

### GİRİŞ

Ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH), inflamatuvar barsak hastalıklarındandır (İBH). Defektif epitel bariyeriyle birlikte çeşitli lokal ve çevresel tetikleyicilere karşı genetik olarak düzeni bozulmuş bir immün yanıtın sonucunda görülen, etiyojisi de bilinmeyen gastrointestinal sistemde kronik nüks eden inflamasyon ile karakterizedir.

Son on yılda, barsak inflamasyonunun hayvan deney modelleri çok sayıda oluşturulmuştur. Mukozal dengeyi koruyan veya barsakları harekete geçiren mekanizmalar hakkında değerli bilgiler elde edilmiştir. Yapılan çalışmalar, çeşitli tedavi hedeflerinin tanımlanmasını ve çoğunlukla yeni biyolojik ilaçların geniş bir alana yayılmasını sağladı. Bu ilaçların güvenliği ve terapötik etkinliği çok sayıda klinik çalışmada değerlendirilmiş, ancak şimdiye kadar sadece çok azı klinik seviyesine ulaşmıştır. Bu bölümde, en popüler deneysel kolit modellerinin, insanlarda görülen barsak hastalıklarının patogenezini ve buna yönelik ilaç geliştirmedeki yöntemler inceleneyecektir.

İnflamatuvar barsak hastalığında (İBH) iki ayrı klinik konusu olan ÜK ve CH oluşur. Her

ikisi de, etiyojisi bilinmeyen gastrointestinal sistemin kronik nüks eden inflamasyon ile karakterizedir. Bu hastalıkların patogenezleri için temel hipotez; barsaktaki inflamasyonun, çeşitli çevresel tetikleyicilerin etkisi altında ve kusurlu bir epitel bariyeri ile birlikte barsak mikroflorasının genetik olarak antijenlerine karşı düzeni bozulmuş immün yanıtların sonuçlarıdır.<sup>(1)</sup> Bu hipotezi destekleyen veriler, deneysel inflamasyon barsak modellerinde yapılan çalışmalarla aynı sonuçları verdi. Kirsner ve Elchlepp (1957) tarafından ilk modelin neredeyse 60 yıl önce tanımlanmasından bu yana, kısmen İBH'deki insan genomu genişliğinde genetik mühendisliği tarafından yönlendirilen ortak çalışmalar 50'den fazla murin modeli oluşturulmuştur.<sup>(2)</sup>

İlerleyen yıllarda, murin deneysel kolit modelleri epitelyal bariyerin bütünlüğü, doğuştan gelen immün yanıtlar ve adaptif immün yanıtlarının sıkı düzenlenmesi gibi mukozal bağışıklık homeostazisinin temel unsurlarını tanımlamaya yardımcı olmuştur.

Bu bölümün amacı en popüler deneysel kolit modellerini sunmaktır;

- Epitelyal bariyer kusurları
- Doğuştan bağışıklık kusurları
- Anormal adaptif T hücre yanıtları

leşeninde çeşitli kusurlardan muzdarip sayısız deneysel barsak inflamasyonu modeli vardır. Bu, insan İBH'sinde birden fazla immünolojik yolun bulunduğunu düşündürmektedir. Bu hipotez, şimdiye kadar İBH gelişimi için artan riskle ilişkili 150'den fazla genetik risk lokasyonunu tanımlayan İBH hastalarındaki genomla ilişki çalışmaları desteklemektedir.<sup>(55)</sup> Deneysel hayvan modelleri insan İBH'sinin çeşitli yönlerini taklit edebilir ve İBH tedavisinde kullanılan ajanların klinik öncesi değerlendirmesi için başarıyla uygulanmıştır. Bununla birlikte, deneysel kolit modelleri İBH'yi tam olarak tekrarlayamaz ve bu kısmen girişimsel hayvan çalışmalarının klinikte etkili ilaçlara dönüştürülme şeklindeki küçük benzerliğini açıklamaktadır.<sup>(56)</sup>

Faregillerin deneysel koliti ile insan hastalıkları arasında genetik açıdan büyük farklılıklar vardır. İnsan İBH'sinin poligenik doğasının aksine, deneysel İBH modelleri patojenik yolları sınırlayan tek bir genin silinmesi veya transgenik aşırı ifadesi ile oluşturulur. Ayrıca, girişimsel klinik çalışmalara katılan İBH hastalarının genetik heterojenliği, genetik olarak özdeş farelerin homojen popülasyonları ile karşılaştırılmaz. Buna göre, bir araştırma ilacına olumlu sonuç veren tek bir deneysel kolit modeli, yanıt veren tek bir hasta olarak kabul edilmelidir. Bu nedenle, testteki bir ajan, yalnızca birçok deneysel kolit modelinde başarıyla test edildiğinde, insan klinik araştırmaları için umut verici bir aday olarak düşünülmelidir. Aslında klinik çalışmalarda başarısız olan birçok strateji, klinik öncesi hayvan çalışmalarında yetersiz bir şekilde test edilmiştir.

