

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ASETİK ASİTLE OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL ÜLSERATİF
KOLİT MODELİNDE CURCUMİN VE VİTAMİN D’NİN AYRI
AYRI BAĞIRSAK GEÇİRGENLİĞİNDE OLASI KORUYUCU
VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

AYŞE SEDA ERARSLAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-20014 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2021

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sürecinde çok kıymetli bilgilerini sunan, tez çalışmalarımız sırasında kıymetli yönlendirmeleriyle yanımda olan ve değerli hocalarla çalışma imkanı sunan danışman hocam Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ'ye, yüksek lisans eğitimim sürecinde çok kıymetli katkıları olan anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Rauf Onur EK'e ve Prof. Dr. Gökhan CESUR'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarında; yardımlarıyla esin kaynağı olan Prof. Dr. Özge ÇEVİK'e, vaktinden fedakarlık ederek ve titizlikle yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Erkan GÜMÜŞ'e, katkıları bulunan Prof. Dr. Kerem URAL'a ve Prof. Dr. Recep KEŞLİ'ye, vaktinden fedakarlık edip severek katkı sunan ve emeği geçen Araş. Gör. Dr. Ferhat ŞİRİNYILDIZ'a, samimiyetle destek olup yol gösteren ve emeği geçen Araş. Gör. Dr. Cenk ORAK'a, severek yardımcı olan Araş. Gör. Burçin İrem ABAS'a, Araş. Gör. Dr. Yiğitcan ÇİFTÇİ'ye ve Araş. Gör. Dr. Serhan ÇAMOĞLU'ya, fedakarlıkla desteğini sunan Dr. Öğr. Üyesi Ece KOÇ YILDIRIM'a, katkısı bulunan Vet. Dr. Serdar AKTAŞ'a, severek desteğini sunan Dr. Öğr. Üyesi Figen Sevil KİLİMCİ'ye ve Araş. Gör. Ayşe Nur AKKOÇ'a, tüm samimiyetiyle yanımda hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Saliha Ayşenur ÇAM'a, çok kıymetli katkısı bulunan Hayrettin İŞBİLİR'e, Ceneviz Gıda'dan Erdağ GÖNEN'e ve Vefa İlaç'dan Esra YAZICI'ya, öğretileri ve yardımlarıyla destek olan kıymetli ablam Derya İŞLER'e, çekinmeden yardım istediğim canım dostum Evin ZİREK'e, yardımları dokunan Tuğba CÜCELİ'ye, Dilara USLU'ya ve Büşra DEMİRKAN'a, manevi desteği benim için değerli olan kıymetli dostum Ayşe Nur YILDIRIM'a, yardımı dokunan değerli ablam Ferda IRIZ'a ve Rıfat AYDIN'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Lisans dönemimde akademiye dair ufku açan çok kıymetli Hocalarıma ve özellikle Doç. Dr. Hülya YARDIMCI'ya teşekkürü borç bilirim.

Beni sevgi ve şefkatle büyüten, üzerimde sayısız emekleri bulunan manevi dayanaklarım canım Anneciğime ve Babacığım, biricik yol göstericim ablam Eda'ya, manevi destekçilerim ağabeyim Akif, ablam Gülsüm ve teyzem Hilal'e, güzel dilekleriyle yanımda hissettiğim dostlarıma ve özellikle akşamki deneysel çalışma sürecim sonrası ulaşımında severek yardımcı olan canım dostum Büşra ve kardeşi Yusuf'a sonsuz teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarında yanıma gelerek ortamı neşelendiren kedicige ve çalışmamızda kendilerini feda ederek en büyük görevi üstlenen ratlara ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kolon Anatomisi.....	4
2.2. Ratlarda Bağırsak Anatomisi	5
2.3. Kolon Histolojisi.....	5
2.4. Kolon Embriyolojisi	6
2.5. Kolon Fizyolojisi	6
2.6. Kolon Tight Junction Yapısı ve Por Boyutu.....	7
2.7. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları	7
2.8. Ülseratif Kolit	8
2.8.1. Ülseratif Kolit'in Sınıflandırılması	9
2.8.2. Ülseratif Kolit Epidemiyolojisi.....	9
2.8.3. Ülseratif Kolit'in Etiyopatogenezi	10
2.8.4. Ülseratif Kolit'in Klinik Tanı Yöntemleri	13
2.8.5. Ülseratif Kolit'in Komplikasyonları	15
2.8.6. Ülseratif Kolit'in Tedavi Yöntemleri.....	16
2.8.7. Deneysel Kolit Modelleri.....	17
2.9. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres, Antioksidanlar, Sitokinler ve İnflamasyon.....	18
2.10. Bağırsak Bariyeri	20
2.10.1. Bağırsak Florası	21
2.10.2. Bağırsak Mukus Yapısı.....	22
2.10.3. Bağırsak Epitel Yapısı ve Tight Junction Proteinleri	22

2.10.3.1. Occludin.....	24
2.11. Bağırsak Geçirgenliği	27
2.11.1. Bağırsak Geçirgenliğini Etkileyen Faktörler	29
2.11.2. Bağırsak Geçirgenliği Değerlendirme Yöntemleri	30
2.11.2.1. Parasellüler Madde Geçiş Kitleri	30
2.11.2.1.1. FITC-dekstran ve FITC-inulin.....	30
2.11.2.1.2. 51Cr-EDTA Klirensi.....	30
2.11.2.1.3. Sukroz	31
2.11.2.1.4. Sukraloz	31
2.11.2.1.5. Laktuloz ve Mannitol.....	31
2.11.2.1.6. Ramnoz	31
2.11.2.1.7. Polietilen Glikol Polimerleri (PEG).....	31
2.11.2.2. Elektron mikroskopisi.....	32
2.11.2.3. Transepitelyal Elektrik Direncinin Ölçümü (TEER)	32
2.11.2.4. ‘Caco-2’ Hücre Modeli	32
2.11.2.5. İntestinal Eksplant Model	32
2.11.2.6. Plazma Sitrulin.....	33
2.11.2.7. İdrarda Claudin-3	33
2.11.2.8. Diamin Oksidaz	33
2.11.2.9. Lokal İnflamasyon Belirteçleri	33
2.11.2.10. Tight Junction Proteinlerinin Değerlendirilmesi	33
2.11.2.11. Bağırsak Geçirgenliği Tespitinde Zonulin.....	34
2.11.2.11.1. Zonula Okludens Toksini.....	34
2.11.2.11.2. Zonulin.....	35
2.11.3. Bağırsak Geçirgenliğiyle İlişkili Hastalıklar	36
2.11.3.1. Bağırsak Geçirgenliği ve Ülseratif Kolit	36
2.12. Curcumin	38
2.13. Vitamin D	40
3. GEREÇ ve YÖNTEM	43
3.1. Gereç	43
3.1.1. Etik Kurul Kararı	43
3.1.2. Deney Hayvanları	43
3.1.3. Curcumin ve D vitamini	44

3.1.4. Kullanılan Cihazlar	46
3.1.5. Kullanılan Sarf Malzemeler	47
3.2. Yöntem.....	48
3.2.1. Deney Tasarımı	48
3.2.1.1. Deneyisel Kolit Modeli Oluşturma Prosedürü	48
3.2.1.2. Deney grupları	49
3.2.1.2.1. Kontrol Grubu	49
3.2.1.2.2. Kolit Grubu	50
3.2.1.2.3. Pretedavi Curcumin	50
3.2.1.2.4. Pretedavi D vitamini	50
3.2.1.2.5. Posttedavi Curcumin	51
3.2.1.2.6. Posttedavi D vitamini	51
3.2.2. Analiz Yöntemleri	51
3.2.2.1. Ağırlık Ölçümü	52
3.2.2.2. Makroskopik görünüm inceleme	52
3.2.2.3. Biyokimyasal Analiz	52
3.2.2.3.1. Dokuların Homojenizasyonu	52
3.2.2.3.2. Doku Tümör Nekroz Faktör- α Düzeyi Ölçümü	53
3.2.2.3.3. Doku İnterlökin-1 β Düzeyi Ölçümü	54
3.2.2.3.4. Doku İnterlökin-6 Düzeyi Ölçümü	54
3.2.2.3.5. Doku İnterferon- γ Düzeyi Ölçümü	55
3.2.2.3.6. Doku Miyeloperoksidaz Düzeyi Ölçümü	55
3.2.2.3.7. Doku Occludin Düzeyi Ölçümü	55
3.2.2.3.8. Doku Zonulin Düzeyi Ölçümü	56
3.2.2.4. Histopatolojik Analiz	57
3.2.2.4.1. Hematoksilen & Eozin Boyama	58
3.2.2.4.2. Histopatolojik Evreleme	58
3.2.2.5. İstatistiksel Analiz	59
4. BULGULAR	60
4.1. Ağırlık Ölçümleri	60
4.2. Makroskopik Bulgular	60
4.3. Biyokimyasal Bulgular	61
4.3.1. Kolon Dokusu Tümör Nekroz Faktör- α Düzeyi	62

