

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

**AKTİF VE İNAKTİF İNFLAMATUAR BARSAK
HASTALIĞINDA OKSİDATİF STRES VE
ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. TÜLAY AKMAN**

TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MESUT AKARSU

İZMİR- 2008

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, yetişmemde büyük katkıları olan başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Hale Akpınar olmak üzere tüm değerli hocalarıma en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında yol gösteren ve her konuda destek olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Mesut Akarsu'ya, çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Halil Resmi ve Araş. Gör. Ebru Ezer'e çok teşekkür ederim.

Uzmanlık Eğitimim sırasında birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, hemşire ve personelize yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Sonsuz sevgi ve desteği ile her zaman yanımda olan sevgili eşime, ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

I.	Giriş ve Amaç	4-5
II.	Genel Bilgiler	
A.	İnflamatuvar Barsak Hastalığı	6-26
B.	Oksidatif Stres	27-34
C.	İnflamatuvar Barsak Hastalığında Mikrovasküler Disfonksiyon	35-36
D.	Eritrosit Deformabilitesi	37-40
E.	İnflamatuvar Barsak Hastalığı: Oksidatif Stres ve Eritrosit Deformabilitesi İle İlişkisi	41-46
III.	Materyal ve Metod	47-50
IV.	Sonuçlar	51-57
V.	Tartışma	58-61
VI.	Özet	62-63
VII.	İngilizce Özet(Abstract)	64-65
VIII.	Kaynaklar	66-79

I-GİRİŞ VE AMAÇ

İnflamatuvar Barsak Hastalığı (İBH) başlıca iki hastalıktan oluşmaktadır: Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn Hastalığı (CH). İBH insidansı 4-15/100.000'dir. Aktivasyon ve remisyonlarla seyreden kronik gastrointestinal sistem hastalıklarıdır. İBH çoğunlukla gençlerde görülür ve başlangıç yaşı 15-30 ve 50-70 yaşları arasında iki kez pik yapar. Kentte yaşayan ve sosyoekonomik seviyesi yüksek olanlarda sık görülür. Etyopatogenezinde birçok faktör yer almaktadır. Çevresel risk faktörleri, genetik, immünolojik faktörler, mukozal geçirgenliğin artması ve mikroorganizmalar başlıca etyopatogenetik faktörlerdir. Patogenezde önemli yer tutan bir faktör radikal indüksiyon teorisisidir. Oksidatif stresin inflamatuvar intestinal zedelenmede önemli olduğu düşünülmektedir (1). İBH'nın aktif dönemlerinde oksidatif stresle ilişkili parametrelerde artış ve antioksidan moleküllerin salınımında azalma saptanmıştır (2,3,4). Reaktif oksijen molekülleri (ROM) ve reaktif nitrojen metabolitlerinin (RNM) barsak inflamasyonunu arttırıcı etkileri olduğu bilinmektedir (2-6). Oksidatif hasara bağlı olarak intestinal epitelyal bariyerde hasarlanma ve bunun sonucunda bakteriyel infiltrasyon, nötrofil infiltrasyonu ve sonuç olarak ROM'da artma ve sitokinlerin artması ile intestinal dokuda yıkım ve buna bağlı olarak İBH oluşmaktadır. Etyopatogenezde önemli bir diğer faktörde mikrovasküler akımda yavaşlamadır. Yapılan çalışmalarda İBH'lı hastaların barsak dokusunda mikrovasküler disfonksiyonla ilişkili hipoperfüzyon ve iskemiye düşündürülen bulgular saptanmıştır (7). Mikrovasküler akımda azalmanın ise eritrosit deformabilitesinde azalmaya yol açtığı bilinmektedir. İBH'da artmış oksidatif stres ve mikrovasküler akımda yavaşlamanın, eritrosit deformabilitesinde azalmaya yol açacağı öngörülebilir. ROM'daki artışın eritrosit deformabilitesini azalttığını gösteren kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur (8). Diabetes mellitus, kronik böbrek yetmezliği, koroner arter hastalığı gibi kronik hastalıklarda eritrosit deformabilitesini değerlendiren birçok çalışma bulunmasına rağmen İBH'da eritrosit deformabilitesini değerlendiren çalışma bulunamamıştır. Sadece yapılan bir çalışmada İBH'da eritrosit agregasyonu değerlendirilmiştir (9).

Eritrosit deformabilitesinin İBH'nın etyopatogenezindeki yeri, İBH'nın nedeni mi yoksa sonucunda mı oluştuğu bilinmemektedir. Eritrosit deformabilitesinde dolayısıyla mikrovasküler akımda azalmanın İBH'ya neden olan bir faktör mü yoksa hastalığın sonucunda oluşan bir durum mu olup olmadığı da tam olarak bilinmemektedir. Biz

çalışmamızda aktif ve inaktif İBH'da oksidatif stres, antioksidan kapasite, eritrosit deformabilitesi ve bunların birbirleriyle ilişkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Sonuç olarak İBH patogenezi net bilinmemektedir. Çalışmamızda etyopatogeneizde önemli faktör olduğu düşünülen oksidatif stresin etkileri araştırılmıştır. Ayrıca daha aydınlatılmamış olan ve sınırlı sayıda çalışmalar bulunan eritrosit deformabilitesinin etkileri de araştırılmıştır. Çalışmamızın sonucunda elde edilecek veriler ile, etyopatogenez hakkında yeni bilgiler sağlanması ve nedene yönelik tedavi seçeneklerine de ışık tutabileceği öngörülmüştür.

II-GENEL BİLGİLER

A-İNFLAMATUAR BARSAK HASTALIĞI

1-Epidemiyoloji

İBH insidans ve prevalansı coğrafik bölgelere bağlı olarak büyük oranda farklılık göstermektedir. İBH; Kuzey Avrupa, İngiltere, ABD ve Kanada gibi kuzey ülkelerinde yaşayanlarda güney ülkelerinde yaşayanlara göre daha sık görülmektedir. İBH, kentsel alanlarda yaşayanlarda ve yüksek sosyo-ekonomik düzeyde olan gruplarda daha sık görülmektedir. Etnik köken olarak yahudilerde daha sık görülür (10,11). İBH beyazlarda zenci Amerikalılara göre daha siktir. Fakat aradaki bu fark zenci Amerikalıların ve güney Asya kökenlilerin gelişmiş ülkelere göçüyle hızla azalmaktadır (12). CH ve ÜK insidansı yaklaşık olarak sırasıyla 4-7/100.000 ve 7-15/100.000 olarak bildirilmektedir. Prevalans ise CH için 100-200/100.000 ve ÜK için 150-250/100.000 arasındadır. Türkiye’de CH prevalansı 100 binde 470, ÜK prevalansı 100 binde 79 olarak bulunmuştur (13). İBH’nın başlangıç yaşı bimodal olup en sık 15-30 yaş arasında görülürken, daha küçük bir artış 50-70 yaşlar arasında görülmektedir. Yaklaşık %10 olgu 18 yaş altındadır. CH ve ÜK çoğunlukla genç popülasyonun hastalığıdır (14,15). CH belirgin olarak kadınlarda, ÜK ise çok az farkla erkeklerde daha sık görülmektedir. Kadın-erkek oranı CH ve ÜK’te sırasıyla 1.8:1, 1:1’dir (16). Türkiye’de kadın-erkek oranı ÜK’te 0.77, CH’da 0.8 olarak bulunmuştur (13).

Yapılan çalışmaların çoğunda, mortalitede orta derecede artış bildirilmiştir. 15 yıllık sağkalım oranı CH için %93.7, ÜK için ise %94.2’dir (10).

Genetik olarak yatkın kişilerde çevresel faktörler tetikleyici olmakta, kronik inflamasyon ve doku hasarına yol açan anormal immün yanıt gelişmektedir. İBH’lı olguların birinci derece akrabalarında hastalığın ortaya çıkma insidansı genel popülasyona göre 30-100 kat artmıştır. Hastaların %5-10’unda birinci derece akrabalarında İBH vardır. Normal popülasyona göre ikizlerde İBH’ya yakalanma sıklığı 10-15 kat daha fazladır (11). Human lökosit antijen (HLA), CH ve ÜK ile ilişkili bulunmuştur. HLADR1/DQW5 ve DRB30301 haplotipleri CH ile HLA-DR2 ise ÜK ile ilişkilidir (17,18). Genetik çalışmalarda İBH ile ilişkili iki şüpheli lokus tanımlanmıştır. Bu iki şüpheli lokus kromozom 16’da bulunan İBH 1 ve kromozom 12’de bulunan İBH 2’dir. İBH 1 CH ile, İBH 2 hem ÜK hem de CH ile ilişkilendirilmiştir. 2001 yılında İBH 1 ile ilişkili NOD2 geni tanımlanmıştır. NOD2 gen mutasyonları CH olgularının yaklaşık %15’inde

saptanmıştır. NOD2 mutasyonu olan bireylerde, barsak bakterilerinin duvarını oluşturan lipopolisakkaritlerin tanınmasında sorun olduğu ve bunun sonucunda kronik intestinal inflamasyon ve intestinal hasar yaratan aşırı bir yanıt geliştiği düşünülmektedir (19,20).

Sigara kullanımı ÜK'e karşı koruyucu, CH'da ise tetikleyici bir faktördür. CH, sigara bağımlılarında daha şiddetli bir seyir, daha fazla immünsüpresif tedaviye gereksinim ve cerrahi sonrası daha hızlı rekürrens görülür (10).

2-Etyoloji ve Patogenez

İBH etyopatogenezinde başlıca çevresel, genetik, immünolojik faktörler, mukozal geçirgenliğin artması ve mikroorganizmalar suçlanmaktadır.

a-Çevresel Risk Faktörleri

i)Hijyen: İBH temiz hijyenik şartlarda yetişen bireylerde daha sık görülürken, kalabalık toplumlarda yaşayan kişilerde daha az sıklıkla görülür. Hijyenik ortamın belli bakterilere maruziyeti azaltarak intestinal florayı değiştirdiği düşünülmektedir (21,22). Sosyoekonomik olarak gelişmiş toplumlarda İBH görülme sıklığı artarken, gelişmekte olan toplumlarda azdır (14,16).

ii)Meslek: İBH ofislerde, sedanter olarak çalışanlarda çiftçi ve inşaat işçilerine göre daha fazla görülmektedir (23,24). Ofis dışında çalışmanın ve fiziksel aktivitenin İBH'dan koruyucu olduğu gösterilmiştir (25).

iii)Diyet: Diyet ile İBH arasında ilişki tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Yüksek miktarda yağ asiti içeren besinlerin tüketilmesinin riski arttırdığına yönelik bulgular mevcuttur (26).

iv)Sigara İçimi: Yapılan olgu kontrollü çalışmalarda sigara içiminin ÜK gelişimine karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir (15). Sigara içimi ayrıca poşit ve sklerozan kolanjit gelişimi için de koruyucu rol oynamaktadır (27,28,29). ÜK'in aksine CH'da sigara içimi hastalık gelişme riskini arttırmaktadır (30). Sigara içen CH olgularında hastalık daha kötü bir seyir göstermektedir. Mekanizması net olarak bilinmemekle birlikte 'nikotin' aktif rol oynayan faktördür. Sigara içimi humoral ve hücrel immüniteyi etkiler ve kolonik mukus yapımını artırır. Nikotin kolonik hareketi azaltmaktadır. Özellikle ÜK'te nikotinin TH2 fonksiyonu üzerine inhibitör etki gösterdiği, bunun yanında CH'da ise TH1 hücreleri üzerine etkisi olmadığı gösterilmiştir (31).

v)Nonsteroid Anti-İnflamatuvar İlaçlar (NSAİİ): NSAİİ İBH'lı olgularda alevlenmeyi tetiklemektedir (32). Burada etkili olan mekanizma lökosit göçünde ve adhezyonundaki azalma ve prostanooid yapımında azalmadır.

vi)Oral Kontraseptifler: Oral kontraseptif kullanımı ile İBH arasında ilişki tartışmalıdır. Oral kontraseptif kullanımı ile İBH arasında ilişki saptanan ve saptanmayan çalışmalar mevcuttur. Bu tartışmalı sonuçların oral kontraseptiflerdeki östrojen konsantrasyonunun farklılığı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (11).

vii)Apendektomi: ÜK gelişimi arasında ters ilişki bulunmuştur. Apendektominin koruyucu etkisi büyük olasılıkla cerrahi sonrası immün sistemde oluşan değişikliklere bağlıdır (33).

b-Genetik Risk Faktörleri

İBH'lı olguların birinci derece akrabalarında hastalığın ortaya çıkma insidansı genel popülasyona göre 30-100 kat artmıştır. İBH'da genetik faktörlerin rol oynadığını gösteren en önemli çalışmalar ikiz çalışmalarıdır. Bu ikiz çalışmalarında ortaya çıkan sonuç, genetik faktörlerin CH'da ÜK'den daha fazla rol oynadığı yönündedir. Yapılan çalışmalarda monozigotik ikizlerde hastalığa rastlanma olasılığı dizigotik ikizlerden daha fazladır (34). İBH'lı hastaların birinci derece akrabalarında %15 oranında İBH görülebilmektedir (35).

İBH etyopatogenezinde genetik faktörlerin etkili olabileceğini gösteren bir başka bulgu ise major histokompatibilite kompleksleri ile ilgili çalışmaların sonuçlarıdır. Bu çalışmalarda HLA-DR1/DQW5 ve HLA-DRB30301 haplotiplerinin CH ile ilişkili olduğu, HLA-DR2'nin ise ÜK ile ilişkili olduğu bulunmuştur (36,37).

Özellikle birkaç genetik bölgenin ÜK ve CH ile ilişkili olduğu bilinmektedir (38). Bunlardan önemli olanları kromozom 1,3, 6, 7, 12, 14, 16 ve 19'da bulunduğu bildirilmiştir (39). Bunlardan ilk olarak açıkça gösterileni 16. kromozomda bulunan İBH1, NOD2/CARD15 genidir (40). Bu genle ilgili altmıştan fazla mutasyon saptanmıştır ve bunların üçü CH gelişimi ile ilişkilidir. Mutasyon sayısı arttıkça risk artmaktadır. NOD2/CARD15 gen mutasyonu ileal tutulum, hastalık başlangıç yaşının erken olması ve darlık ile seyreden tip ile ilişkilidir. NOD2/CARD15 genindeki mutasyon sıklığı coğrafik bölgelere göre değişir. Kuzey Amerika ve Avrupa ülkelerindeki kontrol vakalarında bu gende mutasyon görülme oranı %7-20 arasında iken siyah ve sarı ırkta bu mutasyonlara oldukça nadir rastlanmaktadır.

c-İmmün Sistem İle İlgili Faktörler

i) Mikrobiyal Faktörler: Mikrobiyal ajanların İBH patogeneğinde rol oynadığı düşünölmektedir. Fakat bugüne kadar İBH etyolojisinde kesin olarak var olduğu tespit edilmiş bir mikroorganizma bildirilmemiştir (41). İBH gelişiminden sorumlu tutulmuş bazı mikroorganizmalar; mycobacterium paratuberculosis, mycobacterium paramyxovirus, listeria monocytogenes, helicobacter hepaticus'tur (42). CH ile önceden geçirilmiş kızamık hastalığı arasında bağlantı olduğu bildirilmiştir (39). İBH'da mevsime bağılı değışen klinik tablolar ve viral, bakteriyel veya paraziter enfeksiyonlara bağılı olarak hastalıkta alevlenmeler görölmesi patogeneğinde çeşitli mikroorganizmalar olduğu düşüncesini desteklemektedir (22).

ii) Normal Barsak İçeriğine Konağın Disfonksiyonel İmmün Yanıtı: Normalde bakteriler ile konakçı arasında simbiyotik bir ilişki vardır (16). Kommensal bakteri maruziyeti inflamatuvar genleri azaltır ve NF-Kappa B yolağının aktivasyonunu önler. Böylece barsağın sürekli olarak maruz kaldığı mikroplara ve yemek antijenlerine karşı inflamatuvar yanıt oluşması önlenir (43,44). İBH'da bu tolerans bozulur. Luminal mikrofloraya maruziyet mukozada yer alan hücrelerde inflamatuvar yanıtı uyarır ve kronik destrüktif immün yanıtı yol açar (42).

İBH'da epitelyal permeabilitede artış mevcuttur. Permeabilitede artış mukozal immün sistemin sürekli olarak bakteriyel ürünlerle uyarılmasına yol açmaktadır. İBH'lı hastalarda mukozal permeabilitede artışın primer bozukluk olabileceğı düşünölmektedir (40). Barsak epitel hücreleri uygunsuz immün yanıt aktivasyonunu sınırlamak için kontrol mekanizmaları geliştirmiştir. Fakat bakteriyel ürünler mukozal bariyeri geçerse immün hücrelerle direkt temas eder ve sonuçta klasik bir immün yanıtı yol açar (16,45). Mukozal immün sistem yanıtında bozukluk ve sitokinlerin de salınımı ile kronik mukozal hasar oluşur (45).

ÜK ve CH immünopatogenezi tam olarak açığa kavuşmamıştır. İmmün sistemdeki tüm hücreler arasında patogeneğinde en önemli rol oynayan hücrelerin intestinal T hücreler olduğu düşünölmektedir. CH artmış TH1 yanıtı ile, ÜK ise artmış TH2 yanıtı ile ilişkilidir (46,47). Sitokinlerin salınımı T hücrelerinin olgunlaşmasını sağlar (16). T helper hücreleri farklı sitokin oluşumunu sağlayan inflamasyon medyatörleridir (39). IL-12'nin aşırı yapımı ile immün yanıt Th1 yapımı yönüne kayar. Th1 hücre yanıtı artmış interferon-gamma (IFN γ), TNF- α , IL-1 β , IL-2 ve IL-6'nin artmış yapımı ile karakterizedir ve

hücrel immün yanıtı yönetirler (48). Artmış Th2 hücre yanıtı ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, ve IL-13'ün artmış yapımı ile ilişkilidir ve humoral immün yanıtı oluştururlar (39). Mukozal T hücrelerinden salınan efektör hücreler intestinal inflamasyona neden olurken, öteki tarafta ise regülatuar hücreler inflamasyonu baskılar. TH1 ve TH2 hücrelerindeki değişiklikler dışında regülatuar T hücre fonksiyonlarındaki bozukluğunda İBH patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. İmmün yanıtı baskılayan bir diğer önemli faktör ise mukozal T hücrelerinde hiperreaktiviteyi takiben apoptozisin artmasıdır. CH'da T hücrelerinde azalmış apoptozis sonucu artmış T hücre popülasyonu ve buna bağlı artmış inflamasyon mevcuttur.

ÜK ve CH'nın hastalıkla ilgili birden fazla otoantikor ile ilişkisi olduğu ortaya çıkarılmıştır. İBH'lı hastaların ve bu hastaların bazı yakınlarında perinükleer antinötrofil sitoplazmik antikorlar (p-ANCA) ve diğer otoantikorların varlığı İBH'da B lenfosit regülasyonunda bir problem olduğunu düşündürmektedir. Dolaşımda bulunan otoantikorlar ile CH ve ÜK arasında ayırıcı tanı yapılmaktadır. P-ANCA pozitif ve antisaccharomyces cerevisea antikorları (ASCA) negatif olan hastaların ÜK olmaları, p-ANCA negatif, ASCA pozitif bireylerde CH olma olasılığı daha fazladır. Yapılan son çalışmalarda İBH'da OmpC ve I2 adlı iki yeni otoantikorun daha ilişkisi olduğu ortaya konmuştur.

3-Klinik Özellikler

ÜK remisyon ve aktivasyonlarla seyreden, klinik bulguları hastalık aktivasyonu ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişen, hemen daima rektumu tutan, kolonda atlama alanı olmaksızın sürekli ve simetrik bir tutulumu yol açabilen kronik bir gastrointestinal sistem hastalığıdır (49). Lokalizasyon; distal, sol ve pankolit olarak değerlendirilebilir. Proktit ve proktosigmoid sırasıyla rektum ve rektosigmoide sınırlıdır. Sol kolona lokalize hastalık, sigmoid kolonun proksimaline ilerler, splenik fleksura proksimaline geçmez. Ekstensif hastalık, splenik fleksuranın proksimaline ilerler ancak tüm kolonu tutmaz. Pankolit ise tüm kolonu etkiler.

CH ise aralarda normal mukozanın görüldüğü atlama alanları içeren transmural bir tutulum gösteren, dönem dönem aktivasyon, dönem dönem remisyonlarla seyreden, gastrointestinal kanalın idiyopatik, kronik ve inflamatuvar hastalığıdır. Sıklıkla terminal ileum ve kolon tutulumu ile karakterize olmakla birlikte ağızdan anüse kadar tüm

gastrointestinal kanalda görülebilir. Özellikle terminal ileum tutulumu sıktır, özafagial, gastrik ya da duodenal tutulum ise nadir olarak görülür. Perianal fistülizan hastalık genel olarak kolon hastalığı ile birlikte görülse de hastaların %5'inde izole perianal hastalık bildirilmiştir. Hastalarda sadece ince barsak tutulumu %30 hastada, ince barsak ve kolonun birlikte tutulumu %40 hastada, sadece kolon tutulumu %25 hastada, özafagus, mide, duodenum tutulumu %1-4 hastada görülür. Hastalık klinik olarak önde giden tabloya göre inflamatuvar, fibrostenotik ve fistülizan olarak üç ana alt gruba ayrılır. Her grup izole olabildiği gibi birlikte de görülebilmektedir ya da zaman içinde geçişler gösterebilmektedir.

4-Semptomlar

ÜK ve CH'da görülen semptomlar karşılaştırmalı olarak Tablo 1'de gösterilmiştir.

Bulgu/semptom	Ülseratif Kolit	Crohn Hastalığı
<i>Etkilenen intestinal alan</i>	Normal doku olmadan devamlı tutulum, mukozal, kolonun herhangi bir bölgesi	En sık distal ileum, tüm Gİ trakt, yamalı tutulum, transmural tutulum
<i>İshal</i>	Genellikle günde 4 kez	Genellikle günde 4 kez
<i>Karın ağrısı/ kramp</i>	Hafif duyarlılık, alt karında kramp	Sağ alt kadranda orta-şiddetli duyarlılık
<i>Dışkıda kan</i>	Görülür: hastalık şiddetine göre miktarı değişir	Görülür: hastalık şiddetine göre miktarı değişir
<i>Halsizlik</i>	Anemi ve aşırı kan kaybı sonucu görülür	Anemi, kan kaybı ve besinlerin absorpsiyon bozukluğuna bağlı
<i>Ateş</i>	Ciddi olgularda hafif düzeyde	Ciddi olgularda hafif düzeyde
<i>Fizik muayene</i>	Rektal muayenede perianal irritasyon, fissür ve hemoroidler	Periton irritasyonu, abdominal ya da pelvik kitle
<i>Kilo kaybı/ anoreksi</i>	Oldukça şiddetli olgularda kilo kaybı	İntestinal absorpsiyon ve kötü sindirime bağlı kilo kaybı ve anoreksi sık
<i>İştahsızlık</i>	Hastalık alevlenme dönemlerinde sıklıkla azalmıştır.	Hastalık alevlenme dönemlerinde sıklıkla azalmıştır.
<i>Kolon kanseri riski</i>	Artmıştır	Artmıştır

Tablo 1. Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığında görülen semptomların karşılaştırılması.

