

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN ÜLSERATİF
KOLİT MODELİNDE *SACCHAROMYCES
BOULARDII*' NİN ETKİNLİĞİ VE
GELİŞEBİLECEK FUNGEMİ RİSKİ**

DR. SABA MUKADDES SAYGILI

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2007

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**RATLARDA OLUŞTURULAN ÜLSERATİF
KOLİT MODELİNDE *SACCHAROMYCES
BOULARDII*'NİN ETKİNLİĞİ VE
GELİŞEBİLECEK FUNGEMİ RİSKİ**

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

DR. SABA MUKADDES SAYGILI

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	i
ŞEKİL LİSTESİ	ii
GRAFİK LİSTESİ.....	iii
KISALTMALAR.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY (İNGİLİZCE ÖZET)	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
4. GENEL BİLGİLER	
4.1 İnflamatuvar Barsak Hastalıkları.....	6
4.1.1 Tanım.....	6
4.1.2 Epidemiyoloji.....	6
4.1.3 Etiyoloji ve Patogenez.....	6
4.1.4 Genetik Faktörler.....	7
İ. Crohn hastalığı	7
İİ. Ülseratif kolit	8
4.1.5 Çevresel Faktörler.....	8
4.1.6 Kolonik Mikrofloranın Önemi.....	8
4.1.7 İnflamatuvar Mediatorler.....	9
İ. Crohn hastalığı	9
4.2 Ülseratif Kolit	
4.2.1 Klinik Tablo.....	11
4.2.2 Patogenez.....	12
4.2.3 Ülseratif Kolit Tedavisinde Kullanılan Yöntemler.....	16
4.3 Probiyotikler	
4.3.1 Probiyotiklerin etki mekanizmaları.....	20
4.3.2 Kullanım alanları.....	23
4.3.3 İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında Kullanımı.....	26
4.4 Probiyotik kullanımına bağlı gelişen fungemi	
4.4.1 Risk Faktörleri.....	29
4.4.2 Probiyotiklerin diğer yan etkileri.....	29
5. YÖNTEM ve GEREÇLER	
5.1 Çalışma Grubu.....	32
5.2 Çalışma Tasarımı.....	32
5.2.1 Deneysel Tasarım.....	32
5.2.2 Patolojik İnceleme.....	33
5.2.3 Sitokin İncelemesi.....	34
5.3 Verilerin Değerlendirilmesi	
5.3.1 İstatistiksel Analizler.....	35
6. SONUÇLAR.....	36
7. TARTIŞMA.....	41
8. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	46
9. KAYNAKLAR	47

TABLO LİSTESİ

- Tablo. 1** Crohn Hastalığı'nda T Lenfosit Fonksiyonları
- Tablo. 2** ÜK ve CH Arasındaki Klinik Farklılıklar
- Tablo. 3** Ülseratif Kolitte Tutulum Bölgesine Göre Alt Tipler
- Tablo. 4** ÜK ile CH Arasındaki Sitokin Farklılığı
- Tablo. 5** ÜK'da Alternatif Tedavi Yöntemleri
- Tablo. 6** ÜK Hastalarında Günlük Antioksidan Element İhtiyacı
- Tablo. 7** Probiyotikler
- Tablo. 8** Probiyotiklerin Biyolojik Etkileri
- Tablo. 9** Bazı Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları
- Tablo. 10** Çeşitli Probiyotiklerin Kullanım Alanları
- Tablo. 11** Probiyotik Sepsisi için Risk Faktörleri
- Tablo. 12** *S. boulardii* Kullanımına Bağlı Gelişen Fungemi Vakaları
- Tablo. 13** Çalışma Grupları
- Tablo. 14** Hastalık Aktivite İndeksi
- Tablo. 15** Histolojik skorlama
- Tablo. 16** Gruplar Arasındaki Kilo Değişiklikleri

SEKİL LİSTESİ

Şekil. 1 İBH Patogenezinde Çoklu Etkenler

Şekil. 2 İBH Patogenezinde İmmünolojik Yolaklar

Şekil. 3 Reaktif Oksijen Ürünlerinin Hastalığın Gelişminde Potansiyel Rolü

Şekil. 4 Mukoza Hasarlanmasında Bakterilerin Etki Mekanizması

Şekil. 5 Patogeneizde Bütirik Asit Etkisi

Şekil. 6 Mikrofloranın Düzenlenmesinin Mukoza Üzerine Etkileri

GRAFİK LİSTESİ

Grafik. 1 Gruplara Göre Günlük Dışkılama Takibi

Grafik. 2 Gruplara Göre Kanlı Dışkılama Skorları

Grafik. 3 Gruplara Göre Klinik Ortalama Skorları

Grafik. 4 Gruplara Göre Makroskopik ve Mikroskopik Skorlar

Grafik. 5 Gruplara Göre Serum ve Doku NO Düzeyi

Grafik. 6 Gruplara Göre Serum ve Doku TNF- α Düzeyleri

KISALTMALAR

- 5-ASA: 5- aminosalisilik asit
ABD: Amerika Birleşik Devletleri
ALT: Alanin Amino Transferaz
AML: Akut Myeloid lösemi
APC: Antigen Presenting Cell (Antijen Sunucu Hücre)
Bkz: bakınız
CARD 15: Caspase Activation and Recruitment Domain
CFU: Colony Forming Unit
CH: Crohn Hastalığı
DEÜTF: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
GAG: Glikozaminoglikan
GALT: Gut-Associated Lymphoid Tissue (Barsak ilişkili lenfoid doku)
GBF : Germinated Barley Foodstuff
GİS: Gastrointestinal Sistem
H.pylori : *Helicobacter pylori*
HIV: Human İmmünyetmezlik virüs
İBH: İnflamatuar Barsak Hastalığı
İBS: İrritabl Barsak Hastalığı
İL: İnterlökin
İNF γ : İnterferon gamma
KOS: Klinik Ortalama Skorlar
MP: Metil prednizolon
NF- $\kappa\beta$: Nükleer faktör kappabeta
NK: Doğal Öldürücü hücre (Natural Killer)
NO: Nitrik oksit
NOD 2: Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2
NSAİİ: Nonsteroid Antiinflamatuvar ajan
p-ANCA: perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikor
PFGE: Pulsed-field gel electrophoresis
Pg: pikogram
PPB: Part Per Billion

PSK: Primer Sklerozan Kolanjit

S. Boulardii: Saccharomyces boulardii

sIgA: Sekretuar İmmünglobin A,

SVK: Santral venöz kateter

TGF β : Transforming Growth Factor beta (Dönüştürücü Büyüme Faktörü beta),

Th1, Th2, Th3 ve Thr: Yardımcı T lenfositler,

TLR-9: Toll-like receptor

TNF α : Tumor Necrosis Factor (Tümör Nekrozis Faktör alfa)

UDKA: Ursodeoksikolikasit (ursodeoxycholic acid)

ÜK: Ülseratif Kolit

μ g: mikrogram

TEŞEKKÜR

Hayatım boyunca bana destek olan, dimdik durmamı sağlayan, bana güven veren annem Selver Acarbay'a, yaşam sevinci, zekası ve hoşgörüsü ile bana örnek olan sevgili eşim Fatih Saygılı'ya, ailemize yeni katılan ve ortalığı karıştıran biricik kızım, tombalağım Durubade Saygılı'ya öncelikle teşekkür ederim.

İç Hastalıkları uzmanlık tezimi hazırlarken bana her türlü desteği fazlasıyla veren, fikirleri ve mesleki özellikleriyle bana örnek olan değerli hocam Yrd.Doç.Dr.Müjde Soytürk'e;

İç Hastalıkları eğitimim boyunca tecrübe ve bilgilerinden yararlandığım tüm hocalarıma sonsuz;

Ve ilk öğretmenim olan babam'a çok teşekkür ederim.

ÖZET

Ratlarda Oluşturulan Deneysel Kolit Modelinde *Saccharomyces boulardii*'nin Etkinliği ve Fungemi Riski

Saygılı, Saba Mukaddes.

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları A.D.

Yazışma Adresi: DEUTF İç Hastalıkları A.D. Balçova/ İZMİR

Elektronik posta: sacarbay@yahoo.com

Giriş: Probiyotiklerin Ülseratif Kolit ve Crohn hastalığında etkin olabileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur. Bir probiyotik olan *Saccharomyces boulardii*'nin bu hastalıkların aktif döneminde kullanımını kısıtlayan en önemli sorun fungemi riskidir.

Amaç: Ratlarda trinitrobenzen sülfonik asid (TNBS) ile oluşturulan deneysel kolit modelinde bir probiyotik olan *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*)'nin etkinliğini araştırmak ve tedavinin istenmeyen sonucu olarak ortaya çıkabilecek fungemi riskini araştırmaktır.

Yöntem: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulundan onay alındıktan sonra 32 adet Wistar Albino dişi rat 5 gruba ayrılmıştır. Ratlarda kolit oluşturulması amacıyla çalışmanın ilk gününde bir kateter yardımıyla grup 1 dışındaki ratlara rektal yoldan 50 mg TNBS uygulanmıştır. Ondört gün boyunca grup 1 ve grup 2'deki ratlara serum fizyolojik (ağız yolu ile), grup 3'tekilere 1 mg/kg *S. boulardii*, grup 4'tekilere 1mg/kg metil prednizolon, grup 5'te yer alanlara ise *S. boulardii* ve metil prednizolon birlikte içtikleri sularına eklenerek verilmiştir. Çalışma süresince ağırlık kaybı, gayta kıvamı ve gaytada gizli veya aşikâr kanama olup olmadığı izlenmiş, kolit açısından klinik skorlar kaydedilmiştir. Barsak incelemesi ile makroskopik ve mikroskopik kolit skorlamaları yapılmıştır. Serum ve doku TNF- α ve NO düzeyleri çalışılmıştır. Çıkarılan karaciğer ve dalak dokusu örneklerinde fungemi değerlendirilmiştir.

Bulgular: Klinik ortalama skorları grup 4 ve 5'te anlamlı düşük bulunmuştur (grup 4 için p:0.01 grup 5 için p:0.02). Doku NO düzeyi grup 3, 4, 5 te anlamlı düşük bulunurken (p<0.05), makroskopik ve mikroskopik skorlar ile serum ve doku TNF- α ile serum NO düzeylerinin grup 2 ile kıyaslandığında grup 3, 4, 5'te anlamlı farklılık yaratmadığı görülmüştür.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Klinik skor ortalaması	1	4,3	4,1	3,8	4
Serum TNF-α pg/ml	7,5 pg/ml	12,4 pg/ml	16,4 pg/ml	9,6 pg/ml	12,6 pg/ml
DokuTNF-α pg/ml	21 pg/ml	28,9 pg/ml	18,1 pg/ml	23,1 pg/ml	20,5 pg/ml
Serum NO ppb	4,7 ppb	3,7 ppb	2,9 ppb	4,9 ppb	7,7 ppb
Doku NO ppb	6,2 ppb	29,7 ppb	16,6 ppb	14,7 ppb	11,9 ppb

Sonuç: TNBS ile kolit oluşturulmuş ratlarda *S. boulardii*'nin semptomlar ve kolon mukozası üzerinde iyileştirici bir etkisi saptanmamış, yine bunu destekler şekilde serum ve doku sitokin düzeylerinde de azalmaya neden olmamıştır. Anlamlı tek etkisi doku NO düzeyini azalması olmuştur. *S. boulardii*'ye ikincil fungemi görülmemiştir. *S. boulardii*, prednisolon alan ratlarda, candida fungemisi gelişiminde azalmaya neden olmamıştır.

Anahtar kelimeler

Rat, Deneysel kolit, TNBS, *Saccharomyces boulardii*, Fungemi

SUMMARY

Efficacy and Risk Assessment of Possible Fungemia of Treatment with *Saccharomyces boulardii* in a Rat Model of Ulcerative Colitis

Saygılı, Saba Mukaddes MD.

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları A.D.

Correspondence: DEUTF İç Hastalıkları A.D. Balçova/ İZMİR

e-mail: sacarbay@yahoo.com

Introduction: There are studies suggesting the efficacy of probiotics in Ulcerative Colitis and Crohn's Disease. The risk of fungemia is the most important problem restricting the use of *Saccharomyces boulardii*, a probiotic, during the active period of these diseases.

Aim: We aimed to investigate the efficacy of *Saccharomyces boulardii* (*S.boulardii*), a probiotic, in the trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) induced experimental colitis model of the rats and also to assess the risk of fungemia which is an unfavourable side effect of this therapy.

Material and Method: Thirty two Wistar Albino female rat were separated into five groups after the approval of the local animal ethics committee of Dokuz Eylül University Faculty of Medicine. 50 mg of TNBS was applied to the rectum of the rats via a catheter, except the ones in group 1, in order to induce colitis on the first day of the study. Consequential 14 days the rats received oral saline in group 1 and 2, 1 mg per kg of *S.boulardii* dissolved in their daily drinking water in group 3, 1 mg per kg of methyl prednisolon in group 4 and combination of same doses of both *S.boulardii* and methyl prednisolon via the same route. Loss of weight, the form of the stool, occurrence of overt rectal bleeding and occult blood in the stool were monitored during the study and clinical scores for colitis were reported. After 14 days the intestines of the rats were examined and the specimens underwent macroscopic and microscopic scoring. TNF- α ve NO levels were examined from serum and tissue samples. Fungemia was investigated by using the liver and spleen samples of the rats.

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
Average Clinical Score	1	4,3	4,1	3,8	4
Serum TNF-α (pg/ml)	7,5 pg/ml	12,4 pg/ml	16,4 pg/ml	9,6 pg/ml	12,6 pg/ml
Tissue TNF-α (pg/ml)	21 pg/ml	28,9 pg/ml	18,1 pg/ml	23,1 pg/ml	20,5 pg/ml
Serum NO ppb	4,7 ppb	3,7 ppb	2,9 ppb	4,9 ppb	7,7 ppb
Tissue NO (ppb)	6,2 ppb	29,7 ppb	16,6 ppb	14,7 ppb	11,9 ppb

Group 4 and group 5 showed significantly lower average clinical scores compared to other groups. The tissue levels of NO were significantly lower in groups 3, 4 and 5. However the difference between macroscopic and microscopic scoring, serum and tissue levels of TNF- α and serum NO levels of groups 3, 4 and 5 when compared to group 2 revealed no significance.

Result: Single application of *S.boulardii* in a model of TNBS induced colitis was found to be inefficient when compared to the standard therapy, methyl prednisolon, by means of average clinical scoring, macroscopic and microscopic scoring, serum and tissue levels of TNF- α and serum levels of NO. There was not any case of fungemia due to *S.boulardii*.

Key Words: Rat, Experimental colitis, TNBS, *Saccharomyces boulardii*, Fungemia

GİRİŞ VE AMAC

Probiyotikler; sindirim sistemine belli sayıda alındıklarında, sağlık üzerine olumlu etkiler yapan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotik ajanlardan olan *S. boulardii* patojenik olmayan bir mayadır. Enfeksiyöz gastroenterit ve antibiyotiğe bağlı ishal başta olmak üzere değişik nedenlerle oluşan ishallerin tedavisinde kullanılmaktadır. *S. boulardii*'nin başlıca 5 etki mekanizması vardır;

1. Ekolojik koruma,
2. Bağışıklık sistemini uyarma,
3. İntestinal mukoza üzerine trofik etki,
4. Disakkaridaz aktivitesini uyarması,
5. Bakteriyel toksin blokajı.

S. boulardii 'nin inflamatuvar barsak hastalıkları (İBH)'nın tedavisinde kullanılabileceği düşüncesi, bu hastalıkların etiolojisinde bakteriyel ajanların rol oynadığına dair kuvvetli kanıtların var olması nedeniyle ortaya çıkmıştır. İBH'nın, genetik olarak yatkın bireylerde, enterik bakteriyel flora antijenlerine karşı oluşan bozuk bir immün yanıt sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Antibiyotik tedavisinin de özellikle aktif Crohn hastalığında temel tedavilerden biri olması bu görüşü desteklemektedir. *S. boulardii*'nin patojen mikroorganizmaların üremesini engelleyici ve barsak florasını düzenleyici etkileri olması, İBH'nda da etkin olabileceğini düşündürmektedir.

S. boulardii'nin özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ve yoğun bakım hastalarında fungemiye neden olduğuna dair yayınlar mevcuttur. Bu nedenle İBH'nda *S. boulardii*'nin etkinliğini araştıran kontrollü çalışmalar yapılamamaktadır. Yapılan az sayıdaki çalışmada ise umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmanın birincil amacı; ratlarda oluşturulacak İBH'na benzeyen deneysel kolit modelinde *S. boulardi*'nin etkinliğini araştırmaktır. Böylece tedavi seçenekleri kısıtlı, kronik ve alevlenmelerle seyreden bu hastalık grubunda *S. boulardii*'nin yeni bir tedavi alternatifi olup olamayacağı araştırılacaktır. Bu çalışmanın ikincil amacı ise deneysel kolit modelinde *S. boulardii*'nin tek başına ya da kortikosteroid ile birlikte kullanıldığında gelişebilecek fungemi riskini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH)

Tanım

İnflamatuvar barsak hastalıkları (İBH) intestinal mukozada inflamasyon ile giden kronik bir hastalık grubudur. İBH adı altında iki temel hastalık akla gelmektedir. Ülseratif kolit (ÜK), mukozada sınırlı yaygın inflamasyonla seyreder ve rektumdan başlayıp kolon mukozası boyunca süreklilik gösterir. Crohn hastalığı (CH) ise gastrointestinal sistem (GİS)'in herhangi bir bölümünü etkileyebilir ve mukozadan serozaya kadar tüm katmanları tutar. Temelde granümatöz inflamasyonla karakterize bir patolojik tablo sergiler. Mikroskopik kolit (lenfositik kolit ve kollajenöz kolit), tam sınıflandırılmayan kolit, bakteriyel ve parazitik infeksiyonlar, iskemik barsak hastalıkları ve radyasyon koliti de İBH olarak değerlendirilmektedir.