4.3.2. Kolon Dokusu İnterlökin-1 β Düzeyi	63
4.3.3. Kolon Dokusu İnterlökin-6 Düzeyi	64
4.3.4. Kolon Dokusu İnterferon- γ Düzeyi	65
4.3.5. Kolon Dokusu Miyeloperoksidaz Düzeyi.....	66
4.3.6. Kolon Dokusu Occludin Düzeyi.....	67
4.3.7. Distal İleum Dokusu Zonulin Düzeyi.....	68
4.4. Histopatolojik Bulgular.....	70
5. TARTIŞMA.....	76
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	94
KAYNAKLAR.....	96
EKLER	126
Ek 1 (ADÜ-HADYЕК)	126
BİLİMSEL ETİK BEYANI	127
ÖZ GEÇMİŞ.....	128

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5-ASA	: 5-Aminosalisilik Asit
8-OHdG	: 8-Hidroksideoksiguanozin
Å	: Ångström
AJC	: Adherens Junctions
APC	: Antijen Sunan Hücreler
ASA	: Aminosalisilatlar
ASCA	: Anti-Saccharomyces Cerevisiae Antibody
CACO-2	: Colon Adeno Carcinoma Cell-2
CAT	: Katalaz
CH	: Crohn Hastalığı
COX-2	: Siklooksijenaz-2
51Cr-EDTA	: 51Krom - Etilendiamintetraasetikasit
CSA	: Siklosporin-A
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
ECM	: Ekstrasellüler Matriks
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
FITC-dekstran	: Floresan İzotiyosiyanat Dekstran
FITC-inulin	: Floresan İzotiyosiyanat İnulin
GALT	: Gut Associated Lymphoid Tissue, Barsak İlişkili Lenfoid Doku
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GWAS	: Genome-Wide Association Studies
HLA	: Human Leukocyte Antigens
HPTLC	: High Performance Thin-Layer Chromatography
HSCT	: Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu
IFN-γ	: İnterferon-γ
IL-1β	: İnterlökin-1β
İBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

İBS	: İrritabl Bağırsak Sendromu
İMVEC	: İnsan İntestinal Mikrovasküler Endotelial Hücreleri
iNOS	: Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
JAK	: Janus Kinaz
JAM	: Junctional Adhesion Molecules
kDa	: Kilodalton
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi/Kütle Spektrometresi
mBq	: Bekerel
MHC	: Major Histocompatibility Complex
MMP	: Matriks Metalloproteinazlar
MOF	: Çoklu Organ Yetmezliği
MSC	: Mezenkimal Kök Hücreleri
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Oksidaz
NF-κB	: Nükleer Faktör-κB
NK	: Naturel Killer
NO	: Nitrikoksit
NOD	: Nucleotide-Binding Oligomerization Domain
NSAII	: Non Steroid Anti İnflamatuar İlaç
OKS	: Oral Kontraseptifler
ONOO-	: Peroksinitrit
p-ANCA	: Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikor
PAR	: Proteaz Aktive Edici Reseptörler
PCNA	: Prolifere Hücre Nükleer Antijeni
PEG	: Poli Etilen Glikol
PGA	: Hekimin Global Değerlendirmesi
PKC	: Protein Kinaz C
PNL	: Polimorf Nükleer (Nüveli) Lökositler
PPAR-γ	: Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör-γ
PRR	: Pattern Recognition Receptors
PSK	: Primer Sklerozan Kolanjit
RCS	: Reaktif Klor Türevleri
RNS	: Reaktif Azot Türevleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türevleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz

SOR	: Serbest Oksijen Radikaleri
TEER	: Transepitelyal Elektrik Direnci
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü β
TJ	: Tight Junction
TLR	: Toll Like Reseptörler
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör- α
Treg	: T regülatör
UPLC	: Ultraperformance Liquid Chromatography
UV	: Ultraviyole
ÜK	: Ülseratif Kolit
ZO	: Zonula Occludens
ZOT	: Zonula Occludens Toxin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Gruplar arası TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması	63
Şekil 2. Gruplar arası IL-1 β düzeylerinin karşılaştırılması	64
Şekil 3. Gruplar arası IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması	65
Şekil 4. Gruplar arası INF- γ düzeylerinin karşılaştırılması.....	66
Şekil 5. Gruplar arası MPO düzeylerinin karşılaştırılması	67
Şekil 6. Gruplar arası Occludin düzeylerinin karşılaştırılması	68
Şekil 7. Gruplar arası Zonulin düzeylerinin karşılaştırılması.....	69



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Tight Junction proteinleri ve şematik yapısı.....	24
Resim 2. Zonulinin TJ üzerine etkisinin şematik görünümü	35
Resim 3. Çalışmada yer alan deney hayvanları	44
Resim 4. Curcumin yüzdesini gösterir analiz sertifikası.....	45
Resim 5. Curcuminin içeriğinde yer alan besin ögeleri durumunu gösterir belge.....	45
Resim 6. Deneyde kullanılan etken maddeler	46
Resim 7. Kolit oluşturma prosedürü	49
Resim 8. İntragastrik olarak curcumin verimi ve gavaj aparatı	50
Resim 9. Kitler ve homojenizatör	52
Resim 10. Serum fizyolojik ile dışkıdan arındırılmış doku örnekleri.....	53
Resim 11. TNF- α kit ve Mikroplate.....	53
Resim 12. Histolojik çalışmalar sırasında kullanılan cihazlar	57
Resim 13. Hematoksilen & Eozin boyama	58
Resim 14. Gruplara ait temsili makroskobik kolon görünümü	61
Resim 15. Kontrol grubunun temsili histomikrografi	73
Resim 16. Kolit grubunun temsili histomikrografi	73
Resim 17. Kolit+Cur grubunun temsili histomikrografi	73
Resim 18. Kolit+Dvit grubunun temsili histomikrografi.....	74
Resim 19. Cur+Kolit grubunun temsili histomikrografi	74
Resim 20. Dvit+Kolit grubunun temsili histomikrografi.....	74
Resim 21. Kolit grubu temsili histomikrografının histopatolojik bulguları.....	75
Resim 22. Kolit grubuna ait kolon dokularının histopatolojik bulguları	75
Resim 23. Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı	126

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Kolon mukozasının mikroskopik skorlama kriterleri	59
Tablo 2. Kolit oluşturulan tüm grupların Kontrol grubuyla kıyaslanarak hesaplanan ağırlık değişim yüzdeleri.....	60
Tablo 3. Biyokimyasal bulgular.....	62
Tablo 4. Histolojik bulgular	70



ÖZET

ASETİK ASİTLE OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL ÜLSERATİF KOLİT MODELİNDE CURCUMİN VE VİTAMİN D’NİN AYRI AYRI BAĞIRSAK GEÇİRGENLİĞİNDE OLASI KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Erarslan AS. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji (Tıp) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021.

Amaç: Bu çalışma, Asetik Asitle oluşturulmuş deneysel Ülseratif Kolit modelinde Zonulin ve Tight Junction proteinlerinden Occludin seviyelerine bakılarak, Curcumin ve D vitaminin, Ülseratif Kolit hastalığında bağırsak geçirgenliğine etkisini ve bu etken maddelerin inflamatuvar ve oksidan süreçteki rolünü araştırmak amacı ile planlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamız; ağırlıkları 250-300 gram olan, 12 haftalık, 48 adet Wistar albino dişi sıçanlardan oluşturulan Kontrol Grubu, Kolit Grubu, 200 mg/kg Curcumin+Kolit (Koruyucu tedavi grubu), 0,4 µg/kg (16 IU/kg) D vitamini+Kolit (Koruyucu tedavi grubu), Kolit+200 mg/kg Curcumin (Post tedavi grubu), Kolit+0,4 µg/kg (16 IU/kg) D vitamini (Post tedavi grubu) olmak üzere 8'er rat içeren 6 grup ile gerçekleştirildi. Değerlerin yorumlanması ve grup değerlerinin çoklu karşılaştırılması, Biyokimyada Dunnett's multiple comparisons testiyle; Histolojide ise Dunn's multiple comparisons testi ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Kontrol grubunda, kolonik TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ ve MPO seviyeleri kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak tespit edilirken; kolonik Occludin seviyeleri kolit grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olarak saptandı. Kolit grubuyla kolonik veriler post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, Kolit+Dvit TNF- α ve INF- γ 'nın azaldığı; Kolit+Dvit OCC'in yükseldiği; Kolit+Cur ve Cur+Kolit IL-1 β , IL-6 ve INF- γ 'nın azaldığı; tüm tedavi gruplarında MPO'nun azaldığı analizler sonucunda görüldü ($p<0,05$). Histopatolojik skorlamada Kolit grubuna kıyasla, incelenen parametrelerdeki en anlamlı iyileşmelerin (Mukozal hasar/nekroz hariç) grup Kolit+Dvit'de gerçekleştiği saptandı ($p<0,05$).