5-Hastalık Şiddetinin Değerlendirilmesi:

İBH'da hastalığın aktivitesinin değerlendirilmesinde birçok sınıflamalar bulunmaktadır. Pratikte genellikle hastanın semptomlarına ve laboratuvar değerlerinin ele alındığı sınıflamalar kullanılmaktadır. Bu amaçla ÜK için *Truelove ve Witts Sınıflaması* (50)(Tablo 2) kullanılırken, CH için *Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi (CAI)*(51)(Tablo 3) kullanılmaktadır. Ayrıca endoskopik (Tablo 4-5) ve histolojik (Tablo 6-7) özelliklerin kullanıldığı aktivite indeksleri de mevcuttur. Bu indeksler aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir.

Hafif
Diyare günde altı veya daha fazla kanlı dışkılama Ateş yok Taşikardi yok Eritrosit sedimentasyon hızı >30 mm/saat
Şiddetli
Diyare günde dörtten az, çok az miktarda kan Ateş ;ortalama akşam ateşi >37.5 veya 37.5 ateş 2-4 gün, günün herhangi bir saatinde Taşikardi ortalama atım >90/dk Eritrosit sedimentasyon hızı <30 mm/saat
Orta
Hafif ve şiddetli arasındaki aktivite

Tablo 2. Truelove ve Witts ile Hastalık Şiddetinin Sınıflaması.

Kriter	Tanımlama	Çarpan
1. Sıvı ya da yumuşak dışkı sayısı	7 gündeki toplam	X2
2. Karın ağrısı	7 gündeki toplam kategori- (0:yok, 1:hafif, 2:orta, 3:şiddetli)	X5
3. Genel iyilik hali	7 gündeki toplam kategori- (0: genelde iyi, 1: hafif kötü, 2:kötü, 3:çok kötü, 4:berbat)	X7
4. Ekstraintestinal komplikasyon sayısı	Komplikasyonların sayısı- artrit ya da artralji, irit ya da üveit, eritema nodozum, piyoderma, gagrenozum, aftöz stomatit, anal fissür, fistül ya da abse, 37.8°C üzerinde ateş	X20
5. İshal için antidiyareik kullanımı	Önceki 7 günde kullanma (0:hayır, 1:evet)	X30
6. Karında kitle	0:yok, 2:kuşkulu, 5:kesin	X10
7. Hematokrit	Beklenen-bulunan Htc: [47-hct(erkek),42-Hct(kadın)]	X6
8. Standart ağırlığın altındaki yüzde	İdeal/ bulunan oranı [1-(ideal/bulunan)x100]	X1

Tablo 3. Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi. Total:<150:Remisyon; 150-450:Orta şiddette hastalık; >450 :Ağır hastalık

<i>Hafif (grade 1)</i>	Hafif dokunmakla ya da spontan kanama olmaması ve vasküler patern görülmemesi
<i>Orta (grade 2)</i>	Hafif dokunmakla kanama olması, bununla birlikte ilk bakışta önde spontan kanama görülmemesi
<i>Şiddetli (grade 3)</i>	İlk bakışta önde spontan kanama görülmesi ve hafif dokunmakla kanama olması

Tablo 4. Ülseratif Kolit endoskopik skor tanımlaması (52).

Değişken	Skor:0	Skor:1	Skor:2	Skor:3
<i>Ülser varlığı</i>	Yok	Aftöz ülserler (0.1-0.5 cm)	Büyük ülserler (0.5- 2 cm)	Çok büyük ülserler (>2 cm)
<i>Ülsere alan</i>	Yok	>%10	%10-30	>%30
<i>Etkilenen alan</i>	Etkilenmemiş segment	>%50	%50-75	>%75
<i>Darlık varlığı</i>	Yok	Tek, geçilebiliyor	Çok, geçilebiliyor	Geçilemiyor
<i>Etkilenen segment sayısı</i>	Tüm değişkenler:0	En azından bir değişken>1		

Tablo5. Crohn Hastalığı endoskopik skor tanımlaması (53).

<i>Grade 0</i>	Normal
<i>Grade 1</i>	Hafif ödem; lamina propriada inflamasyon
<i>Grade 2</i>	Kript abse formasyonu; lamina propriada inflamasyon
<i>Grade 3</i>	Destruktif kript abseleri ile daha şiddetli inflamasyon ya da küçük granüloma
<i>Grade 4</i>	Aktif ülserasyonla birlikte daha şiddetli inflamasyon

Tablo 6. Ülseratif Kolit histolojik skorlama sistemi (54).

Histolojik Değişkenler	Grade
<i>1: Epitelyal hasar</i>	0: normal, 1:fokal, 2:yaygın
<i>2: Yapısal değişiklikler</i>	0: normal, 1:orta (>%50), 2:şiddetli (>%50)
<i>3:Lamina propriada mononükleer hücreler</i>	0: normal, 1:orta düzeyde artmış, 2:yoğun düzeyde artmış
<i>4:Lamina propriada polimorfonükleer hücreler</i>	0: normal, 1:orta düzeyde artmış, 2:yoğun düzeyde artmış
<i>5: Epitelyumda nötrofiller</i>	1:yüzey epiteli, 2:kriptit, 3:kript absesi
<i>6: Erozyon ya da ülserasyon</i>	0: normal, 1:var
<i>7: Granüloma</i>	0: normal, 1:var
<i>8: Bulgu saptanan biyopsi sayısı (total n:6 ya da daha fazla)</i>	0: yok, 1:>%33, 2:%33-66, 3:>%66

Tablo 7. Crohn Hastalığı histolojik skorum sistemi (55).

6-Fizik Muayene

Karın muayenesi tamamen normal olabileceği gibi kolitin anatomik lokalizasyonuna göre muayenede karında hassasiyet olabilir. Distansiyon kolon dilatasyonu ve olasılıkla toksik megakolonu gösterir. Peritoneal irritasyon bulgularının olması perforasyonu düşündürür. Bu bulgular olduğunda acil ayakta direkt batın grafisi, USG gerekirse abdominal BT yapılmalıdır. İntestinal kayba bağlı gelişen hipoalbuminemiye sekonder olarak periferik ödem, malnutrisyon görülebilir. Ateş yüksekliği olabilir. Ayrıca anemi ve dehidratasyonu yansıtan solukluk ve taşikardi görülebilir. Ekstraintestinal bulgulara ikincil fizik muayene bulguları görülebilir.

7-Laboratuvar

Anemi özellikle demir eksikliğine bağlı gelişebileceği gibi, kronik hastalık anemisi ya da 6-merkaptopürin veya azatiopürin gibi ilaçların kullanımına ikincil gelişebilir. Eritrosit sedimentasyon hızı artmış olabilir. Hipokalemi, hipomagnezemi, hipoalbuminemi görülebilir. Primer sklerozan kolanjit gelişen hastalarda karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk olabilir.

8-Ekstraintestinal Tutulum

İBH esas olarak gastrointestinal sistemi tutmakla birlikte çok sayıda ekstraintestinal belirti ile birlikte (Tablo 8). Ekstraintestinal belirtiler (EİB) İBH'dan önce, İBH tanısı ile birlikte, ya da İBH tanısı koyulduktan sonra ortaya çıkabilir. EİB etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. İnsanda kolon, göz, eklem ve biliyer epitelde ortak antijenlerin bulunduğu saptanması üzerine otoimmün mekanizmaların sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 8. İBH'da ekstraintestinal bulgular ve görülme oranları.

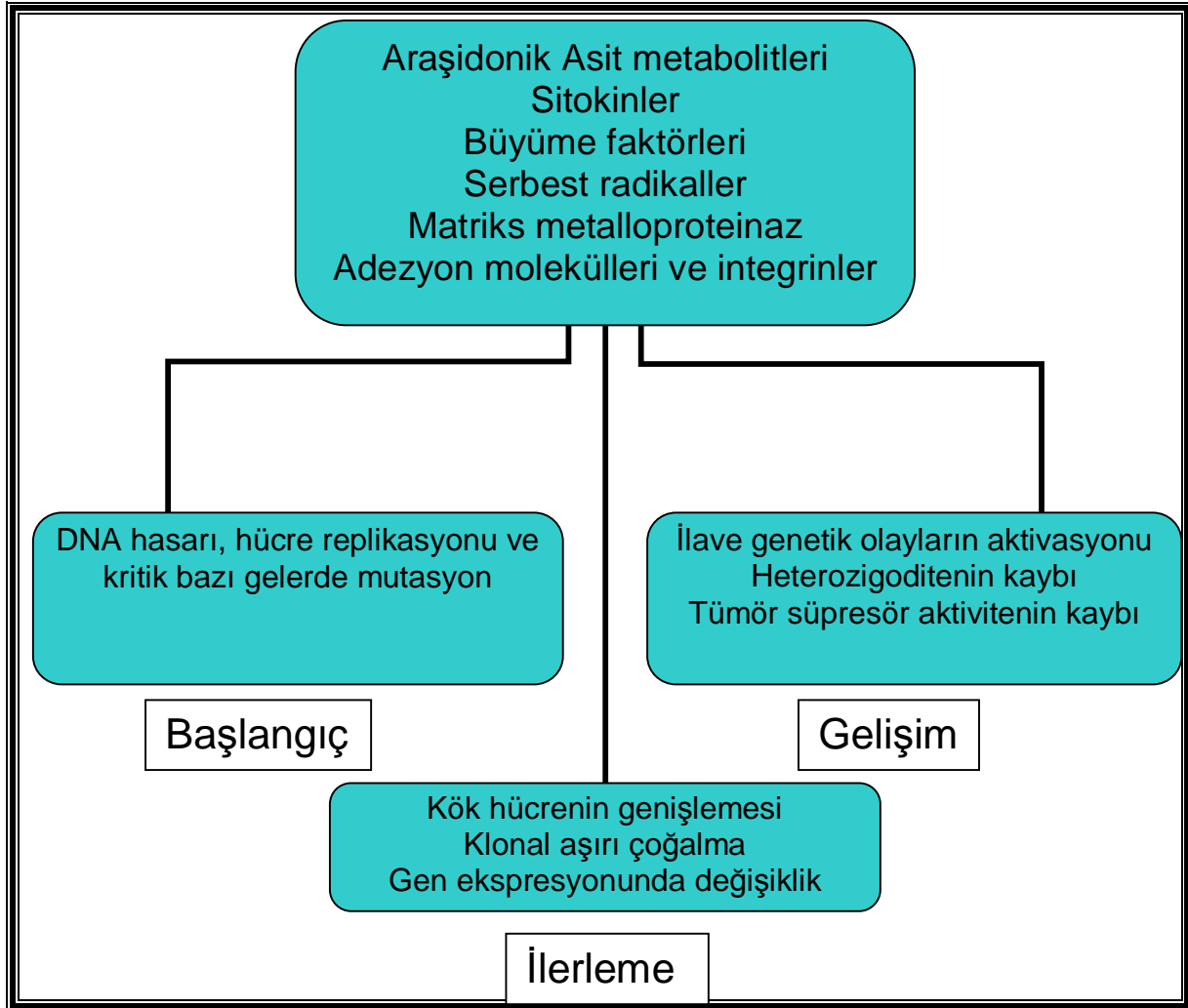
Bulgular	CH(%)	ÜK(%)
Perikolanjit	25	30-50
Hepatosteatoz	75	20-40
Sakroileit	18	18-20
Artralji	3-22	5-12
Eritema nodozum	2	5-10
Aftöz stomatit	sık	12
Konjunktivit-iridosiklit	nadir	3-12
Çomak parmak	40-60	8
Nefrolitiazis	4-10	2-7
Kolelitiazis	10-34	5
Siroz	2-5	2-5
Tromboembolizm	1.5	4
Pyoderma gangrenozum	1.5	2

İBH. İnflamatuvar Barsak Hastalığı. CH. Crohn Hastalığı. ÜK: Ülseratif Kolit

9-Displazi ve Kanser Gelişimi

İBH'da kanser gelişimi klasik adenom-kanser ilişkisinden çok displazi yoluyla olur. Aktif kolit dönemlerinde yapılan biyopsi örneklerinde rejeneratif epitel ile displaziyi birbirinden ayırt etmek çok zordur. Bu nedenle akut inflamatuvar değişiklikler gerileyene kadar inceleme ertelenmelidir. İnflamasyon sırasında ortaya çıkan serbest radikaller, araşidonik asit metabolitleri, sitokinler, büyüme faktörleri, matriks metalloproteinazlar,

adezyon molekülleri ve integrinler DNA hasarı ve hücre replikasyonunda gerekli olan kritik genlerin mutasyonuna yol açarak displazi, kanser, invazyon ve metastaza yol açarlar (Şekil 1). İBH'da kolorektal kanser, İBH olmayanlara göre daha erken yaşta ortaya çıkar.



Şekil 1. Kanser gelişiminde inflamasyona bağlı gelişen hücresel değişiklikler.

ÜK'li olgularda kolorektal kanser gelişme riski genel popülasyondan 20-30 kat daha fazladır. Pankolitli olgularda 8. yıldan itibaren, sol kolon tipi olgularda 12-15. yıldan sonra kolonoskopik inceleme önerilir. Hastalık süresi 10-20 yıl arasında olanlara 2-3 yılda bir, 20 yıldan sonra da her yıl kolonoskopik inceleme yapılmalıdır. Kolorektal kanser riski tamamen hastalığın süresi ve yaygınlığı ile ilişkili olup atak sayısı, aktivitesi ve remisyon dönemleri ile ilişkili değildir. 20 yıldan sonra kolorektal kanser riski %5-10, 35 yıldan sonra ise %30'dur.

CH'da kanser gelişim oranı ÜK'ye benzer. Kanser fistül traktında, barsağın devre dışı kalan kısmında veya ince barsakta da görülebilir. 20 yıllık süre içinde kanser gelişme oranı %8'dir. Hastalığın yaygınlığı, süresi, lokalizasyonu ve başlangıç yaşı kanser gelişimi için risk faktörüdür. CH'da sağ kolon kanserleri daha fazladır. Striktür olan CH'da malignite oranı %6.8 iken striktür olmayan hastalarda %0.7'dir. Hastalık başlangıcından sonraki 8.yıldan itibaren tarama programları başlatılmalıdır. Eğer hastalık sadece ince barsakta sınırlı ise kolon kanser riski normal popülasyona benzer olduğu için kolonoskopik takibe gerek yoktur.

10-Komplikasyonlar

ÜK'nin en sık görülen ciddi komplikasyonları masif kanama, perforasyon, toksik megakolon, striktürler ve perianal lezyonlardır. Bu komplikasyonların erken tanısı ve tedavilerinin uygun olarak yapılması mortalite ve morbiditeyi önemli ölçüde azaltmaktadır. Toksik megakolon en sık ölüm nedenidir. Özellikle pankolitli hastalarda görülür. CH'nın ise başlıca komplikasyonları fistüller, perianal hastalık ve striktürlerdir. Yaşam boyu fistül gelişme olasılığı %20-40 arasında değişmektedir. Perianal cilt bulguları (skin tag, hemoroidler), anal kanal lezyonları (fissür, ülser, strüktürler), perianal fistül ve abselerdir.

11-Klinik Seyir

ÜK'li olguların %20-25'inde ilk atak hafif şiddette, %50-75'inde orta şiddette, %10-20'sinde şiddetli aktif seyredir. İlk atakta hafif ve orta şiddette olan olguların %85'i remisyona girer. ÜK'li olguların büyük çoğunluğu, yaklaşık %90'ı uzun süreli izlemde relapslarla seyredir. Olguların %10'undan azında tamamen remisyona girer. Bu olgular sadece tek atak geçirirken, %1'inden azında sürekli aktif seyredir. Relapslar genellikle önceden tahmin edilemez. Ancak 2 yıl içinde aktivasyon geçiren hastaların %70-80 olasılıkla gelecek yılda da aktifleşeceği söylenebilir. Relaps olasılığı hastalık süresi ile orantılı olarak artar. Proktitli hastaların yarısında ekstensif inflamatuvar hastalık gelişir. Genellikle hastalık sadece sigmoid veya inen kolona kadar ilerler. Splenik fleksura proksimaline ilerleme %10'dan daha az olguda görülür. Sol taraf kolitli olgularda inflamasyon %30-50 oranında proksimale ilerler. Hastalığın ilk yılında kolektomi gereksinimi %9, 2-5 yılda %3, daha sonra yılda %1, 15 yıldan sonra ise %30 olarak

bildirilmiştir. Kolektomi endikasyonu hastalığın süresine bağlı olarak değişir. Erken dönemde kolektomi genellikle refrakter hastalık veya hastalığın komplikasyonları nedeniyle yapılır. Uzun süreli kolitli olgularda kolektomi endikasyonu sıklıkla displazi veya kanser nedeniyledir. ÜK'e bağlı mortalite %1'den azdır. Tanı anında şiddetli aktif hastalığı olan olgularda, komplikasyonlara bağlı olarak mortalite yükselir (56)

12-Tanı

a-Endoskopi

İBH'da endoskopi tanıda, hastalık aktivitesinin izleminde, lokalizasyonun belirlenmesinde, kanser izleminde, uzun süreli kolonik hastalıkta kanser izleminde, postoperatif izlemde, tedavi edici işlemlerde kullanılmaktadır. Endoskopi mukozal değişiklikleri değerlendirmede radyolojiye göre daha üstündür. İBH düşünülen her olguda başlangıçta ileokolonoskopi yapılarak kolonun ve ileoçekal valfin, terminal ileumun mukozası değerlendirilmeli, patolojik alanlardan biyopsiler alınmalıdır. Terminal ileuma girildiğinde mutlaka biyopsi alınmalıdır. İskemik kolit, radyasyona bağlı kolit, ilaçlara bağlı, enfeksiyonlara bağlı kolitlerden ayırıcı tanı yapılmasına yardımcı olur. Ağır inflamatuvar aktiviteli ya da toksik megakolon olan olgularda kolonoskopi hazırlığı ve işleme bağlı komplikasyon olasılığı nedeni ile kolonoskopi ertelenmelidir. Kanser izlemi amacı ile kolonoskopi yapılacak ise hastanın remisyonda olmasına dikkat edilmelidir. CH olan olgularda üst gastrointestinal sistemin endoskopik incelemesi bütünlüğüdür (57). CH ve ÜK olan hastalarda, ayırıcı tanıda endoskopik özellikler Tablo 9'da özetlenmiştir.

Mukozal Lezyonun Tipi	Ülseratif Kolit	Crohn Hastalığı
<i>Eritem</i>	+++	++
<i>Vasküler yapıda silinme</i>	+++	+
<i>Granülarite/fragilite</i>	+++	+
<i>Kaldırım taşı görünümü</i>	-	++
<i>Psödopolipler</i>	+++	++
<i>Aftöz ülserler</i>	-	+++
<i>Yüzeyel ülserler</i>	+	+++
<i>Serpingiyöz derin ülserler</i>	-	+++
<i>Striktürler</i>	++	+++
<i>Mukozal köprüleşmeler</i>	++	++
Lezyonların Dağılımı		
<i>Rektal tutulum</i>	++++	++
<i>Simetrik ve kesintisiz tutulum</i>	++++	+
<i>Yamalı tutulum</i>	-	+++
<i>Atlama alanları</i>	-	+++
<i>İleal ülserler</i>	-	+++
Kısaltmalar: (-) asla, (+) nadiren, (++) olası, (++++) sık, (++++) devamlı		

Tablo 9. İnflamatuvar Barsak Hastalığında Endoskopik Ayırıcı Tanı.

b-Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri

i)Direkt Grafi Bulguları: ÜK'de haustral işaretlerin kaybı, diffüz kolon dilatasyonu, toksik megakolon, mukozal hiperplazi ve polipoid mukozal lezyonlar, derin mukozal ülserler, intraperitoneal serbest gaz görülebilir. Özellikle toksik megakolon tanısında önemlidir. Transvers kolon çapının 6 cm'den büyük olması ile tanı konur.

ii)Çift Kontrastlı Baryumlu Grafi: Hafif ÜK'de bulgular normal olabilir, şiddetli ÜK'de ise toksik kolonu presipite edilebilir. Akut evrede spazm ve irritabiliteye bağlı kolonda yer yer dolma defektleri, konturlarda aşırı sekresyona bağlı bulanıklaşma ve belirsizleşme, küçük, süperfisyel ülserlere bağlı olarak barsak duvarında spiküler, testere

dişi görünümü, ülserler derin olduğunda “yaka düğmesi” görünümü, longitudinal, submukozal ülserasyona sekonder “çift ray” görünümü, kolon kıvrımlarının simetrik kalınlaşması ile “parmak basısı bulgusu”, psödopolipler görülebilir. Kronik evrede mukozal patern ve haustral işaretlerin kaybı, kolon boyunda kısalma, lümeninde simetrik daralma ve rijiditeye bağlı “kurşun boru” görünümü, postinflamatuvar polipler, backwash ileit görünümü görülebilir.

CH’da da kolonoskopiye ek olarak tanıda yardımcıdır. Hafif CH’da normal olabilir. Aftöz ülserler, postinflamatuvar polipler, kolonda granülamatöz kolite sekonder “öküz gözü” ülserler, kalınlaşmış mukozal foldlar arasındaki derin oluklara kontrast maddenin dolmasıyla oluşan “transvers çizgi” işareti, barsak lümenine paralel fistül traktları görülebilir.

iii)İnce Barsak Pasaj Grafisi veya Enteroklizis: CH’da ince barsak tutulumunu belirlemede temel yöntemdir. İnce barsakta aftöz ülserler görülebilir. Stenotik evrede terminal ileumda striktürlere bağlı “ip işareti” görülebilir. Mukozada kaldırım taşı manzarası, fistül ve abseler görülebilir. Terminal ileumda yerleşmiş ülser görünümü patognomiktir. İnce barsak pasaj grafisine göre mukozal değişiklikler enterokliziste daha iyi görülür.

iv)BT: CH’nın komplikasyonlarını göstermede ilk tercih edilen yöntemdir. Barsak duvarı, çevre abdominal organlar, mezenter ve retroperitonu göstermede diğer yöntemlere tercih edilir. İBH’da izlenen bulgular Tablo 10’da karşılaştırmalı olarak özetlenmiştir.

ÜK	CH
Mural kalınlaşma<1.5 cm	Mural kalınlaşma> 2cm
Duvar dansitesinin homojen olmaması	Duvar dansitesi homojen
İnce barsaklarda kalınlaşma olmaması	İnce barsaklarda mural kalınlaşma
Perirektal ve perisakral yağ dokusunda artma	Mezenterik yağda incelme
Rektumun hedef şeklinde görülmesi	Perianal hastalık
Adenopati	Adenopati, abse, fistül, sinüs traktları

Tablo 10. İnflamatuvar Barsak Hastalığında BT bulguları.

v)USG: BT'ye göre yumuşak dokuları göstermede daha üstündür. Gebelerde kullanılabilir. Perirektal fistüllerin takibinde kullanılır.