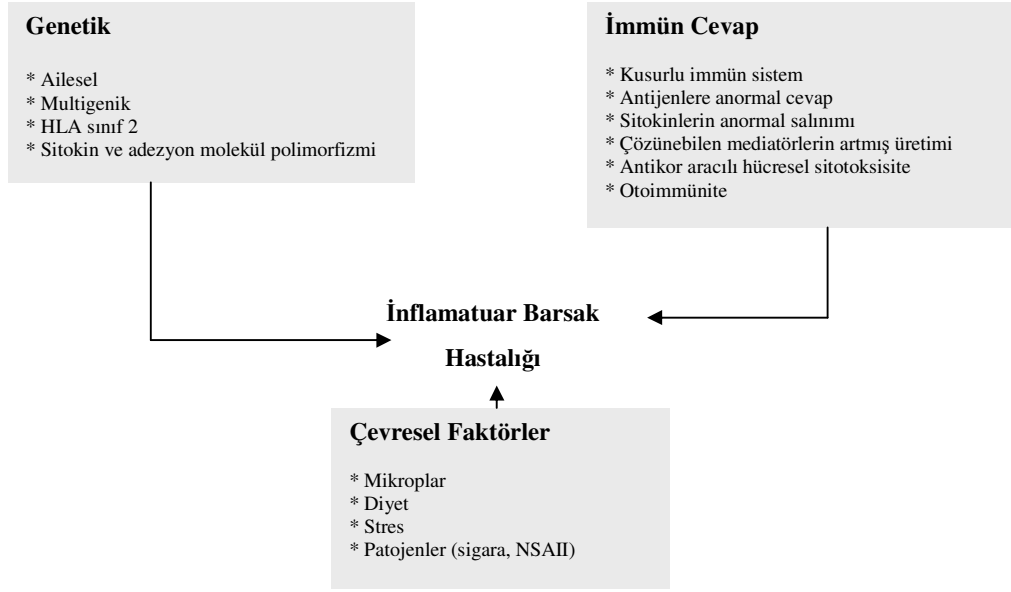
Epidemiyoloji

İBH sıklığı coğrafi dağılıma göre farklılık göstermektedir. Kuzey ülkelerinde, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), İngiltere, Norveç ve İsveç'te yüksek sıklıkta görülür. ABD verilerine göre görülme sıklığı ÜK için 11/100.000 iken CH için 7/100.000'dir. Asya ve Güney Amerika'da ise daha nadir olup görülme sıklıkları ÜK ve CH için sırasıyla 0,5/100.000 ve 0,08/100.000'dir.

İBH özellikle yüksek sosyoekonomik koşulları olan toplumlarda daha sık görülmektedir. Bu durum batılılaşma, diyet değişiklikleri, sigara tüketimi, kimyasal maddelere maruz kalma ve çevresel kirlilik ile ilişkilendirilebilir (1). ÜK 15- 30 ve 50-70 yaşları arasında iki kez pik yapar. Hastaların sadece %10'u 18 yaş altındadır. Hastalık kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta görülür (2, 3).

Etyoloji ve Patogenez

İBH'nın etyolojisi hala netlik kazanmamıştır. Etyopatogenezde birçok faktörün beraber rol oynadığı düşünülmektedir (Bkz Şekil 1). Genetik yatkınlığı olan bireylerde çevresel faktörlerin etkisiyle GİS'de gelişen kontrol dışı ve yaygın inflamasyon sonucunda barsak bariyer fonksiyonlarında meydana gelen değişiklikler İBH patogenezini açıklamaya yönelik en akla yatkın teoridir (4).



Şekil 1. İBH patogeneğinde çoklu etkenler

Genetik faktörler

Yapılan birçok klinik araştırmada İBH'nın gelişiminde genetik yatkınlığın rol oynadığı görülmüştür. İBH olan bireylerin birinci derece akrabalarında İBH'nın rastlanma sıklığı 4 ile 20 kat artmıştır. Bu da geri kalan populasyona göre %7'lik net risk artışı demektir. İBH'nın gelişiminde tek bir geni suçlamak mümkün değildir. Başlıca 1, 3, 6, 7, 12, 14, 16 ve 19. kromozomlardaki değişiklikler sorumlu tutulabilir (3). Monozigot ikizler arasında hastalığın görülme sıklığı ÜK'te %6-14 iken CH'nda %44-50'dir (5).

i -Crohn Hastalığı

CH olan bireylerin %17-20'sinde 16. kromozomda bulunan, sitoplazmik bir proteini kodlayan Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2 (NOD2), diğer adıyla Caspase Activation and Recruitment Domain (CARD15) gen mutasyonu olduğu saptanmıştır (6, 7). NOD2/CARD15 geni bakteriyel lipopolisakkaridlere karşı konağın monositlerinin Nükleer Faktör- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) cevabını ve makrofaj apoptozisini (programlanmış hücre ölümü) düzenler. Böylece CH'nda ortaya çıkan varyant NOD2/CARD15 gen üretimi ile konağın bakteriyel etkeni tanınmasında ve/veya makrofajların bakteri lipopolisakkaritleri ile karşılaştığında gelişen makrofaj aktivasyonunda ve NF- $\kappa\beta$ cevabında azalma ortaya çıkar (7, 8). Bu geni homozigot taşıyan bireylerde hastalık ortaya çıkabilme sıklığı 20 kat artar (9).

ii -Ülseratif Kolit

ÜK'de 3, 7 ve 12. kromozomlarda yer alan DR2, DRB1*0103 ve DRB1*12 gen mutasyonlarının hastalık ile yakın ilişkisi olduğu gösterilmiştir (10).

Çevresel faktörler

İBH'nda çevresel faktörler hastalığın gelişimi açısından genetik yatkınlıktan daha önemli bir faktör olarak karşımıza çıkar. Sigara kullanımı (ÜK için koruyucu iken CH'yı kötüleştirir), steroid dışındaki antiinflamatuvar ilaç (NSAII) kullanımı, fizyolojik stres, appendektomi (erken yaşta yapılan appendektomi ÜK'e karşı koruyucu özelliindedir) gibi çevresel risk faktörleri hastalık gelişiminde rol oynar. Tüm bunlara rağmen hala bilinen en güçlü çevresel faktör mikrobiyal etkenlerdir. Bununla birlikte tek bir spesifik bakteriyel ajanı suçlamak mümkün değildir. Suçlanan olası ajanlar, gastrointestinal florada kommensal yaşayan bakteriler ve bunların artık ürünleridir. Bunların İBH gelişiminde tetiği çeken ve hastalığı devam ettiren başlıca nedenler olduğu düşünülmektedir (11).

Kolonik Mikrofloranın Önemi

İBH patogeneğinde kommensal halde barsak florasında yaşamlarını sürdüren intestinal mikrofloranın önemli bir rolü vardır. Bu yerleşik mikroflora, bazı metabolik fonksiyonları (epitelyal mukus üretimi, enerji üretimi, vitamin sentezi, kalsiyum, magnezyum ve demir emilimi, karbonhidrat fermantasyonu ve kısa zincirli serbest yağ asidi üretimi) (12, 13), intestinal epitel üzerindeki trofik etkileri (14) ve bakteriyel antagonizm yolu ile sağladığı bariyer fonksiyonu (12, 15-17) ile konak için önemli bir yapıtaşdır. Sağlam yerleşik mikrofloranın varlığı ile patojen mikroorganizmaların yerleşimi ortadan kaldırılmış olur. Bu, mikrofloranın sağladığı düşük lüminal pH ve patojenik mikroorganizmalar için gerekli eser moleküllerin tüketimi ile sağlanır, böylece entero-invaziv mikroorganizmaların intestinal epitel hücrelerine invazyonu önlenmiş olur. İBH'nda inflamasyon olan ve olmayan barsak dokusunda koliform ve anaerobik bakterilerin sayısında artma, laktik asit üreten bakterilerin sayısında ise azalma olduğu gösterilmiştir (18, 19). Bununla birlikte İntestinal mikroflora ile barsak ilişkili lenfoid doku (Gut Associated Lymphoid Tissue; GALT) arasında ortaya çıkan immün toleranstaki azalma da İBH gelişmesinde rol oynar. Buna karşılık bazı mikroorganizmalar ile laktik asit üreten bakteriler İBH üzerinde olumlu etkilerde bulunur. Bu mikroorganizmalar (probiyotikler) hem GALT immün cevabını artırır hem de patojen mikrobiyal flora üzerinde çoğalır.

Mikroflora ile intestinal mukoza arasındaki inflamatuvar aktivite sonucunda intestinal

lezyonlar meydana gelir. Birçok bakteriyel patojen İBH patogeneğinde suçlanmıştır. Bunlar arasında: *Mycobacterium paratuberculosis*, *M. kansasii*, *Escherichia coli*, *Diplostreptococcus sp.*, Virüsler (kabakulak, RNA virüsleri), *Lysteria monocytogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Chlamydia sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas maltophilia* ve *Helicobacter hepaticus* sayılabilir (11, 20).

Barsak florası son derece karmaşık yapılanmış bir ekosistemdir ve alınan diyetle bile değişebilir. Değişen bakteriyel kompozisyon ve bu bakterilerin salgıladıkları ürünler (proinflamatuvar sitokinler, endotoksin ve diğer bakteriyel ürünler) sonucunda, immün sistem cevabında artma ve intestinal mukozada hasar meydana gelir. Böylece gelişen lokal mukozal hasar ve inflamasyon ile mukozanın bariyer fonksiyonu bozulmuş olur (11).

İnflamatuvar Mediatörler

Kolonik mikroflora ile konak arasındaki immün toleransın azalması ile gelişen abartılı immün yanıt birçok immünolojik yolak ve farklı sitokinlerin artmış ya da azalmış salınımı ile açıklanmaktadır. İnflamasyon alanında artan mukozal B hücreleri ve plazma hücreleri, antikor aracılı ve kompleman bağımlı immün sistem aktivasyon bozukluğunun altta yatan ana mekanizma olduğunu düşündürse de asıl sebep, barsak florasındaki bakterilere karşı gelişen T lenfosit hipersensitivitesidir (21).

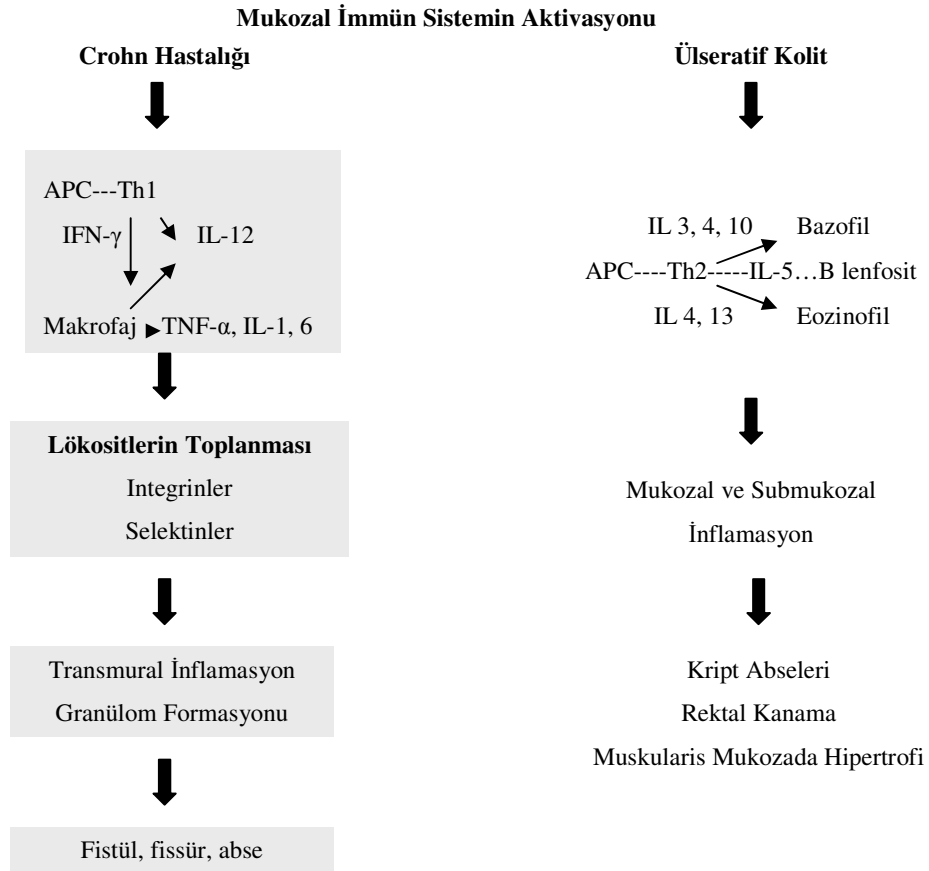
Çevresel etkenlerin uyarısı sonucunda hasarlanan barsak dokusunda başlayan inflamatuvar reaksiyonun kontrol dışı gelişerek abartılı hale gelmesi aktiflenen mukozal immün sistemin salgıladığı sitokinlerin bir sonucudur. Temelde İBH için hücre salınımı immün yanıtta bir artma söz konusu iken humoral immün yanıtta baskılanma beklenmektedir. Bu da öncelikli olarak hücre salınımı düzenleyen Th1 hücre fonksiyonlarında ortaya çıkan artmaya karşılık baskılanan Th2, Th3 ve Th17 (regulatuvar T hücre) işlevleri ile açıklanabilir (Bkz Tablo. 1). Temelde mukozadaki immün aktivasyon İBH'nda ortak başlasa da sonrasında ortaya çıkan hücre salınımı farklılığı ve salgılanan sitokinlerdeki farklılıklar gelişen hasarın tipini ve dolayısıyla da hastalığın ÜK ya da CH yönünde gelişimini belirler (Şekil.2) (22-24).

Crohn Hastalığı

Patogeneğinde rol oynayan antijen lamina propriaya ulaştıktan sonra APC (Antijen sunan hücre) tarafından tanınır ve yardımcı T lenfositlere sunulur. CH'de baskın olan hücre tipi Th1 lenfosit olup APC ile sunulan antijeni tanıdığına IL-2 ve INF- γ üretimi yapar (Tablo 1).

CH'de Th1 lenfosit'in ürettiği sitokinler ile uyarılan makrofaj; İL-12, İL-18 ve makrofaj göçünü inhibe edici faktör (Macrophage migration inhibitor faktor) salgılayarak Th1 lenfosit'in daha da fazla uyarılmasını sağlar. Bununla birlikte aktive olan makrofajlar salgıladıkları TNF, İL-1 ve İL-6 gibi güçlü sitokinler ile inflamasyona katkıda bulunur. İmmün hücre topluluğunun salgıladığı araçlarda (sitokinler, kemokinler, araziidonik asid metabolizma ürünleri, nitrik oksid gibi reaktif oksijen metabolitleri) inflamatuvar olaya katkıda bulunarak doku harabiyeti gelişmesini sağlar (24-26).

Ayrıca immün sistemin aktivasyonu ile birlikte bakteriyel lipopolisakaridlerin etkisi ile ortaya çıkan nükleer faktörlerin antiapoptotik etkisi de artmış inflamatuvar yanıtın uzun süreli ve kronik olmasında rol oynamaktadır (24).



Şekil .2 İBH Patogenezinde İmmünolojik Yolaklar

APC: Antigen Presenting Cell (Antijen Sunucu Hücre), Th: T helper, IL: İnterlökin, IFN: İnterferon, TNF: Tümör Nekrozis Faktör

Tablo .1 Crohn hastalığında T Lenfosit Fonksiyonları

CD4+ T Hücreler (Yardımcı T Hücreler)			
↑Th1 CD4+	↓Th2 CD4+	↓Th3	↓Thr
↑Salınım	↓Salınım	↓Salınım	↓Salınım
IL-2	IL-4	TGF-β	IL-10
IFNγ	IL-5		
TNF-α	IL-6		
	IL-10		
Hüresel Yanıtı Düzenler		Hümorale Yanıtı Düzenler	

Ülseratif Kolit

İBH'nın temel alt tipleri olan ÜK ve CH'da, klinikte kanlı-mukuslu dışkılama, kilo kaybı, karın ağrısı, ateş ve halsizlik başlıca bulgular olarak karşımıza çıkar. Ancak bu iki hastalık arasında özellikle anatomik tutulum, yayılma paterni ve oluşturduğu doku harabiyeti açısından farklılıklar bulunmaktadır (Bkz Tablo 2).

Klinik Tablo

ÜK, kolon ve rektumu tutan mukoza ve submukozada inflamasyon ile seyreden, arada normal dokunun bulunmadığı ülser gelişimi ile karakterize bir hastalık grubudur. Tablo 3'te görüldüğü üzere barsaktaki tutulum bölgesine göre sınıflandırılabilir.

Tablo.3 Ülseratif Kolitte Tutulum Bölgesine Göre Alt Tipler

Ülseratif Kolit	Tutulum Bölgesi
Ülseratif proktit	Kolonun en distal kısmı, rektum
Sınırlı/distal kolit	İnen kolon
Pankolit	Tüm kolon

Tablo.2 ÜK ve CH Arasındaki Klinik Farklılıklar

Bulgular	Ülseratif Kolit	Crohn Hastalığı
İntestinal tutulum	Tüm kolon, arada normal dokunun olmadığı sürekli tutulum görülür.	Tüm intestinal sistem, aralarda hastalıktan etkilenmeyen normal dokular bulunur.
İshal	Günde 4 defa	Günde 4 defa
Abdominal kramp/ağrı	Hafif şiddette, alt kadranda	Sağ alt kadranda, şiddetli
Kanlı dışkılama	Hastalığın şiddetine göre değişebilir	Hastalığın şiddetine göre değişebilir
Halsizlik	Kan kaybı ve anemiye bağlı	Kan kaybı, anemi ve nutrisyonel emilim kusuruna bağlı
Ateş	Ciddi vakalarda	Ciddi vakalarda
Fizik Muayene	Rektal muayenede perianal iritasyon, fissür, hemoroid, fistül ve abse	Peritoneal iritasyon, abdominal-pelvik kitle
Kilo kaybı/anoreksi	Ciddi vakalarda	Sıklıkla, az beslenme ve emilim kusuruna bağlı
İştah	Hastalık aktivasyonunda azalır	Hastalık aktivasyonunda azalır
Kolon kanseri görülme sıklığı	Artar	Artar

Patogenez

ÜK gelişiminde genetik (1. ve 4. kromozom) ve çevresel faktörler rol oynar (27). Gelişen inflamasyonda; salgılanan inflamatuvar mediyatörler, oksidatif stres, değişen kolonik flora, mukozada anormal glikoprotein birikimi, kısa zincirli serbest yağ asidlerinin oksidasyonunda azalma, artmış intestinal geçirgenlik, sülfid üretiminde artma ve azalmış metilasyon rol oynar. ÜK gelişimini tek bir mekanizma ile açıklamak mümkün değildir (28). ÜK'da gelişen klasik lezyonlar, epitelyal hücrelerinin immün yolaklar ile hasarlanmasını takiben gelişen mukozal anormal nötrofil kümelenmesi ve kript abseleridir (27, 28).

İnflamatuvar olayların gelişmesinde ÜK'te baskın olan hücre atipik Th2 lenfositlerdir. Ülseratif Kolitte humoral immünitinin baskın olduğu, yüksek immünglobülin seviyeleri (özellikle IgG1) ve otoantikolar (anti-kolon, anti-nötrofil antikor) ile açıklanmaktadır (29,

30). Yapılan birçok çalışmada kolon enterositleri üzerinde immünglobülin ve kompleman olduğu gösterilmiştir ve bu da ÜK'in hümorale immünitenin rol oynadığı otoimmün bir hastalık olduğu fikrini desteklemektedir (28, 31).