Sonuç: Çalışmamız sonuçları, Curcuminin antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizma yoluyla terapötik ve proflaktik etkinliğini kanıtlar niteliktedir. Ancak Curcuminin bağırsak geçirgenliğine etkisine dair anlamlı bir sonuç elde edilemedi, fakat terapötik D vitamini kullanımının antiinflamatuvar etkinlik ve oksidan seviyeyi dūřürme yoluyla kolitle artan bağırsak geçirgenliğini tedavi etmede önemli rolü olduğu dūřünölmektedir.

Anahtar kelimeler: Bağırsak Geçirgenliği, Curcumin, D vitamini, Ülseratif Kolit



ABSTRACT

INVESTIGATION OF POSSIBLE PROTECTIVE AND THERAPEUTIC EFFECTS OF CURCUMIN AND VITAMIN D IN INDIVIDUAL INTESTINAL PERMEABILITY IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF ACETIC ACID INDUCED ULCERATIVE COLITIS

Erarslan AS. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute of Physiology (Medical) Program, Master Thesis, Aydın, 2021.

Objective: This study was planned to investigate the effect of Curcumin and vitamin D on intestinal permeability in ulcerative colitis and the role of these agents in the inflammatory and oxidant process by looking at the levels of Occludin, one of the Zonulin and Tight Junction proteins, in an experimental ulcerative colitis model created with Acetic Acid.

Material and Methods: Our study; Created from 48 Wistar albino female rats, 12 weeks old, weighing 250-300 grams; Control Group, Colitis Group, 200 mg/kg Curcumin + Colitis (Preventive treatment group), 0.4 µg/kg (16 IU/kg) Vitamin D + Colitis (Preventive treatment group), Colitis + 200 mg/kg Curcumin (Post treatment group), Colitis + 0.4 µg/kg (16 IU/kg) vitamin D (Post treatment group) was carried out with 6 groups of 8 rats. Interpretation of values and multiple comparison of group values; in Biochemistry with Dunnett's multiple comparisons test; In histology, it was performed with Dunn's multiple comparisons test.

Results: In the control group, colonic TNF-alpha, IL-1β, IL-6, INF-gamma and MPO levels were found to be significantly lower than the colitis group; Colonic Occludin levels were found to be significantly higher than the colitis group. When the colitis group and the post and pre treatment groups are compared, it is observed that Colitis + Dvit TNF-alpha decreased; Colitis + Dvit OCC increased; Colitis + Cur and Cur + Colitis IL-1β decreased; Colitis + Cur and Cur + Colitis IL-6 decreased; Colit + Cur, Colit + Dvit and Cur + Colit INF-gamma decreased; It was observed as a result of the analysis that MPO decreased in all groups (p <0.05). In histopathological scoring, compared to the Colitis group, it was found that the most significant improvements in the parameters examined (except mucosal damage / necrosis) were realized in the group Colitis + Dvit (p <0.05).

Conclusion: The results of our study prove the therapeutic and prophylactic efficacy of Curcumin through its anti-inflammatory and antioxidant mechanism. However, no significant conclusion could be obtained regarding the effect of Curcumin on intestinal permeability, but vitamin D is thought to have an important role in treating colitis-increased intestinal permeability through anti-inflammatory activity and lowering oxidant level.

Keywords: Curcumin, Intestinal Permeability, Ulcerative Colitis, Vitamin D



1. GİRİŞ

Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn Hastalığını (CH) içine alan İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (İBH), aktivasyon ve remisyon dönemlerinden oluşan, etiyojisi henüz bilinmeyen kronik bağırsak hastalığıdır (Erbayrak ve diğerleri, 2009). Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığının patolojisi net değildir; genetik, enfeksiyöz, immünolojik, çevresel ve psikolojik faktörlerin patogeneizde rol aldığı düşünülmektedir (Dotan ve diğerleri, 2002). Çalışmamızda yer vereceğimiz Ülseratif Kolit hastalığı, kolon mukozasının yüzeyel inflamasyonu ile karakterizedir ve bu inflamasyon genellikle rektumdan başlayıp proksimale doğru yayılmaktadır. Genellikle ince bağırsakta tutulum görülmez, ancak ara sıra distal ileumda yüzeyel inflamasyon gözlemlenmektedir (Ordas ve diğerleri, 2012).

Bağırsak geçirgenliğinde önemli bir yeri olan tight junctionlar, intestinal epitel hücrelerinin lateral membranlarının apikal uçlarında bulunan çoklu protein kompleksleridir (Tsukita ve diğerleri, 2001; Van ve diğerleri, 2006). Furuse ve diğerleri (1993) Occludin'i Furuse ve diğerleri (1998) Claudinleri, Martin-Padura ve diğerleri (1998) Junctional Adhesion Molecule'ünü ve Ikenouchi ve diğerleri (2005) Tricellulini yaptıkları çalışmalarda tanımlamışlardır ve bilinen toplamda dört integral transmembran proteini parasellüler geçiş hattında bulunmaktadır. Tight junctionlar, makromoleküllerin parasellüler trafiğini düzenleyen anahtar yapılarıdır. Tight junction, bitişik epitel hücreleri arasında seçici geçirgen mühür oluşturan, apikal ve bazolateral membran alanları arasındaki sınırı ayıran çok proteinli bir komplekstir. Tight junction bariyerinin bozulması ve artan parasellüler geçirgenlik, ardından lümen pro-enflamatuvar moleküllerin geçirgenliğinde artışa ve mukozada bağışıklık sisteminin aktifleşmesine neden olarak, sürekli iltihaplanma ve doku hasarına neden olabilmektedir (Lee ve diğerleri, 2015).

Bağırsak bariyer fonksiyonun önemli bir özelliği olan bağırsak geçirgenliği birçok kronik hastalıkta tanımlanmaktadır (Galipeau ve diğerleri, 2016). Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı gibi kollektif bir inflamatuvar hastalık olan İnflamatuvar Bağırsak Hastalığına sahip hastalarda tehlikeli bağırsak geçirgenliği ve buna bağlı bozukluklar yaygındır (Hossen ve diğerleri, 2019). Bariyer disfonksiyonunun hastalıktan önce mi gerçekleştiği veya aktif inflamasyondan mı kaynaklandığı henüz belli değildir, ancak bağırsak sıkı birleşme

bariyerinin sitokinler ve patojenler tarafından dinamik olarak düzenlendiği varsayılmaktadır (Liverani ve diğerleri, 2016).

Tight junctionlar arasında geçirgenliği modüle eden Zonulin bağırsak bariyeri hakkında bilgi vermektedir (Şahbazoğlu, 2017). Allel haptoglobulin-2 ve genotip haptoglobulin-2'nin Ülseratif Kolitli hastalarda yüksek olduğu belirtilmektedir ve Zonulin, prehaptoglobulin-2 olarak tanımlanmaktadır. Zonulin temel olarak intestinal epitelde eksprese olmakla birlikte beyin, akciğer ve kalp dokusunda da eksprese olduğu belirtilmektedir. Tight junctionların düzenlenmesinde Zonulinin rolü olduğu düşünülmektedir. Epitelde mikroorganizmanın olması Zonulin salınımına neden olmaktadır ve Zonulinin etkisi sonucu Tight junctionların açılması da bağışıklık sistemini stimule etmektedir (Fasano ve diğerleri, 1997; Wang ve diğerleri, 2000).

Çalışmamızda kullandığımız Curcumin; polifenolik doğal bir bileşik olan ve Asya baharat zerdeçalının başlıca bir bileşenidir, antienflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip olduğu rapor edilmektedir (Maradana ve diğerleri, 2013). Curcumin, Ülseratif Kolitli hastalara faydalı olabilecek farmakolojik etkilere sahiptir (Hanai ve diğerleri, 2006). Yapılan bir meta-analizde, Ülseratif Kolitte adjuvan Curcumin tedavisinin klinik remisyonu sağlamada etkili olduğu gösterilmiştir (Zheng ve diğerleri, 2019). Curcuminin bağırsak geçirgenliği üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalarda, batı diyetinin yol açtığı intestinal bariyer disfonksiyonunu geri dönüşünü sağlayan ekolojik fitokimyasal olarak tanımlanmaktadır (Ghosh ve diğerleri, 2014). Başka bir çalışmada ise Curcuminin, bağırsak sıkı birleşme proteini Zonula Occludens-1 ve Occludin ekspresyonunu arttırarak, bağırsak bariyer disfonksiyonunu olumlu etkiyle daha da geliştirdiği bildirilmiştir (Feng ve diğerleri, 2019).