ÜK	CH
Belirtiler sol hipogastrik bölgede izlenir	Belirtiler sağ hipogastrik bölgede izlenir
Duvar kalınlaşması <5 mm	Aşırı duvar kalınlaşması (>7 mm) Lümende daralma
Haustra kaybı	Haustra kaybı Etkilenmiş luplarda ekojenik halo Fistül ve stenozylar Genişlemiş mezenter lenf nodları Abse
Duvar tabakaları ayrılabilir	Duvar tabakaları ayrılamaz

Tablo 11. İnflamatuvar Barsak Hastalığında USG bulguları.

Sanal kolonoskopi, MR enteroklizis, endoskopik ultrason da kullanılabilecek diğer tanı yöntemleridir.

13-Tedavi

a-Sulfasalazin ve 5-Aminosalisilatlar

Sulfasalazin ve 5-Aminosalisilik asit (5-ASA) hafif ve orta aktiviteli ÜK (58,59) ve orta aktiviteli CH'nın (60,61) medikal tedavisinde ve remisyonun devamının sağlanmasında etkin ilaçlardır. Oral alımı takiben ilacın bir kısmı jejunumdan emilir, geriye kalan kısım ise kolona geçer ve burada bakteriyel kökenli azoredüktaz enzimi ile sulfapiridin ve 5-ASA'ya parçalanır. Oral yolla alınan 5-ASA jejunumdan hızla emildiğinden distal ince barsak ya da kolon tutulumu olan hastalarda etkinliği sınırlıdır. Bu durumu ortadan kaldırmak için 2 çeşit preparat geliştirilmiştir. Bunlardan birincisi meselamin 5 ASA'nın akrilik reçineler ya da etilselüloz mikrogranülleri ile kaplanmasıyla oluşur. Bu şekilde ilacın distal ince barsağa ya da kolona ulaşması sağlanır. İkinci preparat sulfasalazinin etkin olabilmesi için azo bağının kırılması ve 5 ASA'nın açığa çıkması gereklidir. Bunun içinde kolon bakterilerinin varlığına gereksinim vardır. Bu şekilde bu ilaçlar esas olarak kolonda aktiftir. İlaçların etki mekanizmaları tam olarak bilinmemekle

birlikte yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar ve immünsüpresif etkinlikleri gösterilmiştir. Bu etkilerden başlıcaları IL-1, TNF α , IL-2, IL-8, ve NF κ B sitokin sentezinin inhibisyonu; kemotaksis, fagositoz ve adhezyon gibi inflamatuvar süreçte önemli olan nötrofil, makrofaj fonksiyonlarının inhibisyonu, DNA sentezini hücre siklusunda bloke ederek patojen T ve B hücre lenfositlerin artışının inhibisyonu, antioksidan etkiyle serbest radikallerin ortadan kaldırılması; prostaglandin ve lökotrien sentezi inhibisyonudur. Başlıca yan etkiler dozla ilişkili olup en sık rastlananlar bulantı, baş ağrısı, ateş, deri döküntüsü ve hipersensitivite reaksiyonlarıdır.

b-Kortikosteroidler

Hem ÜK hem de CH tedavisinde etkili ilaçlardır. Orta ve ağır şiddetli CH'da ve ÜK'de, ayrıca remisyona induksiyonunda kullanılmaktadır. Remisyona idamesinde kullanımları yan etkileri nedeniyle önerilmez (62). Oral yolla alındığında biyoyararlanımları %50-80'dir. Prednizon ve prednizolon İBH tedavisinde en sık kullanılan kortikosteroidlerdir. Fakat yan etkileri nedeniyle diğer seçenekler araştırılmıştır. Budesonid sistemik yan etkileri az olan topikal olarak aktif bir kortikosteroiddir. Oral olarak alındığında mukozal inflamasyonu baskılar. Karaciğerde büyük kısmı metabolize edildiği için diğer oral kortikosteroidlere göre yan etkileri çok daha azdır (63). Topikal kortikosteroid preparatları arasında hidrokortizon lavmanları, prednizolon lavmanları, betametazon lavmanları ve budesonid lavmanları bulunur. Lavmanların emilimi retansiyon süresine ve kolondaki inflamasyonun derecesine göre değişir. Kortikosteroidler erken inflamatuvar cevapta ortaya çıkan artmış vasküler permeabiliteyi, vazodilatasyonu ve nötrofil infiltrasyonu bloke ederler. Steroidler IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-gamma ve TNF- α gibi sitokinlerin ve diğer inflamatuvar medyatörlerin üretimini ve etkisini önler (64,65). Kortikosteroidler prostaglandin E2 ve lökotrien B4 gibi proinflamatuvar arazişik asit metabolitlerinin oluşumunu baskılar, T hücre proliferasyonunu baskılar. Steroid reseptör kompleksi DNA üzerindeki steroide cevaplı bölgelere bağlanır ve sitokinler, diğer inflamatuvar medyatörlerin genomik transkripsiyonlarının regülasyonunu sağlar. Başlıca yan etkiler mineralokortikoid aktivitesi nedeniyle hipertansiyon, enfeksiyonlara yatkınlık, latent tüberküloz aktivasyonu, myopati, davranış değişiklikleri, katarakt, osteoporoz ve osteonekrozdur.

c-Pürin Analogları; Azotioprin, 6-merkaptopürin

Bu ilaçlar orta-ağır aktiviteli ya da steroide refrakter veya steroid bağımlı CH ve ÜK'de remisyon induksiyonu ve idamesinde kullanılabilirler (66). Azotioprin ve 6-merkaptopürinin metabolizması sonucu oluşan 6-tyoguanin pürin ribonukleotid sentezini inhibe ederek RNA ve DNA sentezini bloke eder. Bu durum hücre proliferasyonunun DNA sentez fazında bloke olmasına neden olur. Ayrıca her iki ilaçta doğal killer hücreler ve sitotoksik T hücrelerinin sayısında belirgin azalmaya yol açar. En sık olarak hematolojik ve gastrointestinal yan etkiler görülür. Başlıca görülen toksik etki kemik iliği supresyonuna bağlıdır. Lökopeni azotioprin metabolitlerine bağlı doza bağımlı olarak gelişir. Doz azaltılması ile genellikle tablo düzelir. Ciddi bulantı, kusma, ishal, halsizlik, ateş, myalji, artralji, hepatotoksisite, deri döküntüleri, alopesi ve ateş görülebilir.

d-Metotreksat

Sentetik bir folik asit analogudur. Başlıca emilim yeri proksimal jejunumdur. Biyoyararlanımı %50-90 arasında değişir. Metotreksat dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek dihidrofolatın redüksiyonunu engeller. Hücre için toksik olan dihidrofolat ve okside türevleri hücre içinde birikir. Bu ilaç proinflatuar sitokinleri inhibe eder, IL-1'in reseptörüne bağlanmasını engeller. Ayrıca IL-6 ve IL-8'in güçlü bir inhibitörüdür. Gastrointestinal sistemde mukozit gelişimine, uzun süreli kullanımında karaciğerde fibroz ve siroza, akciğerde interstisyel pnömoni tablosuna, yüksek dozlarda nefrotoksisiteye neden olabilir. Ciltte eritematöz döküntüler, fotosensitivite gibi yan etkileri de mevcuttur.

e-Siklosporin

Orta veya ağır aktiviteli ya da steroid refrakter ya da bağımlı ÜK'te remisyon induksiyonu için kullanılabilir. Siklosporin hücre içinde siklofilin ile kalsinörini inhibe eden bir kompleks oluşturur. Başta IL-2 ve IFN-gamma olmak üzere proinflatuar sitokinler üzerine inhibitör etkiye sahiptir. Esas olarak T-hücre bağımlı immün mekanizmaları baskılar, bir ölçüde de humoral immüniteyi baskılamaktadır. Uzun süreli kullanım sırasında gingiva hiperplazisi, hirsutizm görülebilir. Kronik kullanımda renal fonksiyon kaybına yol açabilir.

f-İnfliximab

CH'da mukozal inflamasyon patogeneğinde TNF- α önemli role sahiptir. Refrakter luminal ya da fistülizan CH'nın tedavisinde TNF'e karşı monoklonal bir antikor olan

infiximab kullanılabilir. İnfiximab tam doz steroid ve immünsupresif tedaviye karşın yanıt alınamayan ya da bu tedaviyi tolere edemeyen hastalara verilmelidir. İnfiximab kullanan hastaların üçte ikisinde remisyon sağlanmaktadır. Refrakter luminal ve fistülizan CH'nın tedavisinde steroid gereksinimini ortadan kaldırması nedeniyle idame tedavisinde kullanılmaktadır. İnfiximab TNF- α 'ya bağlanır ve bunun sellüler reseptörlerle etkileşimini nötralize eder. TNF- α 'nın etkilerinin bloke olmasıyla IL-6 ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin düzeyi ve lökosit migrasyonu azalır. Ciddi sepsis, latent tüberkülozun aktivasyonu, nörolojik olaylar, neoplazi başlıca görülen yan etkileridir (67). İBH'da klasik olarak kullanılan tedavilere ek olarak, küçük serilerde gösterilmiş olan potansiyel tedavi edici ajanlar arasında büyüme hormonu, heparin, balık yağı, nikotin bandı, talidomid, elemental diyet, takrolimus, kısa zincirli yağ asitleri yer alır. IL-11, IL-10, anti-interferon gamma, anti İL-12, keratinosit büyüme faktörü, p38 inhibitörü, anti-alfa 4 integrin, probiyotik karışımı, anti-alfa 4-beta7- integrin, bakterisidal-geçirgenlik arttırıcı protein ve rosiglitazon çalışma aşamasındaki ajanlardır.

B-OKSİDATİF STRES

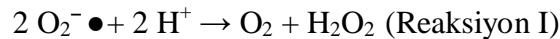
Oksidatif stres, vücutta lipid tabakanın peroksidasyonuna neden olan serbest radikallerin oluşumu ile antioksidan sistem arasındaki dengesizlik olarak ifade edilebilir (68). Oksidasyon tepkimelerinde rol alan oksijen hücreler için hayati önem taşır (69). Yüksek konsantrasyonda oksijen ise hücreler için toksik olmaktadır (70). Toksik etkili olan moleküler oksijen değil, tam indirgenmemiş oksijen metabolitleri ve oksijen radikalleridir (71).

Reaktif oksijen metabolitlerinin in vitro çalışmalarda immünmodulator etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Süperoksit anyonu, nötrofillerin infiltrasyonuna, inflamasyon bölgesinde birikimine, araşidonik asit mobilizasyonuna aracılık eder (72,73). Hidrojen peroksit ise nötrofil kemoatraktanı, T lenfosit aktivasyonu, anjiogenezin uyarılması gibi etkileri vardır.

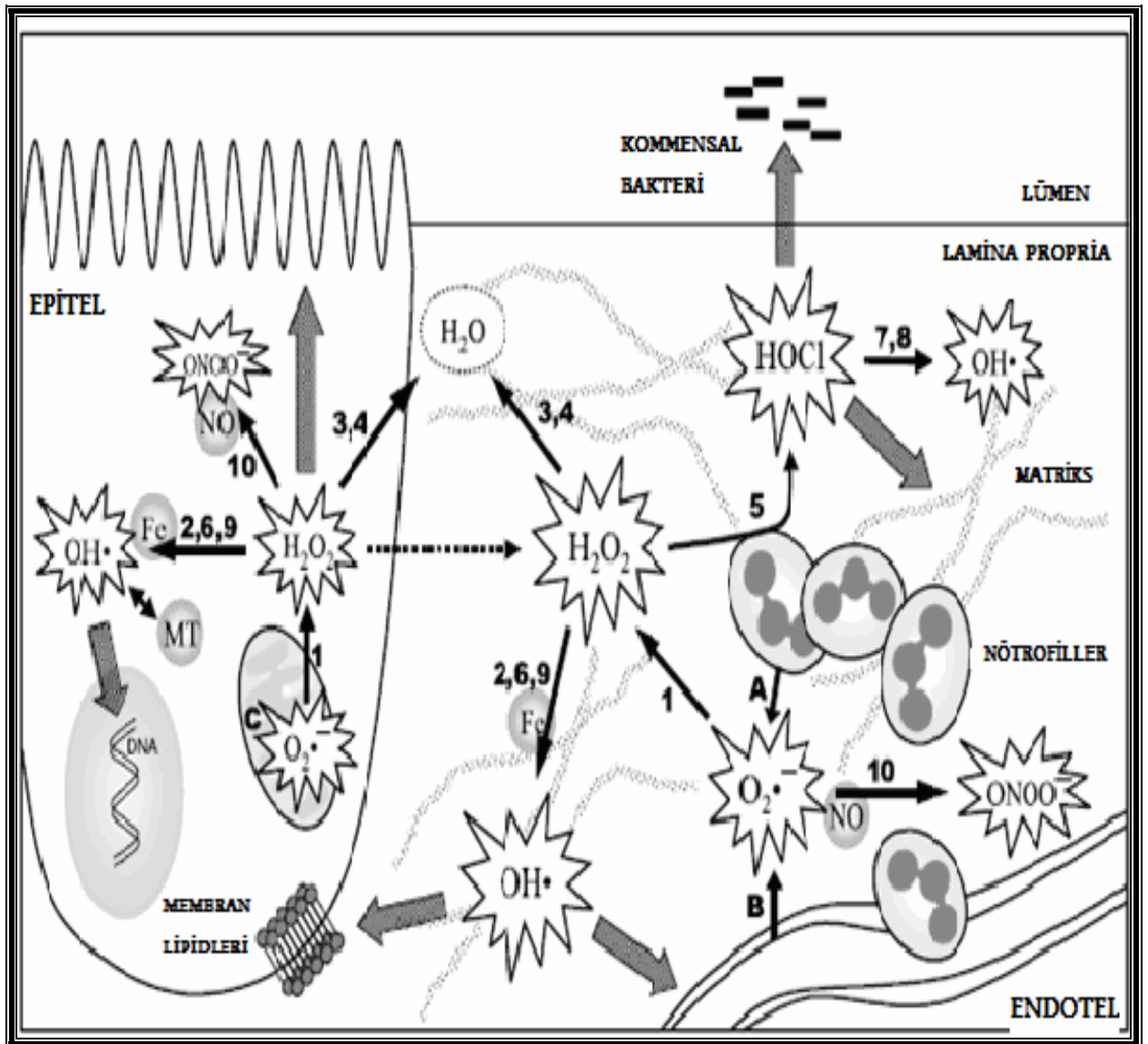
1-Reaktif Oksijen Metabolitleri (ROM)

a-Süperoksit Anyonu ($O_2^- \bullet$)

Primer ROM süperoksit anyonudur. $O_2^- \bullet$ hem fizyolojik hem de patofizyolojik bazı durumlarda oluşur. Nötrofiller ve makrofajlardan salınan $O_2^- \bullet$ intestinal inflamasyonla ilişkilidir (74,75). Bu hücreler sitokinler, immün kompleksler ya da bakteriyel ürünler gibi proinflamatuvar ajanlarla etkileşerek respiratuvar patlamaya yol açarlar. Bu işlem hücreye bağlı bir enzim olan nikotinamid adenin dinukleotid fosfat oksidazın (NADPH) aktivasyonu ile oluşan ani bir uyarana bağlı oluşur ve büyük miktarlarda ROM salınımı ortaya çıkar. $O_2^- \bullet$ 'nin fagositler tarafından üretimi bakteriyel enfeksiyonlara karşı defans için gereklidir. Fakat bu üretimin inflamatuvar olaylarda aşırı miktarda devam etmesi nedeniyle doku hasarı oluşur (76). $O_2^- \bullet$ aslında reaktif bir metabolit değildir (77,78). Paradoks olarak $O_2^- \bullet$ 'nin tehlikesi reaksiyon I'de görülen nötralizasyonu sırasında ortaya çıkmaktadır.



Reaksiyon I süperoksit dismutazla (SOD) hızlandırılır ve diğer oksidan reaksiyon kaskadının ilk aşamasıdır. Bu reaksiyonla daha güçlü ROM'lar olan hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit ($HOCl$) ve hidroksil radikali ($OH\bullet$) oluşur (Şekil 2).

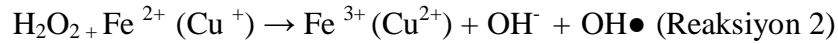


Şekil 2. Barsak inflamasyonunda reaktif oksijen metabolitlerinin reaksiyonu. **A:** Nötrofil NADPH oksidaz. **B:** Ksantin oksidaz. **C:** Mitokondriyal NADPH sitokrom P450 redüktaz. **Fe:** Demir. **H₂O₂:** Hidrojen peroksit. **HOCl:** hipoklorik asit. **MT:** Metalloprotein. **NO:** Nitrik oksit. **O₂•⁻:** Süperoksit anyonu. **OH•:** Hidroksil radikali. **ONOO⁻:** Peroksinitrit.

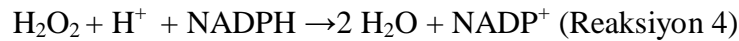
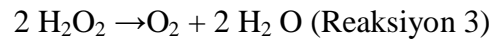
b-Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

O₂•⁻'nu oluşturan bütün sistemlerde aynı zamanda H₂O₂ üretilir ve sonuç olarak inflamatuvar fagositler H₂O₂ oluşumu ve salgımasına yol açar (74,75). H₂O₂'nin direkt olarak epitelyal hücrelerde nonspesifik geri dönüşümsüz hasar oluşturduğu gösterilmesine rağmen ROM'lar arasında rölatif olarak zayıf bir metabolittir (79). İn vivo reaktivitesi,

OH• oluşturmak için Fe²⁺ ve Cu⁺ gibi metal iyonlar ile etkileşme yeteneğine bağlıdır (Reaksiyon 2) (80).

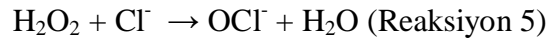


H₂O₂'den OH• oluşumu katalaz (CAT) (reaksiyon 3) ve glutatyon peroksidaz (GPO) (reaksiyon 4) ile katalizlenen H₂O₂'nin suya iki elektron redüksiyonu ile engellenebilir.



c-Hipoklorik asit (HOCl)

H₂O₂, suya nötralize olmazsa, myeloperoksidaz enzimi ile güçlü oksidan bir ajan olan HOCl'e metabolize olabilir (Reaksiyon 5).



Bu reaksiyon spesifik olarak inflamatuvar süreçlerde rol alır (81).

HOCl, O₂^{-•} ya da H₂O₂'ye göre 100-1000 kat daha toksiktir ve farklı biyokimyasal hedefleri vardır (82). Örneğin esansiyel enzimleri inaktive ederek bazı protein ve plazma membran fonksiyonlarını bozar. HOCl maruziyeti hücrel Zn²⁺ molekülleri aracılığı ile endotel geçirgenliğini artırır. Spesifik nötralizan enzimi yoksa da albumin ve askorbik asitle uzaklaştırılabilir (83,84).

d-Hidroksil Radikali (OH•)

OH•, ROM'lar arasında en reaktif olandır (85,86). H₂O₂ ile karşılaştırıldığında OH• direkt olarak DNA hasarına yol açar (87,88). OH•, H₂O₂'den (reaksiyon 2) ya da bir metal bağımlı reaksiyon sonucunda oluşabilir (Reaksiyon 6) (89).



OH•; HOCl'nin O₂^{-•} (Reaksiyon 7) ve indirgenmiş Fe iyonları etkileşimi ile (Reaksiyon 8) ayrıca H₂O₂'nin NO ile etkileşimi sonucu oluşur (Reaksiyon 9) (90,91).



OH• aracılı doku hasarı albumin, seruloplazmin, ferritin transferin ve metalloproteinlerle bağlanması sonucu önlenir (92).

ROM'ların in vitro çalışmalarda immünmodulatör etkilerinin olduğu gösterilmiştir. O₂^{-•} nötrofillerin infiltrasyonuna, inflamasyon bölgesinde birikimine, araşidonik asit mobilizasyonuna aracılık eder (72,73). H₂O₂'nin ise nötrofil kemoatraktanı, T lenfosit

aktivasyonu, anjiogenezin uyarılması gibi etkileri vardır. H_2O_2 'ninde $O_2^- \bullet$ gibi araşidonik asit mobilizasyonu etkisi vardır (93,94).

2-Reaktif Nitrojen Metabolitleri (RNM)

RNM nitrojenden oluşan nitrit oksit (NO) ve peroksinitriti içerir. NO üretiminin inflame dokulara karşı zararlı olup olmadığı ve NO üreten enzim olan nitrik oksit sentazın (NOS) inflamatuvar hücrelerden salınıp salınmadığı tartışmalıdır (95,96).

NO'nun kendisi esas olarak zararlı değildir ve hatta bazı yararlı, inflamasyon azaltıcı etkileri bulunmaktadır (97). Fakat $O_2^- \bullet$ ile hızlı etkileşimine rağmen NO, $O_2^- \bullet$ ve toksik ROM türevleri için bir risk oluşturabilir (reaksiyon 10).



Reaksiyon 10'da oluşan bir ürün olan peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$) prekürsörlerinden daha reaktif ve hasar vericidir (98).

3-Antioksidan Defans Mekanizmaları

Radikal ürünlerini ve reaksiyonlarını inhibe eden, radikallerle reaksiyonlara girerek otoksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler antioksidan olarak tanımlanır (99). Hücresel dengeyi reaktif maddelerin olumsuz etkilemesi bu antioksidan maddeler tarafından engellenir. Sonuçta fizyolojik aktiviteler sonucunda doğal olarak ortaya çıkan serbest radikallerin oksidan-antioksidan dengede tutulmasını sağlar. Tehlikeli olan oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıdır (100). Antioksidan savunma; radikal metabolit üretiminin önlenmesi, oluşmuş olan radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre hasarlanmasının onarılması, ikincil radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve antioksidan kapasitenin artırılmasını içerir (101). Katalaz (CAT), Süper oksit dismutaz (SOD) ve Glutatyon peroksidaz (GPO)'ın rol aldığı antioksidan aktiviteler "*Enzimatik antioksidan savunma*"; askorbat, tokoferol, glutatyon, ürik asit, glukoz gibi maddelerle gerçekleştirilen antioksidan işlemleri "*nonenzimatik savunma*" olarak tanımlar (102).

a-Nonenzimatik Savunmada Rol Alan Antioksidanlar

Bu grup meyvalar, sebzeler, bitki ekstraktlarından kaynaklanan belli mineraller (örn. çinko), vitaminler (C ve E) ve flavonoidlerden oluşan çeşitli diyet ürünlerinden oluşur. Buna ek olarak insan barsağında birtakım nonenzimatik antioksidanlar bulunur. Suda

çözünen ajanlardan olan glutatyon, metallothionein, askorbik asit (C vitamini), ürik asit, bazı plazma proteinleri, lipide çözünen α - tokoferol (E vitamini), billuribin ve ubikinol (indirgenmiş koenzim Q10) barsakta bulunan antioksidan moleküllerdir.

i)Glutatyon ve Sülfidril Grupları: İndirgenmiş glutatyon reaktif bir sülfidril (SH) grubu içeren antioksidan defansta birçok düzeyde rol alan bir tripeptiddir. Glutatyon antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz için bir substrattır. Ayrıca glutatyon $O_2^- \bullet$, $OH\bullet$, peroksinitrit ve lipid hidroperoksitleri içeren birtakım ROM'ların ortadan kaldırılmasında görevlidir (103,104).