ÜK'te görülen sitokin profiline bakıldığı zaman gelişen Th2 cevabı ile IL-5 ve IL-8 doku düzeyinde artma görülürken IFN- γ (Th1 yanıtında rol oynar) düzeyinin değişmediği görülmüştür (Tablo.4). Sistemik inflamasyondan sorumlu olan IL-1, IL-6 ve TNF- α düzeyinin de hem CH hem de ÜK'da arttığı saptanmıştır (32, 33).

Tablo.4 ÜK ile CH Arasındaki Sitokin Farklılığı (28)

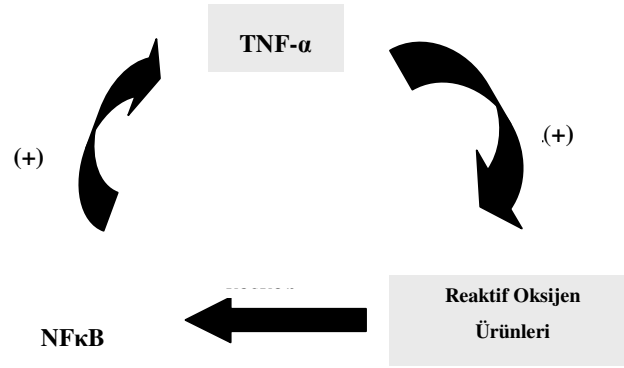
Sitokin	Ülseratif Kolit		Crohn Hastalığı	
	Serum	Mukoza	Serum	Mukoza
IL-1	Normal	Artmış	Normal	Artmış
IL-2	Normal	Normal	Artmış	Artmış
IL-6	Normal	Artmış	Artmış	Artmış
IL-8	(---)	Artmış	(---)	(---)
INF- γ	(---)	Normal	(---)	Artmış
TNF- α	Artmış	Artmış	Artmış	Artmış

TNF- α düzeyi ÜK için özgün bir belirteç olmayıp, hastalık aktivitesinin izlenmesinde kullanılabilir. Sağlıklı kontroller, nonspesifik ishali olanlar ve aktif İBH olan bireyler incelendiğinde nonspesifik ishali ve aktif İBH'ı olan grupta dışkı TNF- α düzeylerin artma olduğu görülürken, ÜK'i aktif olmayan bireylerde TNF- α düzeyinin sağlıklı kontrollerde görüldüğü gibi düşük olduğu saptanmıştır (34). Dolayısıyla TNF- α düzeyinin nonspesifik intestinal inflamasyonu yansıttığı düşünülmektedir (35).

Yapılan bir klinik çalışmada İBH'nda intestinal mukozada oksidatif stresin arttığı, plazma anti-oksidan (vitamin A, vitamin E) seviyelerinin azaldığı saptanmıştır (Şekil.3) (38). ÜK'li hastaların kolon mukoza biyopsileri incelendiğinde; reaktif oksijen radikallerinin arttığı, DNA oksidasyon ürünlerinin (8-hidroksi-deoksi-guanosine) ve demir düzeyinin arttığı saptanmıştır. Endojen bir antioksidan olan süperoksid dismutazın kofaktörleri olan bakır ve çinko düzeyi ise azalmıştır (36).

ÜK'te intestinal dokudaki hücre dışı matriks, glikozaminoglikan (GAG) yapı da değişime uğrar (34). GAG intestinal dokuda, bazal membran, lamina propria ve submukozada yer alır. Kolon geçirgenliğini ve immün-inflamatuvar reaksiyonları etkiler. Normal bir kolon

ekstrasellüler matriksi büyük oranda kondroitin sülfat ve dermatin sülfat, az miktarda heparan sülfat ve hyalüronik asit içerir. ÜK'te ise total GAG düzeyi değişime uğrar, heparan sülfat ve hyalüronik asit düzeyi artar (37). GAG yapının submukozal lamina propria tabakasından kaybı ile membranın sahip olduğu negatif yük kaybolmuş olur. Sonuçta kolon mukozasının geçirgenliğinin etkilenmesi ve toplanan inflamatuvar hücrelerin de katkısı ile beraber protein ve sıvı kaçıışı, trombozis ve aşırı yeniden yapılanma meydana gelir (38). Kolon mukozasının GAG içeriğinin patogeneizde ne kadar önemli rol oynadığı bilinmemektedir. Ancak ortaya çıkan hyalüronik asit direkt lenfositler ile etkileşime geçerek sitokinlere karşı olan makrofaj cevabının azalmasına, fagositozun artmasına yol açar. Görüldüğü gibi GAG içeriği makrofaj dağılımını ve makrofajın TNF- α 'ya olan cevabını değiştirebilir (39).



Şekil 3. Reaktif Oksijen Ürünlerinin Hastalığın Gelişiminde Potansiyel Rolü

TNF- α ile üretimi artan reaktif oksijen radikalleri NF- κ B'yi aktive eder. Artan NF- κ B, TNF- α üretimini daha da artırır. Böylece inflamasyon kaskadı devam eder.

ÜK gelişiminde bakterilerin önemli rol oynadığına dair birçok delil bulunmaktadır;

1. Barsak lezyonları çok yüksek oranda bakteri içerir.
2. Hayvan modellerinde normal enterik flora bakterilerine karşı gelişen immün yanıt sonucunda hastalık oluştuğu gösterilmiştir.
3. ÜK nedeniyle ileal poş anastomozu yapılan hastalarda cerrahi sonrasında gelişen mukozal lezyonlarda da bakteriyel kolonizasyonun artmış olduğu gösterilmiştir.
4. Kolon florasının antibiyotik ve/veya probiyotikler ile tedavisi sonucunda semptomlar düzelir (11, 28)

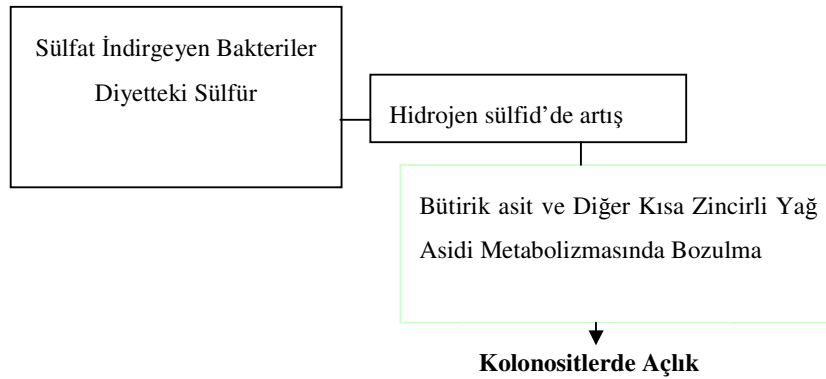
ÜK gelişiminde başlıca rol oynayan bakteri *Bacteroides vulgatus* ve buna karşı üretilen antikor yanıtıdır (40). Diğer rol oynayan başlıca bakteriler *Escherichia coli*, *Shigella sp*, *Diplostreptococcus*, *Clostridium difficile*, *Fusobacterium necrophorum*, *Helicobacter hepaticus*, RNA virüsleri, *Bacteroides vulgatus*, *Yersinia sp.* türleridir.

Mukoza hasarlanmasında bakteriler salgıladıkları endotoksinler ile immün sistemi uyarır. İmmün sistemin uyarılması ve inflamatuvar yollar sonucunda ortaya çıkan sitokinler, NO (Nitrik Oksid) ve lökotrienler lokal mukozal hasarın ortaya çıkmasını sağlar (şekil 4).



Şekil. 4 Mukoza Hasarlanmasında Bakterilerin Etki Mekanizması

ÜK patogenezinde rol oynayan diğer önemli bir faktör de bütirik asit düzeyidir. Bütirik asit dört karbonlu kısa zincirli serbest yağ asidi olup sağlıklı kolon tarafından alınan fiber ve karbonhidratların fermantasyonu ile ortaya çıkan bir üründür. Propiyonik asit ve asetik asitten oluşmuştur. Bütirik asit kolonositlerin primer yakıtıdır. Bununla birlikte iyon transferi, mukus sentezi, faz II detoksifikasyon ve hücre membran bütünlüğü için gerekli lipid sentezi için de kullanılır(41). Kusurlu bütirat oksidasyonu ise hastalık gelişiminde rol oynar (42). ÜK'li hastalarda yüksek oranda bulunan sülfat indirgeyen bakteriler hidrojen sülfid miktarında artmaya neden olurlar. Bu molekül ise barsak mukozasında mitokondriyel bütirik asit sentezini inhibe eder (Şekil.5).



Şekil. 5 Patogenezde Bütirik Asit Etkisi

Ülseratif kolit tedavisinde kullanılan yöntemler

İBH kronik bir hastalık olup yaşam boyu tekrarlayan ataklar ile devam edebilir. Bu da morbiditede ve daha az sıklıkta da olsa mortalitede artışa neden olur. Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 700.000 ziyaret, 100.000 hastaneye yatış ve 119.000 sakatlık sebebidir. Hayatları boyunca cerrahi müdahale sıklığı ÜK için %25-33, CH içinse %75'den fazladır (2, 43). Tüm bu veriler incelendiğinde İBH'nın tedavi maliyeti yüksek, tedavide net sonuçların alınmadığı ve komplikasyonların sık görüldüğü bir hastalık grubu olduğu görülür.

İBH tedavisinde uzun süreli klasik tedavinin yanında hastaların semptomlarını azaltan ishal giderici ajanlar, diyet düzenlemesi, sigara bağımlılığı tedavisi, nutrisyon desteği, malabsorbsiyon ve steroid kullanımına bağlı gelişebilecek osteoporoz tedavisi, uzun süreli kullanılan immünsüpresif ajanlara bağlı gelişebilecek fırsatçı enfeksiyonların tedavisi de önem taşımaktadır (28, 44).

Klasik tedavi

i) 5- aminosalisilik asit (5-ASA)

Hafif-orta şiddetteki ÜK tedavisinde kullanılabilir. Aminosalisilatlar; 5-ASA+sülfopiridin olarak kombine veya sadece 5-ASA (mesalamin, balsalazin, olsalazin) olarak bulunabilir. 5-ASA tedavide esas etkili olan molekül olup anti-inflamatuar etkinliğini; prostaglandin ve lökotrien üretimini bloke ederek, nötrofil kemotaksisini, IL-1, IL-2 ve NF-κB üretimini inhibe ederek gösterir (25, 45, 46). Bunlara ek olarak monosit ve lenfosit fonksiyonlarını düzeltir, anti-oksidan aktivitesini düzenler ve barsakta sülfid üretimini bloke eder (47). Uzun süreli kullanımda 5-ASA, bütirat oksidasyonunu inhibe ederek kısa zincirli serbest yağ asidi metabolizmasını düzenler (48).

Sülfasalazin içindeki sülfopiridin sistemik yan etkilerin gelişmesinden sorumludur. Sülfasalazin kullanan hastaların yaklaşık %30'unda bulantı, kusma, baş ağrısı, deride döküntü, ateş, agranülositoz, pankreatit, nefrit, hepatit ve erkek hastalarda infertilite gibi yan etkiler görülebilir. Bunlara ek olarak, içerdiği sülfü grubu folik asit emilimini bozabileceğinden dolayı folik asit replasmanı gerekebilir. Sadece 5-ASA kullanan bireylerde ise az da olsa ishal ve karın krampları görülebilir (47). Distal kolit veya proktiti olan vakalarda suppozituar ve enema formları kullanılabilir.

ii) Kortikosteroidler

Kortikosteroidler ÜK'in akut ataklarında kullanılır. Güçlü immünsüpresif etkileri; araziidonik asit yolağını, IFN- γ , İL-1, İL-2, İL-4, İL-5, İL-6 ve İL-8'i inhibe etmelerinin sonucudur (47). Yan etkilerinin fazla olması nedeniyle sadece hastalık kontrol altına alınıncaya kadar kullanılmalıdır. Yan etki gelişimi kullanılan doz ve tedavi süresi ile doğru orantılıdır. Tedavinin başlangıcından itibaren kortikosteroid kullanımına bağı osteoporoz (buna yönelik kalsiyum, D vitamini desteğı ve gerekli ise bifosfanat tedavisi uygulanabilir), hipertansiyon ve kan şeker yüksekliğı açısından dikkatli olunmalıdır (25). Kortikosteroid kullanımına bağı erken dönemde sıvı ve tuz retansiyonu, kilo alımı ve duygu durum değışikliğı görülebilirken, uzun dönemde katarakt, myopati, bağışıklık sisteminin baskılanması ve adrenal yetmezlik görülebilir (28).

iii) Antibiyotikler

CH'ndan farklı olarak tedavide antibiyotikler ile başarı şansı azdır. Tanı konulduktan sonra ilk tedavi aşamasında vankomisin, metronidazol, tobramisin ve siprofloksasin kullanılabilir (25, 44).

iiii) İmmünmodülatör ilaçlar

Steroid bağımlı vakalarda azotiopürin ve 6-merkaptopürin kullanılabilir. Bu ilaçlar etkilerini lenfosit proliferasyonunu inhibe ederek ve ribonükleotid sentezini bozarak gösterir. Böylece doğal öldürücü (Natural Killer; NK) hücre aktivitesi ve T hücre fonksiyonları bozular. Başlıca yan etkileri; pankreatit, deride döküntü, artralji, ateş, bulantı ve ishaldir (44).

iiiii) Siklosporin

Steroide bağımlı ÜK tedavisinde kullanılabilen bir ilaçtır. İL-2, İL-3, İL-4, TNF- α ve İFN- γ blokağı ile T-helper lenfosit aktivitesini inhibe eder. Ancak parestezi, tremor, hipertansiyon, bulantı, kusma, baş ağrısı, konvülziyon ve nefrotoksisite gibi ciddi yan etkileri bulunmaktadır (28, 44).

Alternatif Tedavi Yöntemleri

Mevcut tedavi yöntemleri ile sınırlı yanıtlar alınabilmesi ve hastalığın tekrarlayıcı ve kronik vasıflı olması nedeniyle ÜK tedavisinde birçok alternatif yöntem denenmiştir. Tablo 5 bu yöntemleri kısaca özetlemektedir.

i) Diyet değişiklikleri

ÜK'in yüksek sosyoekonomik seviyeleri olan toplumlarda daha sık görülmesi, bu toplumlarda karbonhidrat, rafine şeker ve total protein tüketiminin fazla olması diyetin İBH gelişiminde ve hastalığın akut alevlenmelerinde rol oynadığını düşündürmektedir (49, 50). Aminoasitlerden fakir beslenme başlangıçta tercih edilmiş olsa da hasta uyumunun zor olması, intestinal mikroflorayı değiştirerek hastalık aktivasyonuna yol açabilmesi ve hiperozmolar olup ishal yapabilmesi nedeniyle günümüzde tercih edilmemektedir (51).

Eliminasyon diyeti veya hipoallerjik diyet ise yemek allerjisinin (inek sütü proteini) ÜK patogenezinde rol oynadığı düşünülerek geliştirilmiştir. Ancak günümüzde laktoz alerjisini destekleyecek net bir delil yoktur (52-54). Yapılan bazı sınırlı çalışmalarda ise yüksek allerjenik özelliği olan diyetlerden kaçınılmasıyla ÜK'in akut alevlenme döneminde semptomlarda rahatlama, ishal ve kanlı dışkılama sayısında azalma olduğu görülmüştür. Kaçınılması gereken başlıca gıdalar; turunçgiller, mandıra ürünleri, domuz eti, domates, ananas, kavun, karpuz, üzüm ve baharatlı gıdalardır (55).

Sülfür içeren aminoasitlerin ÜK patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle diyetle yumurta, peynir, süt ürünleri, dondurma, mayonez, soya sosu, soda, kabuklu kuruyemiş ve sülfidli içkilerden (şarap ve likör) kaçınılması gerekir. Klasik tedaviye ek olarak diyet uygulanan ÜK hastalarında semptomlarda, barsak hareketlerinde azalma ve histolojik iyileşme olduğu görülmüştür (56).

Diyette düşük lifli gıda tüketiminin ÜK gelişme olasılığını artırdığı bilinmektedir. Yüksek lifli gıda tüketimi ise hastalık gelişiminden koruduğu gibi hastalık alevlenme sıklığını da azaltır (57, 58). Düşük lifli diyetin aynı zamanda rafine karbonhidratlardan zengin olması kas spazmını, lümen içi basıncı artırmakta ve sonuç olarak hastalığın gelişimine katkıda bulunmaktadır. Yüksek lifli diyet tüketimi intestinal flora içeriğini düzenlemektedir (59). Yüksek lifli gıdalardan biri olan *Plantago ovata* (psyllium) rat modellerinde serbest yağ asidi ve özellikle bütirat sentezini artırarak kolon glutatyon düzeyini yükseltmiş, TNF- α ve NO seviyelerini düşürmüş ve böylece kolon mukozasının yenilenme kapasitesini artırmıştır (60). Buna ek olarak serbest yağ asidi üretimini, bütirat ve asetat sentezini arttırarak karsinogeneze karşı kolonu koruyucu etkisi vardır (61).

Tablo.5 ÜK’da Alternatif Tedavi Yöntemleri

Terapötik Faydaları		Doz
Diyet - Hipoallerjenik diyet - Düşük sülfür içeren aminoasid kullanımı	Semptomları ve hastalık alevlenmesini azaltır, histolojik iyileşme sağlar.	Her zaman
Fiber Psyllium yaprakları	Gayta bütirik asid düzeyini artırır, intestinal florayı düzenler, mukozal bariyeri korur.	4-10 g/gün
Nikotin sakızı/ transdermal bant	Hızla remisyona girilmesinde ve remisyon süresinin uzamasında kullanılır.	15 mg/ gün bant veya 20 mg/ gün sakız
Dehidroksiepiandrostedion sülfat	Başta TNF- α olmak üzere inflamatuvar sitokin sentezini azaltır	15- 20 mg/gün *
Melatonin	Antiinflamatuvar ve antioksidan etkisi gösterilmiştir, intestinal spazmı azaltır**	Remisyonda 1-3mg/ gün, aktif kolitte daha yüksek doz*
Probiyotikler	Lüminal pH’ı azaltır, intestinal florayı normalize eder. Bakteriosin üretimi ile antibakteriyel etki gösterir Anti-inflamatuvar aktiviteyi azaltarak	1.5-3 milyar CFUx2 /gün
Esansiyel serbest yağ asidleri	histolojik iyileşme sağlar. Steroid ihtiyacını azaltır	1-2 g x 3/ gün
Kısa zincirli serbest yağ asidleri	Kolon mukozal yapısını ve enerji metabolizmasını düzenler.	Bütirat (40- 80mM/L) enema 2x1/gün
Glutamin	Lipid peroksidasyonunu azaltarak ülserli mukozanın iyileşmesini sağlar.	1.5-3 g/ gün
Fosfotidil kolin	Kollojenaz aktivitesini azaltır.	2-3 g/gün**
Fosfotidil inozitol	Mukozal permeabiliteyi azaltır.	
Süperoksid dismutaz	İnflamatuvar hücre infiltrasyonunu, lökosit sayısını azaltır, kanlı dışkılama sayısı azalır.	200 IU x 2/gün**

*: Klinik çalışması yok **: Hayvan çalışmalarında gösterilmiştir.