Çalışmamızdaki D vitamini ise; hormon benzeri fonksiyonlar barındıran, yağda çözünen vitaminlerden biridir (Özkan ve diğerleri, 2011). Yetersiz güneş ışığı ve besin yoluyla D vitamini alımı, malabsorbsiyon ve sıklıkla reçete edilen kolestramin gibi ilaçların kullanımı gibi nedenlerden ötürü Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığında D vitamini eksikliğinin yüksek prevalansa sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Cantimur, 2014). D vitaminin immün sistem üzerindeki etkisi, periferik kandaki aktif inflammatuar hücrelerde D vitamini reseptörlerinin tanımlanmasıyla ortaya çıkmıştır. D vitaminindeki yetersizlik, T hücre cevabının azalmasına sebep olmaktadır (Nicholson ve diğerleri, 2012). D vitamini immün yanıt oluşturan, T hücresinin bir türü olan T-helper1 (Th1) hücrelerinin proliferasyonunu baskılamaktadır; İnterlökin-2 ve İnterferon-γ gibi proinflammatuar sitokinlerin üretimini inhibe ederek etki göstermektedir (Lim ve diğerleri, 2005; Nerich, 2011). Th1 yanıtı ile ilgili olan

proinflamatuar sitokinler, D vitaminin eksikliğinde aktive olmaktadır ve İnflamatuar Bağırsak Hastalığının etyopatogenezinde rol almaktadır (Hassan ve diğerleri, 2013). 1,25(OH)₂D₃'ün çalışmalarda Tight junction proteinlerinden Zonula Occludens ve E-Cadherini geliştirdiği ve bozulmalarındaki iyileşmeye etki ettiği belirtilmektedir (Raftery ve diğerleri, 2015). D vitaminin, Tight junction proteinleri üzerindeki doğrudan etkilerine ek olarak deneysel kolit modellerinde gösterildiği gibi immün mekanizmalar yoluyla bariyer bütünlüğünü koruyabilmektedir (Froicu ve diğerleri, 2007; Zhao ve diğerleri, 2012).

İnflamatuar Bağırsak Hastalıklarına ait deneysel modellerde Curcuminin ve D vitaminin inflamasyon üzerindeki etkisine birçok çalışmada yer verilmiş ancak çok azında bu maddelerin bağırsak geçirgenliğindeki etkisine bakılmıştır (Ghosh ve diğerleri, 2014; Raftery ve diğerleri, 2015). Deneysel olarak yapılacak bu çalışmayla, bu konu ile ilgili gerçekleştirilecek ileri çalışmalar sonucunda multidisipliner yaklaşımların geliştirilmesi, insan sağlığı açısından faydalı bilimsel çalışmaların artmasına imkan sağlayacaktır.

Bağırsak hastalıklarında, parasellüler geçirgenlikte artışın tespit edilmesine ve parasellüler geçirgenlikteki artışın da bağırsak hastalıklarını tetiklemesine bağlı olarak; Ülseratif Kolitte de bağırsak geçirgenliğindeki olumsuz değişimlerin tespit edilmesi, çalışmamızın önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda; Asetik Asitle oluşturulmuş deneysel Ülseratif Kolit modelinde Curcumin ve Vitamin D'nin bağırsak geçirgenliğinde olası koruyucu ve tedavi edici etkilerinin neler olduğu sorusunun cevabının araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kolon Anatomisi

Çekum, kolon ve rektumdan oluşan, 5,5-7 aralığında pH'a sahip ve 1,5 metre uzunluğunda olan kalın bağırsak, villuslar olmadığından ince bağırsağa göre daha az yüzey alanına sahiptir ve su-elektrolitlerin emilmesi, sindirilmemiş olan besin maddelerinin vücuttan uzaklaştırılmasında görevlidir (Venkatesvarlu, 2008).

Kolon batında perifer kısımda konumlanmıştır. Medial ve lateral kolon retroperitoneal; transvers ve sigmoid kolon ise intraperitonealdir. Transvers kolon, hepatik fleksurayla çıkan kolona, splenik fleksurayla ise inen kolona bağlanmaktadır. Omentuma da kolonun bir bölümü tutunmaktadır. Kolonda, distalden proksimale doğru ilerlediğimizde kolon çapı artmaktadır; sigmoid segmentte çap 2,5 cm iken, çekumda 7 cm'ye yakın çap uzunluğu mevcuttur (Fraser ve diğerleri, 1981). Kolon; çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon, sigmoid kolon, rektum gibi segmentlerden oluşmaktadır. Kolonda, ince bağırsaktan ayrı olarak tenya koli, haustra, appendiks epiploikalar gibi bazı yapılar mevcuttur. Kolonun longitudinal kas yapıları tenya mesokolika, tenya libera ve tenya omentalis denilen 3 farklı bantı meydana getirmektedir; sirküler kas yapıları ise haustra keselerini oluşturmaktadır ve bu keseler pilika semilunarislerle birbirlerinden ayrılmaktadır, tenyalarda yerleşen appendiks epiploikalar da kolonda peritonla kaplanmış yağlı yapıları meydana getirmektedir. Kolon duvarı dıştan içe; seroza, longitudinal ve sirküler kas yapıları, submukoza ve mukoza denilen histolojik yapılardan meydana gelmektedir (Fry ve diğerleri, 1985).

Kolonun en proksimalinde çekum yer almaktadır, 7 cm çapındadır, uzunluğu ise 8 cm'dir. İleumla çekum arasında sirküler kas yapılı ileoçekal sfinkter bulunmaktadır, bu valf terminal ileumdan çekuma ileal içeriğin geçişini düzenlemektedir. Kolonun özel yapısı appendiks çekumun tabanında konumlanmıştır (Guyton ve Hall, 2013).

Çıkan kolon, ileoçekal kapakçıktan hepatik fleksuraya uzanmaktadır ve boyutu 15-18 cm'dir. Posteriyoru retroperitonla, anteriyoru ise visseral peritonla bağlantılıdır.

Transvers kolonun uzanışı hepatik fleksuradan splenik fleksuraya doğrudur ve uzunluğu 45-50 cm'dir. Omentum yapısının büyük bölümü transvers segmentin anterosüperior kısmına bağlanmıştır. Transvers kolonun ön yüzeyinin tamamı visseral peritonla kaplanmıştır.

İnen kolon ise; çıkan kolonla benzer olarak retroperitona yapışıktır, splenik fleksuradan başlayıp 25 cm kadar aşağı uzanmaktadır. Anterior ve lateral yüzleri visseral peritonla kaplanmıştır.

Visseral peritonla kaplanan sigmoid kolon, boyutu değişmekle beraber genelde 35-45 cm'dir.

Sigmoid kolon ve rektum arasında yer alan, kolonun 2-2,5 cm ile en dar bölümünü oluşturan rektosigmoid kolon, dışkı kontinansına destek olurken aynı zamanda dışkıyı bir süreliğine de depolamaktadır. Histoloji ve anatomi alanlarının incelemeleri sonucunda, rektosigmoid yapının sfinkter olduğu belirtilmiştir (Durmuş, 2018). Rektosigmoid yapıda, appendiks epiploikalar kaybolmaktadır ve tenya net görülmemektedir (Fry ve diğerleri, 1985).

Kolonun son kısmını oluşturan rektum; proksimal rectum (12-15 cm), orta rectum (7-12 cm) ve distal rectum (0-7 cm) olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Proksimal rektumun bir kısmı visseral periton ile kaplı olmakla beraber rektumun büyük bir kısmı periton boşluğunun haricinde konumlanmaktadır (Durmuş, 2018). 14 cm boyundadır ve genişliği 4 cm'dir. Haustra, appendiks epiploika ve tenya yapıları bu kısımda görülmemektedir (Fry ve diğerleri, 1985).

2.2. Ratlarda Bağırsak Anatomisi

Rat bağırsağının ilk kısmı duodenumdur, 9,5-10 cm uzunluğa sahiptir, sonraki kısım ise batının sağ bölümünü dolduran 89-130 cm uzunluğundaki jejenumdur, ince bağırsağın son kısmını 2-3 cm uzunluğa sahip ileum oluşturmaktadır. İnsanlardaki gibi ratlarda ileum ve çekum arasında ileoçekal valv bulunmamaktadır. Kolonun en geniş kısmını oluşturan çekum, 4,5-6,5 cm uzunluğa sahiptir. Çıkan kolon, transvers kolon ve inen kolon yapılarının toplam uzunluğu 9,5-10 cm kadardır ve kolon 7,5 cm uzunluğa sahip rektum ile sonlanmaktadır. Ratlarda insanlardaki gibi makroskobik olarak kolayca fark edilebilen tenya koli yapısı bulunmamaktadır (Menekşe, 2007; Vdoviakova ve diğerleri, 2016).