Serbest ve proteine bağlı sülfidril grupları oksidasyon zincirini kırma özelliğine sahip önemli antioksidanlardandır. Sülfidril içeren bileşiklerden olan indirgenmiş glutatyon serbest radikal hasarına karşı hücreleri korumada önemlidir. Total sülfidril grupları serbest radikallere karşı antioksidan savunmanın önemli bir kısmını oluşturur (105). Plazma protein SH grupları oksidatif hasara karşı hassas olup koroner arter hastalığı (106), romatoid artrit (107), diabetes mellitus (108) gibi oksidatif hasarın olduğu hastalıklarda düştüğü gösterilmiştir.

ii)Metallothionein: Metallothionein potansiyel zararlı etkileri olan bakır ve çinko gibi metalleri etkin bir şekilde bağlayan bir proteindir (109). Metallothionein ayrıca $OH\bullet$ 'nin ortadan kaldırılmasında da görevlidir (110). Metallothionein $O_2^- \bullet$, $H_2O_2^-$ ve peroksinitrit bağımlı lipid peroksidasyonunun etkin bir inhibitörüdür ve oksidatif DNA hasarı ve apopitoza karşı korunmada etkilidir (111).

b-Enzimatik Savunmada Rol Alan Antioksidanlar

Tüm memeli hücrelerinde ROM aracılı hasara karşı endojen defans sistemi mevcuttur. SOD, CAT, GPO enzimleri antioksidan zincirde önemli enzimlerdir.

i)Superoksit Dismutaz: Bu enzim aerobik organizmaların yaşamını sürdürmesi için gereklidir (112) SOD, $O_2^- \bullet$ 'ni H_2O_2 'e dönüştürerek detoksifikiye eder. SOD fonksiyonunda kayıp olması $O_2^- \bullet$ 'nin düzeyini ve $OH\bullet$, peroksinitrit düzeyini arttırarak hücrel oksidatif toksisitenin artmasına yol açar. İnsanlarda 3 çeşit (Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve ekstrasellüler SOD) SOD formu bulunmaktadır.

ii)Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz: Her iki enzim de H_2O_2 'yi substrat olarak kullanır. CAT bilinen en etkili enzimlerden biridir ve H_2O_2 'nin herhangi bir konsantrasyonunda etkili olabilir. GPO ekstrasellüler ortamda, CAT enziminin görevini üstlenir. GPO özellikle sitoplazmada bulunan ayrıca mitokondri ve peroksizomlarda da bulunabilen

selenyum bağımlı bir enzimdir. GPO'nun H_2O_2 'ye CAT'a göre daha yüksek afinitesi vardır. Ve sadece GPO lipid hidroperoksitleri ile etkileşir ve peroksinitrit aracılı oksidasyonu önler (113). İnsan inflamatuvar hücrelerinde GPO ve substratı glutatyon nötrofilden daha çok monositte bulunur. Diğer yandan CAT monositlere oranla nötrofillerde daha yüksek seviyelerde bulunur. H_2O_2 'nin düzenli maruziyetine karşı primer defansta glutatyon /GPO redoks siklusu rol oynar. Öte taraftan CAT akut ciddi oksidatif stres durumlarında daha önemli rol alır.

H_2O_2 'yi metabolize eden enzimler olan CAT ve GPO ile ilgili bilgiler azdır. Bunların ekspresyon düzeyleri H_2O_2 'ye maruziyet sonrası uyarılır. İnsülin makrofajda CAT ve GPO aktivitesini artırırken tiroid ve glukokortikoid hormonları GPO aktivitesini azaltır (114).

4-Oksidatif Hasar

Normal hücre metabolizması sırasında oluşan ROM'lar antioksidan moleküller tarafından zararsız hale getirilirler (115). Oksidatif stres sonucunda oluşan oksijen radikallerinin miktarı antioksidan savunma sistemi kapasitesini aşarsa, ROM'lar hücrenin çeşitli bileşenleri ile etkileşerek hücrede yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açar. ROM'ların başlıca hedefleri proteinler (enzimler, kollajen), nörotransmitterler, nükleik asitler (DNA ve RNA) ve hücre membranının başlıca bileşeni olan yağ asitleridir (100).

Zararlı etkiler şu şekilde sıralanabilir:

- i. DNA'nın hasarlanması
- ii. Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkılması
- iii. Tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması
- iv. Protein ve lipidlerle kovalent bağlantılar yapılması
- v. Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasında değişiklikler
- vi. Mukopolisakkaritlerin yıkımı
- vii. Proteinlerin hasarlanması ve protein yıkımının artması
- viii. Lipid peroksidasyonu sonucu zar yapısının bozulması
- ix. Zar proteinlerinin zedelenmesi
- x. Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerde oksidoredüksiyon olaylarının bozulmasıyla kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması (116)

ROM ve RNM'nin aşırı miktarda üretimi hücre içi ve hücre dışı komponentlerin hasarlanmasına yol açar.

a-Oksidatif Hasarın Hücresel Hedefleri

i)Proteinler: Proteinler ROM için önemli bir hedeftir. Tek bir proteindeki minör yapısal bir değişiklik bile biyolojik aktivitesinde belirgin bir değişikliğe yol açar. Lipid peroksidasyonuna benzer şekilde $OH\bullet$, oksidatif protein hasarında temel rol oynar. Protein oksidasyonu sonucu proteinlerin fonksiyonunda ve yıkımında değişiklikler oluşur (117).

ii)DNA: ROM'ların önemli diğer bir hedefi ise mitokondriyal ve nükleer DNA'dır ve bunun sonucunda birçok tipte DNA modifikasyonu oluşur (118). Bunun sonucunda gen mutasyonlarını takiben malign transformasyon ve hücre ölümü oluşabilir. O_2^- rölatif olarak DNA ile etkileşmez. DNA hasarında peroksinitrit ve NO rol alır. $OH\bullet$ aracılı DNA hasarı oluşabilir.

iii)Apoptotik Hücre Ölümü: Hücre ölümü apoptoz ya da nekroz olarak iki şekilde sonuçlanabilir (119). Apoptoz kromatin yoğunlaşması, DNA fragmentasyonu ve hücrenin daha küçük parçalara (apoptotik cisimcikler) yıkımı gibi farklı biyokimyasal ve morfolojik özellikler ile nekrozdan ayrılır. ROM apoptozun düzenleyicisidir. İn vitro olarak ROM'lara maruziyet ya da hücrel antioksidanların eksikliğinin apoptozla sonuçlandığı (120), antioksidan bileşiklerin eklenmesi ile apoptozun önlendiği gösterilmiştir (121).

iv)Membran Lipidleri: Lipidler serbest radikal hasarına en duyarlı moleküllerdir.

b-Lipid Peroksidasyonu ve Malonildialdehit (MDA) Oluşumu

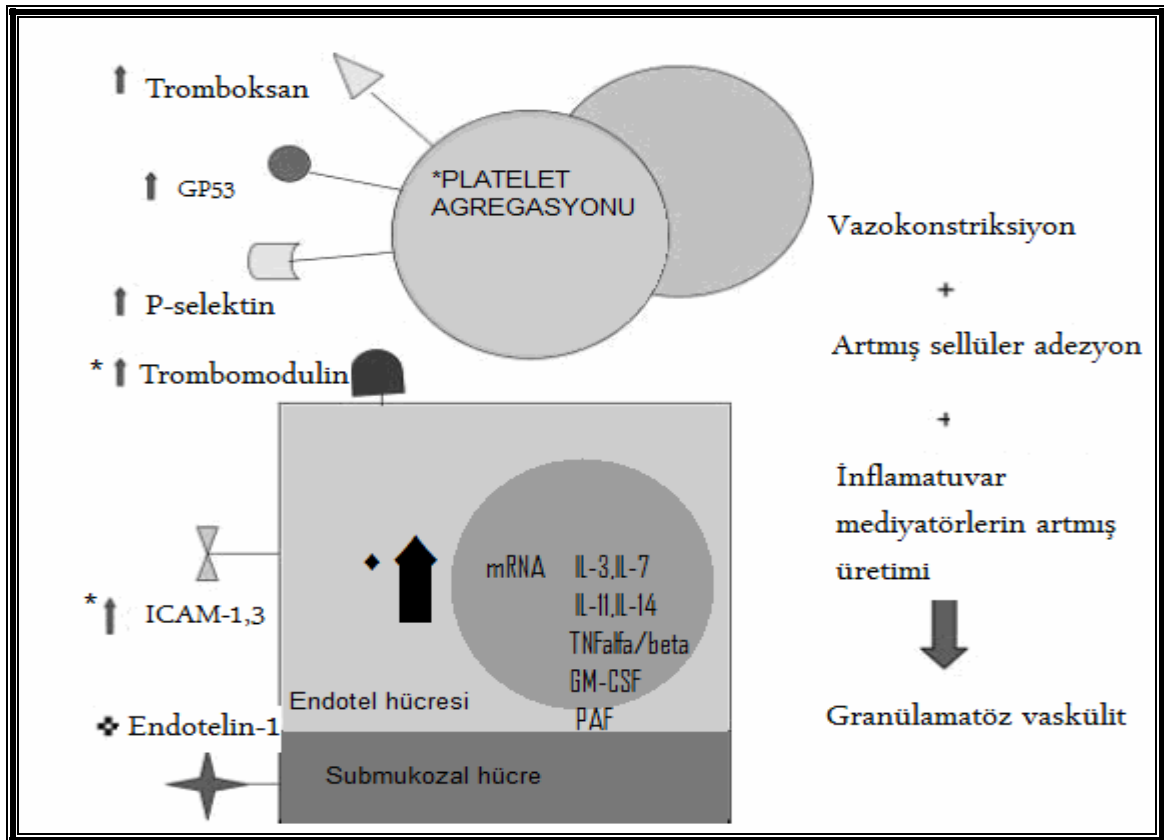
Hücre membranında lipid tabakasında yer alan poliansature yağ asitleri ROM'ların saldırısının asıl hedefidir (92). Lipid peroksidasyonu ROM'lar tarafından başlatılan, zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyonunu içeren bir zincir reaksiyonudur. Bunun sonucunda membran zarının lipid yapısı değişir ve hücre fonksiyon ve yapıları bozular (122). Lipidler $OH\bullet$ tarafından saldırıya uğrarlar ve lipid peroksidasyon işlemi bu şekilde başlatılır. Daha sonra lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksit ve aldehidlerin oluşumuna yol açacak olan zincir reaksiyon olarak devam eder ve böylece tek bir oksidatif olayla birçok lipid molekülü etkilenir. Hücre membranında hidroperoksitlerin birikimi akışkanlık üzerine, transmembranal enzimlerin, taşıyıcıların, reseptörlerin ve diğer membran proteinlerinin aktivitesini etkiler (123,124).

Lipid peroksidasyonu membran permeabilitesi ve selektivitesinde değişikliklere yol açar ve sonuç olarak hücre volüm dengesi ve hücrel metabolizmada değişikliklere yol açar. α -tokoferol (E vitamini) ve NO lipid peroksidasyonunda antioksidan olarak rol alır. Lipid peroksidasyonu lipid hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşikleriyle etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesiyle sona ermektedir (125).

MDA, nonenzimatik oksidatif lipid peroksitlerin yıkılması sonucu oluşan toksik özellikli son ürünlerden biridir. İki den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda ve eikazanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın temel kaynaklarıdır. MDA fosfolipidlere, nükleik asitlere bağlanarak toksik etkisini gösterir (68). Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan aldehitlerin toksik etkileri olduğu bilinmektedir. Bu bileşikler zarları kolay geçebilme özelliği ve yaşam sürelerinin uzun olması nedeniyle lipid peroksidasyonun hedef organlardaki etkilerinden sorumlu tutulmaktadır. Bu son ürünlerin yüksek konsantrasyonlarda bulunması mitokondriyal, solunum, monooksijenaz sistem fonksiyonlarını inhibe edebilir ve hücre ölümüne yol açabilir (126).

C- İNFLAMATUAR BARSAK HASTALIĞINDA MİKROVASKÜLER DİSFONKSİYON

CH'nin tanımlanmasından hemen sonra, cerrahlar mikrovasküler iskeminin önemli bir etyolojik faktör olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir (127). Hastalığın kronik sürecinde, obliteratif arterit gelişimi sırasında azalmış mikrovasküler volüm saptanmıştır. Mikrovasküler volüm, intramural gastrointestinal damarlardaki kan volümü olarak tanımlanır. Çalışmalarda kan damarları sayısının ve toplam kan volümünün azaldığı gösterilmiştir. Mikrovasküler iskemi etyolojisi halen tam olarak belirlenememiştir. Muhtemel etyolojik faktörler arasında artmış platelet agregasyonu, platelet yüzeyinden P-selektin ve GP53 ekspresyonunda artma, artmış submukozal endotelin-1'in (ET-1) salınımı aracılığıyla oluşan artmış vazokonstriksiyon, interlökinler, TNF- α 'yı içeren sitokinlerin yapımı için artmış mRNA salınımı, PAF, trombomodulin ve sellüler adhezyon moleküllerinin artmış salınımı yer alır (128).



Şekil 2. Mikrovasküler iskemideki potansiyel araçlar. * Artmış hücresel adezyon.

✦ Artmış vazokonstriksiyon. ♦ İBH'da artmış üretim.

İntestinal vasküler yeniden oluşum ve hasarlanma İBH'da mukozal ülserasyon gelişimine yol açabilecek erken patolojik bulgudur. CH'nin erken dönemlerinde derin submukozal ve distal mezenterik arter arasında artmış vasküler rezistans ve eşlik eden lokal barsak iskemisi gibi sirkulatuar bozukluklar gösterilmiştir (129). Ayrıca etkilenmiş barsak bölgelerini kanlandıran küçük arter ve arteriollerde tıkaçıcı fibrinoid lezyonlar saptanmıştır (130).

Periferik damar hastalıkları ve uzun süreli DM hastalarında ayak ve bacakta yavaş iyileşen yaralar doku iskemisi ve mikrovasküler disfonksiyon ile ilişkilidir (131). Benzer şekilde İBH barsağında doku hipoperfüzyonu ve iskemiyi düşündüren zayıf yara iyileşmesi ve dirençli mukozal ülserasyonlar saptanmıştır. İBH olan kişilerin arteriollerinde, asetilkoline vazodilatatör yanıt azalmıştır (132).

Sonuç olarak mikrovasküler iskemi İBH etyopatogenezinde önemli bir yere sahiptir. Mikrovasküler akım azaldığında eritrosit deformabilitesinin azaldığı bilinmektedir. Çalışmalarda ayrıca superoksit radikalının inflamasyon aracılı endotelial bağımlı arterioller disfonksiyonun uyarılmasında major rol oynadığı gösterilmiştir (7). İBH'da oluşan artmış oksidatif stres ve mikrovasküler akımda yavaşlama eritrosit deformabilitesinde azalmaya yol açacağı öngörülebilir. Fakat bu konuda yeterli veri bulunmamaktadır.

D-ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ

Reoloji, maddelerin bir kuvvetin etkisi altında iken nasıl şekil değiştirdiklerini (deformasyon) ve aktıklarını inceler. Bir maddenin şekil değiştirmesini ve akmasını sağlayan özelliklerine ise o maddenin reolojik özellikleri denir. Hemoreoloji; plazmanın ve kan hücrelerinin şekil değiştirme ve akım özelliklerini (kan viskozitesi), kan ile temas eden damarların akımı etkileyen reolojik özelliklerini, kanın ve damarların yabancı maddeler ile (ilaçlar, plazma genişleticileri ve prostetik cihazlar gibi) etkileşimlerini inceler (133).

1-Eritrosit Reolojisinin Temel Belirteçleri

a-Viskozite

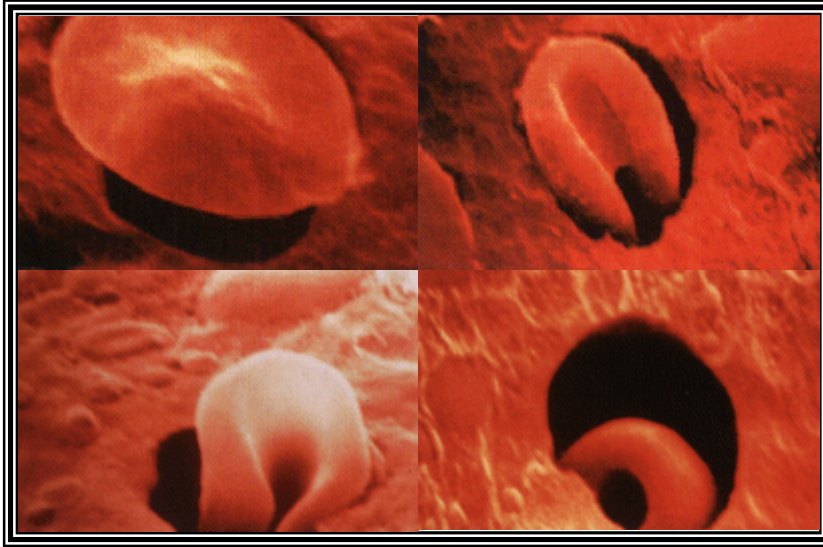
Viskozite, bir sıvının molekülleri arasındaki iç sürtünme nedeniyle akıma karşı gösterdiği dirençtir. Kanın akıma karşı gösterdiği direnç ise kan viskozitesidir. Viskozite akışkanlığın tersidir (viskozite: 1/akışkanlık). Kanın viskozitesini ısı, kanı oluşturan elemanların bileşimi (hematokrit, plazmanın içeriği) ve kanın reolojik özellikleri (eritrositlerin şekil değiştirme yeteneği) etkiler. Akım hızı arttıkça kanın viskozitesi azalır. Bu özelliğe 'kayma incelmeleri' adı verilir. Düşük akım hızlarında kanın viskozitesi yüksektir. Bu yükseklik eritrosit agregatlarının oluşmasına bağlıdır (içerik değişimi). Akım hızı arttırılırsa agregatlar parçalanmaya başlar ve kanın viskozitesi düşer. Agregatlar tamamen parçalandıktan sonra, akım hızı arttırılmaya devam edilirse, kan viskozitesinde azalmaya devam eder. Bu azalma eritrositlerin şekil değiştirme yetenekleri (deformabilite) sayesinde olur. Şekil değiştiren eritrositlerin akım yönüne uyum sağlamaları direnci düşürür, viskozite en düşük değerine ulaşır (133,134).

Kan plazma ve hücrelerden meydana gelen karmaşık yapıda bir sıvıdır. Dolayısı ile kan viskozitesi hem plazmanın hem de hücrelerin özelliklerinden etkilenir. Kan viskozitesini dört parametre etkiler. Bunlar hematokrit, eritrosit deformabilitesi, eritrosit agregasyonu ve plazma viskozitesi. Herhangi bir viskozite artışının belirlenebilmesi için saydığımız bu dört parametre detaylı olarak incelenmelidir.

i)Hematokrit: Hematokrit eritrositlerin kanın toplam hacminin yüzde kaçını oluşturduğunun ifadesidir. Hematokrit artışı ile, kan viskozitesi artar ve sonuç olarak kan

akışkanlığı azalır. Fazla sayıda hücre, iç sürtünmede artışa neden olur. Eritrositlerin şekil değiştirme özeliği sayesinde, hematokritin %95'in üzerinde değerlerinde bile akış sıfırlanmaz. Yüksek hematokrit değerlerinde kan viskozitesi o kadar artarken, anemide viskozite o kadar azalır. Hematokrit artışı dokulara oksijen taşıma kapasitesini arttırırken, viskozite artışı nedeniyle doku perfüzyonu bozulabilir.

ii)Eritrosit Deformabilitesi: Olgun eritrositler bikonkav disk şeklinde, 8 mikron çapında ve kenar kalınlıkları 2 mikrondur. 8 mikron çapındaki eritrositler, deformabilite sayesinde kendilerinden küçük 3 mikron çapındaki kapillerlerden kolaylıkla geçebilir (Resim1).



Resim 1. Eritrositin deformabilite özelliği sayesinde kendinden daha küçük çaplı bir alandan geçişi.

Eritrositler sadece kapiller akım sırasında şekil değiştirmez, akım kuvvetinin fazla olduğu geniş çaplı damarlarda da elips, mermi ve terliğe benzeyen özel şekiller alırlar. Dolayısı ile derformabilite mikro ve makro dolaşımın devamlılığı için önemlidir. Eritrosit deformabilitesini etkileyen üç parametre zar iskeletinin esnekliği, yüzey/hacim oranı ve hücre içi viskozitedir.

-Eritrosit zar iskeletinin esnekliği: Zar iskeleti eritrositlerin kapillerlerden geçerken şekil değiştirmelerini ve sonrasında eski şekillerine dönme yeteneği sağlar. Hücre zarının hemen altında yer alır. Band 3, spektrin, ankrin, F-aktin, protein 4.1 gibi

çeşitli proteinlerden oluşur. Bu proteinler birbiri ile ve lipid tabakası ile çeşitli bağlar yaparak bir ağ oluşturur. İskeletin özel ağ yapısı, yüzey alanını değiştirmeksizin eritrositin herhangi bir boyutunu değiştirebilmesini sağlar. Böylece şekil değiştiren eritrosit kapillerden geçebilir. Kolay şekil değiştiren eritrositin kapillerden geçmesi için daha az, deformabilitesi azalmış bir eritrositin geçebilmesi için ise daha fazla kuvvet gerekir. Deformabilitesi azalmış eritrositlerden oluşan kanın viskozitesi yani akıma karşı direnci daha yüksek olacaktır.

-Hücre içi viskozite: Ortalama eritrositteki hemoglobinin yoğunluğu hücre içi viskoziteyi belirler.

-Hücre şekli ya da hücre yüzey /hacim oranı: Eritrositlerin geometrik yapıları nedeni ile hacimlerine kıyasla yüzey alanları daha fazladır. Sahip oldukları yüzey alanı içinde daha büyük bir hacmi barındırabilirler. Zar iskeletindeki bir bozukluğa bağlı olarak eritrositlerin bikonkav disk şeklinin bozulmasına neden olan sferositoz, eliptositoz gibi anomaliler deformabiliteyi azaltır.