<sup>(57,58)</sup> Açıkçası, mukozal bağışıklık sistemi ile etkileşime girebilecek çevresel olaylarda İBH ve deneysel kolit arasında büyük farklılıklar vardır. Bu etkileşimin büyüklüğü, ailelerde ve İBH'li ikizlerde yapılan çalışmalarda bildirilen uyum oranları ile vurgulanmıştır. Monozigotik ikizlerin uyum oranlarının CH için % 20 ile % 50 arasında ve ÜK için yaklaşık % 16 olduğu tahmin edilmektedir. Bu da İBH geliştirme olasılığının büyük ölçüde çevresel etkilere bağlı olduğunu

gösterir.<sup>(59)</sup> Barsak mikro-oralarının barsak mukozal sistemi ile etkileşimlerinin karmaşıklığı henüz yeni araştırılmaya başlanmıştır.<sup>(60)</sup>

Fare ve insan barsak mikrobiyotaları bölüm düzeyinde (her ikisinde de Firmicutes ve Bacteroidetes baskın olmasından dolayı) benzer olsa da, barsak mukozalarında bulunan çoğu bakteriyel cins ve tür farklıdır.<sup>(61)</sup>

Son olarak, insan İBH çalışmalarına katılanlar, farklı hastalık fenotipleri ve ciddiyeti olan, hastalık evriminin farklı aşamalarında olan ve genellikle birden fazla terapötik maddeye dirençli heterojen hasta popülasyonlarıdır. Bu durum klinik öncesi ortamlarda modellenemez. Yine de, klinik öncesi çalışmalar, çoklu deneysel kolit modellerinden yeterli veri oluşturulduğundan vakaların çoğunda, insan deneylerinde başarı veya başarısızlığı doğru olarak tahmin etmiştir. Deneysel kolit modellerinin geçerliliğini arttırmaya yönelik sürekli çabaların yanı sıra, insan denemelerine geçişteki başarısızlıkları, farklı tepkileri olan hastaların alt gruplarını uygun bir şekilde tanımlayabilen biyobelirteçleri daha ayrıntılı çalışmamız gerekir.

Deneysel kolit modelden insan denemelerine geçiş oranlarındaki başarısızlıkları iyileştirmek için klinik çalışmalara başlamadan önce hayvan çalışmalarındaki sonuçların daha kapsamlı klinik öncesi testlere ve daha dikkatli yorumlanmasına ihtiyacımız vardır.

**Anahtar Kelimeler:** İnflamatuar barsak hastalıkları, Deneysel kolit modelleri, Defektif epitelial barsak kolit modeli, DSS kolit, TNBS kolit, oksazon kolit, adaptif T hücre transfer kolit

### KAYNAKLAR

1. Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. N. Engl. J. Med. 2009;361: 2066–2078.
2. Kirsner JB, Elchlepp J. The production of an experimental ulcerative colitis in rabbits. Trans. Assoc. Am. Physicians. 1957;70:102–119.
3. Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases. Cell Mol. Gastroenterol Hepatol. 2015;1(2):154–170.
4. Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, et al. A novel method in the induction of reliable experimental ac-