2.3.Kolon Histolojisi

Kalın bağırsakta yer alan histolojik yapılar lümeniden kolon duvarına doğru; tunika mukoza (epitel hücrelerini, lamina propriya, Lieberkühn kriptaları ve muskularis mukoza'yı

içerir), tunika submukoza, tunika muskularis (muskularis externa; sirküler, longitudinal kas tabakalarını içerir) ve tunika seroza'ya kadar bu şekilde sıralanmaktadır.

Tek katlı prizmatik epitel yapıda (anorektal kısım çok katlı yassı epitel içermektedir); absorbtif hücreler, goblet hücreleri ve enteroendokrin hücreler yer almaktadır. Goblet hücrelerinin sayısı proksimalden distale doğru ilerledikçe azalmaktadır. Lenfatik nodüller içeren Lamina propriada; lenfosit, makrofaj, eozinofil, mast hücreleri ve plazma hücreleri yer almaktadır. Muskularis mukoza; lamina propriya ve submukozayı birbirinden ayırmaktadır. Sıkı bağ dokusunda meydana gelen submukoza ise lenfatik nodülleri, adipoz dokuyu ve kan damarlarını içermektedir. Kolonun muskularis externasındaki longitudinal kas tabakası, kendisine özgü bant (3 adet bant) yapısı içermektedir ve bu kalın bant tenya coli olarak adlandırılmaktadır, kolonun rektum segmentinde tenya coli bulunmamaktadır. Seroza (visseral periton, mezenter) yapısı transvers ve sigmoid kolonu kaplamaktadır; retroperitonel yerleşen, çıkan ve inen kolonun posteriyorunu adventisya bağ dokusu kaplamaktadır.

Kolon ince bağırsaktan farklı olarak; bağırsak bezinde (lieberkühn kriptalarında) paneth hücresi, submukozada brunner bezi yer almamaktadır ve aynı zamanda kolon mukozası plika sirkülares, villus gibi yapılar içermediğinden düz bir yüzeye sahiptir ve kolon tarafından sindirim enzimleri üretilmemektedir (Eroschenko, 2016; Ross ve Pawlina, 2014).

2.4. Kolon Embriyolojisi

Gestasyonun 4. Haftasında primitif bağırsak 3 bölüme ayrılır bunlar; foregut denilen ön bağırsak, kolonun transvers bölümünün ortasından proksimaline kadar kalın bağırsağın ve ince bağırsağın geliştiği midgut denilen orta bağırsak, kolonun transvers bölümünün ortasından anüsün proksimaline uzanan kalın bağırsağın geliştiği hindgut denilen son bağırsaktır (Dede, 2007).

2.5. Kolon Fizyolojisi

Sindirimsel artıkların bir süreliğine fonksiyonel olarak depolayan ve bu fonksiyonel depo rolünü su ve elektrolit (Na ve Cl) absorpsiyonuyla (enterik içeriğin en az %90'nın emilimi gerçekleştirilerek 1,4 litre sıvı kolonda emilir) destekleyen, aynı zamanda mukus ve elektrolit (K ve HCO⁻) salgılayan ve anal bölgeye dışkının iletilmesinde görevli olan kolon, su-elektrolit dengesini fizyolojik olarak gerçekleştirdikten sonra yaklaşık 100 ml sıvıyı dışarı

atmaktadır. Kolona iletilen, ince bağırsakta absorblanmamış karbonhidratlar, lümende yer alan bakteriler tarafından kısa zincirli yağ asitlerine (bütirat, asetat, propionat) dönüştürülür ve bu ürün kolon epitel hücrelerinin önemli bir enerji kaynağıdır (Na'un aktif transportunda kullanılır). Kolon mikrobiyotasını oluşturan bu bakteriler protein ve üreyi de sindirerek amonyağı meydana getirirler ve bu oluşturulan iyonize ürün, kolondan salgılanan bikarbonat iyonu ile reaksiyona girip non-iyonize amonyağı oluşturur ve bu ürün de kolondan karaciğere daha zararsız bir forma dönüştürülmek üzere yolların (Guyton ve Hall, 2013).

2.6. Kolon Tight Junction Yapısı ve Por Boyutu

Yapılan çalışmalarda bağırsağın farklı bölümlerinde, epitel hücrelerinin bazolateral kısmında tight junction protein yoğunluğunun ve emilim yüzey alanının farklı olması sebebiyle bağırsak geçirgenliği derecelerinin farklı olduğu gösterilmiştir ve sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada, kolon epitelinde elektriksel direncin daha fazla, bağların daha sıkı ve parasellüler permeabilitenin daha az olduğu belirtilmektedir (Spitz ve diğerleri, 1994).

Sıçan gastrointestinal sisteminde kolon, en yüksek epitel dirence sahiptir ve sonrasında sırasıyla duodenum, jejunum, ileum takip etmektedir, bu sıralamanın nedeni ise kolon ve duodenum güçlü bir şekilde kapatıcı/tıkayıcı özellikte olan Claudin 1,3,4,5,8 eksprese ederken, permeabiliteyi arttıran Claudin 2,7,12'yi jejunum ve ileuma göre az eksprese etmektedir (Markov ve diğerleri, 2010).

Molekül büyüklüğü 6.7 Å olan Mannitol, molekül büyüklüğü 10.5 Å olan ⁵¹Cr-EDTA ve molekül büyüklüğü 5.3 Å olan PEG 400 gibi hidrofilik özellikte küçük molekül yapıları maddeler, parasellüler yolla emilmeleri sebebiyle bağırsak geçirgenliği için referans maddeler olarak kullanılmaktadır. Mikropartiküllerin parasellüler yolla transportu, insan kolonu ve ileumu 3 Å, jejunumu 8 Å büyüklüğünde tight junction porlarına sahip olduğundan uygun değildir ve 11,5 Å'dan büyük molekül boyutuna sahip maddeler parasellüler yolla absorbe edilememektedirler (Norris ve diğerleri, 1998).

2.7. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları

İBH; genetik yatkınlığın varlığında, çevresel etkenlerin bazı genlerde saklanan intestinal mukozadaki doğal ve edinsel immüneyi; bağırsak bariyer disfonksiyonu ve bağırsak permeabilitesinin artması eşliğinde patojen mikroorganizmaların, antijen içeren besin

maddelerinin lümende yer alması ve aynı zamanda gut floradaki mikroorganizmalara karşı toleransın azalmasıyla; anormal düzeyde aktifleştirmesi sonucunda, intestinal ve extraintestinal belirti ve komplikasyonlarla karakterize patolojik bulgulara sahip, remisyon ve relaps dönemlerini içeren, inflamasyonel kronik gastrointestinal hastalık türüdür (Stenson ve diğerleri, 2009; Tezel, 2009; Zemljic ve diğerleri, 2014).

İBH; ÜK (kolonda, sıklıkla rektumda; distalden proksimale doğru mukozada yayılım gösterir) ve CH (ağızdan anüse; transmural, fokal, granümatöz etkinlik gösterir)'den oluşmaktadır ve ikisi arasında kalan form ise İndetermine Kolit'tir (Abraham, 2009; Balmus ve diğerleri, 2016). İndetermine Kolit olarak tanı almış hastaların %33'ü, 1-2 yılın sonunda, ÜK olarak karşımıza çıkmaktadır (Cantimur, 2014).

2.8. Ülseratif Kolit

ÜK; genetik duyarlılığa sahip bireylerde çevresel faktörlerin de etkisiyle immün yanıtta tolerans edilemez artış sonucunda, daima rektum tutulumunun görüldüğü ve proksimale doğru yayılım gösterebilen, arada sağlam kısım bırakmaksızın genellikle mukozayla sınırlı (submukozada da tutulumun görüldüğünü belirten çalışmalar mevcuttur), mononükleer hücre infiltrasyonu, mukozal bezlerin distorsiyonu, kript abseleri ve goblet hücre sayısının azalmasıyla karakterize histolojik bulgulara sahip inflamasyonel kronik rahatsızlıktır (Fakhoury ve diğerleri, 2014; Friedman ve diğerleri, 2003; Stenson ve diğerleri, 2009). ÜK, ince bağırsak tutulumu göstermemektedir ancak, pankolit formuna sahip bireylerin %10'nunda backwash ileitise rastlanmaktadır (Cantimur, 2014).

ÜK'in bazı çalışmalarda tamamen Th2 aracılı olduğu kabul edilmektedir; bağırsak epitel hücreleri İBH'de, HLA-2 haplotiplerinin etkisiyle APC rolünde görev almaktadır ve bu APC'ler Th2'yi aktive edip proinflamatuvar mediyatörleri etkinleştirmektedir, bu durum ÜK patogenezi adına önemli bir bilgiyi bizlere sunmaktadır (Di Sabatino ve diğerleri, 2012; Stenson ve diğerleri, 2009).