Eritrosit deformabilitesi çeşitli tekniklerle ölçülebilmektedir (135):

- ✓ Mikroskop altında eritrositlerin nasıl şekil değiştirdikleri direkt olarak incelenebilir.
- ✓ Deforme hücrelerden lazer ışınlarının yansıma şekilleri incelenerek eritrosit şekil değişimi değerlendirilebilir.
- ✓ Bir tek eritrositi belli çapta mikropipete çekmek için gerekli olan basınç ölçülebilir. Hücresel deformabiliteyi ölçen metodlardan, mikropipet aspirasyonu membran özelliklerini en detaylı gösterendir. Tek tek eritrositler 1-2 µm'lik çaplı mikropipetler içine aspire edilir ve uygulanan negatif basınç ve membran dış yayılımı arasındaki ilişki daha sonra ölçülür.
- ✓ Osmotik hemoliz yöntemi kullanılabilir
- ✓ Filtrasyon yöntemi kullanılabilir.

Eliptik dağılım paterninin major ve minor aksları boyunca optik densitenin iki noktadan ölçümü ile hücre eliptisitesinin direkt ölçümünü gösteren ve "deformabilite indeksi" adı

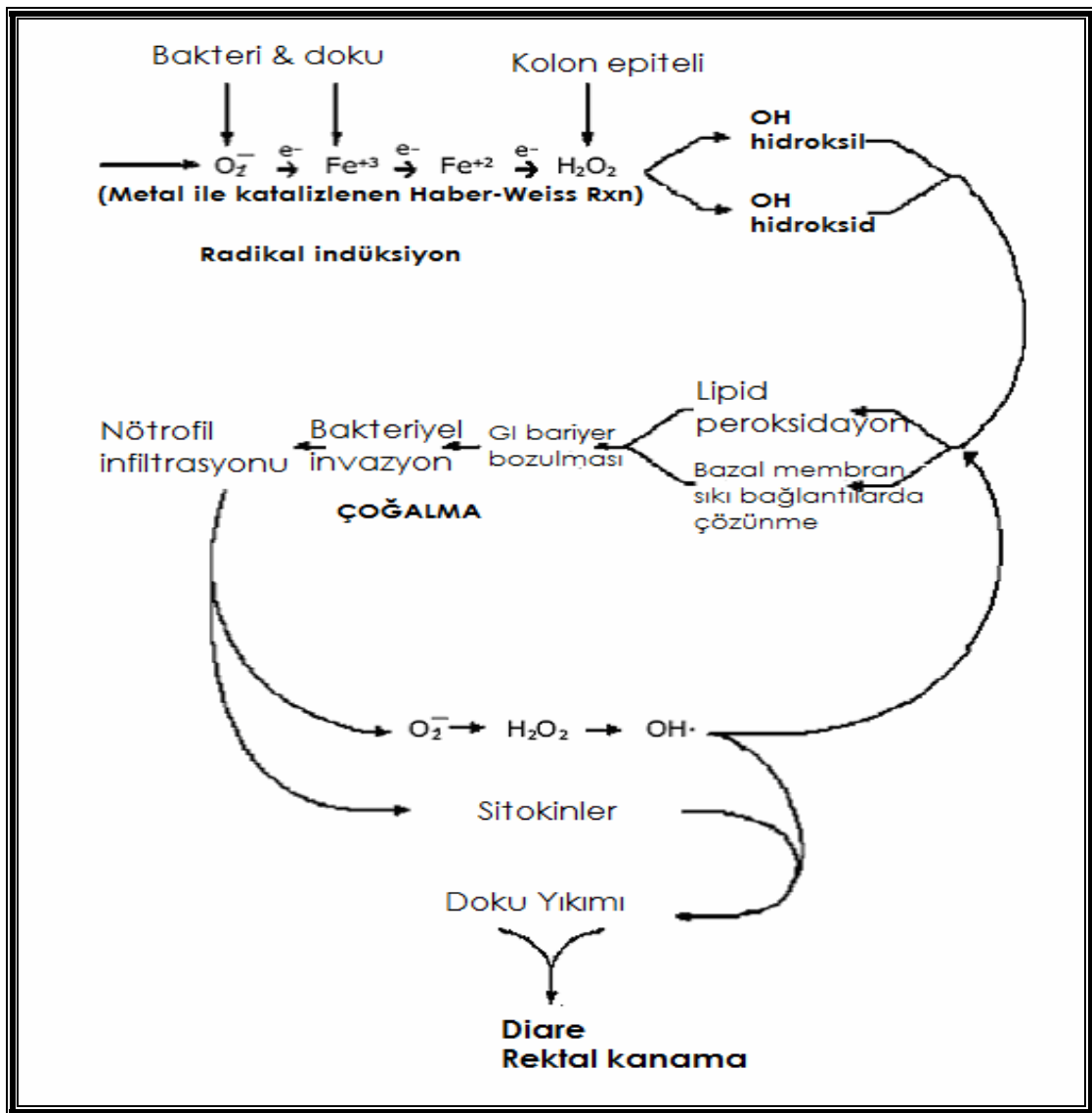
verilen bir parametre ile tanımlanır. Sıfır sayısal değeri deforme olmayan hücreleri karşılar. Artan pozitif değerler artan hücresel deformabiliteyi gösterir.

iii)Eritrosit Agregasyonu: Eritrositlerin birbirlerine bağlanmaları ve bozuk para gibi üst üste dizilmesine agregasyon ya da rulo oluşumu denir. Agregatlar akımın hızlanması ile oluşan mekanik kuvvetlerin etkisi ile kolay bir şekilde parçalanabilir. Akım yavaşladığında mekanik kuvvetler belli bir değerin altına düşer ve agregatlar tekrar oluşurlar. Arteriol ve kapillerdeki yüksek akım kuvvetleri nedeni ile agregat oluşumu olmaz. Fakat akım hızı düşük olan venüllerde agregatlar oluşabilir. Düşük akım hızına yüksek hematokritin eşlik etmesi ile çok sayıda agregat oluşur. Venöz kan akımı yavaşlayarak venöz staz oluşur. Rulo oluşumu için bazı makromoleküllerin gerektiği bilinmektedir. Bunlardan fibrinojen en önemlisidir. α -2 makroglobülin ve IgM gibi yüksek molekül ağırlıklı plazma proteinlerinin de agregat oluşumuna katkısı vardır. Agregat oluşumunu etkileyen diğer bir faktörde eritrositlerin birbiri arasındaki çekme ve itme kuvvetidir (136).

iv)Plazma viskozitesi: Plazma viskozitesi, plazmanın ana maddesi olan suyun ve içinde erimiş halde bulunan makromoleküllerin özelliklerine bağlıdır. Makromoleküllerin varlığı suyun akıma direncini yani viskozitesini arttırır. Plazma viskozitesinin 37 derecedeki normal değeri suyun viskozitesinin 1.4-1.8 katıdır. Bu farkın %98'inden plazma proteinleri (albümin, globülinler, fibrinojen) , %2'inden de tuzlar ve glukoz sorumludur. Fibrinojen gibi büyük proteinler viskoziteyi çok etkilerken albümin gibi küçük proteinlerin ise viskozite üzerindeki etkisi düşüktür.

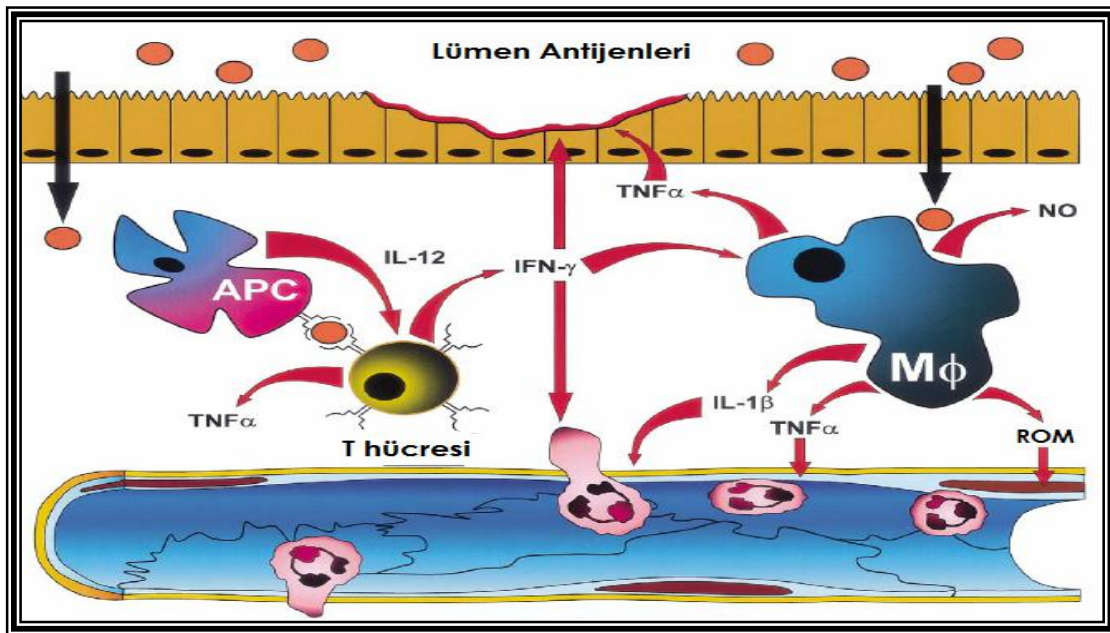
E- İNFLAMATUAR BARSAK HASTALIĞI: OKSİDATİF STRES VE ERİTROSİT DEFORMABİLİTESİ İLE İLİŞKİSİ

İBH genetik, çevresel ve immün faktörlerin etkileşimiyle oluşan multifaktöryel bir hastalıktır (137). Kronik barsak inflamasyonu normal barsak florasına karşı oluşmuş düzensiz immün yanıtla bağlı olarak oluşur (138). İnflamatuar intestinal hasarın başlatılmasında ve devamında düzensiz immün yanıt oluşumunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat kronik barsak inflamasyonunun artmış reaktif oksijen ve nitrojen metabolitlerinin artmış üretimi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Şekil 3).

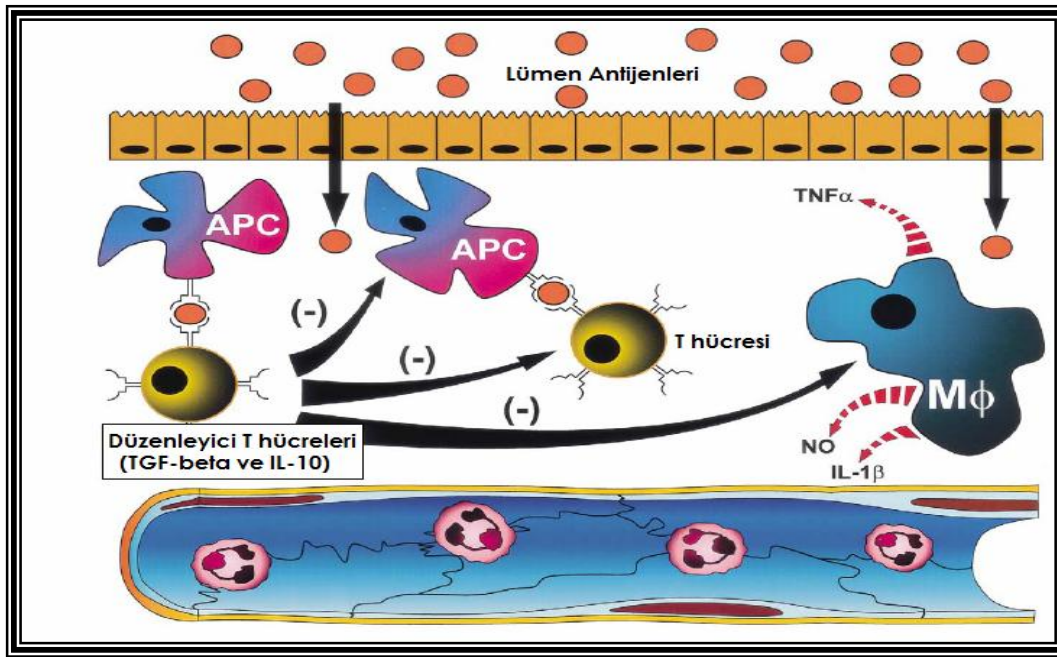


Şekil 3. İnflamatuar Barsak Hastalığının patogenezi.

Hem ROM'un hem de NO'nun inflamatuvar yanıtta rol aldığı bilinmektedir (2). Makrofajların ve fagositik lökositlerin (PMN'ler, eozinofiller, monositler) salınımının ve aktivasyonunun düzenlenmesinde oluşan bozukluk sonucunda ROM yapımında dramatik bir artış olur. Normalde de birçok dokudan yeterli miktarda koruyucu enzimatik (SOD, katalaz, GSH peroksidaz) ve nonenzimatik (Tioller, askorbat, α -tokoferol) antioksidanların salınımı ile hasara yol açan oksidan ajanların yol açtığı doku hasarı oluşumu önlenir. Bununla beraber İBH'nın aktif dönemlerinde ROM'un kontrolsüz aşırı üretimi ve antioksidan moleküllerin azalmasına bağlı hücrelerde ve dokularda oksidatif hasar oluşur. Birçok çalışmada kronik yangılı barsak dokusunda belirgin olarak oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir (2). ROM'un büyük oranda üretimi fagositik lökositlerde olmaktadır. Sitokinler ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\gamma$), LT-B_4 , PAF, immün kompleksler, kompleman komponentleri ya da bakteriyel ürünler gibi proinflamatuvar ajanların plazma membranındaki spesifik reseptörlerle etkileşimi sonucu plazma membranı ile ilişkili NADPH oksidaz aktivasyonu oluşur (Şekil 4a ve Şekil 4b). Bu büyük miktarda O_2^- ve H_2O_2 üretimi ve salınımı ile sonuçlanır (139).



Şekil 4a. Barsakta T hücre aracılı immün yanıtın şematik gösterimi. **APC:** Antijen sunan hücre. **NO:** Nitrik oksit. **Mφ :** Makrofaj. **ROM:** Reaktif oksijen metabolitleri.



Sekil 4b. Lümen antijenlerine intestinal immün yanıtın düzenlenmesinin şematik gösterimi. **APC:** Antijen sunan hücre. **NO:** Nitrik oksit. **M ϕ :** Makrofaj. **ROM:** Reaktif oksijen metabolitleri.

Kronik barsak inflamasyonu redoks imbalansı ya da oksidatif stresin en dramatik örneklerinden biridir. Çalışmalar göstermektedir ki kronik inflame barsak ciddi oksidatif strese maruz kalmaktadır. İnflame kolonda belirgin olarak fazla miktarda reaktif oksijen metabolitleri oluşmaktadır. ROM'da artış nötrofil ya da monosit kaynaklı oksidanlara (superoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve hipoklorit) bağlıdır. Radikalleri ortadan kaldıran moleküller (oksimuridin), antioksidan enzimler (superoksit dismutaz ve katalaz) ve enzim inhibitörlerinin (sodyum azid ve dimetil sulfoksit) eklenmesiyle ROM'larda azalma görülür. ÜK'li hastalarda vasküler endotelial hücrelerde ve monositlerde kontrol dokulara göre belirgin daha fazla miktarda $O_2^- \bullet$ oluştuğu görülmüştür (140). Buna ek olarak aktif İBH'lı olguların kolonundan alınan biyopsilerinde artmış ROM üretimini gösteren artmış lipid peroksidasyon ürünlerinden özellikle MDA'nın artmış varlığı gösterilmiştir. İBH olan kişilerde kolon biyopsilerinde MDA ve 4-hidroksinonenal düzeylerinin artmış olduğu ve bunun da artmış lipid peroksidasyonunun neden olduğu saptanmıştır (141). Ayrıca nefeste ölçülen lipid peroksidasyonunun noninvaziv belirteçleri olan etan ve pentan atılımının artması da çoğu hastada hastalık aktivitesi ile orantılı bulunmuştur (142).

ROM düzeyinde artışın İBH'lı hastalarda hastalık aktivitesi ile orantılı olduğu saptanmıştır. Ayrıca İBH'lı kişilerde direkt NO ölçümünün de hastalık aktivitesi ile orantılı olarak inflame barsak mukozasında arttığı gözlenmiştir (5). ROM/RNM'nin hem direkt hem indirekt ölçümlerinde mukozal $O_2^- \bullet$, NO ve metabolitlerinin üretiminin arttığı bulunmuştur.

İBH'lı hastalarda oluşan diyarede artmış elektrolit ve su sekresyonundan barsakta üretilen fazla miktarda inflamatuvar ROM sorumlu tutulmaktadır. İBH'lı mukozada epitelyumda apoptoz artmaktadır (143). İBH'lı hastalarda bozulmuş apoptozun direkt olarak artmış ROM üretimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

SOD, CAT ve GPO gibi antioksidan enzim düzeyleri İBH gibi inflamatuvar durumlarda ROM'un ortadan kaldırılmasında etkilidir. Antioksidan enzim aktivitesinde azalma ya da bu enzimlerden birinin dengesiz salınımı ROM'ların hücrelere olan zararını artırır. Aktif hastalıklı İBH'lı hastalardan rezeke edilmiş mukozada ve mukoza biyopsilerinde azalmış Cu/Zn SOD izoformu saptanmıştır (144). Diğer SOD izoformları ile ilgili bir bilgi mevcut değildir. İntestinal CAT ve GPO aktivite düzeyleri İBH olan olgularda birtakım çalışmalarda incelenmiştir. Bu enzimlerin inflamatuvar süreçten etkilenmediği, buna karşın bazı küçük çalışmalarda İBH'lı mukozada artmış GPO aktivitesi rapor edilmiştir (145,146). GPO aktivite eksikliği olan farelerde ileum ve kolonda artmış lipid hidroperoksit düzeylerinin olduğu ve spontan kolit gelişebildiği, bunun da kronik barsak inflamasyonunu önlemede lipid hidroperoksitlerini detoksifiye etme yeteneğinin gerekli olduğunu göstermektedir (147). İBH'lı olgularda görülen sık bir özellik de askorbat, β -karoten, α -tokoferol ve indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi endojen oksidan defansta rol alan maddelerin genel eksikliğidir (148). Antioksidanlar aktif İBH atakları sırasında yetersiz kalmaktadır. Bununla beraber İBH olgularının yangılı mukozasındaki düşük askorbik asit düzeyleri artmış oksidatif stresi göstermektedir. ROM'dan barsağı korumakta önemli rol alan bir diğer endojen antioksidan indirgenmiş glutatyondur (GSH). İntestinal inflamasyon bulguları belirgin olan deneysel İBH'lı olgularda hücrelerel glutatyon düzeyleri belirgin olarak azalmaktadır (149). Son çalışma serilerinde farede immün kronik kolit modeli kullanılarak kolitin başlatılmasında kolondaki oksidatif stresin eşlik ettiği gösterilmiştir. Ayrıca indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi endojen antioksidanların kolit ortaya çıkışından önce farelerin kolonlarında azaldığı ve kronik kolit gelişimi süresince de

düşük kalmaya devam ettiği gösterilmiştir. N-asetilsistein'in tüm deney süreci boyunca içme suyuyla verilmesiyle GSH düzeyleri tekrar geri kazanılmış ve kolonik inflamasyonu azaltmıştır. Bu sonuçlarla İBH'lı olguların tedavisinde standart tedaviye ek olarak antioksidan tedavinin verilmesinin yararlı olduğu gösterilmiştir (139).

Antioksidan enzim sistemlerinin mukoza ve submukozadaki ekspresyonundaki artmanın oksidan düzeyini ve dolayısıyla deneysel ve klinik İBH'lı olgularda inflamasyonu azaltacağı söylenebilir. Eğer ROM, İBH patofizyolojisinde rol alıyorsa akut ataklarda antioksidanların (askorbik asit ve α -tokoferol gibi) tedaviye eklenmesi yararlı olabilir. Oral olarak sulfasalazinin (SAZ) verilmesi ÜK'le ilişkili mukozal hasar ve inflamasyonunun azaltılmasında çok etkili olduğu kanıtlanmıştır. Sıklıkla kullanılan ilaçlardan sulfasalazin ve 5-ASA kuvvetli ROM ortadan kaldırıncıdır (150). 5 ASA'nın antiinflamatuvar aktivitesini invivo olarak 5 lipooksijenaz aktivitesini inhibe ederek sağladığı düşünülmektedir. Bununla beraber son veriler bunun kesin etki mekanizması olmadığını göstermektedir. 5 ASA serbest radikalleri ortadan kaldırarak nötrofilik oksidanları (ör: HOCl) parçalama yeteneğiyle ve hemoprotein ilişkili oksidize edici ajanları detoksifiye etme yeteneğiyle güçlü antioksidan etki göstermektedir.

Yaklaşık 50 yıldır oksidatif stresi azaltmayı hedefleyen tedavi stratejileri kullanılmaktadır. Buna ek olarak spesifik ROM oluşturan enzimlerin inhibisyonunu ya da direkt olarak ROM'ların ortadan kaldırılması ile intestinal oksidatif stresin önlenmesi ya da azaltılmasına yönelik yaklaşımlar mevcuttur. İnflamatuvar barsak hasta gruplarında spesifik antioksidan çalışmalar nadirdir ve tümü kontrolsüz çalışmalardır. Yapılan çalışmalarda doğal SOD'un terapötik uygulanabilirliği sınırlı hücre permeabilitesi, kısa yarılanma ömrü ve maliyeti nedeniyle sınırlıdır. Son zamanlarda bu sınırlamaların olmadığı birkaç yeni antioksidan ajan geliştirilmiştir ve bunlar ileri klinik değerlendirme için beklemektedir. CH'da ve ÜK'te oksidan enzimlerin aktivitesi, lokalizasyonu, mukozal konsantrasyon hakkında veriler azdır. Antioksidan enzimlerin ekspresyonu ve intestinal inflamasyon gelişmesi arasındaki fonksiyonel ilişkiyi değerlendirmek için hayvan çalışmaları düzenlenmiştir. Bu çalışmalar İBH'da antioksidan tedavinin gelişimi ve uygulanması ile ilgili yeni bilgiler verecektir.

Sepsiste de İBH gibi, ROM'un artmış üretimi ve antioksidan defans mekanizmalarında yetersizlik vardır. Lökositler tarafından oluşturulan ROM eritrositi zedeleyebilir ve hemolizi indükler (151). Süperoksit anyonuna maruz kalmış eritrositlerde, eritrosit

deformabilitesini azaltacak membran proteinlerinde değişiklikler görülmüştür (152). Deneysel olarak eritrosit deformabilitesindeki kaybın anti oksidan tedavi ile önlenileceği gösterilmiştir (153,154).

İBH'da eritrosit deformabilitesini gösteren bilgiler sınırlıdır. Sadece bir çalışmada İBH olan hastalarda, periferik venöz kanda eritrosit agregasyonu çalışılmıştır (9). İnflamatuar durumlarda eritrositler agrege olmaya eğilimli olmaktadır (155) ve bu agregasyon özellikle düşük basınç durumlarında kapiller akım yavaşlaması ile ilişkilendirebilir (156). Bununla birlikte artmış eritrosit agregabilitesinin doku deoksijenizasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (157). Hem yavaş akım hem de deoksijenizasyon inflame ve ödematöz intestinal dokularda zararlı olabilir.