- te and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology*. 1990;98:694–702.
5. Poritz LS, Garve KI, Green C, et al. Loss of the tight junction protein ZO-1 in dextran sulfate sodium induced colitis. *J. Surg. Res.* 2007;140:12–19.
  6. Alex P, Zachos NC, Nguyen T, et al. Distinct cytokine patterns identified from multiplex profiles of murine DSS and TNBS-induced colitis. *Inflamm. Bowel. Dis.* 2009;15:341–352.
  7. Radice GL. N-cadherin-mediated adhesion and signaling from development to disease: lessons from mice. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2013;116:263–289.
  8. Hermiston ML, Gordon JL. Inflammatory bowel disease and adenomas in mice expressing a dominant negative N-cadherin. *Science*. 1995;270:1203–1207.
  9. Smalley-Freed WG, Efimov A, Burnett PE, et al. p120-catenin is essential for maintenance of barrier function and intestinal homeostasis in mice. *J. Clin. Invest.* 2010; 120:1824–1835.
  10. Johansson ME, Sjvall H, Hansson GC. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2013;10: 352–361.
  11. Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, et al. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*. 2006;131: 117–129.
  12. Panwala CM, Jones JC, Viney JL. A novel model of inflammatory bowel disease: mice deficient for the multiple drug resistance gene, *mdr1a*, spontaneously develop colitis. *J. Immunol.* 1998;161:5733–5744.
  13. Collett A, Higgs NB, Gironella M, et al. Early molecular and functional changes in colonic epithelium that precede increased gut permeability during colitis development in *mdr1a(-/-)* mice. *Inflamm. Bowel. Dis.* 2008;14:620–631.
  14. Pastorelli L, De Salvo C, Mercado JR, et al. Central role of the gut epithelial barrier in the pathogenesis of chronic intestinal inflammation: lessons learned from animal models and human genetics. *Front Immunol.* 2013;4: 280.
  15. Peeters M, Geypens B, Claus D, et al. Clustering of increased small intestinal permeability in families with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1997;113:802–807.
  16. Gassler N, Rohr C, Schneider A, et al. Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2001;281:216–228.
  17. Einerhand AW, Renes IB, Makkink MK, et al. Role of mucins in inflammatory bowel disease: important lessons from experimental models. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2002;14:757–765.
  18. Ehehalt R, Braun A, Karner M, et al. Phosphatidyl-choline as a constituent in the colonic mucosal barrier—physiological and clinical relevance. *Biochim. Biophys. Acta* 2010;1801:983–993.
  19. Karner M, Kocjan A, Stein J, et al. First multicenter study of modified release phosphatidylcholine “LT-02” in ulcerative colitis: a randomized, placebo-controlled trial in mesalazine-refractory courses. *Am. J. Gastroenterol.* 2014;109:1041–1051
  20. Li X, Fox JG, Whary MT, et al. SCID/NCr mice naturally infected with *Helicobacter hepaticus* develop progressive hepatitis, proliferative typhlitis, and colitis. *Infect. Immun.* 1998;66:5477–5484.
  21. Uhlig HH, McKenzie BS, Hue S, et al. Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune pathology. *Immunity* . 2006;25:309–318.
  22. Hue S, Ahern P, Buonocore S, et al. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J. Exp. Med.* 2006;203:2473–2483.
  23. Lee EG, Boone DL, Chai S, et al. Failure to regulate TNF-induced NF-kappaB and cell death responses in A20-deficient mice. *Science*. 2000;289:2350–2354.
  24. Garrett WS, Lord GM, Punit S, et al. Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. *Cell* 2007;131:33–45.
  25. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, et al. Recognition of commensal microflora by toll like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell.* 2004;118:229–241.
  26. Nenci A, Becker C, Wullaert A, et al. Epithelial NEMO links innate immunity to chronic intestinal inflammation. *Nature*. 2007;446:557–561.
  27. Mahler M, Bristol IJ, Leiter EH, et al. Differential susceptibility of inbred mouse strains to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Am. J. Physiol.* 1998;274:544–551.
  28. Sundberg JP, Elson CO, Bedigian H, et al. Spontaneous, heritable colitis in a new substrain of C3H/HeJ mice. *Gastroenterology* 1994;107:1726–1735.
  29. Lodes MJ, Cong Y, Elson CO, et al. Bacterial flagellin is a dominant antigen in Crohn disease. *J. Clin. Invest.* 2004;113:1296–1306.
  30. Beckwith J, Cong Y, Sundberg JP, et al. *Cdcs1*, a major colitogenic locus in mice, regulates innate and adaptive immune response to enteric bacterial antigens. *Gastroenterology* 2005;129:1473–1484.
  31. Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, et al. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *J. Exp. Med.* 1995;182:1281–1290.
  32. Fichtner-Feigl S, Fuss IJ, Young CA, et al. Induction of IL-13 triggers TGF-beta1-dependent tissue fibrosis in chronic 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid colitis. *J. Immunol.* 2007;178:5859–5870.
  33. Boirivant M, Fuss IJ, Chu A, et al. Oxazolone colitis: a murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4. *J. Exp. Med.* 1998;188:1929–1939.
  34. Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, et al. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13- producing NK-T cells. *Immunity* 2002;17:629–638.
  35. Hoving JC, Kirstein F, Nieuwenhuizen NE, et al. B cells that produce immunoglobulin E mediate colitis in BALB/c mice. *Gastroenterology*. 2012;142:96–108.
  36. Asseman C, Fowler S, Powrie F. Control of experimental inflammatory bowel disease by regulatory T cells. *Am J. Respir. Crit. Care Med.* 2000;162:185–189.
  37. Powrie F, Leach MW, Mauze S, et al. Phenotypically distinct subsets of CD4<sup>+</sup> T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice. *Int. Immunol.* 1993;5:1461–1471.