ÜK hastalığının meydana gelmesinde ve ilerlemesinde rol alan mekanizmaların ele alındığı araştırmaları genel hatlarıyla incelediğimizde: ROS, RNS, RCS gibi serbest radikal türevlerinin; IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α ve INF- γ gibi sitokinlerin; siklooksijenaz, lipooksijenaz ve arasıdonik asit kaskadı ürünlerinin (lökotrien B4, tromboksan A2, prostaglandin E2, prostasiklin gibi) ve TGF- β , NO gibi maddelerin mukozal hasarlanmada yer

aldığı öne sürülmektedir (Guan ve Zhang, 2017; Pereira ve diğerleri, 2015; Soufli ve diğerleri, 2016; Stenson, 2014).

2.8.1. Ülseratif Kolitin Sınıflandırılması

Montreal sınıflandırmasında ÜK tutulum yerine göre; proktit (hasta bireylerin %40-50'sinin rektum ve rektosigmoidinde tutulumun görüldüğü), distal ülseratif kolit (hasta bireylerin %30-40'nın sigmoid segmentinin proksimaline geçişin gerçekleştiği ama bütün kolonun tutulumunun görülmendiği) ve son olarak pankolit (hasta bireylerin %20'sinin tüm kolonda tutulumun görüldüğü) olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Pankolitin görüldüğü hastaların %10-20'sinde ise inflamasyonun terminal ileuma (2-3 cm'nde) taşınımı söz konusudur bu durum ise backwash ileitis olarak adlandırılmaktadır (Friedman ve diğerleri, 2012; WGO, 2015).

ÜK klinik bulgularına göre; kronik aralıklı tip (remisyon ve relaps dönemlerini içeren), kronik sürekli tip (ılımlı aktivasyon bulgularıyla seyreden) ve akut fulminan tip (şiddetli tek atak içeren) olmak üzere üçe ayrılmaktadır (Both ve diğerleri, 1983).

Truelove-Witts skorlamasıyla belirlenen ÜK'nin klinik bulgularının aktivasyonlarıysa; Hafif düzey (günde 4 kez ve altı kanamasız gaita çıkışı gerçekleşmesi, hemoglobin-sedimentasyon seviyesinin ve ateşin-nabızın normal seyretmesi), Orta düzey (günde 4-6 kez kanamalı gaita çıkışı gerçekleşmesi, sedimentasyon ve ateşin-nabızın hafif yükselmesi, hemoglobin seviyesinin hafif düşmesi) ve Ciddi düzey (6 kezden fazla kanamalı gaita çıkışı gerçekleşmesi, sedimentasyonun 30 mm/h'den, ateşin 37,8 C'den, nabızın dakikada 90'dan yüksek olması, hemoglobinin 10,5 g/dl'den az olması) olmak üzere üçtür (Etchevers ve diğerleri, 2009; Truelove ve diğerleri, 1955).

2.8.2. Ülseratif Kolit Epidemiyolojisi

Dünya çapında yaklaşık beş milyon insanı etkileyen İBH; Kuzey Amerika (ABD ve Kanada gibi), Kuzey-Batı Avrupa (İskandinav ülkeleri, İngiltere gibi) ülkelerinde sıklığı ve yaygınlığı yüksek iken Latin Amerika, Güney-Doğu-Orta Avrupa, Asya, Afrika ülkelerinde ise sıklığı ve yaygınlığı kuzey-batı ülkelerine göre düşük seyretmektedir, fakat son 10 yıl içerisinde güney-doğu ülkelerinde de hastalık sıklığında yükselme gözlenmektedir (Fumery ve diğerleri, 2014; Göktürk ve Karaca, 2012). İBH'nin prevalansının artmasında

endüstrileşme ve batı tarzı yaşamın etkisi yüksektir (Hanauer ve diğerleri, 2010). İBH'nin gelişmekte olan ülkelerde insidansının düşük seyretmesi; farkındalığın düşük olmasıyla enfeksiyöz hastalıklar ve İBH'nin karıştırılması kaynaklı olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır (Loftus, 2004). ÜK tanısı alan olguların %5'nde ailevi yatkınlık olduğu belirtilmektedir (Irvine, 2001).

İBH'nin etiyolojisinde ırk, yaş, cinsiyet ve sosyo-ekonomik durum gibi bireye ait özellikler; kentte yaşam gibi çevresel özellikler yer almaktadır, kentte yaşayan ve sosyo-ekonomik durumu iyi olan kişilerde daha sık rastlanmaktadır (Fegan ve ark; 2003; Loftusjr 2004). Yahudi, Kafkas topluluklarında ve beyaz ırkta diğer topluluk ve ırklara göre daha sık İBH görülmektedir (Gilat ve diğerleri, 1986; Retsky ve diğerleri, 1995). Hastalık olgularının %10-15'lik kısmına yetişkin yaşından daha önce tanı konmaktadır (Van Limbergen ve diğerleri, 2008). İBH'ye her yaşta rastlanmakla birlikte 2-3. dekada başladığı ve 55-65 yaş aralığında ikinci pikin gerçekleştiği belirtilmektedir (Irvine, 2001). ÜK'nin kadın ve erkekte görülme durumunun eşit olduğunu bildiren kaynakların yanı sıra; Türkiye İBH Derneği'nin verilerine göre ÜK'nin kadın-erkek görülme oranı 1,27'tir, kadınlarda erkeklere kıyasla daha sık görülmektedir (Dağlı, 2006; WGO, 2015).

ÜK'nin Dünyadaki insidansı 12,7/100.000, prevalansı 500/100.000; Kuzey Amerika'da insidans 2,2-14,3/100.000, prevalans 37-246/100.000'tir. Faroe Adaları ise, 81,5/100.000 ile Dünya'daki en yüksek insidansa sahip bölgedir. ÜK'nin ülkemizdeki insidansı 2,6/100.000, prevalansı 100/100.000; Trakya bölgesi'ni kapsayan araştırmada ise insidans 0,59-0,89/100.000 ve prevalans 4,9/100.000 olarak belirtilmektedir (Göktürk ve diğerleri, 2012; Molodecky ve diğerleri, 2012; Tezel ve diğerleri, 2003; Ventham ve diğerleri, 2013).

2.8.3. Ülseratif Kolitin Etiyopatogenezi

Çevresel faktörlerin özellikle de mikrobiyotanın öncülüğünde, mukozal immunitede görevli hücrelerin (doğal immunitede: nötrofil, makrofaj, dendritik hücre, NK hücreleri, bağırsak epitel hücreleri, ILC1, ILC3; kazanılmış immunitede: Th1, Th2 ve Th17) ürettiği antiinflamatuvar ve proinflamatuvar sitokinlerin dengesinin, genetik faktörlerin etkisiyle, inflamasyona kayması sonucu ÜK gelişiminin gerçekleştiği bildirilmektedir (Fidan, 2016). Yapılan çalışmalardan yola çıkılarak rahatlıkla söylenebilir ki hastalığın patogenezi multifaktöriyeldir ve genetik, çevresel, immünolojik, enfeksiyöz etkenlerden kaynak almaktadır (Peker, 2016).

Genetik faktörlerin etki durumu GWAS gen çalışmalarında ve meta-analizlerinde konu edilmiştir, ancak bu araştırmalar İBH'nin genetik aktarımının izlediği yolun %20'lik kısmını tanımlayabilmiştir (Imielinski ve diğerleri, 2010). GWAS araştırmaları sonucunda ÜK'yle alakalı yaklaşık 50 lokus tespit edilmiştir (Anderson ve diğerleri, 2011). Başka bir makale verilerine göre ise, İBH'yle bağlantılı 163 gen lokusu tespit edilmiş bunların 23 tanesi ÜK'ye, 30'u CH'ye özgü ve 110 tanesi ise her iki hastalığa özgü olduğu belirtilmiştir (Jostins ve diğerleri, 2012). GWA çalışmalarında İBH'ye yatkınlığı olan genler detaylı incelenmiş ve dört gruba ayrılmıştır bunlar; otofajiyle bağlantılı genler (NOD2, ATG16L1, IRGM), bağırsak epitel fonksiyonlarını regüle eden genler (SLC22A5, OCTN2, ECM1, CDH1, HNF4A, LAMB1, GNA12), kazanılmış immünetiyi regüle eden genler (IL10, IL23R, IL12B, STAT3, JAK2, TYK2) ve hücre içi innate immun kaskatlarla bağlantılı genler (NOD2, CARD15)'dir (Jostins ve ark 2012). ÜK hastalığına sahip bireylerin, HLA class II'yle bağlantısı araştırılmış, HLA-DRB1*1502 ve HLA-DRB1*0103'le (HLA-DRB1*0103 yalnızca ÜK'de değil, kolonda gerçekleşen diğer inflamasyonel durumlar için de risk oluşturduğu düşünülmektedir) ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Cho, 2008; Silverberg ve diğerleri, 2003). ÜK'li kişilerin birinci derece akrabalarında bu hastalığın görülme olasılığı %5,7-15,5'tir; ÜK'li dizigotların konkordansı %4 iken monozigotların %16 hastalık gelişme riski olduğu belirtilmiştir (Halme ve diğerleri, 2006; Satsangi ve diğerleri, 1996). Yahudi olmayan bireyleri de içeren popülasyon üzerinde gerçekleştirilen araştırmada, Aşkenazi Yahudilerinin 2-4 kat daha yüksek seviyede İBH'a yakalanma risklerinin olduğu bildirilmektedir (Okumuş, 2019).