Japonya’da üretilen GBF (Germinated Barley Foodstuff) adlı arpa içeren prebiyotik lifli madde kullanımı ile gayta bütirat düzeyinde artma, proinflamatuvar sitokin üretiminde azalma (62, 63), faydalı intestinal bakterilerde artma (64), ishal sıklığında azalma, forme gayta oluşturabilme kapasitesinde artma (65, 66), mukozal hasara karşı koruma ve mukozal bariyerde düzelme (63, 67) gibi faydalı etkiler elde edilmiştir.

Antioksidan vitamin eksiklikleri, alım azlığıyla birlikte sentez kusuruna ve ishal nedeniyle gelişen malabsorbsiyona bağlı olarak ortaya çıkar (28). Antioksidan etkinin devamlılığı ve klasik tedavinin başarı şansının artırılabilmesi için bu vitamin eksikliklerinin yerine konması gereklidir (Tablo 6).

Tablo.6 ÜK Hastalarında Günlük Antioksidan Element İhtiyacı

Vitamin A	10.000- 25.000 IU/ gün
Beta karoten	25.000- 100.000 IU/ gün
Vitamin E	400-800 IU/ gün
Vitamin C	500- 1000 mg/ gün
Vitamin K	500 mcg-1 mg/ gün
Folik asit	400 mcg- 1 mg/ gün
Kalsiyum	500- 1000 mg/ gün
Demir*	30- 60 mg/ gün
Magnezyum	300- 500 mg/ gün
Selenyum	200- 400 mcg/ gün
Çinko	15- 45 mg/ gün
Bakır	1- 3 mg/ gün

* Sadece demir eksikliği olan kişilerde yerine konmalıdır, çünkü intestinal mukozal demir depolanmasında artma karsinogeneze katkıda bulunur.

Probiyotikler

Probiyotikler, sindirim sistemine belli sayıda alındıklarında sağlık üzerine olumlu etkiler yapan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotik ailesi normalde intestinal florada bulunan ve laktik asit üreten bakteriler (*Lactobacilli*, *Streptococci*, *Bifidobacteria*) ile normalde florada bulunmayan mayalardan (*Saccharomyces boulardii*) oluşur (Tablo 7) (68).

Probiyotiklerin etki mekanizmalarına geçmeden önce intestinal mikrofloranın dağılımının bilinmesi gereklidir. İntestinal flora tek başına 400'den fazla bakteriye ev sahipliği etmektedir. Bu bakterilerin birçoğu kültürde üretilemez (69). Üst gastrointestinal sistemde aerobik ve gram pozitif mikroorganizmalar baskınken, ileoçekal valvden itibaren distal barsak kısımlarında, anaerobik bakteriler (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* ve *Clostridium* türleri) artar. Kolon içinde anaerobik bakteri yoğunluğu artmaya devam eder ve 10^{11} - 10^{12} Colony Forming Unit (CFU)/g düzeyine ulaşır.

Tablo.7 Probiyotikler

<i>Lactobacilli</i>	<i>Bifidobacteri</i>	<i>Diğerleri</i>	<i>Mantarlar</i>
<i>L.acidophilus</i>	<i>B.bifidum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L.casei</i>	<i>B.infantis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L.delbruckeii</i> <i>supp.</i>	<i>B.longum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	
<i>bulgaricus</i>	<i>B.thermophilum</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	
<i>L.reuteri</i>	<i>B.adolescents</i>	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	
<i>L.brevis</i>	<i>B.lactis</i>	<i>Bacillus clasuii</i>	
<i>L.cellobiosus</i>	<i>B.animalis</i>	<i>Bacillus oligonitrophilis</i>	
<i>L.curvatus</i>	<i>B.breve</i>		
<i>L.fermentum</i>			
<i>L.plantarum</i>			
<i>L.rhamnosus</i> (GG)			
<i>L.salivarius</i>			
<i>L.gasseri</i>			
<i>L.johnsonii</i>			
<i>L.helveticus</i>			
<i>L.farciminis</i>			

İntestinal sistem içinde konak ve mikroflora arasında hassas bir denge bulunur. Mikroflora konağın mukozal immün sistemi ile iletişim içindedir. İBH'nda ise bu hassas denge bozulur ve immün sistemin aktive olmasıyla yıkıcı zararlar meydana gelir. Eğer mikroflora kompozisyonu egzojen bakteriler ile değiştirilebilir ise hasar azaltılabilir (Şekil. 6). Probiyotikler konağın mukozal ve sistemik immün cevabını, mikrobiyal ve nutrisyonel dengeyi sağlayarak intestinal mikroflorayı düzenleyerek yaşam üzerine faydalı etkiler gösterirler. Başlıca etkilerini antimikrobiyal ürünler salgılayarak, immünmodülasyon yaparak gösterirler (Tablo 9).

Etki mekanizması

Probiyotikler oral yolla uygulandıktan sonra etkilerini birçok yolla gösterir. Örneğin VSL#3 (karışık probiyotik kombinasyonudur, dört farklı *Lactobacillus* suşu + üç farklı *Bifidobacteriae* + bir tane *Streptococcus thermophilus* içerir), TLR-9 (Toll-like receptor)'a bağlanarak etki gösterir. TLR-9, mikroorganizmaların moleküler ürünlerine karşı tanıma ve cevabı sağlamada dolayısıyla intestinal homeostazın devamlılığında rol oynayan reseptör ailesinin bir bireyidir. Ayrıca VSL#3, NF-κB aktivasyonunu ve dolayısıyla inflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe eder (68, 70).

Probiyotiklerin gastrointestinal floraaya yerleşmesi ile beraber periferik kandaki lökositlerin bakterilere karşı fagositoz yeteneğini arttırması tedavide başlıca rol oynar. Bunu proinflamatuvar sitokinleri (IL-12, IL-6, TNF- α ve IFN- γ) azaltarak ve antiinflamatuvar (IL-10) mediatörleri arttırarak sağlar. Bununla birlikte bazı probiyotikler immünglobülin üretimini düzenleyerek etki gösterir. Barsak mukozasında IgA ve IgM salgısını arttırarak immünolojik bariyeri kuvvetlendirirler. Hipersensitivitenin gelişmesinin önlenmesinde, ayrıca allerjenlerin dengelenmesi ve emiliminin engellenmesinde de rol oynarlar (71) (Tablo 8, Tablo 9).

Tablo. 8 Probiyotiklerin Biyolojik Etkileri

Konağın İmmün Cevabının Düzenlenmesi	Epitelyal Bariyer Fonksiyonunun Kuvvetlendirilmesi	Antimikrobiyal Etki
- Antikor üretiminin arttırılması	- Tight junction protein fosforilasyonunun düzenlenmesi	- Lüminal pH'ın azaltılması
- NK hücre aktivitesinin arttırılması	- Mukus üretiminin arttırılması	- Antimikrobiyal peptid salınımı
- Dendritik hücre fenotipi ve fonksiyonunun düzenlenmesi	- Epitelyal hücre glikozilasyonunun arttırılması	- Patojenik bakteri invazyonunun engellenmesi
- NF- κ B yolunun düzenlenmesi	- Sekretuar IgA üretiminin arttırılması	- Epitelyal hücrelere bakteri adezyonunun önlenmesi
- Sitokin salınımının değiştirilmesi		- Nitrik oksit salınımı
- Düzenleyici T hücre indüksiyonu		
- PPAR- γ indüksiyonu		
- Programlanmış hücre ölümünün düzenlenmesi		
- Proteozom aktivitesinin inhibisyonu		

S. boulardii ilk defa Endonezya'da meyvelerden izole edilmiş ve 1950'li yıllarda Fransa'da akut ishal tedavisinde kullanılmış bir probiyotiktir. Geliştirilen liyofilize formu ile Avrupa, Asya, Afrika ve Güney Amerika'da kullanılmaktadır. Ürettiği 54 K-Da proteaz enzimi ile bakteriyel toksin blokajı yapar, intestinal mukozanın immün cevabını ve salgıladığı poliaminler ile mukozanın enzimatik aktivitesini uyarır. Preklinik ve deneysel çalışmalara bakıldığında tüm bu özellikler ile *S. boulardii* anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, enzimatik, metabolik ve anti-toksin etkisi ile çocuklarda gelişen akut gastroenterit tedavisi başta olmak üzere antibiyotik ilişkili ishal, *Clostridium difficile* enfeksiyonuna bağlı psödomembranöz enterokolitte kullanılmaktadır.

Tablo. 9 Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Tipi	Etkileri
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA1	Konak intestinal epiteline yapışarak immün sistemi kuvvetlendirir, mikroflorayı düzenler.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFB1748	Kabızlık tedavisinde, radyoterapiye bağlı ishal tedavisinde kullanılır, fekal mutajenik etkiyi azaltır.
<i>LactobacillusGG</i> ATCC 53013	Antibiyotik, Rotavirüs, <i>Clostridium difficile</i> ilişkili ishalin önlenmesinde ve Crohn hastalığının tedavisinde kullanılır
<i>Lactobacillus casei</i>	Rotavirüs'e ikincil ishal tedavisinde intestinal mikroflorayı düzenleyerek etki gösterir. Mesane tümörlerinin tedavisinde faydalı etkiler gösterir.
<i>Lactobacillus bulgarius</i>	Rotavirus ve viral gastroenterit tedavisinde kullanılır.
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Rotavirus ve viral gastroenterit tedavisinde kullanılır.
<i>Lactobacillus gasseri</i>	Gastrointestinal çevrenin sağkalımında faydalıdır.
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Gastrointestinal florada kolonize olur.
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Bakteriyel translokasyonu inhibe ederek septik cevabı azaltır, immüsupresif hastalarda kullanılır.
<i>Lactobacillus salivarius</i> UCC118	Fekal koliform bakterileri, <i>Clostridium perfringens</i> ve enterokok düzeyini azaltarak inflamasyonu azaltır, fare modellerinde tümör gelişimini önlediği görülmüştür.
<i>Bifidobacterium infantis</i> UCC35624	<i>Clostridium</i> türlerinin azalmasını, laktobasil ve bifidobakter türlerinin artmasını sağlar, kandaki fagositer aktiviteyi artırır.

Kullanım alanları

Çok sayıda hastalıkta probiyotiklerin etkisi araştırılmıştır (Tablo 10).

• *Helicobacter pylori* İnfeksiyonu

Helicobacter pylori (*H. pylori*) karsinogenik potansiyeli olan, peptik ülser hastalığına yol açan bir infeksiyon etkenidir. Tedavisinde proton pompa inhibitörleri ile kombine antibiyotikler kullanılmaktadır. *In vitro* çalışmalarda birçok *Lactobacillus* türünün *H. pylori*'nin gastrik mukozal adezyonunu ve çoğalmasını azalttığı gösterilmiştir (68).

• *Kolorektal Kanser*

Prebiyotik ve probiyotiklerin kolorektal kanser gelişiminde önleyici rolü olduğunu düşündüren az sayıda klinik çalışma mevcuttur. Probiyotiklerin bu özelliği birçok mekanizma ile açıklanmaya çalışılmıştır. Probiyotikler, barsak florasındaki bakterilerin salgıladığı enzimlerin (glikozidaz, B-glukuronidaz, azoredüktaz ve nitroredüktaz) ve sekonder safra asitlerinin fekal konsantrasyonlarını azaltarak ve emilimini önleyerek potansiyel mutajenik etkilerini azaltır. Bununla birlikte diyet ile alınan kanserojen öncül maddelerin barsak florası

tarafından karsinojen maddelere dönüşümünü azaltır. Konağın immün cevabını artırır, intestinal mikrofloranın metabolik aktivitesini azaltır, antimutajenik ürünler üretir (72). Kanser profilaksisinde kullanılmış başlıca ajanlar; laktik asit üreten bakteriler (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* Bb12 vb.) ve oligofruktoz-inülin gibi prebiotiklerdir (73). Ancak antitümör aktiviteyi tam olarak açıklayacak net bir mekanizma olmadığı için ileri klinik çalışmalara gereksinim vardır.

Tablo.10 Çeşitli Probiyotiklerin Kullanım Alanları

<p>İntestinal Hastalıklar</p> <ul style="list-style-type: none">• İshaller: Antibiyotik ilişkili ishaller, turist ishali, infeksiyöz ishaller• İrritabl barsak hastalığı• İnflamatuvar barsak hastalıkları: Crohn hastalığı, ülseratif kolit, poşit• Laktaz enzim yetmezliği <p>Diğer Hastalıklar</p> <ul style="list-style-type: none">• Kanser• <i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonu• Hiperlipidemi• Genitoüriner sistem enfeksiyonu• İmmünsistem fonksiyonlarının korunması• Yiyecek allerjisi <p>Nutrisyonel destek</p> <ul style="list-style-type: none">• Kanser kaşeksisi• AIDS• Pankreatit, Kistik fibrozis• İnflamatuvar barsak hastalığı• Gelişme geriliği

• *İrritabl Barsak Sendromu*

İrritabl barsak sendromu (İBS), en sık karşılaşılan fonksiyonel gastrointestinal sistem hastalığıdır. Tedavide amaç semptomların (abdominal rahatsızlık hissi, ağrı, şişkinlik, gaz, gayta yapma aciliyeti) ortadan kaldırılmasıdır. Yapılan iki randomize kontrollü çalışmada probiyotiklerin İBS tedavisinde kullanımının faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Kim ve ark. ishal ağırlıklı İBS’da VSL#3 kullanılması ile abdominal rahatsızlığın ve şişkinliğin azaldığını bildirmişlerdir (71). O’Mahony ve ark.nın yaptığı diğer bir çalışmada ise plasebo grubu ile *L. salivarius* veya *B. infantis* alan grup karşılaştırılmıştır. *L. salivarius* alan grupta plasebo ile benzer yakınmalar devam ederken, *B. infantis* alan grupta semptomlarda azalma

olduğu görülmüştür (74).

- *Pankreatit*

Akut pankreatit vakalarında nekroz gelişebilmekte ve bu da morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır. Çift kör randomize iki çalışmada nazo-jejunal yol ile verilen *Lactobacillus plantarum* ile antibakteriyel etki sağlanmıştır (75, 76).

- *İshaller*

Probiyotikler günümüzde antibiyotik ilişkili ishaller, turist ishalleri ve enfeksiyöz etkenlere bağlı ishal vakalarında kullanılmaktadır. Antibiyotik tedavisinin başlıca yan etkisi olan ve yaklaşık %20 vakada görülen ishalin başlıca etkenleri *Clostridium difficile* ve *Klebsiella oxytoca*'dır. Yapılan birçok klinik randomize çalışmada oral yolla kullanılan probiyotiklerin kolonda kolonize olarak patojen mikroorganizmaların sayısını azalttığı, hatta ishal gelişimini önlediği gösterilmiştir (77). İnfeksiyöz etkenlere bağlı ishallerde de probiyotikler oldukça sık kullanılmaktadır. Özellikle çocuklarda akut enfeksiyöz ishallerin başlıca sebebi olan Rotavirüs enfeksiyonlarında kullanılan *Lactobacillus GG* ile enfeksiyon süresinin kısaldığı bilinmektedir (78). Diğer *E. Coli* türleri ve *Vibrio cholerae* 'ya bağlı ishal vakalarında probiyotiklerin tedavide etkili olduğu gösterilememiştir. Yetişkin gastroenteritlerinde de probiyotik kullanımının daha az etkili olduğu bilinmektedir (72).

- *İmmün Sistem Fonksiyonlarının Korunması*

L. casei, *L. acidophilus* ve *B. bifidus* sekretuar IgA salınımını artırarak mukozal immün cevabı kuvvetlendirirler. Çok sayıda çalışmada mitojenlere karşı dalak hücrelerinde T ve B lenfosit çoğalmasını artırdıkları, sitokin cevabını etkiledikleri ve patojenlerin fagositozunu artırdıkları gösterilmiştir.

- *Karaciğer Hastalıkları*

Probiyotiklerin hepatik ensefalopati tedavisindeki etkinlikleri de araştırılmıştır. Bu etkilerini, bakteriyel üreaz aktivitesini, portal kandaki amonyak düzeyini azaltarak, pH'ı düşürerek, barsak epitel bütünlüğünü ve geçirgenliğini koruyarak, amonyum ve toksin düzeyini düşürüp oksidatif stresi ve inflamasyonu azaltarak ve diğer toksinlerin emilimini engelleyerek gösterebilecekleri düşünülmüştür.

Solga ve ark.nın yaptığı bir çalışmada VSL#3 ile gayta üreaz aktivitesinde ve pH'da azalma, kısa zincirli serbest yağ asitlerinin üretiminde artma ve barsak hücrelerindeki inflamasyonda azalma olduğu gösterilmiştir (72, 79). Li ve ark.nın fareler üzerinde yaptığı başka bir çalışmada ise alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığında VSL#3 ile

karaciğerdeki total yağ asidi miktarında ve alanin aminotransferaz (ALT) düzeyinde azalma olduğu gösterilmiştir (72, 79, 80).

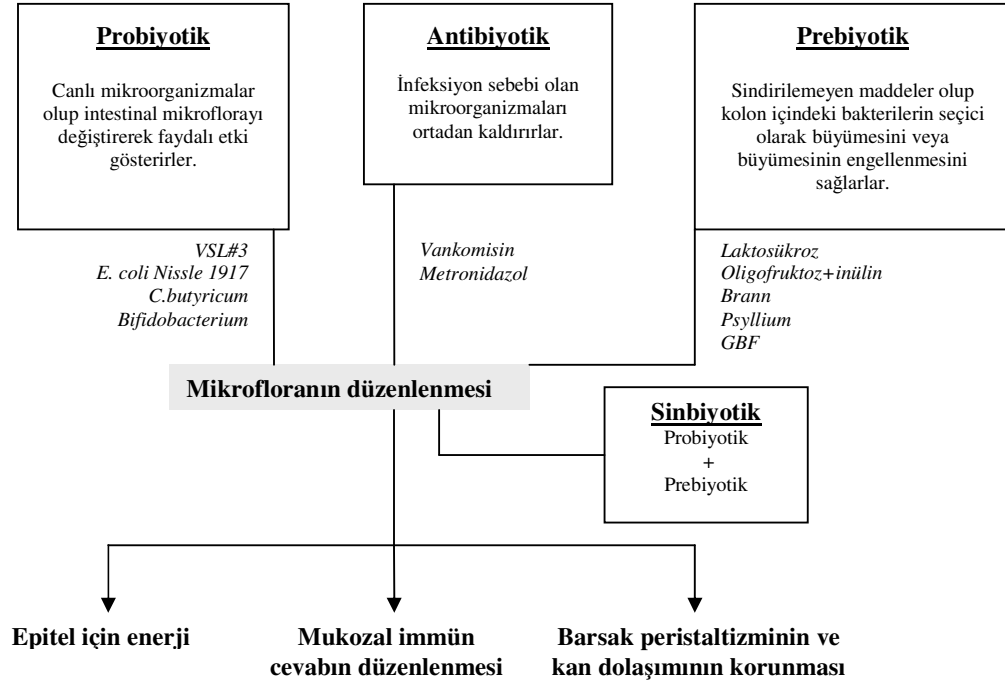
Probiyotiklerin İnflamatuvar Barsak Hastalıklarında Kullanımı

Probiyotiklerin İBH'nda kullanımı ile ilgili az sayıda klinik çalışma bulunmaktadır. İBH kronik bir hastalık grubudur ve enterik mikrofloranın anormal immün cevaba yol açması hastalığın gelişmesinde en önemli faktördür. Probiyotiklerin kullanımı ile mikrobiyal ve immünolojik homeostazis tekrar kurulmaya çalışılır.