III-GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda yapılmıştır. Çalışmaya kliniğimizde İBH polikliniğine başvuran 43 aktif İBH, 48 inaktif dönemde İBH olan ve 45 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Hasta ve sağlıklı kontrol grubundakiler yaş, cinsiyet ve sigara kullanımı gibi demografik özellikler yönünden benzer seçilmiştir. İBH olanlarda hastalığın aktivitesi için; ÜK için Truelove- Witts sınıflaması, CH için ise CDAI (50) kriterleri kullanılmıştır ve CDAI için skor >150 olduğunda aktif hastalık olarak değerlendirilmiştir.

Çalışma Grupları

Grup I: İBH için aktivite kriterlerine uyan 43 hasta.

Grup II: İBH olan ancak inaktif dönemde olan 48 hasta

Grup III: Herhangi bir bilinen sistemik hastalığı olmayan sağlıklı 45 kişilik kontrol .

Çalışma için etik kurul onayı ve çalışmaya dahil edilen tüm hastalara çalışma hakkında bilgi verilerek kendilerinden onay formları alınmıştır. Üç grupta yer alan toplam 136 hastadan kan örnekleri 8 saatlik açlığı takiben, antekubital venden EDTA içeren tüplere alınmıştır. Bu kanın küçük bir bölümü (25 µL), kan alındıktan sonraki 2 saat içinde deformabilite ölçümünde kullanılmıştır. Geriye kalan kan 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek, plazma 0.5-0.75 mL'lik parçalar halinde ependorf tüplerine pipetlenmiştir. Tüpler etiketlenerek derin dondurucuda (-85 °C) saklanmıştır. Kan tüpünde geriye kalan plazma ve kırmızı eritrosit yüzeyindeki lökositçe zengin tabaka aspire edilerek uzaklaştırılmıştır. Eritrosit paketi, soğuk (4 °C) serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ile eski hacmine tamamlanmıştır. Örnek belirtilen biçimde santrifüj-aspirasyon-serum fizyolojik ekleme işlemleri iki kez daha yinelenerek eritrosit paketi elde edilmiştir. Elde edilen eritrosit paleti karıştırılarak birkaç ependorf tüpüne bölünüp ve etiketlenerek derin dondurucuda (-85 °C) saklanmıştır. Eritrosit paketlerinde MDA, plazma örneklerinde GPO ve sülfidril ölçümleri DEÜTF Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

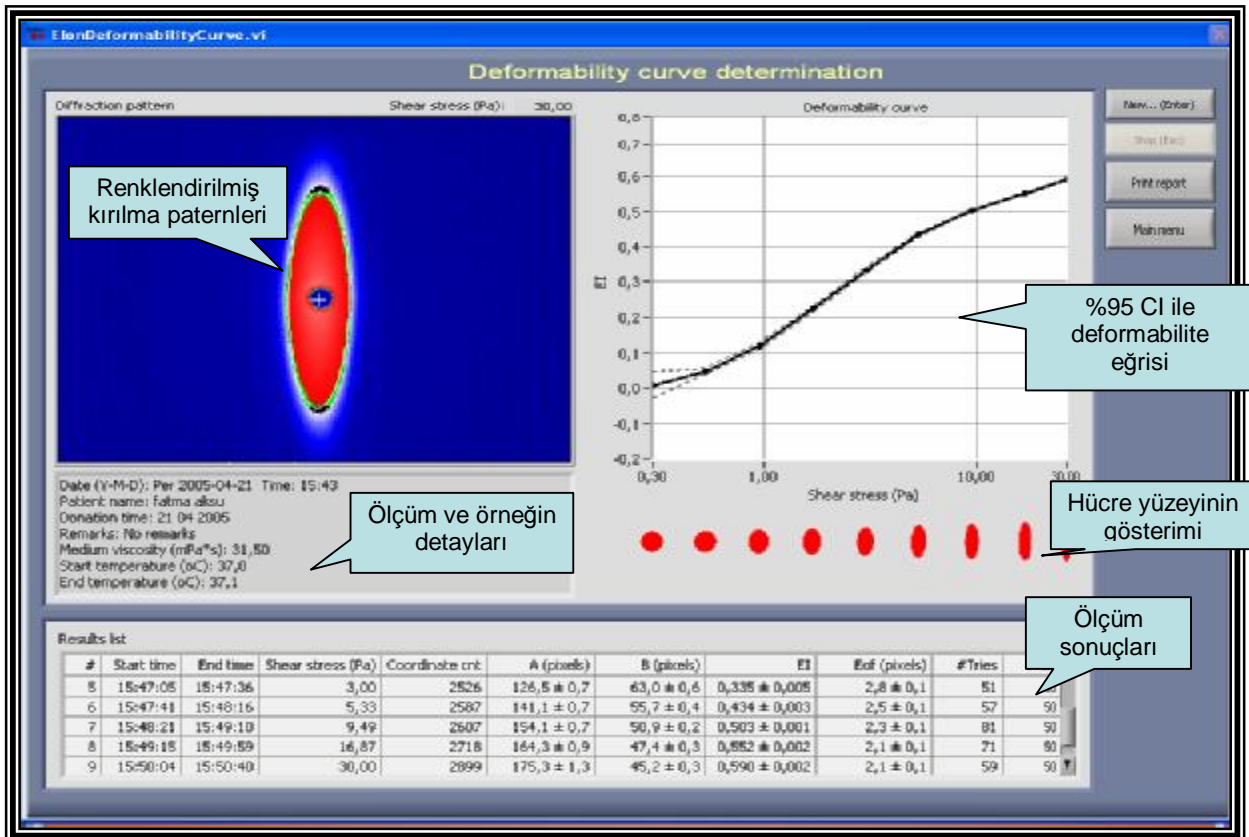
a-Eritrosit Deformabilite Ölçümü

Ölçüm LORCA (Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyser, Mechatronics, Hollanda) cihazında (Resim 2) dolaşımdaki kayma kuvvetlerini taklit eden rotasyonel kuvvete maruz kalan, visköz (PVP solusyonu ile sağlanır) ortamdaki eritrositlerin ışık

kırma paternlerinin özel yazılım ile değerlendirilmesine (Resim 3) ve bunun Elongasyon İndeksi (EI) olarak ifade edilmesine dayanmaktadır (158).



Resim 2. Eritrosit deformabilite ölçümlerinin yapıldığı LORCA cihazı.



Resim 3. LORCA cihazında eritrositlerin ışığı kırma paternlerinin, özel yazılım sonrasında elde edilen hasta sonuç formu.

b-Glutasyon Peroksidaz

GPO aktivitesi 37 °C'de kinetik olarak ölçülmüştür. Ölçümde kümen hidroperoksit substrat olarak kullanılmıştır ve birim zamandaki NADPH tüketim hızı ölçülmüştür. Reaksiyon glutasyon redüktaz ile eşleştirilerek ve ultraviyole bölgede; 340 nm'de ölçüm gerçekleştirilmiştir. NADPH'ın molar ekstinksiyon katsayısı (6.3×10^{-3}) kullanılarak sonuçlar *U/L* olarak ifade edilmiştir (159)

c-Plazmada Total Sülfidril Ölçümü (TSH)

Plazma total (proteine bağlı ve serbest) sülfidril grupları Ellman reaktifi (2,2-ditiyobisnitrobenzoik asit-DTNB) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Oluşan sarı renkli bileşiğin absorbansı 412 nm'de ölçülmüş ve indirgenmiş glutasyon ile çizilen standart grafiğinden yararlanılarak düzeyi belirlenmiştir. Sonuçlar *mM* olarak ifade edilmiştir (160).

d-Eritrosit MDA Ölçümü

MDA ölçümü HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ile ayırım sonrasında florometrik deteksiyon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kısaca, yıkanmış eritrosit örneği tiyobarbütürik asit (TBA) ile 95 °C'de 1 saat inkübe edildikten sonra oluşan MDA-TBA kompleksi organik faza ekstrakte edilmiş ve 10 µL'si C18 ters faz kolonuna enjekte edilmiştir. Örnek izokratik olarak 0.8 mL/dakikalık akış hızında %30 metanol içeren 0.01 M potasyum fosfat tamponu (pH 7.0) ile dilüe edilmiştir. Kolon fırın sıcaklığı 30 °C'dir. Deteksiyon Ex515/Em530 nm dalga boylarında yapılmıştır. MDA pik alanları yazılım aracılığı ile hesaplandı ve 1,1,3,3 tetraetoksi propan kullanılarak çizilen standart grafiği ile kıyaslanarak miktarları saptanmıştır. Aynı örneklerde hemoglobin ölçümü (üretici firma prosedürüne uygun olarak) ticari kit (Sigma Diagnostics 525-2) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Malonildialdehit değerleri gram hemoglobin başına düzeltilerek *mol/g Hb* olarak ifade edilmiştir (161).

e-İstatistiksel Analizler:

İstatiksel analizler SPSS for Windows 11.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm SD (standart deviasyon) olarak verilmiştir. Gruplarda ortalama değerler arasındaki anlamlılık Mann Whitney U test ve Fisher exact test kullanılarak hesaplanmıştır. Parametreler arasındaki korelasyon ise Spearman correlation coefficient

kullanılarak hesaplanmıştır. İki grup verileri karşılaştırıldığında $P < 0.05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

IV-SONUÇLAR

Toplam 136 kişi 3 alt grupta incelenmiştir. Sağlıklı kontrollerden oluşan 45 kişinin (21 kadın, 24 erkek) yaş ortalaması 44.1 yıl ve bu grupta 6 kişi sigara kullanmakta idi. Aktif ve inaktif İBH olan hastaların demografik ve klinik özellikleri Tablo 12'de özetlenmiştir.

	Aktif İBH(n=43)	İnaktif İBH(n=48)
Yaş (yıl)	42.3	45.2
Cinsiyet		
<i>Kadın</i>	21	23
<i>Erkek</i>	22	25
Hastalık		
ÜK	20	22
CH	23	26
Hastalık süresi (yıl)	5.3	6
Sigara kullanımı (n)	7	9
Tedavi		
<i>Sulfasalazin</i>	21	25
<i>Sulfasalazin supp</i>	3	7
<i>Salazopirin</i>	1	5
<i>Oral steroid</i>	6	3
<i>İnfliximab</i>	5	3
<i>Azotioprin</i>	7	6

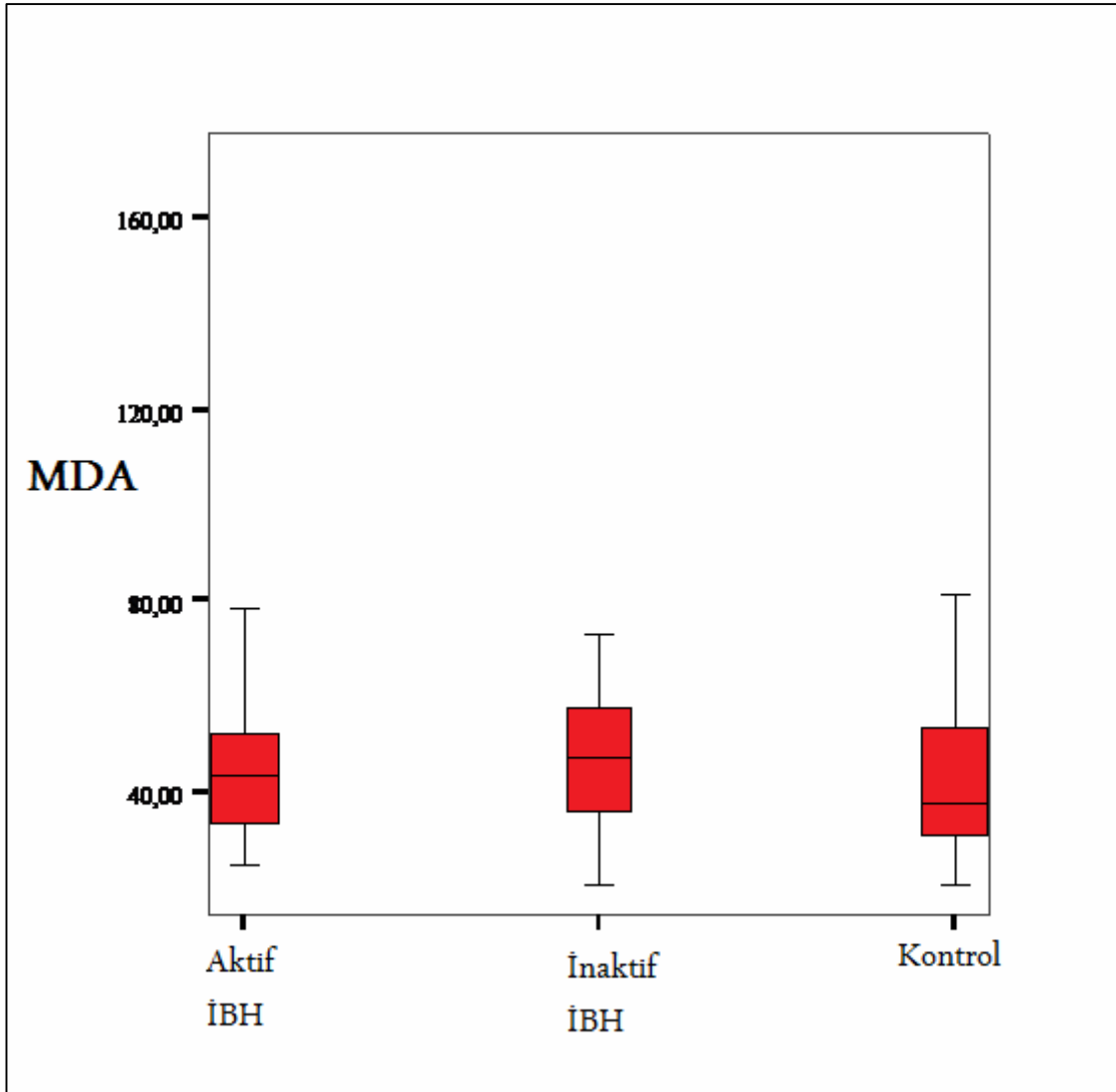
Tablo 12. **ÜK:** Ülseratif kolit. **CH:** Crohn hastalığı. **İBH:** İnflamatuvar barsak hastalığı. Aktif ve inaktif İBH olan hastaların demografik ve klinik özellikleri.

Alt gruplarda saptanan ortalama oksidatif stres parametreleri ve eritrosit deformabilite değerleri Tablo 13'de özetlenmiştir.

	MDA (mol/g Hb)	GPO (U/L)	TSH (mM)	EI
Aktif İBH	51.8±4.3	27.5±1.8	276.4±12.6	0.563±0.005
İnaktif İBH	50.1±3.5	26.6±1.9	325±10.1	0.565±0.004
Kontrol	41.8±2.1	28.3±2.0	348.9±8.2	0.568±0.004

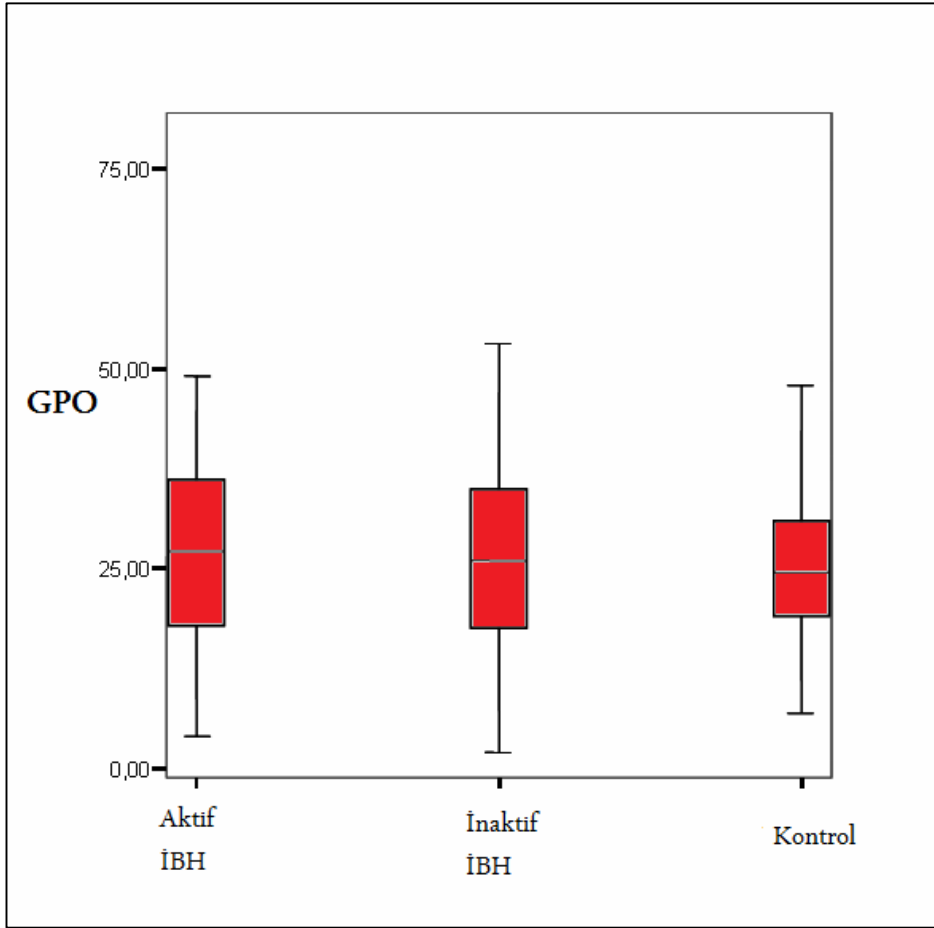
Tablo 13. MDA: Malonildialdehit. GPO: Glutatyon peroksidaz. TSH: Total sülfidril. EI: Elongasyon indeksi. İBH: İnflamatuvar barsak hastalığı. Alt gruplarda saptanan ortalama oksidatif stres parametreleri ve eritrosit deformabilite değerlerinin gösterilmesi.

Eritrosit MDA değeri, hem aktif ($p=0.03$) hem de inaktif İBH ($p=0.05$) grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. En yüksek değerler aktif İBH grubunda saptanmakla beraber, inaktif İBH grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı değildir (Grafik 1).



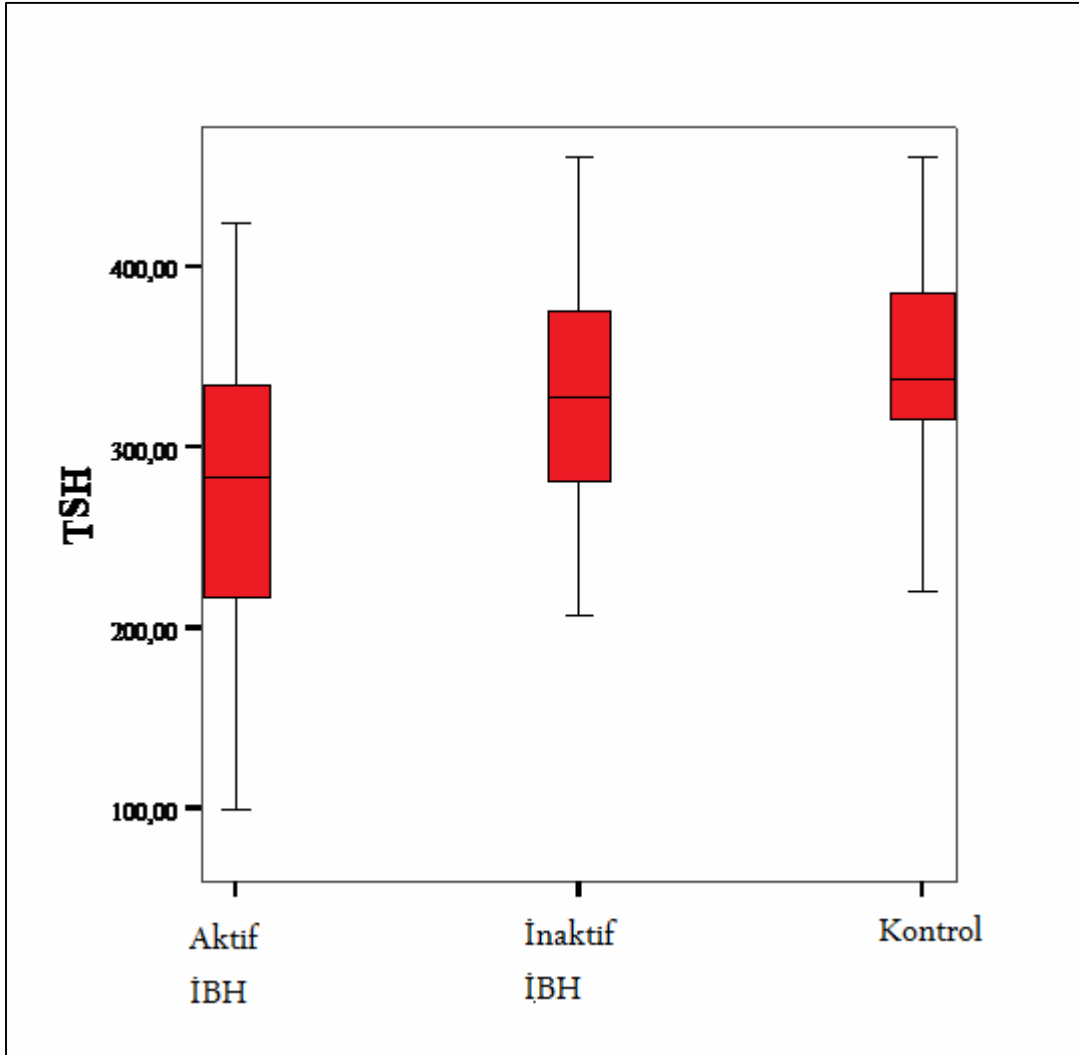
Grafik 1. Alt gruplarda elde edilen MDA değerlerinin karşılaştırılması.

Plazma GPO değerlerinde, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 2).