Çevresel faktörlerin rolünü en iyi gösterecek durumlardan biri, monozigotlarda tam anlamıyla bir konkordansın gerçekleşmemesidir (Cho, 2008). Çevresel faktörleri ve bu faktörlerin İBH patogenezindeki etkisini tek tek inceleyelim. İBH'de mikrobiyal ajanların etkinliği söz konusudur; bu olgularda normalde kolon florasını oluşturan bakterilerin (Bacteroides, Eubacterium ve Lactobasillus) azaldığı, patojen bakteri türlerinin (Pectinatus, Sutterella, Clostridia, Fusobacterium, M. paratuberculosis, Verrucomicrobium, Helicobacter Hepaticus) ise arttığı belirtilmiştir (Shih ve diğerleri, 2008). Appendektomi operasyonun yapılan meta-analizde, ÜK riskini %69 düşürdüğü bildirilmektedir (Koutroubakis ve diğerleri, 2000). Beslenme tarzı da İBH durumunu etkilemektedir, trans yağ içerikli ürün tüketiminin, fazla miktarlarda yumurta ve et yenmesinin ÜK riskini yükseltmektedir; sebze-meyve, lifli besinlerin tüketilmesi ve yeni doğanda anne sütü alınması ise riski düşürmektedir (John ve diğerleri, 2010; Klement ve diğerleri, 2005; Sakamoto ve diğerleri, 2005). Nikotinin Th2 fonksiyonunu inhibe etmesi kaynaklı, sigaranın ÜK'de koruyucu görev aldığı belirtilmektedir (Madretsma ve diğerleri, 1996). Antibiyotik, OKS ve NSAİİ türü ilaçların kullanımı ÜK'yi

olumsuz etkilediği ve NSAİİ'nin bu etkinliği bağırsak geçirgenliğini arttırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Tezel, 2009; Zapata ve diğerleri, 2010). ÜK hastalarındaki stres durumu hastalığı alevlendirmektedir fakat; Cochrane derlemesinde yer alan verilerde psikolojik müdahalenin ise herhangi bir olumlu etkisinin olmadığı sunulmuştur (Tezel, 2009; Timmer ve diğerleri, 2011). Hijyenik yaşam ve yüksek ekonomik durumun ÜK sıklığını yükselttiği görülmüştür ve ÜK'nin genelde bahar döneminde nüks ettiği bildirilmiştir (Tezel, 2009).

İmmünolojik olarak gerçekleşen yanıtın anormal düzeyde veya dengesiz olmasıyla, dokuda hasarlanma meydana gelirken aynı zamanda sistemik olarak da hastalık oluşumu söz konusudur. İmmünolojik etki, doğal ve edinsel immün yanıt olmak üzere iki farklı mekanizmayla oluşmaktadır, İBH'de immün sürecin gerçekleştiği savaş meydanı mukozada yer alan lamina propriyadır.

Doğal immün yanıt, saatler hatta dakikalar içerisinde uyaranlara cevap sağlamaktadır. Bu immün sürecin ilk adımını aslında bağırsak epitel hücrelerinde konumlanmış PRR (Pattern Recognition Receptors: patern tanıma reseptörleri) reseptörleri oluşturmaktadır. PRR reseptör grubunda; TLR (TLR 1, 2, 4, 5, 9: hücre zarında; TLR 3, 7, 8: organellerde bulunur) ve NOD (NOD1 ve NOD2: sitoplazmada bulunur) reseptör aileleri yer almaktadır. TLR ve NOD'un mikrobiyal antijenleri tanınması inflamasyonel kaskadı başlatır. TLR'nin indüklenmesi NF- κ B'yi aktive ederek sitokin kaskadını başlatmaktadır (Abreu ve diğerleri, 2005; Baumgart ve diğerleri, 2007; Shih ve diğerleri, 2008; Tezel, 2009). PPAR- γ reseptörü (Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör-Gamma), TLR'nin gerçekleştirdiği sinyalleri inhibisyonla kontrol etmektedir, ÜK hastalarında bu reseptörün azaldığı belirtilmektedir (Dubuquoy ve diğerleri, 2003). Nötrofiller, dendritik hücreler, makrofajlar ve NK; doğal immunitede görevli hücrelerdir. Reseptörlerden gelen uyarılar sonucunda aktive olan makrofaj ve dendritik hücreler proinflamatuvar sitokin (IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IFN- γ , TNF- α), kemokin ve lenfokin gibi mediyatörleri salgılayarak bir saat içinde damardan inflamasyon gerçekleşen doku alanına nötrofil kemotaksisini sağlamaktadır (Guyton ve Hall, 2013; Zanello ve diğerleri, 2014). Kolonda gerçekleşen inflamasyona, nötrofillerde üretilen oksidatif ve nitrozatif stresi oluşturan ROT ve RNT'nin aşırı miktarda üretimi neden olmaktadır (Wendland ve diğerleri, 2001). ROT ve RNT; DNA hasarında rol oynamaktadır ve bu hasarlanma sonucunda İBH'de 8-OHdG (8-hidroksi deoksiguanozin) düzeyinde artış olduğu saptanmıştır (Collins ve diğerleri, 2004; Murphy ve diğerleri, 1998). RNT'lerden NO'in, bağırsakta indüklenabilir Nitrik Oksit Sintaz (iNOS)'ı; IFN- γ , IL-1 β ve TNF- α gibi sitokinlerin uyarmasıyla İBH'de seviyelerinin yükseldiği belirtilmiştir, artan bu NO seviyesi ise bağırsak epitel hücrelerinde apoptoza sebebiyet vermektedir (Gözükara, 2011; Martinez ve

diğerleri, 2008). TNF- α ; NF- κ B'yle ilişkili kaskadları indükleyerek kolon mukozasının inflamasyonuna ve ülserasyonuna sebep olan MMP'lerin (Matriks Metalloproteinazlar) salınmasını uyarmaktadır, bu MMP'ler ECM'leri (Ekstrasellüler Matriks) hasarlayarak kolonik dokuda ÜK patolojisini meydana getirmektedir (Louis, 2001; Von Lampe ve diğerleri, 2000). IFN- γ ve TNF- α kaynaklı olduğu tahmin edilen, İBH'de atipik olarak antijen sunar duruma gelen bağırsak epitel hücreleri, aynı zamanda NO salınımı da gerçekleştirmektedir. Bu NO, immünolojik hücrelerden salınan süperoksit radikaliyle birleşerek ONOO-'i (Peroksinitrit) meydana getirip hücre zarında lipid peroksidasyonuna ve böylelikle doku hasarına sebebiyet vermektedir (Beckman ve diğerleri, 1990; Tezel, 2009).

Edinsel immun cevap İBH'de doğal immun cevaba göre daha görünür doku bozulmasına yol açar, her ne kadar edinsel cevabın ön koşulu doğal cevap olsa da durum bu şekilde cereyan etmektedir (Hibi ve diğerleri, 2006). Edinsel immunitede T ve B hücreleri görev almaktadır, ama İBH'de asıl patogenezi T hücreleri sağladığı düşünülmektedir (Bouguen ve diğerleri, 2011). Edinsel olarak gerçekleşen immünolojik yanıt spesifiktir ve T hücrelerinin çeşidi ve miktarına bağlı olarak cevabı vermek birkaç gün sürebilmektedir (Korn ve diğerleri, 2009). İBH'de CD4+ T hücresi mukozada artarken, bu hücrelerin salgıladığı sitokin miktarıysa mukoza ve periferik kanda artmaktadır. Th1 ve Th2; CD4+ T hücresi ailesindendir. Th1; IL-2, IL-12 ve INF- γ sitokinlerini salgılar, Th2 ise; IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 sitokinlerini salgılamaktadır ve ÜK'nin Th2 bağlantılı bir rahatsızlık olduğu bazı çalışmalarda bildirilmektedir (Elson, 2000; Zhu ve Li, 2012). Th17 de İBH'de immünolojik süreçte yer almaktadır (Geremia ve diğerleri, 2012). Th3 veya Treg hücreleri; IL-10 ve TGF- β 1 aracılığıyla, Th1, Th2 ve Th17 hücrelerini kontrol ve suprese etmektedir. Makrofajları, fibroblastları epitel ve endotel hücrelerini uyaran Th17, bu etkileşimle bazı mediyatörlerin (IL-1, IL-6, TNF, MMP, kemokinler) salınımına neden olur ve bağırsak inflamasyonunda böylelikle rol almaktadır (Tezel, 2009; Xavier ve diğerleri, 2007).