İBH'nda intestinal mikrofloranın değiştirilmesi tedaviye daha iyi bir cevap alınmasını sağlayabilir (81, 82). Şekil 6'da görüldüğü gibi İBH tedavisinde GİS mikroflorasının değiştirilmesi amacı ile prebiyotikler, probiyotikler, antibiyotikler kullanılabilir. Böylece floranın yeniden yapılandırılması ile kolon epiteli için enerji desteği, patojen ajanlara karşı mukozal immün cevabın düzenlenmesi, inflamatuvar aracılardan sentezinin azalması ile kan dolaşımının ve barsak peristaltizminin korunması sağlanmış olur.

• *Poşit*

ÜK olup kolektomi sonrası ileal-poş anostomozu yapılan hastaların yaklaşık %50'sinde uzun dönemde pošit meydana gelir. *Lactobacilli* ve *Bifidobacterius* cinsi probiyotik kullananlarda pošit gelişme sıklığının azaldığı ancak %10 vakada tedaviye dirençli pošit olduğu gözlenmiştir. Randomize plasebo kontrollü bir çalışmada antibiyotik ile remisyona girmiş kronik pošiti olan 20 hastaya yüksek doz VSL#3 (1.8×10^{12} liyofilize bakteri/gün), uygulanmıştır. 9 aylık izlem sonunda VSL#3 alan 20 kişilik grubun üçünde, plasebo grubunun ise tümünde ($p < 0,001$) endoskopik ve klinik relaps gelişmiştir. Çift kör plasebo kontrollü diğer bir çalışmada ise akut pošit saptanan, metronidazol ve siprofloksasin ikili tedavisini 4 hafta aldıktan sonra benzer dozda VSL#3'ü 12 ay kullanan hastalarda remisyon oranları probiyotik alan grupta %85 iken plasebo grubunda %6 bulunmuştur. Ek olarak VSL#3 alan grupta kronik pošit gelişmesi önlenmiştir. Ancak probiyotikler tek başlarına kullanıldıklarında benzer etkiyi gösterememişlerdir. Poşit tedavisinde probiyotikler, antibiyotik tedavisinden sonra remisyona giren vakalarda remisyonun devamlılığında etkilidir sonucuna varılmıştır (83, 84).



Şekil. 6 Mikrofloranın Düzenlenmesinin Mukoza Üzerine Etkileri

• *Crohn Hastalığı*

Probiyotiklerin poşit tedavisinde kullanımı ile ilgili birçok çalışma bulunmasına rağmen CH'nda kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda, aktif CH'nda kullanımı ile ilgili de tek bir çalışma bulunmaktadır. Schultz ve ark.nın yaptığı randomize kontrollü çalışmada 11 Crohn'lu hasta çalışmaya alınmış ancak çalışmayı 6 hasta tamamlayabilmiştir. Bu nedenle sonuçlar anlamlı olmasına rağmen bir yargı getirebilme açısından yeterli değildir (85). Pediatrik hasta grubunda *L. salivarius* UCC118 ile yapılan başka bir çalışmada ise esas tedaviye geçmeden önce uygulanmaya başlanan probiyotik ile relaps oranlarının azaldığı görülmüştür (86).

Medikal tedavi ile remisyona girmiş Crohn hastalarında remisyonun sürdürülmesi ile ilgili üç çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan ilki *E. coli* Nissle 1917 suju ile yapılmış olup anlamlı sonuçlar elde edilmiş, *L. rhamnosus* ile yapılan diğer bir çalışmada ise sonuçlar anlamlı bulunmamıştır (85, 87). *S. boulardii* ile yapılan üçüncü çalışmada ise günde 1 g probiyotik ve mesalamin alan grupta tek başına mesalamin alan grup ile kıyaslandığı zaman daha yüksek remisyon oranları saptanmıştır (88).

Cerrahi sonrası remisyonun sürdürülmesi ile ilgili yapılan randomize kontrollü bir çalışmada, mukozadan emilmeyen rifaksimın antibiyoterapisinden sonra VSL#3 ile daha

yüksek oranda remisyona oranları elde edilmiştir (89).

Bu çalışmalar incelendiğinde, kullanılan probiyotiklerin farklı olması, farklı dozlarda kullanılması, farklı hasta gruplarına ve farklı klinik çalışma tasarımları ile uygulanmış olması nedeniyle probiyotiklerin CH'nda kullanımı ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

- *Ülseratif Kolit*

Aktif ÜK'te hastalığın remisyona girmesini sağlamak amacıyla probiyotik kullanımı ile ilgili birkaç çalışma bulunmaktadır. Rembacken ve ark.nın yaptığı çalışmada bir haftalık gentamisin antibiyoterapisi ile floradaki doğal *E. coli* türleri baskılandıktan sonra hastalar 12 ay boyunca *E. coli* Nissle suju veya mesalamin almışlardır. Orta şiddette ÜK'i olan hastalara tedaviye ek olarak prednizon, proktiti olanlara da hidrokortizonlu enema verilmiş ve remisyona girdikten 3 ay sonrasına kadar bu ilaçları kullanmalarına izin verilmiştir. 12 ay sonunda remisyona girme oranı mesalamin alan grupta %75, probiyotik alan grupta %68 bulunmuştur. Hastalar yaklaşık olarak aynı zamanda remisyona girmişler ve bir yılın sonunda mesalamin alan grubun %25'i, probiyotik alan grubunsa %26'sı hala remisyonda kalmıştır. *E. coli* Nissle suju ile mesalamin tedavisinin karşılaştırıldığı bu çalışmada iki tedavi arasında istatistiksel farklılık bulunmamakla beraber remisyona indüksiyonunda eşit etkinlikleri olduğu görülmüştür (90).

Kato ve ark.nın yaptığı bir randomize kontrollü çalışmada hafif/orta şiddette ÜK'li hastalarda mesalamin tedavisine bifidobakter grubu probiyotik eklenmiştir. Oniki hafta sonunda klinik aktivite indekslerinde ve kolonoskopik incelemelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düzelme olduğu görülmüştür (91).

Remisyona girmiş ÜK hastalarında remisyona sürdürülmesi ile ilgili iki tane randomize kontrollü çalışma bulunmaktadır. Kruis ve ark.nın tasarladığı çalışmada 103 hasta 12 hafta boyunca izlenmiş, *E. coli* Nissle suju ile mesalamin tedavisi karşılaştırılmıştır. Relaps hızları, mesalamin (%10) ve *E.coli* Nissle 1917 (%16) alanlarda benzer bulunmuştur. Aynı araştırmacıların yaptığı benzer tasarımlı diğer bir çalışmada, her iki gruba önce 1 haftalık gentamisin tedavisi uygulanmıştır. Bir yılın sonunda relaps hızı mesalamin ile %73, *E.coli* Nissle 1917 ile %67 bulunmuştur (92, 93). Bununla birlikte kontrolsüz, açık uçlu yapılan başka bir çalışmada ise VSL#3 ile 1 yıllık bir tedavinin sonunda remisyona oranı %75'dir (94). Bu sonuçlar, *E. coli* Nissle sujunun hem aktif ÜK tedavisinde hem de remisyona girmiş hastalığın idame tedavisinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

Guslandi ve ark.nın yakın zamanda yaptığı bir çalışmada, hafif/orta şiddette ÜK'i olan, steroid tedavisini çeşitli nedenlerle kullanamayan 25 hastaya mesalamin tedavisinin yanında S. bouldarii (3x250 mg) verilmiştir. 4 haftanın sonunda çalışmayı tamamlayan 24 hastanın 17'sinde (%68) endoskopik ve klinik yanıt elde edilmiş, klinik aktivite skorlarında anlamlı azalma olduğu görülmüştür (p<0.05) (95). Plasebo kontrollü çalışmaların yapılamaması nedeniyle probiyotiklerin esas etkinlik düzeyi ve güvenilirliği ile ilgili soru işaretleri halen devam etmekte ve ileri klinik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Probiyotik Kullanımına Bağlı Bakteriyemi ve Fungemi

İdeal bir probiyotik, canlı, gastrik asit ve safra asitlerinin sindirimine karşı dirençli, barsak dokusuna ulaşabilen, intestinal epitele güçlü adezyon gösteren, nonpatojenik bir mikroorganizma olmalıdır (96). Probiyotik kullanımını sınırlayan en önemli riskler probiyotiğe bağlı bakteriyemi, fungemi ve sepsistir. Yüksek risk gruplarında probiyotik kullanımı ve güvenilirliği ile ilgili yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Probiyotiklerin etki mekanizmalarının temeli olan intestinal epitele adezyon gösterme gücü, aynı zamanda virülansının ve bakteriyel translokasyonun da sebebidir. Bu nedenle en güçlü probiyotikler en patojenik olanlardır. İmmünyetmezlik oluşturulmuş farelerde probiyotik sepsisi gösterilebilmişken insanlarda bu duruma ait sadece vaka bildirimleri bulunmaktadır.

Lactobacillus türlerinin nadiren de olsa erişkinlerde florada yerleşerek endokardit yaptığı bilinmektedir. Risk faktörü olan kişilerde de (diyabetes mellitüs, kalp kapak hastalığı, prematürite, kısa barsak hastalığı, lenfoproliferatif hastalık, kolit, vb.) *Lactobacillus* içeren probiyotik tedavilerinden sonra gelişen endokardit ve sepsis vakaları bildirilmiştir (96). S. *bouldarii* kullanımına bağlı fungemi geliştiğine dair vaka bildirimleri de mevcuttur (Tablo 11).

Risk Faktörleri

Probiyotiklere bağlı bakteriyemi ve fungemi vakalarını incelediğimiz zaman hemen daima altta yatan bir immün yetmezlik veya kronik hastalık olduğu görülmektedir (Tablo12). Sağlıklı bireylerde probiyotik kullanımına bağlı sepsis bildirilmemiştir. Bakteriyemi ve fungemi olgularında erken başlanan tedaviye genellikle yanıt alınırken bazı vakalarda da septik şok gelişecek kadar ağır bir tablo gelişebilmektedir. Fungemi, altta yatan hastalıkla ilişkili olarak ölümlerle sonuçlanabilmektedir. İntestinal patoloji, kısa barsak sendromu, ishal olması durumunda da probiyotik tedavisine bağlı sepsis görülebilmektedir. Altta yatan

hastalık probiyotiklerin intestinal epitele adezyonunu artırmaktadır. Oysa bu hastalık durumları aynı zamanda, probiyotik tedavi endikasyonu olan özel durumlardır. Probiyotiklerin nazogastrik tüplerden verilmesiyle gastrik asiditeyi atlayarak geçen canlı probiyotikler jejunuma ulaşmakta ve bu virulansını daha da arttırmaktadır.

Tablo. 11 *S. boulardii* Kullanımına Bağlı Gelişen Fungemi Vakaları

Çalışma	Yaş	Risk faktörleri	<i>S. boulardii</i> dozu	İdentifikasyon metodu
Hennequin ve ark	30 ay	Kistik fibroz, SVK, intestinal cerrahi öyküsü	750 mg/gün	PFGE
Cassone ve ark	34	SVK, yoğun bakımda izlem	<i>S. boulardii</i> tedavisi almamış	PFGE
Perapoch ve ark	3 ay	SVK, ishal, parenteral beslenme	100mg/gün	PFGE
Lherm ve ark	82	SVK, yoğun bakımda izlem	1.5 g/gün	PFGE
Basetti ve ark	51	SVK, <i>Cl. difficile</i> ilişkili ishal	1 g/gün	PFGE
Riquelme ve ark	42	Böbrek ve karaciğer nakli	1 g/gün	PFGE
Fredenucci ve ark	49	Antibiyotik ilişkili ishal, immünsüpresyon	200 mg/gün	PFGE
Cesaro ve ark	8 ay	AML, SVK, nötropeni	?	PFGE
Cherifi ve ark	89	<i>Cl. difficile</i> ilişkili ishal	300 mg/gün	PFGE
Henry ve ark	65	Malignite, mukozit, ishal	?	PFGE
Niault ve ark	78	Antibiyotik ilişkili ishal Yoğun bakımda izlem	1.5 g/gün	PFGE
Viggiano ve ark	14 ay	Yanık, ishal, gastrostomi	200 mg/gün	İdentifikasyon yok
Zunic ve ark	33	İBH , yoğun bakımda izlem	1.5 g/gün	İdentifikasyon yok
Pletinex ve ark	1	Antibiyotik ilişkili ishal Yoğun bakımda izlem	600 mg/gün	İdentifikasyon yok
Rijnders ve ark	74	Kolit, nazogastrik beslenme	600 mg/gün	İdentifikasyon yok
Lestin ve ark	48	Diabet, <i>C.difficile</i> ilişkili ishal	150 mg/gün	İdentifikasyon yok

SVK: Santral venöz kateter, PFGE: Pulsed-field gel electrophoresis, AML: Akut myeloid lösemi.

Tablo.12 Probiyotik Sepsisi için Risk Faktörleri

Major risk faktörleri

- İmmün yetmezlik, malignite, debilizasyon yaratan hastalıklar
- Prematür infantlar

Minör risk faktörleri

- Santral venöz kateter
- İntestinal epitelyal bariyerin bozulduğu hastalıklar (ishal, İBH)
- Jejunostomiden probiyotik uygulanması
- Probiyotik ile beraber geniş spektrumlu antibiotik kullanımı
- Patojenik probiyotik kullanımı
- Kalp kapak hastalığı (sadece *Lactobacillus* türleri için)

Probiyotiklerin Diğer Yan Etkileri

İntestinal mikrobiyal flora aynı zamanda birçok metabolik faaliyeti de sürdürür. Kompleks karbonhidratların sindirimi, lipid metabolizması, glukoz homeostazisi gibi etkileri olan intestinal floranın probiyotikler ile geçici de olsa değiştirilmesi bu fonksiyonları hasara uğratar. Şimdiye kadar ciddi bir nutrisyon problemi bildirilmemişse de bu yan etkinin akılda tutulması gereklidir. İnsan intestinal dokusuna kolonize olan probiyotikler, özellikle de *Lactobacillus* türleri birçok antimikrobiyal ajana karşı doğal dirençlidir. Bu direnç mekanizmaları florada yerleşmiş diğer patojen bakterilere (enterokok, stafilokok, vb.) aktarılabilir (96).

YÖNTEM ve GEREÇLER

Çalışma Grubu

Hayvanlar: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi (DEÜTF) Hayvan Etik Kurulundan alınan onay ile DEÜTF Hastanesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'ndan sağlanan 32 adet 200-250 gram ağırlığında dişi Wistar Albino rat çalışmaya alındı. Çalışmada ratlar 5 gruba ayrıldı. TNBS kullanılmayacak tamamen sağlıklı ratlardan oluşan kontrol grubunda 4, diğer gruplarda 7'şer rat yer aldı (Tablo 13).

Ratlar, DEÜTF Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, 23 ± 2 °C ısıda, 12 saat ışık-karanlık siklusunda ve deney sonuna kadar en fazla 2- 3 rat bir kafeste olacak şekilde tutuldu. Çalışma öncesi ve çalışma boyunca standart rat diyeti ile beslenen ratlar, her gün tartılarak ağırlık yönünden izlendiler. Ratların istedikleri kadar su içmelerine izin verildi.

Kolit oluşturulması: 24 saat açlığı takiben, grup 1 ratlara serum fizyolojik 0,5 ml rektal yoldan polipropilen fleksibl kateter ile anüsten girilerek 8 cm. proximaline yerleştirilen kanül aracılığı ile intrakolonik olarak uyguladı. Grup 1 dışında yer alan diğer ratlara, kolit oluşturulması amacıyla, %50 etanol içinde çözdürülmüş 100 mg/ml olacak şekilde hazırlanmış, 0,5 ml. TNBS, polipropilen fleksibl kateter ile anüsten girilerek 8 cm. proximaline yerleştirilen kanül aracılığı ile intrakolonik olarak uyguladı. Kateter uygulanmadan önce eter anestezisi verilerek kısa dönem sedasyon sağlandı. TNBS verildikten sonra ratlarda barsakta oluşan ülserasyonlar sonucunda perforasyon veya exitus gelişmedi.

Çalışma Tasarımı

Deneysel Tasarım: Tablo 13'de görüldüğü gibi 32 adet Wistar Albino dişi rat 5 gruba ayrıldı. Negatif kontrol grubu (grup 1) ratlara (n=4) intrakolonik yolla (TNBS'nin verilmesine benzer şekilde polipropylene kateter ile anüsten girilerek anüsün 8 cm kranialine yerleştirilen kanül aracılığı ile) serum fizyolojik uygulamasından sonra tedavi verilmedi. Pozitif kontrol grubu olan grup 2 (n=7) ratlar, TNBS uygulanmasından sonra tedavi verilmeden izlendi. Diğer gruplarda TNBS' nin 1. dozu ile aynı gün başlanan ve 14. güne dek grup 3'te (n=7) *S. boulardii* (Reflor, Sanofi Aventis, Laboratoires BİOCODEX- FRANSA) 1mg/kg/gün, sabah ve akşam olmak üzere 2'ye bölünmüş dozda sularına eklendi, grup 4'e (n=7) metil prednizolon (Prednol, Mustafa Nevzat, İstanbul, Türkiye) 1 mg/kg/gün dozda ve grup 5'e (n=7) *S. boulardii* ve metil prednizolon (MP) yukarıda belirtilen dozlarda ve şekilde birlikte verildi.

Tablo. 13 Çalışma Grupları

Grup	n	Uygulanan işlem (İlk gün)	Uygulanan işlem (1-14 gün)
1	4	Serum fizyolojik	Serum fizyolojik
2	7	TNBS	Tedavi yok
3	7	TNBS	<i>S. boulardii</i>
4	7	TNBS	Metil prednizolon
5	7	TNBS	<i>S. boulardii</i> + Metil prednizolon

Ratlarda TNBS uygulamasıyla gelişen kolit, Murthy ve ark. tarafından önerilen hastalık aktivite indeksine göre skorlandı (Tablo14). Ratların vücut ağırlık kayıpları (% olarak), gayta kıvamlarındaki değişiklikler ve rektal kanama olup olmadığına [gizli kanamalar için gaytada gizli kan testi (Gi-kan hemoocult test ile değerlendirme yapıldı)] göre skorlama yapıldı (97).