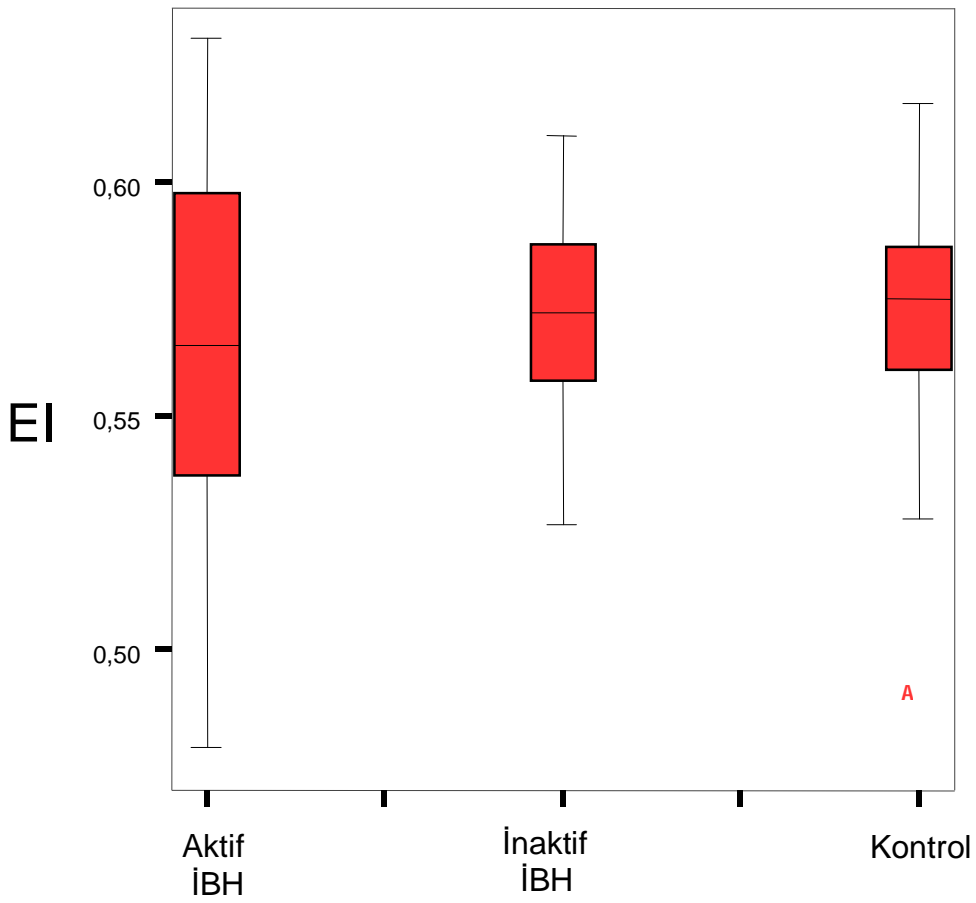
Grafik 2. Alt gruplarda elde edilen GPO değerlerinin karşılaştırılması

En düşük plazma TSH değeri aktif İBH grubunda iken en yüksek TSH değeri kontrol grubunda saptanmıştır. Aktif İBH grubunda ki bu düşük değer hem inaktif İBH grubuna ($p=0.003$) göre hem de kontrol grubuna ($p=0.001$) göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak inaktif İBH grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında değerdeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (Grafik 3).



Grafik 3. Alt gruplarda elde edilen TSH değerlerinin karşılaştırılması

EI, hem aktif ($p<0.05$) hem de inaktif İBH ($p<0.05$) grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük saptanmıştır. En düşük EI, aktif İBH grubunda saptanmakla beraber, inaktif İBH grubu ile arasında istatistiksel anlamlılık yoktur (Grafik 4).



Grafik 4. Alt gruplarda elde edilen EI değerlerinin karşılaştırılması.

Alt gruplarda, MDA, GPO ve TSH düzeyleri ile EI arasında istatistiksel anlamlı olarak korelasyon saptanmamıştır.

V-TARTIŞMA

İBH etyolojisi tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen patogenezin immünolojik anormallikler, genetik faktörler ve çevresel ajanlar arasındaki etkileşime bağlı olduğu düşünülmektedir (162). Son yıllarda İBH patogenezinde ROM'un rolü konusuna ilgi artmıştır (163). Oksidatif stres İBH'da doku hasarında önemli bir rol oynamaktadır. Oksidan defansı oluşturan çok sayıda nonenzimatik ve enzimatik defans sistemleri bulunmaktadır. Bu sistemler ile oksidatif güçler arasındaki dengesizlik oluştuğunda ortaya çıkan oksidatif strese en güzel örneklerden biri kronik barsak inflamasyonudur.

İBH'lı hastalarda artmış aktive inflamatuvar hücre sayısı ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha fazla oranda ROM ürettikleri saptanmıştır (164). Lih-Brody ve arkadaşları (165) İBH olan hastaların mukoza biyopsilerinde artmış ROM, protein oksidasyon ürünleri ve azalmış Cu-Zn SOD aktivitesi saptamışlardır.

Kolon diğer organlara göre mukozasında daha düşük miktarda antioksidan içermesinden dolayı oksidatif hasara daha duyarlıdır. İBH'da endojen antioksidanlarda azalma mevcuttur. Bir antioksidan enzim olan GPO'nun, enzim aktivite eksikliği olan farelerde ileum ve kolonda artmış lipid hidroperoksit düzeylerinin olduğu ve spontan kolit gelişebildiği, bunun da kronik barsak inflamasyonunu önlemede lipid hidroperoksitlerini detoksifiye etme yeteneğinin gerekli olduğunu göstermektedir (147). İntestinal antioksidan enzim aktivite düzeyleri İBH olan olgularda birtakım çalışmalarda incelenmiştir. CAT ve GPO'nun inflamatuvar süreçten etkilenmediği, buna karşın bazı çalışmalarda İBH'lı mukozada artmış GPO bildirilmiştir (145). Çalışmalarda anti oksidan enzim düzeyleri ile ilgili varılan sonuçlar farklılık göstermektedir. Aktif İBH hastalarının mukozalarının değerlendirildiği üç çalışmada azalmış SOD düzeyi gösterilmiştir (165, 166,167). Aktif ve remisyondaki ÜK'li hastaların inflame mukozalarında yapılan iki çalışmada ise GPO aktivitesinde belirgin azalma gösterilmiştir (168). Buna karşın Durak ve arkadaşları (145) ise ÜK'li hastalarda doku GPO düzeylerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptamamışlardır. Ayrıca ÜK hastalarında mukozal dokuda MDA düzeylerini de anlamlı olarak düşük saptamışlardır. Yazarlar bu sonuçları mukozanın oksidatif hasar altında olmamasına ve yeterli defans mekanizmasına bağlamışlardır. Tüzün ve arkadaşları (169) ise çalışmalarında İBH hastalarının plazmalarında GPO düzeylerini anlamlı olarak yüksek saptarken, Bhaskar ve arkadaşları

(170) çalışmalarında hastalıklı ve kontrol grubu arasında MDA düzeylerinde fark saptamamışlardır. Thomas ve arkadaşları da (171) azalmış eritrosit GPO düzeyleri ve artmış plazma GPO düzeyleri saptamışlardır. Biagioni ve arkadaşlarının (172) yaptığı diğer bir çalışmada CH olgularının nötrofillerinde hücre içi oksidatif durumu değerlendirmişler ve glutatyon/glutatyon disülfid oranının azaldığını göstermişlerdir. Bu azalmış oranın CH'da doku hasarı ve inflamasyon oluşma nedeni olabileceğini ve İBH patogenezinde yer alan immün yanıtta anormallikten sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir. Tüm çalışmalar ele alındığında İBH olan hastalarda oksidan ve antioksidan enzim düzeyleri ile ilgili birçok çalışma bulunmakla beraber, sonuçlar birbirinden farklılıklar göstermektedir. Genel ortak kanı, oksidan enzimlerde artışın olduğu ve anti oksidan enzimlerde yetersizliktir. Çalışmalardaki bu farklı sonuçlar çalışma gruplarındaki İBH ciddiyetindeki farklılara ve hastalarda mukozadaki rezidüel antioksidan kapasite farklılığına bağlı olabilir (169). Biz çalışmamızda oksidatif enzim olarak baktığımız MDA düzeylerinin hem aktif hem de inaktif İBH grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulduk. Enzimatik antioksidan sistemin bir enzimi olan GPO düzeyleri arasında ise, aktif ve inaktif İBH grubunda kontrol gruba oranla düşük bulmakla beraber bu farklılık kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonucumuz bazı yayınlarda da belirtilen, CAT ve GPO'nun inflamatuvar süreçten etkilenmemesi nedeniyle olabilir. Çalışmamızda bakılan non enzimatik antioksidan olan TSH düzeylerini ise aktif İBH hastalarında en düşük bulduk. Bu düşük değer hem inaktif hemde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Genel olarak saptadığımız MDA düzeylerindeki artış ve TSH düzeylerinde azalmanın saptanması İBH'nin etyolojisinde ROM'da artış ve antioksidan sistemde yetersizlik olduğu görüşlerini desteklemektedir.

Anti oksidan defans mekanizmaları kronik enflamasyonda yetersiz kalabilir. Bunların düzeyleri normal barsakta diğer dokulara göre çok daha azdır. Örneğin insan kolon mukozası, submukozası ve muskularis/serozasındaki SOD, CAT ve GPO insan ince barsağı ve karaciğerine göre çok daha azdır (173). Antioksidan enzim sistemlerinin mukoza ve submukozadaki ekspresyonundaki artma, deneysel ve klinik İBH'lı olgularda inflamasyonu azaltabilmektedir. Spesifik bir süperoksit radikal kurtarıcısı olan SOD'un tedavide kullanılmasına iyi yanıtlar alındığı bazı yayınlarda bildirilmiştir (174).

Ayrıca İBH tedavisinde kullanılan sulfasalazin ve metabolitlerinin yüksek oranda etkili ROM kurtarıcısı olduğu gösterilmiştir (175). Antioksidanların tedaviye eklenmesi özellikle akut ataklar sırasında yararlı olabilmektedir.

Plazma viskozitesinin önemli bir bileşeni olan eritrosit deformabilitesi, oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda (DM, RA, KBY, sepsis gibi) yaygın olarak çalışılmıştır. Ancak İBH'da eritrosit deformabilitesi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. İnflamatuar durumlarda eritrositler agregre olmaya eğilimli olduğu bilinmektedir (155) ve bu agregasyon özellikle düşük basınç durumlarında kapiller akım yavaşlaması ile ilişkilendirilebilir (156). Bununla birlikte artmış eritrosit agregabilitesinin doku deoksijenizasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (157). Bu fenomen inflammatuar ve iskemik durumlarda doku hasarına katkıda bulunabilir. İBH ile yapılan az sayıda çalışmada, Liaz ve arkadaşları (9) İBH'lı olgularda periferik venöz kanda eritrosit agregasyonunu değerlendirmişlerdir. Farklı aktivite derecesinde 52 ÜK, 96 CH olan olgular kontrol grupları ile eşleştirilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İBH olan her iki grupta, eritrosit agregasyonunun derecesinin arttığı belirtilmiştir. Bu agregasyon artışı düşük aktivite ve remisyonunda bile izlenmiştir. Lobo ve arkadaşları (176) ise, İBH'lı hastalarda hastalık aktivitesi ile plazma viskozitesi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. 60 CH ve 71 ÜK hastası çalışmaya dahil edilmiştir. Aktif CH'sı olanlarda plazma viskozitesini, inaktif ve aktif ÜK'ye göre anlamlı yüksek bulmuşlardır. Ancak aktiviteyi belirlemede eritrosit sedimentasyon hızının yerini alacak kadar değerli bulmamışlardır.

Lipid peroksidasyonundan polimerizasyon reaksiyonlarında oluşan bir ROM olan MDA sorumludur. Yapılan bir çalışmada MDA'nın eritrositlere eklenmesi ile diğer lipid peroksidasyonu basmakları oluşmaksızın eritrosit deformabilitesi azalmıştır. Eritrosit membranlarının peroksidasyonu eritrosit deformabilitesinde azalmaya yol açmaktadır. Uyesaka ve arkadaşları (152) superoksit anyonuna maruz kalmış eritrositlerde deformabilitesini azaltacak yeni protein bandlarının oluşumu ile birlikte membran proteinlerinin (band 3 ve spektrin) belirgin yıkımının görüldüğünü göstermişlerdir. Ratlarda çekal ligasyon ve delme ile oluşturulan sepsiste, Powell ve arkadaşları (153,154) eritrosit deformabilitesindeki kaybın antioksidan α -tokoferol ile öncül tedavi ile önlenileceğini göstermişlerdir. Çalışmamızda eritrosit deformabilitesi ölçümleri EI olarak belirtilmiştir. EI, hem aktif hemde inaktif İBH grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. EI'daki azalma aktif İBH hastalarında daha fazla

olmakla beraber inaktif İBH grubu ile arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu. Sonucumuz oksidatif stres artışı ile paralellik gösteren eritrosit deformabilitesindeki azalmayı göstermektedir.

İBH etyolojisinde öne sürülen hipotezlerden biri de mikrovasküler iskemidir (127). Mikrovasküler tromboz ve mikrovasküler akımda yavaşlama bu faktörlerden bazılarıdır (177). Mikrovasküler iske mi etyolojisi halen tam olarak belirlenememiştir. Funayama ve arkadaşları (129) CH olan kişilerden alınan barsak dokularında doku histometrisi kullanarak intestinal mikrosirkülasyonu incelemiştir. Bu yazarlar CH'nın erken dönemlerinde derin submukozal ve distal mezenterik arter arasında artmış vasküler rezistans ve eşlik eden lokal barsak iskemisi gibi sirkulatu ar bozuklukların oluştuğunu göstermişlerdir. Morfolojik olarak kronik inflame mikrodamarlar normal kontrol grubuyla karşılaştırıldığında incelmış ve tıkalıdır. Bütün bu çalışmalar sonucunda, vasküler hasarın derecesi ile korele olan barsak hasarının ciddiyeti kronik inflamatu ar lezyonların patogene zinde rol almakta olduğu düşünölmektedir. Hulten ve arkadaşları (178) da kronik inflame İBH'li dokularda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında barsak perfüzyonunda azalma ve histolojik olarak persistant ülserasyon ve intestinal fibrozisin eşlik ettiğini saptamışlardır. Angerson ve arkadaşları (179) da benzer şekilde kronik inflame CH olgularının barsağında belirgin olarak azalmış perfüzyonu göstermişlerdir. Çalışmamızın sonucunda da bulduğumuz gibi belki de eritrosit deformabilitesindeki azalma mikrovasküler akımdaki bu değışikliklere katkıda bulunuyor olabilir.

Sonuç olarak çalışmamız, İBH olan hastalarda eritrosit deformabilitesinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda bulunan yüksek MDA ve düşük TSH düzeyleri hastalığın patolojisinde oksidatif stresi ortaya koymaktadır. Yüksek eritrosit MDA düzeyleri aktif hastalıkta eritrosit deformabilitesine neden oluyor olabilir. GPO düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmaması, bazı çalışmalarda belirtilen GPO'nun inflamasyonu belirtmedeki yetersizliği nedeniyle olabilir. Azalmış eritrosit deformabilitesi, son zamanlarda üzerinde durulan mikrovasküler iskeminin tetikleyicisi olabilir. İBH'lı hastalarda eritrosit deformabilitesi ile ilgili yayınların olmaması nedeniyle yeterli kıyaslama mümkün olamamıştır. Bu konuda daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

VI-ÖZET

Amaç: Bu çalışmamızda, İBH olan hastalarda oksidatif stres ve eritrosit deformabilitesinin etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızın sonucunda elde edilecek veriler ile, etyopatogenez hakkında yeni bilgiler sağlanması ve nedene yönelik tedavi seçeneklerine de ışık tutması planlanmıştır.

Giriş: Son yıllarda, İBH etyopatogenezinin aydınlatılması konusunda yoğun çalışmalar yapılmıştır. Etyopatogenezinde birçok faktör yer almaktadır. Çevresel risk faktörleri, genetik, immünolojik faktörler, mukozal geçirgenliğin artması ve mikroorganizmalar başlıca etyopatogenetik faktörlerdir. Patogenezde üzerinde durulan önemli faktörlerin başında oksidatif stres ve mikrovasküler akımda yavaşlama gelmektedir. Artmış oksidatif stresin eritrosit deformabilitesinde azalmaya yol açtığı belirtilmektedir. Ancak İBH olan hastalarda eritrosit deformabilitesi ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Mikrovasküler akımdaki yavaşlama ile eritrosit deformabilitesi arasındaki neden-sonuç ilişkisi tam aydınlatılamamıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. 43 aktif İBH, 48 inaktif dönemde İBH olan ve 45 sağlıklı kontrol 3 grup altında toplanarak periferik venöz kanları alınmıştır. İlk alınan kan 2 saat içinde eritrosit deformabilite ölçümünde kullanılmıştır. Geriye kalan kanda eritrosit paketleri ve plazma ayrılarak derin dondurucuda saklanan örneklerde eritrosit paketlerinde MDA, plazma örneklerinde GPO ve sülfidril ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Sonuçlar: Toplam 136 kişi 3 alt grupta incelenmiştir. Eritrosit MDA değeri, hem aktif ($p=0.03$) hem de inaktif İBH ($p=0.05$) grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Plazma GPO değerlerinde, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. En düşük plazma TSH değeri aktif İBH grubunda iken en yüksek TSH değeri kontrol grubunda saptanmıştır. Aktif İBH grubunda ki bu düşük değer hem inaktif İBH grubuna ($p=0.003$) göre hem de kontrol grubuna ($p=0.001$) göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak inaktif İBH grubundaki düşük değer, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Eritrosit deformabilitesi değerini gösteren elongasyon indeksi (EI), hem aktif ($p<0.05$) hem de inaktif İBH ($p<0.05$) grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük saptanmıştır.

Alt gruplarda, eritrosit MDA, plazma GPO ve TSH düzeyleri ile EI arasında istatistiksel anlamlı olarak korelasyon saptanmamıştır.

Sonuç olarak çalışmamız, İBH olan hastalarda eritrosit deformabilitesinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Çalışmamızda bulunan yüksek eritrosit MDA ve düşük plazma TSH düzeyleri hastalığın patolojisinde oksidatif stresi ortaya koymaktadır. Artmış eritrosit MDA'nın eritrosit deformabilitesinde azalmaya yol açtığı düşünülmüştür. Azalmış eritrosit deformabilitesi ise son zamanlarda üzerinde durulan mikrovasküler iskeminin tetikleyicisi olabilir.

VII-ABSTRACT

Aim: In our study we investigated the effect of oxidative stress and erythrocyte deformability in IBD. The data as a result of our study will give us new information about the etiopathogenesis and as these data about IBD increases they will set light to new treatment choices for the reason.

Introduction: In recent years, lots of study are done to light up the etiopathogenesis. There are many factors playing role in the etiopathogenesis. Environmental risk factors, increased mucosal permeability and microorganisms are the major etiopathogenetic factors. Oxidative stress and reduced microvascular flow are important factors in the pathogenesis. The increased oxidative stress reduces the erythrocyte deformability. But in IBD, there are no studies which evaluate erythrocyte deformability in the literature. The relationship between erythrocyte deformability and reduced-microvascular flow is not clarified exactly.

Methods: Our study was performed in Gastroenterology Division of the University of Dokuz Eylül. We divided patients into three subgroups; 43 patients with active IBD, 48 patients with inactive IBD and 45 healthy controls. Peripheral venous bloods were taken from each patient. The erythrocyte deformability was measured in two hours. The erythrocyte packages and plasma were separated in the remaining blood and kept in deep freeze. Malonyldialdehyde (MDA) levels were measured in erythrocyte packages. Glutathione peroxidase (GPO) and sulfhydryl levels were measured in plasma specimens.

Results: Totally 136 people were investigated in three subgroups. Erythrocyte MDA levels in both active and inactive IBD were increased significantly ($P=0.005$) compared with control groups. Plasma GPO levels did not show statistically significant difference between all groups. While the lowest plasma total sulfhydryl (TSH) levels were found in active group, the highest plasma TSH levels were found in the control group. The decreased plasma TSH levels in active IBD were statistically significant compared with both the inactive IBD ($p=0.003$) and the control group ($p=0.001$). But plasma TSH levels in inactive IBD group did not show statistically significant difference when compared with the control group. Elongation index (EI) which shows erythrocyte deformability value in both active ($p<0.05$) and inactive IBD ($p<0.05$) increased significantly compared with control group. The correlations were not found statistically significant between the EI and GPO, MDA, TSH levels in all groups.

As a result our study is the first study that evaluates the erythrocyte deformability in IBD. In our study increased erythrocyte MDA levels and decreased plasma TSH levels manifested the role of oxidative stress in the pathogenesis of the disease. It is thought that the increased erythrocyte MDA values cause the reduction in erythrocyte deformability. The reduction of erythrocyte deformability may play a role in triggering the microvascular ischemia.

VIII-KAYNAKLAR

1. Pravda J. Radical induction theory of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005;11:2371-2384.
2. Conner EM, Brand SJ, Davis JM, et al. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in inflammatory bowel disease: toxins, mediators, and modulators of gene expression. *Inflamm Bowel Dis*. 1996;2:133–147.
3. Grisham MB. Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. *Lancet* 1994;344:859–861.
4. Harris ML, Schiller HJ, Reilly PM, et al. Free radicals and other reactive oxygen metabolites in inflammatory bowel disease: cause, consequence or epiphenomenon? *Pharmacol. Ther.* 1992; 53:375–408.
5. Rachmilewitz D, Stampler JS, Bachwich D, et al. Enhanced colonic nitric oxide generation and nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 1995;36:718–723.
6. Singer II, Kawka DW, Scott S, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1996; 111:871–885.
7. Ossama AH, Heidemann J, David M. The Intestinal Microvasculature as a Therapeutic Target in Inflammatory Bowel Disease *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006;1072:78–97.
8. Piagnerelli M, Boudjeltia KZ, Vanhaeverbeek M, et al. Red blood cell rheology in sepsis. *Intensive Care Med* 2003;29:1052–1061.
9. Zilberman L, Rogowski O, Rozenblat M, et al. Inflammation-Related Erythrocyte Aggregation in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Digestive Diseases and Sciences* 2005; 50: 677–683.
10. Fegan B, Rishmond S. Epidemiology of inflammatory bowel disease. In: *The clinician's guide to inflammatory bowel disease*. Lichenstein GR (Ed). Slack, USA, 2003;1-6.
11. Loftus E, Sandborn W. Epidemiology of inflammatory bowel disease. Edited by Gary R. Regueiro M *Gastroenterology Clinics of North America*. Inflammatory Bowel Disease. 2002;1-20.

12. Marshall J, Hilsden RJ. Environment and epidemiology of inflammatory bowel disease. In: Inflammatory Bowel Disease. Edited by Satsangi J and Sutherland L. Elsevier Limited 2003;17-29.
13. İnflamatuvar Barsak Hastalıkları Derneği Epidemiyoloji Veri Tabanı.2006
14. Andres PG, Friedman LS. Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 1999;28:255–281.
15. Sandler RS, Loftus EV Jr. Epidemiology of inflammatory bowel disease. In: Sartor RB, Sandborn WJ, eds. *Kirsner's Inflammatory Bowel Diseases*, 6th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2004:245–262.
16. Loftus EV Jr, Sandborn WJ. Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2003;31:1–20.
17. Trachtenberg EA, Yang H, Hayes E, et al. HLA class II haplotype associations with inflammatory bowel disease in Jewish (Ashkenazi) and non-Jewish caucasian populations. *Hum Immunol* 2000;61:326-333.
18. Bouma G, Oudkerk Pool M, Crusius JB, et al. Evidence for genetic heterogeneity in inflammatory bowel disease (IBD); HLA genes in the predisposition to suffer from ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). *Clin Exp Immunol* 1997 109:175-179.
19. Hugot JP, Zouali H, Lesage S. Lessons to be learned from the NOD2 gene in Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:593-597.
20. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, et al. Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996;379:821-823.
21. Krishnan A, Korzenik JR. Inflammatory bowel disease and environmental influences. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002;31:21–39.
22. Farrell RJ, LaMont JT. Microbial factors in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2002;31:41–62.
23. Crohn's & Colitis Foundation of America. Living with Crohn's Disease [educational brochure]. Available at: <http://www.ccfa.org>. Accessed August 19, 2005.
24. Sonnenberg A. Occupational mortality of inflammatory bowel disease. *Digestion.* 1990;46:10–18.
25. Sonnenberg A. Occupational distribution of inflammatory bowel disease among German employees. *Gut.* 1990;31:1037–1040.