38. Powrie F, Leach MW, Mauze S, et al. Inhibition of Th1 responses prevents inflammatory bowel disease in scid mice reconstituted with CD45RBhi CD4 $\beta$  T cells. *Immunity*. 1994;1:553–562.
39. Kullberg MC, Jankovic D, Feng CG, et al. IL-23 plays a key role in *Helicobacter hepaticus*-induced T cell-dependent colitis. *J. Exp. Med.* 2006;203: 2485–2494.
40. Siakavellas SI, Bamias G. Role of the IL-23/IL-17 axis in Crohn's disease. *Discov. Med.* 2012;14:253–262.
41. 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.
42. Danese S, Rudzinski J, Brandt W, et al. Tralokinumab (CAT-354), an interleukin 13 antibody, in moderate to severe ulcerative colitis: A phase 2 randomized placebo-controlled study., In: *Proceedings of the 9th Congress of ECCO, Copenhagen.* 2014; 8-9.
43. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4 $\beta$  effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.* 2005;6:1123–1132.
44. Nakae S, Iwakura Y, Suto H, et al. Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation of Th1 cell differentiation by IL-17. *J. Leukoc. Biol.* 2007;81:1258–1268.
45. Bamias G, Dahman MI, Arseneau KO, et al. Intestinal-specific TNF $\alpha$  overexpression induces Crohn's-like ileitis in mice. 2013; *PLoS One* 8, e72594.
46. Fichtner-Feigl S, Kesselring R, Martin M, et al. IL-13 orchestrates resolution of chronic intestinal inflammation via phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 $\beta$ . *J. Immunol.* 2014;192:3969–3980.
47. Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, et al. Peripheral and intestinal regulatory CD4 $\beta$  CD25(high) T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2005;128:1868–1878.
48. Saruta M, Yu QT, Fleshner PR, et al. Characterization of FOXP3 $\beta$ CD4 $\beta$  regulatory T cells in Crohn's disease. *Clin. Immunol.* 2007;125:281–290.
49. Yu QT, Saruta M, Avanesyan A, et al. Expression and functional characterization of FOXP3 $\beta$  CD4 $\beta$  regulatory T cells in ulcerative colitis. *Inflamm. Bowel. Dis.* 2007;13:191–199.
50. Rivera-Nieves J, Bamias G, Vidrich A, et al. Emergence of perianal fistulizing disease in the SAMP1/YitFc mouse, a spontaneous model of chronic ileitis. *Gastroenterology*. 2003;124:972–982.
51. Olson TS, Reuter BK, Scott KG., et al. The primary defect in experimental ileitis originates from a non-hematopoietic source. *J. Exp. Med.* 2006;203:541–552.
52. Kosiewicz MM, Nast CC, Krishnan A, et al. Th1-type responses mediate spontaneous ileitis in a novel murine model of Crohn's disease. *J. Clin. Invest.* 2001;107:695–702.
53. Spencer DM, Veldman GM, Banerjee S, et al. Distinct inflammatory mechanisms mediate early versus late colitis in mice. *Gastroenterology*. 2002;122:94–105.
54. Kugathasan S, Saubermann LJ, Smith L, et al. Mucosal T-cell immunoregulation varies in early and late inflammatory bowel disease. *Gut*. 2007; 56:1696–1705.
55. Khor B, Gardet A, Xavier RJ.. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474:307–317.
56. Hackam DG, Redelmeier DA. Translation of research evidence from animals to humans. *JAMA*. 2006; 296: 1731–1732.
57. Valatas V, Vakas M, Kolios G. The value of experimental models of colitis in predicting efficacy of biological therapies for inflammatory bowel diseases. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2013;305:G763–785.
58. van der Worp HB, Howells DW, Sena ES, et al. Can animal models of disease reliably inform human studies?. *PLoS Med.* 2010; 7: e1000245.
59. Halme L, Paavola-Sakki P, Turunen U, et al. Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* 2006;12:3668–3672.
60. Kamada N, Seo SU, Chen GY, et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13:321–335.
61. Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, et al. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005;102:11070–11075.