Tablo .14 Hastalık Aktivite İndeksi

Skor	% Ağırlık kaybı	Gayta kıvamı	Rektal kanama
0	-	normal	-
1	% 1-5	yumuşak	hemoocult
2	% 5-10	yumuşak	hemoocult
3	%10-20	yumuşak	hemoocult
4	> % 20	sulu	Gross kanama

Patolojik İnceleme: Ratlar, 14 günlük süre bitiminde 24 saatlik açlığı takiben eter anestezisi altında abdominal aortadan kan alındıktan sonra yaratılan hipovolemi ile feda edildi. Patolojik inceleme için doku örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon yapıldı. Abdominal kavite orta hat kesi ile açıldı, pilordan rektuma dek tüm ince ve kalın barsak çıkartıldı. Barsak lümeni fosfat tampon serum fizyolojik ile yıkandı ve ardından çıkartılan ve lümen boyunca açılan barsak materyali formol ile fikse edildi. Patolojik değerlendirme patolog tarafından, barsak örneğinin hangi gruba ait olduğu bilinmeksizin kör olarak yapıldı.

Kolonik inflamatuvar hasarın değerlendirilmesi için Wallace ve Keenan'ın tanımladığı skorlama yöntemi kullanıldı. Buna göre formol içinde getirilen barsak dokusu mikroskop altında (5'lik büyütmede) incelendi. Oluşan ülserlerin çapı, barsak duvar kalınlaşması ve hiperemi gibi inflamasyon belirteçleri göz önüne alınarak 0'dan 10'a kadar puan verildi. Herhangi bir lezyonun olmadığı barsak dokusu 0 puan alırken, ciddi ülserasyonların görüldüğü barsak dokusu 10 puan aldı (98). Ardından gross ülseratif lezyonlardan, çevredeki normal mukozayı da kapsayacak şekilde doku kesitleri alındı. Formole gömülmeden önce barsak dokusundan 1 cm'lik bir kısım kesilerek soğuk şartlar altında homojenizasyon yapılabilmesi için Mikrobiyoloji bilim dalına getirildi. Soğuk şartlar altında homojenize edilen bu barsak doku materyalinde NO ve TNF- α düzeyine bakıldı. Formalinde fikse edilip parafine gömülen bu dokular Hemotoksilen ve Eosin ile boyandı. Mikroskopik değerlendirme için Ameho ve ark tarafından tanımlanan skorlama sistemi kullanıldı. Tablo 15'de görüldüğü histolojik değerlendirme için inflamasyonun şiddeti, yayılımı, kript hasarı ve barsak dokusundaki inflamasyonun yayılımı dikkate alındı (99).

Bakteriyel translokasyonun saptanabilmesi için kolit oluştuktan sonra orta hat insizyonun arkasından Vena cava'dan alınan kan örnekleri ile beraber mezenterik lenf nodu ve karaciğerden örnekler alındı. Alınan örnekler hızla soğuk şartlar sağlanarak transport mediumlar ile laboratuvara getirildi.

Sitokin İncelemesi: Sıçanlar sakrifiye edilmeden önce eter anestezisi altında Vena cava'dan alınan kan örneği santrifüj edilerek serumu ayrıldı ve bu serumlar -70 °C'de saklandı.

Barsak dokularının homojenizasyonu son yayınlanan metodlara uygun olarak gerçekleştirildi, barsak dokuları önce buzlu tampon (0.1 M, pH 7.5, potasyum fosfat, 20 mM of EDTA / 1:10; w / v) içerisinde mekanik homojenizatör (B. Braun, Potter S, Germany) ile ve ardından buz üzerinde ultrasonik homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Elde edilen ürünler dakikada 14000 devirde önce 10 sonrasında ise 20 dakika santrifüje edildi. Buradan elde edilen örneklere de toplam derişim 15 g/lit olacak şekilde 1/20 oranında çinko sülfat (300 g/l) uygulanarak proteinlerinden arındırıldı. +4°C'de dakikada 2000 devirle 20 dakika santrifüje edilen son ürünlerin 100 μ l'si alınarak nitrit saptanmak üzere işleme alınabilecek hale getirilmiş oldu (100). Alınan 100 μ l'lik örnekler eşit hacimde 100 μ l Griess Reaktif (A: Naftietilendiamin dihidroklorid, %0,1'lik 5mM; B: o-fosforik asit içerisinde sülfonilamid %1'lik 5 mM) ile 96 gözlü mikrotitrasyon tepsisinde (Maxisorb İmmünoplate, NUNC) karıştırıldı. Oda sıcaklığında 10 dakikalık inkübasyon sonrasında mikrotepsi okuyucu (Reader

Model 230S; Organon Technica, Microwell System, Holland) kullanılarak 540 nm dalga boyundaki absorbansları ölçüldü. Standart bir eğri elde etmek amacıyla her bir ölçümde PBS içindeki sodyum nitritin ikinin katları olacak şekilde 0-128 mM'lık çözeltileri kullanıldı

Toplanan serumlarda ve homojenize edilen barsak dokusunda, TNF- α rat kiti kullanılarak ELISA yöntemi ile TNF- α düzeyleri çalışıldı (101).

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, SPSS[®] for Windows 11.0 bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Klinik veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar arası ölçülebilir verilerin (makroskopik ve mikroskopik skorlar, NO, TNF- α düzeyleri gibi) karşılaştırmasında Kruskall Wallis, ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Fungemi için Fischer exact test kullanılmıştır.

Tablo. 15 Histolojik skorlama

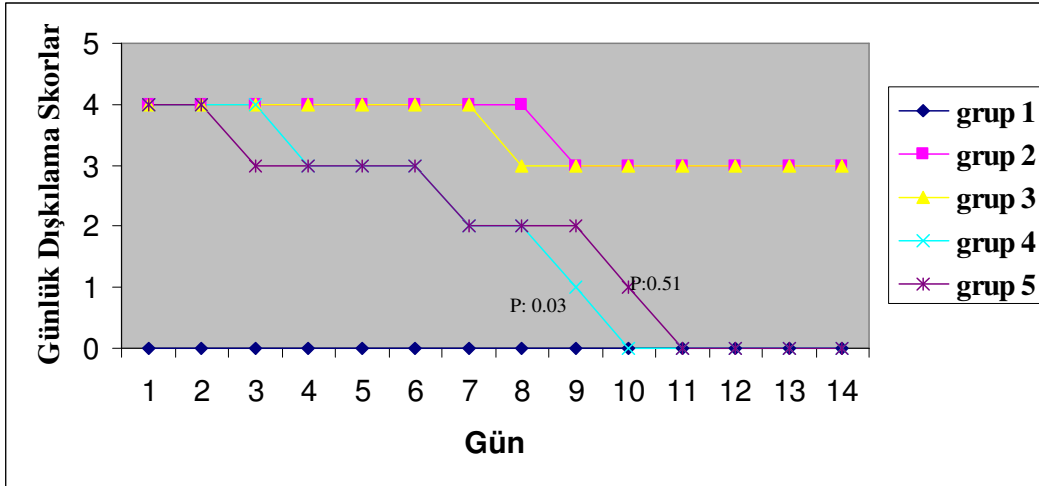
Histolojik bulgu	Skor	Hasar
	0	Yok
İnflamasyonun ciddiyeti	1	Hafif
	2	Orta
	3	şiddetli
İnflamasyonun yayılımı	0	Yok
	1	Mukoza
	2	Mukoza ve submukoza
	3	Transmural
Kript hasarı	0	Yok
	1	1/3' de hasar
	2	2/3' de hasar
	3	kript kaybı var, yüzeyel epitel sağlam
	4	kript dokusu ve yüzeyel epitel kaybı
Barsak dokusunun ne kadarının inflamasyona katıldığı	0	%0
	1	%1-25
	2	%26-50
	3	%51-75
	4	%76-100

SONUÇLAR

Çalışmaya alınan 32 adet Wistar albino dişi ratın Grup 4'te yer alan bir tanesi çalışmanın 9. gününde kafesinde diğer ratlar tarafından parçalanmış olarak ölü bulundu ve çalışma dışı bırakıldı. Yine grup 4'teki başka bir ratın 14. günde yapılan sakrifikasyonunda barsakların birbirine yapışık olması sebebi ile Vena cava'ya ulaşılamadı ve serumu alınmadığı için serum NO ve serum TNF- α düzeyleri ölçülemedi.

Klinik Değerlendirme

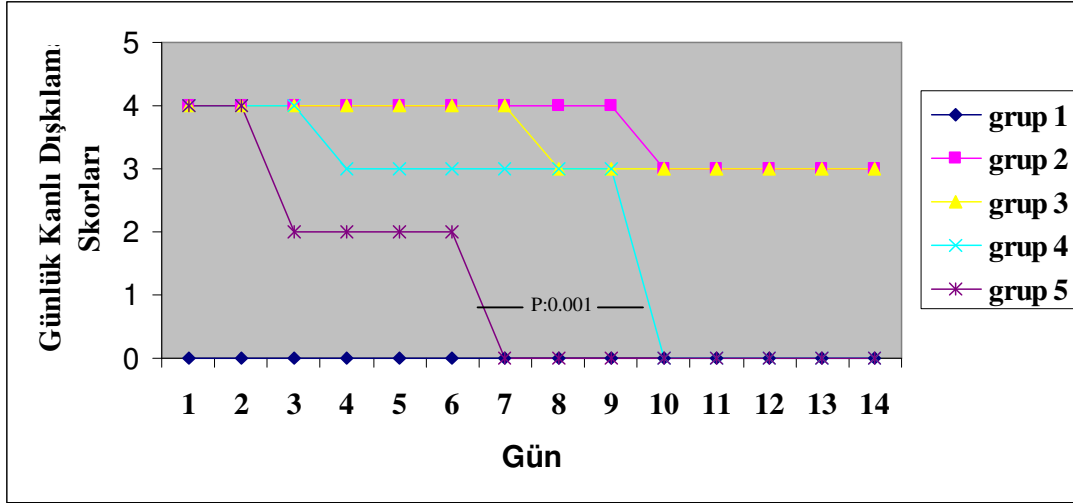
Grup 1'deki sadece serum fizyolojik uygulanmış olan 4 ratta çalışma süresince ishal ve kanlı dışkılama gözlenmedi. Diğer gruplarda yer alan 28 rata TNBS verildikten sonra 27'sinde ilk günden itibaren, birinde ise 2. günden itibaren ishal ve kanlı dışkılama gözlendi. Grup 2 ve grup 3'te gayta kıvamı ortalama 7 günde yarı katı hale geldi ancak hiç normale dönmedi, çalışma süresince toplam ishalleri gün sayısı 14'tü. Grup 4'te 3. günden itibaren gayta yarı katı hale gelirken, ortalama 9. günde normal gayta görüldü. Grup 5'te ise 2. günden itibaren gayta yarı katı hale gelirken, ortalama 10. günde normale döndü. Grup 4 ve 5 için ishalleri gün sayısı sırası ile 9 ve 10'du.



Grafik. 1 Gruplara Göre Günlük Dışkılama Takibi

Grup 2'de kanlı dışkılama makroskopik olarak ortalama 9 gün, grup 3'te ise 7 gün sürerken takip eden günlerde bakılan gaytada gizli kan testleri (GGK) 14. güne kadar pozitif olarak bulundu. Grup 4'te ortalama 3 gün kanlı dışkılama görüldü, takip eden 6 gün kanlı dışkılama gözlenmezken GGK pozitif izlendi. Ortalama 9. günden itibaren dışkıda kan

saptanmadı. Grup 5’te ise ortalama 2 gün kanlı dışkılama gözlenirken, 7 gün boyunca da dışkıda GGK pozitif saptandı. 9. günden itibaren dışkıda kan saptanmadı.



Grafik. 2 Gruplara Göre Kanlı Dışkılama Skorları

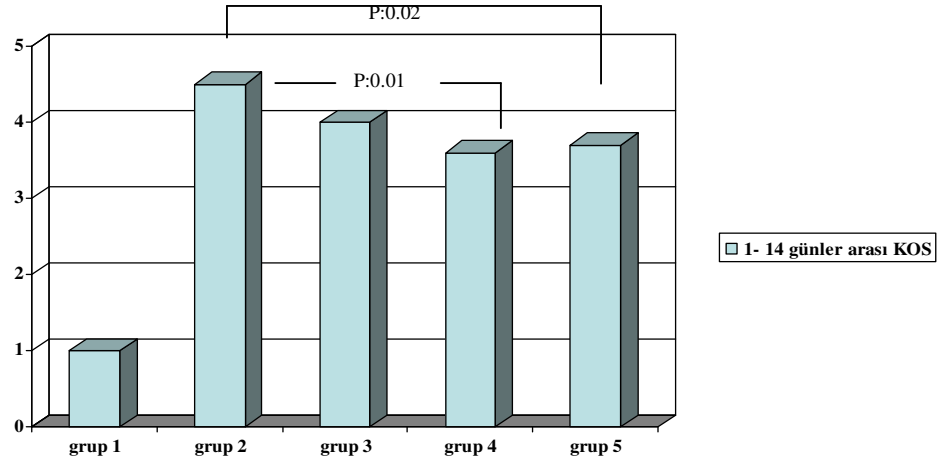
Çalışmanın birinci gününde ortalama ağırlıklar grup 1’den 5’e dek sırasıyla 208 g, 223 g, 198 g, 199 g ve 197 g iken çalışmanın 14. gününde 214 g, 228 g, 209 g, 195 g, 192 g olarak ölçüldü. Buna göre grup 1’deki ratlar 4,2 g, grup 2’dekiler 11,8 g, grup 3’tekiler 2,4 g alırken, grup 4’te ve 5’te yer alanlar sırasıyla 3 g ve 5,8 g kilo kaybetmişti (Tablo.16).

Tablo. 16 Gruplar Arasındaki Kilo Değişiklikleri

Gruplar	Başlangıç kilosu (ort ± SE)	Son kilo (ort ± SE)	Kilo farkı	P
Grup 1	208 ± 5.5	214 ± 2.1	+ 4.2	AD
Grup 2	223 ± 11.8	228 ± 3.5	+ 11.8	AD
Grup 3	198 ± 6.9	209 ± 6.9	+ 2.4	AD
Grup 4	199 ± 3	195 ± 2.2	- 3	AD
Grup 5	197 ± 5.8	192 ± 2.7	- 5.8	AD

AD: Anlamli değil

Murthy ve ark tarafından (97) önerilmiş olan skorlama sistemine göre “klinik ortalama korları” (KOS) sırasıyla grup 1’de 1, grup 2’de 4,4, grup 3’de 4,1, grup 4’de 3,9 ve grup 5’de 4 bulundu. Grup 2 ile karşılaştırıldığında grup 4 ve 5’te KOS’nın anlamlı derecede düşük (p: 0,01 ve p: 0,02) bulundu. Diğer gruplar arasında KOS açısından anlamlı fark saptanmadı.

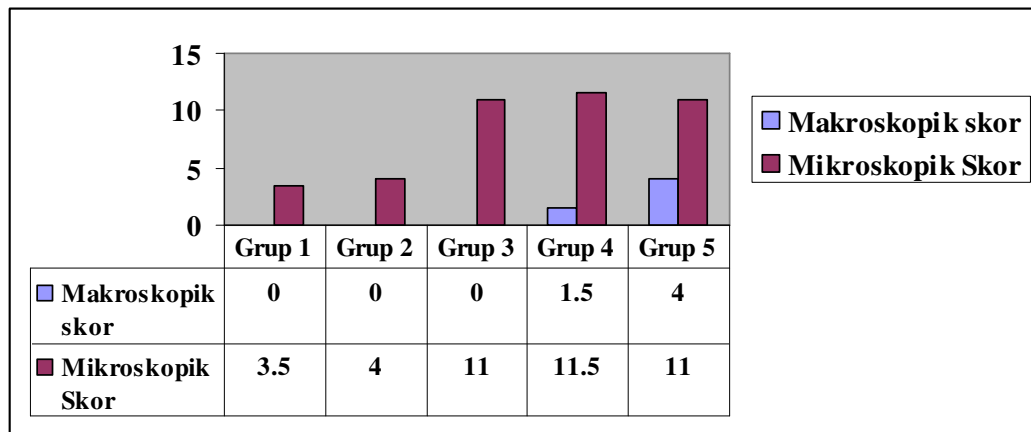


Grafik. 3 Gruplara Göre Klinik Ortalama Skorları

Patolojik Değerlendirme

Grup 1’de mikroskopik düzeyde inflamasyon saptanmakla birlikte makroskopik ülser saptanmadı. Makroskopik incelemede grup 2’de 1 tane 14 mm ülserli barsak dokusu görülürken, grup 3, grup 4 ve grup 5’te sırasıyla; 3, 2 ve 3 tane barsak dokusunda 2 cm’den büyük ülserler olduğu saptandı. Makroskopik ve mikroskopik skorlamalar yapıldığında kolit oluşturulan gruplar arasında en düşük skor grup 2’de görüldü.

Tedavi alan gruplara bakıldığında ise grup 3’ün skorları daha düşük olmakla beraber grup 4 ve 5 ile karşılaştırıldığında üç grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,5$).



Grafik. 4 Gruplara Göre Makroskopik ve Mikroskopik skorlar

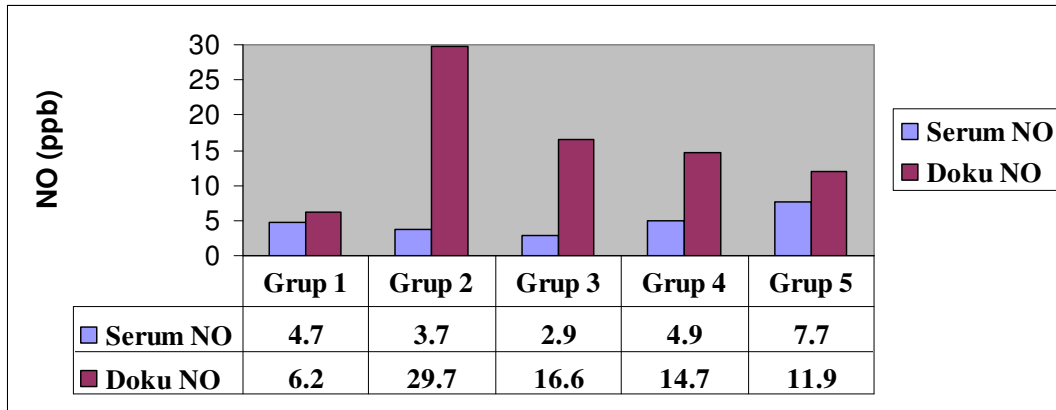
Nitrik Oksit (NO) düzeyi

Serum NO Düzeyi:

Ortalama serum NO düzeyi grup 1'den 5'e kadar sırasıyla; 4,7 ppb (part per billion), 3,7 ppb, 2,9 ppb, 4,9 ppb ve 7,7 ppb olarak bulundu. En düşük serum NO değeri grup 3'te görüldü ($p=0.02$). Tedavi almayan grup olan grup 2 ile tedavi alan diğer gruplar karşılaştırıldığında ise grup 2 ile grup 3 ve 4 arasında anlamlı fark saptanmazken, grup 5 'te serum NO düzeyleri grup 2'ye göre daha yüksek bulundu ($p = 0,013$).