26. Persson PG, Ahlbom A, Hellers G. Diet and inflammatory bowel disease: a case-control study. *Epidemiology*. 1992;3:47–52.
27. Loftus EV Jr, Sandborn WJ, Tremaine WJ, et al. Primary sclerosing cholangitis is associated with nonsmoking: a case-control study. *Gastroenterology*. 1996;110:1496–1502.
28. Van Erpecum KJ, Smits SJ, van de Meeberg PC, et al. Risk of primary sclerosing cholangitis is associated with nonsmoking behavior. *Gastroenterology*. 1996;110:1503–1506.
29. Merrett MN, Mortensen N, Kettlewell M, et al. Smoking may prevent pouchitis in patients with restorative proctocolectomy for ulcerative colitis. *Gut*. 1996;38:362–364.
30. Lindberg E, Tysk C, Andersson K, et al. Smoking and inflammatory bowel disease: a case control study. *Gut*. 1988;29:352–357.
31. Madretsma S, Wolters LM, van Dijk JP, et al. In-vivo effect of nicotine on cytokine production by human non-adherent mononuclear cells. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996 ;8:1017-1020.
32. Evans JM, McMahon AD, Murray FE, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs are associated with emergency admission to hospital for colitis due to inflammatory bowel disease. *Gut* 1997;40:619-622.
33. Theis MK, Boyko EJ. Patient perceptions of causes of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1920.
34. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, et al. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988;29:990-996.
35. Weterman IT, Pena AS. Familial incidence of Crohn's disease in The Netherlands and a review of the literature. *Gastroenterology* 1984;86:449-452.
36. Forcione DG, Sands B, Isselbacher KJ, et al. An increased risk of Crohn's disease in individuals who inherit the HLA class II DRB300301 allele. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 14;:5094-5101.
37. Toyoda H, Wang SJ, Yang HY, et al. Distinct associations of HLA class II genes with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1993;104:741-748.
38. Satsangi J, Morecroft J, Shah NB, et al. Genetics of inflammatory bowel disease: scientific and clinical implications. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003;17:3–18.

39. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:79–94.
40. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:521–533.
41. Rath HC, Schultz M, Freitag R, et al. Different subsets of enteric bacteria induce and perpetuate experimental colitis in rats and mice. *Infect Immun.* 2001;69:2277–2285.
42. Colletti T. IBD—recognition, diagnosis, and therapeutics. *JAAPA.* 2004; 7:16–24.
43. Sonnenberg MS. Pathogenic strategies of enteric bacteria. *Nature.* 2000;406:768–774.
44. Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H, et al. Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of I κ B- α ubiquitination. *Science.* 2000;289:1560–1563.
45. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2002;347: 417–429.
46. Neurath MF, Weigmann B, Finotto S, et al. The transcription factor T-bet regulates mucosal T cell activation in experimental colitis and Crohn's disease. *J Exp Med.* 2002;195:1129–1143.
47. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest.* 2004;113:1490–1497.
48. Fuss IJ. Cytokine network in inflammatory bowel disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2003;2:101–112.
49. Legnani P, Kornbluth A. Clinical features, course, and laboratory findings in ulcerative colitis. In: *The clinician's guide to inflammatory bowel disease.* Lichenstein GR (Ed). Slack, USA, 2003;41-59.
50. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis. *Br Med J* 1955;2:1041-1044.
51. Best WR, Becktel JM, Singleton JW, et al. Development of a Crohn's disease activity index: national Cooperative Crohn's disease Study. *Gastroenterology* 1976;70:439-444.
52. Riley SA, Mani V, Goodman MJ, et al. Comparison of delayed-release 5-aminosalicylic acid (mesalazine) and sulfasalazine as maintenance treatment for patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1988;94:1383-1389.
53. Sostegni R, Daperno M, Scaglione N, et al. A. Review article: Crohn's disease: monitoring disease activity. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:11-17.

54. Gomes P, du Boulay C, Smith CL, et al. Relationship between disease activity indices and colonoscopic findings in patients with colonic inflammatory bowel disease. *Gut* 1986;27:92-95.
55. Geboes K, Dalle I. Influence of treatment on morphological features of mucosal inflammation. *Gut* 2002;50:37-42.
56. Travis S, Lewell D. Ulcerative Colitis: clinical presentation and diagnosis. In: *Inflammatory Bowel Disease*. Edited by Satsangi J and Sutherland L. Elsevier Limited 2003;169-183.
57. Isaacs KL. Upper gastrointestinal tract endoscopy in inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endoscopy Clin N Am* 2002;12:452-462.
58. Kornbluth AA, Salomon P, Sacks HS, et al. Meta-analysis of the effectiveness of current drug therapy of ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol* 1993; 16: 215–218.
59. Miner P, Daly R, Nester T and the Rowasa1 Study Group. The effect of varying dose intervals of mesalamine enemas for the prevention of relapse in distal ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1994; 106: A736.
60. Habal FM, Kirkpatrick A, Greenberg GR. Long term safety of 5-aminosalicylic acid in inflammatory bowel disease: a seven year follow-up. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: A1691.
61. Salomon P, Kornbluth A, Aisenberg J, et al. How effective are current drugs for Crohn's disease? A meta-analysis. *J Clin Gastroenterol* 1992; 14: 211–215.
62. *Drug Facts and Comparisons*. 58th ed. St. Louis, MO: Wolters Kluwer Health; 2004: 399.
63. Escher JC. Budesonide versus prednisolone for the treatment of active Crohn's disease in children: a randomized, double-blind, controlled, multicenter trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004;16:47-54.
64. Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL, et al. Glucocorticoid therapy for immunemediated diseases: basic and clinical correlates. *Ann Intern Med* 1993; 119: 1198–1208.
65. Hawthorne AB, Hawkey CJ. Immunosuppressive drugs in inflammatory bowel disease. A review of their mechanisms of efficacy and place in therapy. *Drugs* 1989; 38: 267–288.

66. de Jong DJ, Goulet M, Naber TH. Side effects of azathioprine in patients with Crohn's disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004;16:207-212.
67. Satsiangi J, Sutherland LR, Eds. *Inflammatory bowel disease*. Churchill and Livingstone, 2003.
68. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak. Derg.* 2004;15:91-96.
69. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Derg.* 1989;9:2-5.
70. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet* 1994;344:721-725.
71. Sies H. Oxidative stress from basic research to clinical application. *The Am J Med* 1991;3:31-35.
72. Shibuya H, Ohkohchi N, Tsukamoto S, et al. Tumor necrosis factor-induced, superoxide-mediated neutrophil accumulation in cold ischemic / reperfused rat liver. *Hepatology* 1997; 26: 113–120.
73. Martí'nez J, Moreno JJ. Influence of superoxide radical and hydrogen peroxide on arachidonic acid mobilization. *Arch Biochem Biophys* 1996; 336: 191–198.
74. Rosen GM, Pou S, Ramos CL, et al. Free radicals and phagocytic cells. *FASEB J* 1995; 9: 200–209.
75. Nathan CF. Neutrophil activation on biological surfaces. Massive secretion of hydrogen peroxide in response to products of macrophages and lymphocytes. *J Clin Invest* 1987; 80: 1550–1560
76. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365–376.
77. Wakefield A, Snakey E, Dhillon A, et al. Pathogenesis of Crohn's disease: multifocal gastrointestinal infarction. *Lancet* 1989; 2: 1057–1062.
78. Baker SS, Campbell CL. Rat enterocyte injury by oxygen-dependent processes. *Gastroenterology* 1991; 101: 716–720.
79. Mulier B, Rahman I, Watchorn T, et al. Hydrogen peroxide induced epithelial injury: the protective role of intracellular nonprotein thiols (NPSH). *Eur Respir J* 1998; 11: 384–391.
80. Wardman P, Candeias LP. Fenton chemistry: an introduction. *Radiat Res* 1996; 145: 523–531.

81. King CC, Jefferson MM, Thomas EL. Secretion and inactivation of myeloperoxidase by isolated neutrophils. *J Leuk Biol* 1997; 61: 293–302.
82. Schraufstaetter IU, Browne K, Harris A, et al. Mechanisms of hypochlorite injury of target cells. *J Clin Invest* 1990; 85:554–562.
83. Carr AC, Winterbourn CC. Oxidation of neutrophil glutathione and protein thiols by myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. *Biochem J* 1997; 327: 275–281.
84. Zavodnik IB, Lapshina EA, Zavodnik LB, et al. Hypochlorous acid damages erythrocyte membrane proteins and alters lipid bilayer structure and fluidity. *Free Rad Biol Med* 2001; 30: 363–369.
85. Ma TY, Hollander D, Freeman D, et al. Oxygen free radical injury of IEC-18 small intestinal epithelial cell monolayers. *Gastroenterology* 1991; 100: 1533–1543.
86. Lubec G. The hydroxyl radical: from chemistry to human disease. *J Invest Med* 1996; 44: 324–346.
87. Tabatabaie T, Potts JD, Floyd RA. Reactive oxygen species-mediated inactivation of pyruvate dehydrogenase. *Arch Biochem Biophys* 1996; 336: 290–296.
88. Takeuchi T, Nakajima M, Morimoto K. Relationship between the intracellular reactive oxygen species and the induction of oxidative DNA damage in human neutrophil-like cells. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1543–1548.
89. Kehrer JP. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000; 149: 43–50.
90. Yim MB, Chock PB, Stadtman ER. Copper, zinc superoxide dismutase catalyzes hydroxyl radical production from hydrogen peroxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5006–5010.
91. Candeias LP, Patel KB, Stratford MRL, et al. Free hydroxyl radicals are formed on reaction between neutrophil-derived species superoxide anion and hypochlorous acid. *FEBS Lett* 1993; 333: 151–153.
92. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd edn. Oxford: Clarendon Press, 1989.
93. Klyubin IV, Kirpichnikova KM, Gamaley IA. Hydrogen peroxide-induced chemotaxis of mouse peritoneal neutrophils. *Eur J Cell Biol* 1996; 70: 347–351.

94. Johnston B, Kanwar S, Kubes P. Hydrogen peroxide induces leukocyte rolling: modulation by endogenous antioxidant mechanisms including NO. *Am J Physiol* 1996; 271:614–621.
95. Grisham MB, Jourdeuil D, Wink DA. Nitric oxide. I. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation. *Am J Physiol* 1999; 276:315–321.
96. Kubes P, McCafferty DM. Nitric oxide and intestinal inflammation. *Am J Med* 2000; 109: 150–158.
97. Lefer AM, Lefer DJ. Nitric oxide. II. Nitric oxide protects in intestinal inflammation. *Am J Physiol* 1999; 276:572–575.
98. Murphy MP, Packer MA, Scarlett JL, et al. Peroxynitrite: a biologically significant oxidant. *Gen Pharmacol* 1998; 31:179–186.
99. Aslan R, Şekeroğlu M, and Bayiroğlu. Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma . *Sağlık Bil. Derg.* 1995; 2:137-142.
100. Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol* 1980; 492: 153-168.
101. Gutteridge J .M. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage . *Clin.Chem.* 1995; 41:1819-1828.
102. Byung PY. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews* 1994;74:139-172.
103. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nutr* 1996; 16: 33–50.
104. Harding JJ, Blakytyn R, Ganea E. Glutathione in disease. *Biochem Soc Trans* 1996; 24: 881–883.
105. Koster JF, Biemond P, SwaakJG. et al. Intracellular and extracellular sulfhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1986;45:44-46.
106. Kadota K, Yui Y, Hattori R. et al. Decreased sulphhydryl groups of albumin in coronary artery disease. *Jpn. Circ.J.* 1991;55:937-941. •
107. Lorber A, Pearson CM, Wrother L. et al. Serum sulphhydryl determinations and significance in connective tissue diseases. *Ann Int Med.* 1964;61:423-434.

108. Collier A, Wilson R, Bradley H. et al. Free radical activity in type 2 diabetes. *Diabet Med* 1990;7:27-30..
109. Davis SR, Cousins RJ. Metallothionein expression in animals: a physiological perspective on function. *J Nutr* 2000; 130:1085–1088.
110. Thornalley PJ, Vas̃a`k M. Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochim Biophys Acta* 1985; 827: 36–44.
111. Cai L, Klein JB, Kang YJ. Metallothionein inhibits peroxynitrite- induced DNA and lipoprotein damage. *J Biol Chem* 2000; 275: 38 957–960.
112. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Ann Rev Biochem* 1995; 64: 97–112.
113. Jones DP, Eklow L, Thor H, et al. Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes: relative contribution of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H₂O₂. *Arch Biochem Biophys* 1981; 210: 505–516.
114. Pereira B, Costa Rosa LFBP, Safi DA, et al. Hormonal regulation superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in rat macrophages. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 2093–2098.
115. Seven A, Candan G. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu. *Klinik Gelişim*. 1994;8 3906-3911.
116. Bounnes-Taourel D, Guerin MC, Torreilles J. Is Malonaldehyde a valuable indicator of lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol* . 1992;44: 985-988.
117. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324: 1–18.
118. Henle ES, Linn S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 1997; 272:19095–19098.
119. McConkey DJ. Biochemical determinants of apoptosis and necrosis. *Toxicol Lett* 1998; 99: 157–168.
120. Gardner AM, Xu F-H, Fady C, et al. Apoptotic vs. nonapoptotic cytotoxicity induced by hydrogen peroxide. *Free Rad Biol Med* 1997; 22: 73–83.
121. Baker AF, Briehl MM, Dorr R, et al. Decreased antioxidant defence and increased oxidant stress during examethasoneinduced apoptosis: bcl-2 prevents the loss of antioxidant enzyme activity. *Cell Death Diff* 1996; 3: 207–213.

122. Murray R, Mayes P, Granner D, Rodwell V. Harper'ın Biyokimyası, çev: Menteş G, Ersöz B. İstanbul. Barış kitabevi 1993:136-151.
123. Ohyashiki T, Ohtsuka T, Mohri T. A change in the lipid fluidity of the porcine intestinal brush-border membranes by lipid peroxidation. Studies using pyrene and fluorescent stearic acid derivatives. *Biochim Biophys Acta* 1986; 861: 311–318.
124. Jourdain D, Vaananen P, Meddings JB. Lipid peroxidation of the brush-border membrane: membrane physical properties and glucose transport. *Am J Physiol* 1993; 264:1009–1015.
125. Frei B, Stocker R, Amans B. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9748- 9752.
126. Lau AT, Wang Y, Chiu JF. Reactive oxygen species: Current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem*. 2008 [Epub ahead of print]
127. Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD (1932) Regional ileitis; a pathological and clinical entity. *JAMA* 99:1323–1338.
128. Thornton M, Solomon MJ. Crohn's disease: In defense of a microvascular aetiology. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17:287–297.
129. Funayama Y, et al. Remodeling of vascular wall in Crohn's disease. *Dig. Dis. Sci.* 1990;44: 2319–2323.
130. Wakefield A.J, et al. Granulomatous vasculitis in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1991;100: 1279–1287.
131. Boger RH, et al Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998;32: 1336–1344.
132. Hatoum O.A, et al. Acquired microvascular dysfunction in inflammatory bowel disease: loss of nitric oxide-mediated vasodilation. *Gastroenterology* 2003;125: 58–69.
133. Kruidenier L, Kuiper G, Van Duijn W, et al. Differential mucosal expression of three superoxide dismutase isoforms in inflammatory bowel disease. *J Pathol* 2003;201:7-16.
134. Kruidenier L, Kuiper G, Van Duijn W, et al. Imbalanced secondary mucosal antioxidant response in inflammatory bowel disease. *J Pathol* 2003;201:17-27.

135. Kruidenier L, Kuiper I, Lamers CBH, et al. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localization, and association with mucosal antioxidants. *J Pathol* 2003; 201: 28–36.
136. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351–358.
137. Fiocchi, C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* 1998;115:182–205.
138. Powrie, F. T cells in inflammatory bowel disease: protective and pathogenic roles. *Immunity* 1995;3:171–174.
139. Pavlick PV, et al. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in inflammatory bowel disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 2002;33:311–322.
140. Oshitani, N.; Kitano, A.; Okabe, H.; et al. Location of superoxide anion generation in human colonic mucosa obtained by biopsy. *Gut* 1998;34:936–938.
141. Chiarotto E, Scavazza A, Leonarduzzi G, et al. Oxidative damage and transforming growth factor beta 1 in pretumoral and tumoral lesions of human intestine. *Free Rad Biol Med* 1997; 22: 889–94.
142. Sedghi S, Keshavarzian A, Klamut M, et al. Elevated breath ethane levels in active ulcerative colitis: evidence for excessive lipid peroxidation. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:2217–2221.
143. Lee FD. Importance of apoptosis in the histopathology of drug related lesions in the large intestine. *J Clin Pathol* 1993; 46: 118–22.
144. Mulder TPJ, Verspaget HW, Janssens AR, et al. Decrease in two intestinal copper/zinc containing proteins with antioxidant function in inflammatory bowel disease. *Gut* 1991;32: 1146–1150.
145. Durak I, Yasa MH, Bektas A, et al. Mucosal antioxidant defense is not impaired in ulcerative colitis. *Hepato-Gastroenterology* 2000; 47: 1015–1017.
146. O’Morain C, Smethurst P, Levi AJ, et al. Organelle pathology in ulcerative and Crohn’s colitis with special reference to the lysosomal alterations. *Gut* 1984; 25: 455–459.
147. Esworthy, RS, Aranda R, Martin MG, et al. Mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2001;281:848–855.

148. McKenzie SJ, Baker MS, Buffinton GD, et al. Evidence of oxidant-induced injury to epithelial cells during inflammatory bowel disease. *J. Clin. Invest.* 1996;98:136–141.
149. Aw, T. Y. Molecular and cellular responses to oxidative stress and changes in oxidation-reduction imbalance in the intestine. *Am. J. Clin. Nutr.* 199;70:557–565.
150. Miles AM, Grisham MB. Antioxidant properties of aminosalicylates. *Methods Enzymol* 1994; 234: 555–572.
151. Claster S, Chiu DT, Quintanilha A, et al. Neutrophils mediate lipid peroxidation in human red cells. *Blood* 1984;64:1079–1084.
152. Uyesaka N, Hasegawa S, Ishioka N, et al. Effects of superoxide anions on red cell deformability and membrane proteins. *Biorheology* 1992;29:217–229.
153. Powell RJ, Machiedo GW, Rush BFJ, Dikdan G. Oxygen free radicals: effect on red cell deformability in sepsis. *Crit Care Med* 1991;19:732–735.
154. Powell RJ, Machiedo GW, Rush BFJ, et al. Effect of alphas-tocopherol on red cell deformability and survival in sepsis. *Curr Surg* 1998;46:380–382.
155. Ben Ami R, Barshtein G, Zeltser D, et al. Parameters of red blood cell aggregation as correlates of the inflammatory state. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280:1982–1988.
156. Soutani M, Suzuki Y, Tateishi N, et al. Quantitative evaluation of flow dynamics of erythrocytes in microvessels: influence of erythrocyte aggregation. *Am J Physiol* 1995;268:1959–1965.
157. Tateishi N, Suzuki Y, Cicha I, et al. O₂ release from erythrocytes flowing in a narrow O₂-permeable tube: effects of erythrocyte aggregation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:448–456.
158. Hardeman MR, Bauersachs RM, Meiselman HJ. RBC Laser diffractometry and RBC Aggregation with a rotational Viscometer: Comparison with Rheoscope and Myrenne agglomerometer. *Clin. Hemorheol.* 8 (1988) 581-593.
159. Saint-Denis M, Labrot F, Narbonne JF, et al. Glutathione, glutathione-related enzymes, and catalase activities in the earthworm *Eisenia fetida andrei*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1998;35: 602–614.

160. Hu M-L. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol* 1994; 233: 380-385.
161. Jens L. Determination of malondialdehyde as dithiobarbituric acid adduct in biological samples by HPLC with fluorescence detection: Comparison with ultraviolet-visible spectrophotometry. *Clin Chem* 2001; 47: 1725-1727.
162. Kirsner JB, Shorter RG. Recent developments in “nonspecific” inflammatory bowel disease (first of two parts). *N Engl J Med* 1982; 306:775–785.
163. Buffinton GD, Doe WF. Depleted mucosal antioxidant defences in inflammatory bowel disease. *Free Radic Biol Med* 1995;19:911–918.
164. Schreiber S, MacDermott RP, Raedler A, et al. Increased activation of isolated intestinal lamina propria mononuclear cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991;101:1020–1030.
165. 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;41:2078–2086.
166. Mulder TP, Verspaget HW, Janssens AR, et al. Decrease in two intestinal copper/zinc containing proteins with antioxidant function in inflammatory bowel disease. *Gut* 1991;32:1146–1150.
167. Dagli U, Balk M, Yucel D, et al. The role of reactive oxygen metabolites in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 1997;103:186–196.
168. Beno I, Staruchova M, Volkovova K. Ulcerative colitis: activity of antioxidant enzymes of the colonic mucosa. *Presse Med (Eng Abstr)* 1997;26:1474–1477.
169. Tüzün A, Erdil A, Inal V, et al. Oxidative stress and antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Clinical Biochemistry* 2002;35:569–572.
170. Bhaskar L, Ramakrishna BS, Balasubramanian KA. Colonic mucosal antioxidant enzymes and lipid peroxide levels in normal subjects and patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1995;10: 140–143.
171. Thomas AG, Miller V, Shenkin A, Fell GS, Taylor F. Selenium and glutathione peroxidase status in paediatric health and gastrointestinal disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;19:213–219.
172. Biagioni C, Favilli F, Catarzi S, et al. edox state and O₂*- production in neutrophils of Crohn's disease patients. *Exp Biol Med.* 2006;231:186-195.

173. Buffinton, G. D.; Doe, W. F. Depleted mucosal antioxidant defences in inflammatory bowel disease. *Free Radic. Biol. Med.* 1995;9:911–918.
174. Keshavarzian A, Morgan G, Sedghi S, et al. Role of reactive oxygen metabolites in experimental colitis. *Gut* 1990;31: 786–790.
175. Kvietys PR, Smith SM, Grisham MB, et al. 5-aminosalicylic acid protects against ischemia/reperfusion-induced gastric bleeding in the rat. *Gastroenterology* 1988;94:733–738.
176. Lobo AJ, Jones SC, Juby LD, et al. Plasma viscosity in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 1992;45:54-57
177. Carr ND, Pullan BR, Schofield PF. Microvascular studies in nonspecific inflammatory bowel disease. *Gut* 1986;27:542–549.
178. Hulten L. et al. Regional intestinal blood flow in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterology* 1977;72: 388–396.
179. Angerson WJ. et al. Neoterminal ileal blood flow after ileocolonic resection for Crohn's disease. *Gut* 1993;34: 1531–1534.