J Gastroenterol Hepatol 2005; 20(9): 1390–4.
321. Kain KC, Noble MA, Freeman HJ, Barteluk RL. Epidemiology and clinical features associated with Blastocystis hominis infection. Diagn Microbiol Infect Dis 1987; 8: 235–44. doi:10.1016/0732-8893(87)90055.

322. Çelik T, Daldal N, Karaman Ü, Aycan MÖ, Atambay M. Malatya ili merkezinde üç ilköğretim okulu çocuklarında bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitol Derg 2006; 30: 35-8.
323. Yazıcı V, Sırıken F, Ertabaklar H, Ertuğ S. Aydın il merkezindeki hastanelerde çalışan mutfak personelinde bağırsak parazitlerinin araştırılması. Türkiye Parazitol Derg 2007; 31: 136-8.
324. Akdemir C, Helvacı R. Kütahya'da Parazitoloji Laboratuar sonuçlarının 15 ve üzeri yaş grubunda değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg 2007; 31: 37-40.
325. Petersen AM, Stensvold CR, Mirsepasi H, Engberg J, Friis-Møller A, Porsbo LJ, et al. Active ulcerative colitis associated with low prevalence of Blastocystis and Dientamoeba fragilis infection. Scand J Gastroenterol 2013; 48: 638-9. doi:10.3109/00365521.2013.780094.
326. Coskun A, Malatyali E, Ertabaklar H, Yasar MB, Karaoglu AO, Ertug S. Blastocystis in ulcerative colitis patients: Genetic diversity and analysis of laboratory findings. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 2016; 9(9): 916-9.
327. Udkow MP, Markell EK. Blastocystis hominis: prevalence in asymptomatic versus symptomatic hosts. J Infect Dis 1993; 168: 242-4.
328. Rook GAW. Hygiene and other early childhood influences on the subsequent function of the immune system. Dig Dis 2011; 29: 144-53. doi:10.1159/000323877
329. Sabuncu SB, Kilimcioğlu D. Blastocystis spp.'nin dışkı örneklerinde pcr ile saptanması.Uzmanlık Tezi. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı 2014.
330. Florin TH, Paterson EW, Fowler EV. Clinically active Crohn's disease in the presence of a low C-reactive protein. Scand J Gastroenterology 2006; 41: 306-11.
331. Demir AK, Demirtas A, Kaya SU, Tastan I, Butun I, Sagcan M, Yilmaz A. The relationship between the neutrophil-lymphocyte ratio and disease activity in patients with ulcerative colitis. The Kaohsiung Journal of Medical Sciences 2015; 31(11): 585-90.