Doku NO düzeyi:

Ortalama doku NO düzeyi grup1'den 5'e kadar sırasıyla; 6.2 ppb, 29.7 ppb, 16.6 ppb, 14.7 ppb, 11.9 ppb bulundu. En yüksek doku NO kolit oluştuğu tedavi almayan grup 2 de bulunurken, tedavi alan gruplar arasında en yüksek doku NO grup 3' teydi. Doku NO düzeyi grup 2 ile grup 3, 4, 5 karşılaştırıldığında tedavi gruplarında anlamlı düşük bulundu ($p<0.05$). Tedavi alan grup3, 4, 5 arasında ise doku NO düzeyi dikkate alındığında anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$).



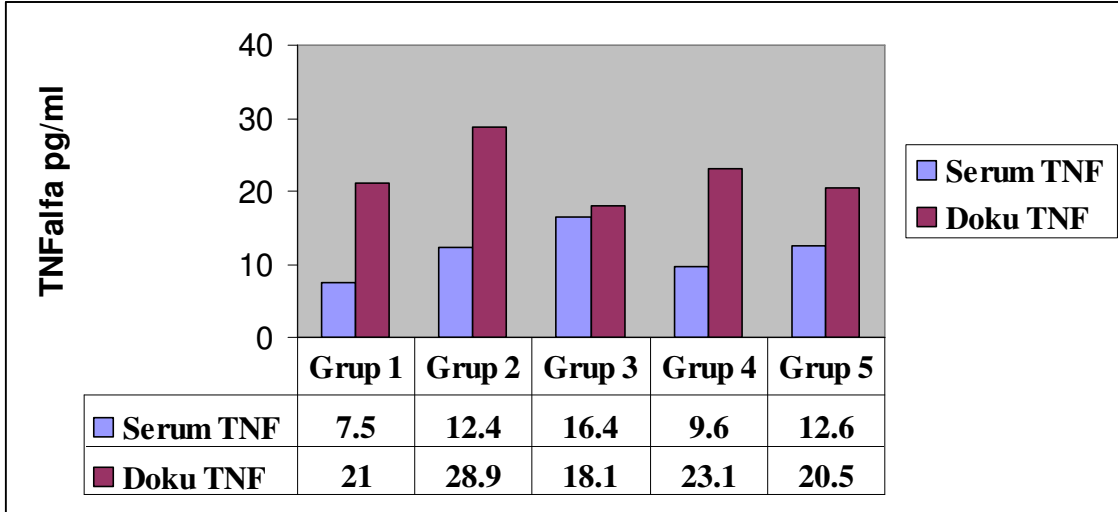
ppb: part per billion, Sb: S.boulardii, MP: metil prednizolon, NO: nitrik oksit

Grafik. 5 Gruplara Göre Serum ve Doku NO Düzeyi

TNF- α Düzeyi

Serum TNF- α düzeyleri grup 1'de 7,5 pg/ml, grup 2'de 12,4 pg/ml, grup 3'te 16,4 pg/ml, grup 4'te 9,6 pg/ml ve grup 5'te 12,6 pg/ml bulundu. Doku TNF- α düzeyleri grup 1'de 21 pg/ml, grup 2'de 28,9 pg/ml, grup 3'te 18,1 pg/ml, grup 4'te 23,1 pg/ml ve grup 5'te 20,5 pg/ml bulundu. Serum TNF- α düzeyinin grup 3'te diğer gruplara göre daha yüksekti ancak

istatistiksel olarak anlamlı değildi. Doku TNF- α düzeyleri ise grup 2'ye göre grup 3, 4 ve 5'te daha düşük olmakla birlikte gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p = 0,95$).



pg/ ml: pikogram/ mililitre

Grafik. 6 Gruplara Göre Serum ve Doku TNF- α Düzeyleri

Fungemi

Grup 1 ve 2'de fungemi görülmez iken grup 3'te yer alan 7 ratın 2'sinde (%28), grup 4'te yer alan 6 ratın 3'ünde (%50), grup 5'te ise 7 ratın 3'ünde (%42) fungemi saptandı. İdentifikasyon işlemi ile bu mantarların albicans dışı candida olduğu görüldü. Gruplarda *S. boulardii* fungemisine rastlanmadı.

TARTIŞMA

İBH'nın, genetik olarak yatkın bireylerde, enterik bakteriyel flora antijenlerine karşı oluşan bozuk immün yanıt sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir ve bu hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin de önemli bir yeri vardır. *S. boulardii*'nin de patojen mikroorganizmaların üremesini engelleyici, barsak florasını düzenleyici, immün sistemi stimüle edici etkileri olması nedeniyle bu hastalıkların tedavisinde etkin olabileceği düşünülmüştür. İBH oluşturulmuş deney hayvanlarında probiyotik bakteriyoterapi ile ilgili yayınlanmış birçok çalışma varken, *S. boulardii* ile ilgili yapılmış çalışma sayısı azdır. Bu çalışmada tedavi seçenekleri kısıtlı, alevlenmelerle giden ÜK'in tedavisinde *S. boulardii*'nin etkinliği ve fungemi riski araştırılmıştır.

TNBS ile oluşturulan aktif ÜK modelinde *S. boulardii*'nin etkinliği, KOS (97), makroskopik ve mikroskopik patolojik ülser skorlamaları (98, 99), İBH patogenezinde önemli rol oynayan proinflamatuvar sitokinlerden olan TNF- α 'nın serum ve doku düzeyleri ve yine lipid peroksidasyon ürünü olan NO'nun serum ve doku düzeyleri ile değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda KOS, tek başına MP (metil prednizolon) ve MP ile birlikte *S. boulardii* uygulanan gruplarda, Grup 2 ve 3'e göre anlamlı düşük bulundu (grup 2 ve 4 için p: 0.01, grup 2 ve 5 için p: 0.002). KOS, tek başına *S. boulardii* alan grupta, kontrol gruplarına göre daha düşük olmakla beraber anlamlı fark bulunmadı. Bu sonuçlar; İBH'nın standart tedavisi olan MP'un ratta oluşturulmuş kolit modelinde de beklendiği gibi semptomları düzeltmede etkin olduğunu göstermektedir. Grup 4 ile 5 arasında ise KOS benzer bulunmuştur ve bu da MP'un *S. boulardii* ile birlikte kullanımının tek başına MP kullanımına üstünlüğü olmadığını düşündürmektedir. *S. boulardii*'nin TNBS ile oluşturulan kolit modelinde etkinliğini araştıran başka bir çalışma bulunmamaktadır. Daha önce yapılmış, ratlarda indometazin ile oluşturulan enterokolit modelinde *S. boulardii*'nin etkinliğini araştıran bir çalışmada yine *S. boulardii* etkisiz bulunmuştur (102). Ancak bu çalışmada KOS değerlendirilmemiş, patolojik skorlar ve sitokin düzeyi bakılarak tedavi grupları ile kontrol grupları arasında fark bulunmamıştır. Yine bir başka çalışmada ratlarda dextran sodyum sülfat ile oluşturulan kolit modelinde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* kullanılmış, probiyotik kullanan grupta KOS, kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur (103). ÜK ve CH'ı olan hastalar üzerinde *S. boulardii* kullanımı ile ilgili iki yayın bulunmaktadır. Guslandi ve ark.nın yaptığı çalışmaya medikal tedavi ile en az 3 aydır remisyona girmiş 32 Crohn'lu hasta alınmıştır. Gruplardan birine yalnızca mesalamin (3x1g), diğerine de mesalamin (2x1 g) ile birlikte *S. boulardii*

(1g/gün) 6 ay boyunca verilmiştir. 6 ayın sonunda sadece mesalamin grupta 10 hasta, mesalamin + *S. boulardii* grubunda ise 15 hasta remisyonda kalmıştır (p= 0.04) (88). Aynı araştırmacıların yaptığı diğer bir pilot çalışmaya hafif/orta şiddette ÜK'i olan, kortikosteroid tedavinin çeşitli sebeplerle kullanılmadığı 25 hasta alınmıştır. 3 aydır mesalamin (3 g/gün) kullanan hastalara ek olarak 4 hafta boyunca *S. boulardii* (3x250 mg/gün) verilmiştir. Tedavinin sonunda hastaların 17'sinde (%68) klinik aktivite skorlarında belirgin bir azalma olduğu ve remisyona girdikleri görülmüştür (p= 0.05) (95). Ancak her iki çalışmada da *S. boulardii* tek başına kullanılmamıştır ve kontrol grubu alınmamıştır.

Bu çalışmada *S. boulardii*'nin etkinliğini değerlendirmek amacı ile çıkarılan barsak dokusunda makroskopik ve mikroskopik patolojik skorlamalar yapılmıştır (98, 99). Kolit oluşturulup tedavi almayan grup ile tedavi alan gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark görülmemiştir. İlginç olarak makroskopik skorlar grup 3, 4 ve 5'te grup 2'ye göre, mikroskopik skorlar ise grup 4 ve 5'te grup 2 ve 3'e göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek bulunmuştur. Tek başına MP ve MP ile birlikte *S. boulardii* alan gruplarda KOS anlamlı düşük olmasına rağmen makroskopik ve mikroskopik patoloji skorları bu gruplarda grup 2'ye göre daha yüksek bulunmuştur. Bu da tedaviye klinik yanıtın histopatolojik yanıt ile örtüşmediğini düşündürmektedir. Tedavi gruplarında makroskopik ve mikroskopik patoloji skorlarının kontrol grubuna göre yüksek olması GİS'deki fungal kolonizasyonun ülser iyileşmesini geciktirici etkisiyle açıklanabilir. Ayrıca MP ve *S. boulardii*'nin birlikte veya tek başına kullanıldığında kolon mukozası üzerine iyileştirici etkilerinin olmaması da bunun bir nedeni olabilir. Probiyotiklerin GİS'de candida translokasyonunu azalttığına dair yapılan bir çalışmada içinde hem ÜK'li hasta grubu hem de asetik asid ile mide ülseri oluşturulmuş ratlar dahil edilmiştir. Bu gruplarda oluşturulan candida kolonizasyonunun, mide ülseri iyileşmesini geciktirdiği, hem gastrik ülser hem de ÜK'in semptomlarının devamlılığına yol açtığı gösterilmiştir. Candida inoküle edilen ratlarda özellikle TNF- α ve İL-1 düzeylerinde artış saptanmıştır. Ancak bu etkilerin ve fungal kolonizasyonun probiyotik kullanımı ile azaldığı bildirilmiştir (110). Daha önce ratlarda indometazin ile oluşturulan kolit modelinde *S. boulardii*'nin etkinliğinin prednizolon ile karşılaştırıldığı bir çalışmada da bu iki ilacın tek başına veya birlikte kullanımının makroskopik ve mikroskopik patoloji skorları üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir (102). Ancak bu çalışmada candida fungemisi değerlendirilmemiştir. Bununla birlikte ratlarda TNBS ile oluşturulan kolit modellerinde *Lactobacillus* ve VSL#3 gibi probiyotiklerin kullanımıyla makroskopik ve mikroskopik skorlarda anlamlı düzelme

eide edildiği bildirilmiştir (104, 105).

Nitrik oksit (NO), damar geçirgenliğinde ve doku zedelenmesinde önemli rol oynayan bir mesajcıdır. Aktif ÜK ve CH'da inflame mukozadaki epitelyal hücrelerde indüklenebilir NO sentaz enziminin artmış aktivitesi söz konusudur. Artan NO düzeyi inflamasyonun ve dolayısıyla hastalığın şiddetini yansıtır. Doku NO düzeyindeki değişiklikler İBH'nın gidişi ve sağaltımıyla ilgili önemli ipuçları sunar. *S. boulardii*'nin indüklenebilir nitrik oksit sentazı inhibe ettiğine dair kanıtlar mevcuttur (106). Çalışmamızda serum NO düzeyi, *S. boulardii* ve MP tedavisini birlikte alan grupta, kolit oluşturulmuş kontrol grubuna göre yüksek bulundu (p: 0.013). Diğer gruplar arasında ise serum NO düzeyleri benzerdi. Doku NO düzeyleri ise kolit oluşturulmuş kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her 3 tedavi grubunda da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (Grup 2 ve 3 için p:0.002, Grup 2 ve 4 için p: 0.003, Grup 2 ve 5 için p: 0.002). Görüldüğü gibi serum ve doku NO düzeyleri birbiriyle tutarsızlık göstermektedir. Ancak serum NO düzeyinin sistemik olaylardan etkilenmediği ve doku NO düzeyinin daha değerli olduğu bilinmektedir. Sonuç olarak kolit oluşturulmuş kontrol grubuna göre tüm tedavi gruplarında doku NO düzeyleri düşük bulunmuştur. Bu da *S. boulardii* ve MP'nin tek başına veya birlikte kullanımının kolitli mukozada inflamasyonun şiddetini ve hasarlanmayı azalttığını düşündürmektedir. Grup 4 ve 5'te doku NO düzeyleri benzer bulunmuştur. Bu da *S. boulardii*'nin MP tedavisine eklenmesiyle sinerjistik bir etki elde edilmediğini göstermektedir. Ratlarda hint yağı ile oluşturulan ishal modelinde *S. boulardii* tedavisinin NO üzerine etkili olduğuna dair bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada *S. boulardii*'nin indüklenebilir NO sentaz aktivitesini inhibe ederek ishal tedavisinde başarılı olduğu gösterilmiştir (106). Bununla birlikte diğer probiyotiklerin, özellikle *Lactobacillus*'un kullanıldığı TNBS ile oluşturulan kolit modellerinde, uygulanan probiyotiklerin yine indüklenebilir NO sentaz enzim aktivitesini azaltarak doku NO düzeyini azalttıkları bildirilmiştir (107).

İnflame mukozada toplanan CD4+ T lenfositler tarafından üretilen TNF- α güçlü bir kemokin olup inflamasyonun olduğu mukozaya nötrofil göçünü gerçekleştirerek patolojik inflamatuvar kaskadın devamlılığında rol oynar. Bu nedenle serum ve doku TNF- α düzeyleri temel olarak inflamasyonun şiddetini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Çalışmamızda ise serum ve doku TNF- α düzeyleri tüm gruplarda benzer bulunmuştur. TNBS ile oluşturulan kolit modellerinde *Lactobacillus* türleri ile yapılan birçok çalışmada kontrol grubuyla karşılaştırıldığında *Lactobacillus* alan gruplarda doku TNF- α düzeyinde anlamlı

azalma olduğu görülmüştür (108, 109). Bu çalışmalarda kullanılan *Lactobacillus* türlerinin inflame mukozada CD4+ T hücre sayısını, dolayısıyla TNF- α üretimini azalttığı gösterilmiştir. Bu etkilerinin yanında *Lactobacillus GG*, inflame mukozada toplanan Th1 hücreselel immun yanıtını Th2 ve Th3'e kaydırarak anti-inflamatuar etkili İL-10 üretimini artırır. TNF- α /İL-10 oranının değişmesi ile inflamasyon şiddeti azaltılmış olur (109) Bununla birlikte ratlarda indometazin ile oluşturulmuş enterokolit modelinde kullanılan *S. boulardii*'nin yine bizim çalışmamızda olduğu gibi TNF- α düzeyini azaltmadığı gözlenmiştir (102). *S. boulardii* ile yapılan çalışma sayısının yetersiz olması ile birlikte *S. boulardii*'nin farklı inflamatuvar yolları etkileyerek anti-inflamatuar etki gösterdiği düşünülmektedir.

İBH, intestinal mukozanın bariyer fonksiyonunun bozulduğu, kullanılan tedavilerle bağışıklık sisteminin baskılandığı bir hastalıktır. Bu nedenle hastalığın seyri sırasında fırsatçı enfeksiyonlar (cytomegalovirus ve *Candida albicans* gibi) görülebilmektedir. ÜK'li hastalarda fungemi gelişimine dair 3 vaka bildirimini yapılmıştır. Bunlardan iki tanesi *Candida* türleri ile (*C. parapsilozis*, *C. albicans*), diğeri ise *Saccharomyces cerevisiae* ile gelişen fungemi vakalarıdır. *Candida* fungemisi şiddetli ÜK'i olan, mesalamine ek olarak immünesupresif ilaç kullanan vakalarda gözlenmiştir (96). *S. cerevisiae* fungemisi ise daha önce probiyotik kullanımı olmayan 30 yaşındaki ÜK'li bir hastada bildirilmiştir. İBH tanısı bulunan, intestinal cerrahi geçirmiş ve yoğun bakım ünitesinde yatan 33 yaşındaki bir erkek hastada da *S. boulardii* fungemisi rapor edilmiştir (96).

Bizim çalışmamızda grup 1 ve 2'de fungemi gözlenmezken grup 3, 4 ve 5'te sırasıyla %28, %50 ve %48 oranında *Candida nonalbicans* fungemisi saptanmıştır. Hiçbir grupta *S. boulardii*'ye bağlı fungemi gelişmemiştir. Buna göre ratlarda oluşturulan kolit modelinde *S. boulardii*'nin tek başına ve MP ile birlikte kullanımı ile *S. boulardii*'ye bağlı fungemi riskinde bir artış saptanmamıştır. Bununla birlikte MP + *S. boulardii* alan grupta tek başına MP alan gruba göre *Candida* fungemisinde azalma da saptanmamış ve tek başına *S. boulardii* verilen grupta da kontrol gruplarına göre *Candida* fungemisi daha fazla görülmüştür (%28). Bu bulgu daha önce bahsedilmiş olan ve probiyotiklerin immünesupressif ratlarda GİS'e *Candida* translokasyonunu önlediğine dair çalışmanın sonucuyla uyumlu değildir.

Sonuç olarak TNBS ile kolit oluşturulmuş ratlarda *S. boulardii*'nin semptomlar ve kolon mukozası üzerinde iyileştirici bir etkisi saptanmamış, yine bunu destekler şekilde serum ve doku sitokin düzeylerinde de azalmaya neden olmamıştır. Anamlı tek etkisi doku NO

düzeşini azalması olmuştur. *S. boulardii*'ye ikincil fungemi görülmemiştir. *S. boulardii*, prednisolon alan ratlarda, candida fungemisi gelişiminde azalmaya neden olmamıştır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada ratlarda TNBS ile oluşturulan kolit modelinde *S. boulardi*'nin klinik ve patolojik skorlar ile sitokin düzeyleri üzerinde anlamlı etkisi olmadığı ancak doku NO düzeyini düşürdüğü görülmüştür. *S. boulardi*'ye bağlı fungemi gözlenmemiştir.

KAYNAKLAR

1. **Loftus EV, Jr., Sandborn WJ.** Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002;31(1):1-20.
2. Crohn's & Colitis Foundation of America. Living with Crohn's Disease [educational brochure]. *Living with Crohn's Disease [educational brochure]*; 2005.
3. **Andres PG, Friedman LS.** Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 1999;28(2):255-81, vii.
4. **Thompson-Chagoyan OC, Maldonado J, Gil A.** Aetiology of inflammatory bowel disease (IBD): role of intestinal microbiota and gut-associated lymphoid tissue immune response. *Clin Nutr.* 2005;24(3):339-52.
5. **Farrell RJ, Peppercorn MA.** Ulcerative colitis. *Lancet.* 2002;359(9303):331-40.
6. **Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al.** Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001;411(6837):599-603.
7. **Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al.** A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature.* 2001;411(6837):603-6.
8. **Satsangi J, Morecroft J, Shah NB, Nimmo E.** Genetics of inflammatory bowel disease: scientific and clinical implications. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2003;17(1):3-18.
9. **Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM, et al.** The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2002;122(4):867-74.
10. **Satsangi J, Welsh KI, Bunce M, et al.** Contribution of genes of the major histocompatibility complex to susceptibility and disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Lancet.* 1996;347(9010):1212-7.
11. **Farrell RJ, LaMont JT.** Microbial factors in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002;31(1):41-62.
12. **Guarner F, Malagelada JR.** Gut flora in health and disease. *Lancet.* 2003;361(9356):512-9.
13. **Miyazawa E IA, Yoshida T.** Phytate breakdown and apparent absorption of phosphorus, calcium and magnesium in germfree and conventional rats. *Nutr Res* 1996;16:603-613.
14. **Gordon JI, Hooper LV, McNevin MS, Wong M, Bry L.** Epithelial cell growth and differentiation. III. Promoting diversity in the intestine: conversations between the microflora, epithelium, and diffuse GALT. *Am J Physiol.* 1997;273(3 Pt 1):G565-70.
15. **Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL.** Lactobacillus acidophilus LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut.* 1994;35(4):483-9.
16. **Bezirtzoglou E.** The intestinal microflora during the first weeks of life. *Anaerobe.* 1997;3(2-3):173-7.
17. **Guerin-Danan C, Andrieux C, Popot F, et al.** Pattern of metabolism and composition of the fecal microflora in infants 10 to 18 months old from day care centers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1997;25(3):281-9.
18. **Borruel N, Carol M, Casellas F, et al.** Increased mucosal tumour necrosis factor alpha production in Crohn's disease can be downregulated ex vivo by probiotic

- bacteria. *Gut*. 2002;51(5):659-64.
19. **Kennedy RJ, Kirk SJ, Gardiner KR.** Promotion of a favorable gut flora in inflammatory bowel disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2000;24(3):189-95.
 20. **Casellas F, Borrueal N, Papo M, et al.** Antiinflammatory effects of enterically coated amoxicillin-clavulanic acid in active ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 1998;4(1):1-5.
 21. **Sartor RB.** Pathogenesis and immune mechanisms of chronic inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol*. 1997;92(12 Suppl):5S-11S.
 22. **Fiocchi C.** Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*. 1998;115(1):182-205.
 23. **Ogra PL MJ, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR.** Experimental models of intestinal inflammation: new insights into mechanisms of mucosal homeostasis. In: PL O, ed. *Mucosal immunology*. 2nd ed. San Diego, Calif: Academic Press; 1999:1007-1024.
 24. **Toms C, Powrie F.** Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. *Microbes Infect*. 2001;3(11):929-35.
 25. **Podolsky DK.** Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 2002;347(6):417-29.
 26. **Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, et al.** Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2002;122(1):44-54.
 27. **Rutgeerts P, Geboes K.** Understanding inflammatory bowel disease--the clinician's perspective. *Eur J Surg Suppl*. 2001(586):66-72.
 28. **Head KA, Jurenka JS.** Inflammatory bowel disease Part 1: ulcerative colitis--pathophysiology and conventional and alternative treatment options. *Altern Med Rev*. 2003;8(3):247-83.
 29. **Das KM, Dasgupta A, Mandal A, Geng X.** Autoimmunity to cytoskeletal protein tropomyosin. A clue to the pathogenetic mechanism for ulcerative colitis. *J Immunol*. 1993;150(6):2487-93.
 30. **Duerr RH, Targan SR, Landers CJ, Sutherland LR, Shanahan F.** Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. Comparison with other colitides/diarrheal illnesses. *Gastroenterology*. 1991;100(6):1590-6.
 31. **Halstensen TS, Das KM, Brandtzaeg P.** Epithelial deposits of immunoglobulin G1 and activated complement colocalise with the M(r) 40 kD putative autoantigen in ulcerative colitis. *Gut*. 1993;34(5):650-7.
 32. **MacDonald TT, Murch SH.** Aetiology and pathogenesis of chronic inflammatory bowel disease. *Baillieres Clin Gastroenterol*. 1994;8(1):1-34.
 33. **Mahida YR, Ceska M, Effenberger F, Kurlak L, Lindley I, Hawkey CJ.** Enhanced synthesis of neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8 in active ulcerative colitis. *Clin Sci (Lond)*. 1992;82(3):273-5.
 34. **Braegger CP, Nicholls S, Murch SH, Stephens S, MacDonald TT.** Tumour necrosis factor alpha in stool as a marker of intestinal inflammation. *Lancet*. 1992;339(8785):89-91.
 35. **Breese EJ, Michie CA, Nicholls SW, et al.** Tumor necrosis factor alpha-producing cells in the intestinal mucosa of children with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1994;106(6):1455-66.
 36. **Lih-Brody L, Powell SR, Collier KP, et al.** Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*. 1996;41(10):2078-86.
 37. **Symonds DA.** The glycosaminoglycans of the human colon in inflammatory and

- neoplastic conditions. *Arch Pathol Lab Med.* 1978;102(3):146-9.
38. **Murch SH, MacDonald TT, Walker-Smith JA, Levin M, Lionetti P, Klein NJ.** Disruption of sulphated glycosaminoglycans in intestinal inflammation. *Lancet.* 1993;341(8847):711-4.
 39. **Vantrappen G, Geboes K.** Glycosaminoglycans and the gut. *Lancet.* 1993;341(8847):730-1.
 40. **Matsuda H, Fujiyama Y, Andoh A, Ushijima T, Kajinami T, Bamba T.** Characterization of antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2000;15(1):61-8.
 41. **Roediger WE, Moore J, Babidge W.** Colonic sulfide in pathogenesis and treatment of ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* 1997;42(8):1571-9.
 42. **Chapman MA, Grahn MF, Boyle MA, Hutton M, Rogers J, Williams NS.** Butyrate oxidation is impaired in the colonic mucosa of sufferers of quiescent ulcerative colitis. *Gut.* 1994;35(1):73-6.
 43. Crohn's & Colitis Foundation of America. Living with Ulcerative Colitis [educational brochure]. *Living with Ulcerative Colitis [educational brochure].* 2005.
 44. **Griffiths AM, Ohlsson A, Sherman PM, Sutherland LR.** Meta-analysis of enteral nutrition as a primary treatment of active Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1995;108(4):1056-67.
 45. **Wahl C, Liptay S, Adler G, Schmid RM.** Sulfasalazine: a potent and specific inhibitor of nuclear factor kappa B. *J Clin Invest.* 1998;101(5):1163-74.
 46. **Cipolla G, Crema F, Sacco S, Moro E, de Ponti F, Frigo G.** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and inflammatory bowel disease: current perspectives. *Pharmacol Res.* 2002;46(1):1-6.
 47. **Jani N, Regueiro MD.** Medical therapy for ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002;31(1):147-66.
 48. **Roediger W, Schapel G, Lawson M, Radcliffe B, Nance S.** Effect of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) and other salicylates on short-chain fat metabolism in the colonic mucosa. Pharmacological implications for ulcerative colitis. *Biochem Pharmacol.* 1986;35(2):221-5.
 49. **Geerling BJ, Dagnelie PC, Badart-Smook A, Russel MG, Stockbrugger RW, Brummer RJ.** Diet as a risk factor for the development of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(4):1008-13.
 50. **Tragnone A, Valpiani D, Miglio F, et al.** Dietary habits as risk factors for inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1995;7(1):47-51.
 51. **Galandi D, Allgaier HP.** [Diet therapy in chronic inflammatory bowel disease: results from meta-analysis and randomized controlled trials]. *Schweiz Rundsch Med Prax.* 2002;91(47):2041-9.
 52. **Bernstein CN, Ament M, Artinian L, Ridgeway J, Shanahan F.** Milk tolerance in adults with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* 1994;89(6):872-7.
 53. **Knoflach P, Park BH, Cunningham R, Weiser MM, Albin B.** Serum antibodies to cow's milk proteins in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1987;92(2):479-85.
 54. **Mishkin S.** Dairy sensitivity, lactose malabsorption, and elimination diets in inflammatory bowel disease. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(2):564-7.
 55. **Candy S, Borok G, Wright JP, Boniface V, Goodman R.** The value of an elimination diet in the management of patients with ulcerative colitis. *S Afr Med J.* 1995;85(11):1176-9.

56. **Roediger WE.** Decreased sulphur aminoacid intake in ulcerative colitis. *Lancet*. 1998;351(9115):1555.
57. **Grimes DS.** Refined carbohydrate, smooth-muscle spasm and disease of the colon. *Lancet*. 1976;1(7956):395-7.
58. **Leo S, Leandro G, Di Matteo G, Caruso ML, Lorusso D.** Ulcerative colitis in remission: it is possible to predict the risk of relapse? *Digestion*. 1989;44(4):217-21.
59. **Salyers AA, Kuritza AP, McCarthy RE.** Influence of dietary fiber on the intestinal environment. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1985;180(3):415-21.
60. **Rodriguez-Cabezas ME, Galvez J, Lorente MD, et al.** Dietary fiber down-regulates colonic tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production in trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitic rats. *J Nutr*. 2002;132(11):3263-71.
61. **Fernandez-Banares F, Hinojosa J, Sanchez-Lombrana JL, et al.** Randomized clinical trial of Plantago ovata seeds (dietary fiber) as compared with mesalamine in maintaining remission in ulcerative colitis. Spanish Group for the Study of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis (GETECCU). *Am J Gastroenterol*. 1999;94(2):427-33.
62. **Kanauchi O, Andoh A, Iwanaga T, et al.** Germinated barley foodstuffs attenuate colonic mucosal damage and mucosal nuclear factor kappa B activity in a spontaneous colitis model. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999;14(12):1173-9.
63. **Kanauchi O, Iwanaga T, Andoh A, et al.** Dietary fiber fraction of germinated barley foodstuff attenuated mucosal damage and diarrhea, and accelerated the repair of the colonic mucosa in an experimental colitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001;16(2):160-8.
64. **Kanauchi O, Fujiyama Y, Mitsuyama K, et al.** Increased growth of Bifidobacterium and Eubacterium by germinated barley foodstuff, accompanied by enhanced butyrate production in healthy volunteers. *Int J Mol Med*. 1999;3(2):175-9.
65. **Kanauchi.** Foodstuff for ulcerative colitis. *J Jpn Soc Clin Nutr* 2001;23:21-26.
66. **Kanauchi O KM, Fukiuda M.** Anti-diarrheal effect of germinated barley foodstuff on ulcerative colitis – in view of adjunctive nutraceutical approach. *JJPEN*. 2001;23:35-39.
67. **Kanauchi O, Iwanaga T, Mitsuyama K, et al.** Butyrate from bacterial fermentation of germinated barley foodstuff preserves intestinal barrier function in experimental colitis in the rat model. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999;14(9):880-8.
68. **Penner R, Fedorak RN, Madsen KL.** Probiotics and nutraceuticals: non-medicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Curr Opin Pharmacol*. 2005;5(6):596-603.
69. **Gibson GR.** Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *J Nutr*. 1999;129(7 Suppl):1438S-41S.
70. **Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, et al.** Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology*. 2004;126(2):520-8.
71. **Kim HJ, Camilleri M, McKinzie S, et al.** A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;17(7):895-904.
72. **Brown AC, Valiere A.** Probiotics and medical nutrition therapy. *Nutr Clin Care*. 2004;7(2):56-68.
73. **Bjarnason I, Macpherson A, Mackintosh C, Buxton-Thomas M, Forgacs I, Moniz C.** Reduced bone density in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 1997;40(2):228-33.
74. **O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, et al.** Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles.

- Gastroenterology*. 2005;128(3):541-51.
75. **Keckes G, Belagyi T, Olah A.** [Early jejunal nutrition with combined pre- and probiotics in acute pancreatitis--prospective, randomized, double-blind investigations]. *Magy Seb*. 2003;56(1):3-8.
 76. **Olah A, Belagyi T, Issekutz A, Gamal ME, Bengmark S.** Randomized clinical trial of specific lactobacillus and fibre supplement to early enteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *Br J Surg*. 2002;89(9):1103-7.
 77. **Black FT AP, Orskov J, Orskov F, Gaarslev K, Laulund S.** Prophylactic efficacy of lactobacilli on traveler's diarrhea. *Travel Med* 1989;7:333-335.
 78. **Van Niel CW, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA.** Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2002;109(4):678-84.
 79. **Solga SF.** Probiotics can treat hepatic encephalopathy. *Med Hypotheses*. 2003;61(2):307-13.
 80. **Li Z, Yang S, Lin H, et al.** Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2003;37(2):343-50.
 81. **Gionchetti P, Rizzello F, Campieri M.** Probiotics and antibiotics in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2001;17(4):331-5.
 82. **Linskens RK, Huijsdens XW, Savelkoul PH, Vandenbroucke-Grauls CM, Meuwissen SG.** The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 2001(234):29-40.
 83. **Bergonzelli GE, Blum S, Brussow H, Cortesey-Theulaz I.** Probiotics as a treatment strategy for gastrointestinal diseases? *Digestion*. 2005;72(1):57-68.
 84. **Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, et al.** Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. 2003;124(5):1202-9.
 85. **Schultz M, Timmer A, Herfarth HH, Sartor RB, Vanderhoof JA, Rath HC.** Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. *BMC Gastroenterol*. 2004;4:5.
 86. **McCarthy J OML, Dunne C.** An open trial of a novel probiotic as an alternative to steroids in mild/moderately active Crohn's disease. *Gut*. 2001;49(Supplement 3):2447.
 87. **Malchow HA.** Crohn's disease and Escherichia coli. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease? *J Clin Gastroenterol*. 1997;25(4):653-8.
 88. **Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA.** Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci*. 2000;45(7):1462-4.
 89. **Campieri M RF, Venturi A.** Combination of antibiotic and probiotic treatment is efficacious in prophylaxis of post-operative recurrence of Crohn's disease: a randomized controlled study vs mesalamine. *Gastroenterology*. 2000;118:A781.
 90. **Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT.** Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet*. 1999;354(9179):635-9.
 91. **Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, et al.** Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;20(10):1133-41.
 92. **Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, et al.** Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard

- mesalazine. *Gut*. 2004;53(11):1617-23.
93. **Kruis W, Schutz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M.** Double-blind comparison of an oral Escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997;11(5):853-8.
 94. **Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, et al.** Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999;13(8):1103-8.
 95. **Guslandi M, Giollo P, Testoni PA.** A pilot trial of Saccharomyces boulardii in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15(6):697-8.
 96. **Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML.** Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr*. 2006;83(6):1256-64; quiz 1446-7.
 97. **Murthy SN, Cooper HS, Shim H, Shah RS, Ibrahim SA, Sedergran DJ.** Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin. *Dig Dis Sci*. 1993;38(9):1722-34.
 98. **Wallace JL, MacNaughton WK, Morris GP, Beck PL.** Inhibition of leukotriene synthesis markedly accelerates healing in a rat model of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1989;96(1):29-36.
 99. **Ameho CK, Adjei AA, Harrison EK, et al.** Prophylactic effect of dietary glutamine supplementation on interleukin 8 and tumour necrosis factor alpha production in trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis. *Gut*. 1997;41(4):487-93.
 100. **Kumral A, Baskin H, Duman N, et al.** Erythropoietin protects against necrotizing enterocolitis of newborn rats by the inhibiting nitric oxide formation. *Biol Neonate*. 2003;84(4):325-9.
 101. **Baskin H, Ellermann-Eriksen S, Lovmand J, Mogensen SC.** Herpes simplex virus type 2 synergizes with interferon-gamma in the induction of nitric oxide production in mouse macrophages through autocrine secretion of tumour necrosis factor-alpha. *J Gen Virol*. 1997;78 (Pt 1):195-203.
 102. **Soyturk M AM, Sagol O, Yilmaz O.** Efficacy of Saccharomyces boulardii on enterocolitis induced by indomethacin in the rat. 2002.
 103. **Osman N, Adawi D, Ahrne S, Jeppsson B, Molin G.** Modulation of the effect of dextran sulfate sodium-induced acute colitis by the administration of different probiotic strains of Lactobacillus and Bifidobacterium. *Dig Dis Sci*. 2004;49(2):320-7.
 104. **Benoit E NS, Lothar S, Dennin V.** Recommendations for Improved Use of the Murine TNBS-Induced Colitis Model in Evaluating Anti-inflammatory Properties of Lactic Acid Bacteria: Technical and Microbiological Aspects. *Digestive Diseases and Sciences*. 2006;51(2):390-400.
 105. **Pavan S, Desreumaux P, Mercenier A.** Use of mouse models to evaluate the persistence, safety, and immune modulation capacities of lactic acid bacteria. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10(4):696-701.
 106. **Girard P, Pansart Y, Lorette I, Gillardin JM.** Dose-response relationship and mechanism of action of Saccharomyces boulardii in castor oil-induced diarrhea in rats. *Dig Dis Sci*. 2003;48(4):770-4.
 107. **Peran L, Camuesco D, Comalada M, et al.** Lactobacillus fermentum, a probiotic capable to release glutathione, prevents colonic inflammation in the TNBS model of rat colitis. *Int J Colorectal Dis*. 2006;21(8):737-46.
 108. **Guarner F, Malagelada JR.** Role of bacteria in experimental colitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003;17(5):793-804.
 109. **Peran L, Camuesco D, Comalada M, et al.** Preventative effects of a probiotic,

- Lactobacillus salivarius ssp. salivarius, in the TNBS model of rat colitis. *World J Gastroenterol.* 2005;11(33):5185-92.
110. **Zwolinska-Wcislo M, Brzozowski T, Mach T, et al.** Are probiotics effective in the treatment of fungal colonization of the gastrointestinal tract? Experimental and clinical studies. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57 Suppl 9:35-49.