2.8.4. Ülseratif Kolitin Klinik Tanı Yöntemleri

İBH'nin tanısı; şüphelenilen hastalık doğrultusunda hastanın detaylı anamnezi alınarak (kanlı-mukuslu diyare, tenezm, karın ağrısı, konstipasyon, kilo kaybı, extraintestinal bulgular), fiziki muayenesi yapılarak (kramp şeklinde karın ağrısı), laboratuvar sonuçları (gaita tetkiki: fekal kalprotektin ve laktoferrin; periferik kan tetkiki: CRP, eritrosit sedimentasyon, hemogram; serolojik testler: p-ANCA; diğer bulgular: PCNA), endoskopi

(sigmoidoskopiyle yapılan biyopsi, kolonoskopiyle inceleme) ve radyolojik görüntülemeleri (Baryumlu grafler, batin USG, düz karın grafisi BT, MR enterografi/BT enterografi, MRI, MRCP) incelenerek, benzer tabloyu içeren hastalıkların dışlanması ve İBH türünün belirlenmesiyle, biyopsi ve histolojik veriler eşliğinde tutulum yeri ve yayılım durumunun tespitini içeren, aynı zamanda extraintestinal etkilenme sürecinin de takip edildiği genel değerlendirmeyi kapsamaktadır (Fidan, 2016; Kaya, 2018; Vermeire, 2004). Kolonoskopik inceleme ve bu incelemeyle gerçekleştirilen biyopsi ÜK'nin şiddet düzeyinin ve yaygınlık durumunun belirlenmesinde altın standart olarak belirtilmektedir (Vermeire ve diğerleri, 2000; Zavos ve diğerleri, 2007). Serolojik testler İBH tanısında yeterli değildir, İBH türlerinin ayırımında yararlanılmaktadır; p-ANCA(+)/ASCA(-) ÜK, p-ANCA(-)/ASCA(+) ise CH profilinde genelde karşımıza çıkmaktadır (Tibble ve diğerleri, 2001). ÜK hastalarının %30-83'lik kısmında p-ANCA (sensivite %65, özgünlük %85) pozitifdir (Saibeni ve diğerleri, 2003). İBH türlerinin ayırımında radyolojik görüntülemeler de görev almaktadır (WGO, 2015). Laboratuvar bulgularından CRP seviyesi ve fekal kalprotektin inflamasyon belirtici olarak değerlendirilen bulgulardır (Lin ve diğerleri, 2014).

Hasta öyküsünde kanlı-mukuslu gaita varlığı İBH'nin İBS'den ayırt edilmesinde önemli bir parametredir. Genelde diyarenin görüldüğü (günde 10-12 defa) ÜK'de, sadece rektum tutulumunda konstipasyona da rastlanmaktadır (Both ve diğerleri, 1983). Distal kolitte sol alt kadranda, pankolitte ise tüm kadranda ağrı hissedildiği hastalar tarafından belirtilmektedir (Rachmilewitz, 1989).

İBH tanısında; bağırsak enfeksiyonuna sebep olan İBH'yi taklit eden patojenlerin (Salmonella, Shigella, Campylobacter, Aeromonas, Plesiomonas, Yersinia, E. coli O157: H, Clostridium difficile, Giardia lamblia, Histoplazma, Mycobacterium tuberculosis ve Entamoeba histolytica) gaitanın mikroskopik tetkikiyle dışlanması tedavinin etkinliği açısından kıymetlidir (Barbara ve diğerleri, 2002).

İBH'nin düzeyinin değerlendirildiği birçok aktivite indeksi bulunmaktadır (Rachmilewitz Endoskopik Aktivite İndeksi, Truelove-Witts Kriterleri, MAYO Skorlama Sistemi, Ülseratif Kolit Hastalık Aktivite İndeksi). Klinik aktivite durumunun belirlenmesinde, kolonoskopik değerlendirmenin yer verilmediği Truelove-Witts aktivite skoru kullanılırken (hafif, orta ve ağır olarak sınıflandırılmaktadır), endoskopik aktivite durumunun skorlanmasında Rachmilewitz indeksi kullanılmaktadır. Rachmilewitz indeksinin toplam skoru ≥ 4 ise aktif hastalık olarak, < 4 ise de remisyon olarak değerlendirilmektedir (Lichtenstein ve diğerleri, 2006). Kolonoskopik değerlendirmenin de yer aldığı klinik tabloyu inceleyen MAYO skorlama sistemi de karışık olmasına rağmen tanıda kullanılabilmektedir

(Barbara ve diğerleri, 2002). MAYO skorlamasında; değerler 11-12 aralığında ise şiddetli/aktif, 6-10 aralığında ise orta şiddetli, 3-5 aralığında ise hafif, 0-2 aralığında ise inaktif olarak değerlendirilmektedir (Lichtenstein ve diğerleri, 2006). Ülseratif Kolit Hastalık Aktivite İndeksi; PGA, defekasyon sıklığı, rektal kanama ve endoskopik mukozal durum değerlendirmesini kapsayan bir değerlendirme yöntemidir. Skorlama 0-12 aralığında değişmektedir; >10 ise hastalığın şiddetli seyrettiğini, 0-2 aralığında ise hastanın remisyon sürecinde olduğunu göstermektedir. Başlangıçta hesaplanan skora göre 3 puan ve üzeri düşmenin gözlenmesi, hastanın tedaviye klinik yanıt verdiğine işaret etmektedir (Su ve diğerleri, 2006).

2.8.5. Ülseratif Kolitin Komplikasyonları

ÜK'nin komplikasyon durumu; lokal ve sistemik olarak incelenmektedir. Lokal komplikasyonlar kolonda gerçekleşen bölgesel bulguları içermektedir, sistemik komplikasyonlar ise extraintestinal gerçekleşen bağırsak dışı bulguları kapsamaktadır. İntestinal komplikasyonlar; masif kanama, perforasyon, toksik megakolon, psödopolipozis, kolon karsinomu, anal fissür ve fistül, striktür, perianal absedir. Extraintestinal komplikasyonlar ise; Hepatobilier hastalık (primer sklerozan kolanjit), yağlı karaciğer hastalığı, böbrek hastalıkları (nefrolitiazis; ÜK'de ürik asit taşı artar), poliartrit, osteoporoz (kortikosteroid kullanımına bağlı), anemi, kilo kaybı, ateş, oftalmolojik komplikasyonlar (kortikosteroid kullanımına bağlı) ve mukokutanöz lezyonlardır (Barbara ve diğerleri, 2002; Bozkurt, 2008; Dağlı, 2006).

İntestinal bulgulardan, masif kanama şiddetli ataklar sırasında arttığında (1-2 gün içinde 6-8 ünite kan gerekliliğinde) kolektomi durumu endike olmaktadır (Hanauer ve diğerleri, 2005). Şiddetli atakların %5'inde toksik megakolon görülebilirken bu durum perforasyona da kapı açarak mortalite oranını arttırmaktadır (Judge ve diğerleri, 2003). ÜK'li bireylerde kolon karsinomu görülme durumu; 10 sene sonrası için %2, 20 sene sonrası için %8, 30 sene sonrası için %18'dir (Rizzo ve diğerleri, 2011). PSK'li kişilerin %40-60'ında ÜK hastalığı görülmektedir (Lakatos ve diğerleri, 2012).

Klinik açıdan hastalığın şiddet durumunun analiz edildiği olguların; %9'nun ağır, %71'nin orta ve %20'sinin ise hafif aktiviteye sahip bir şekilde başlangıç gösterdiği belirtilmektedir (Blonski ve diğerleri, 2012). ÜK hastalarının mortalite durumunun %2'den az olduğu ve glukokortikoid medikal tedavisinden önce atakların şiddetli gerçekleştiği

süreçte ise mortalitenin %35 olduğu bildirilmektedir (Stenson ve diğerleri, 2003; Su ve diğerleri, 2006).

2.8.6. Ülseratif Kolitin Tedavi Yöntemleri

ÜK tedavi yöntemlerini medikal ve cerrahi uygulamalar oluşturmaktadır, bunun yanı sıra tıbbi beslenme/diyete uyumun sürekliliği de sindirim sisteminde gerçekleşen bu hastalığın tedavisinde başrolüdür. Genellikle tedavinin ömür boyu sürdüğü ÜK’de, beslenme ve medikal tedavinin hedefi aktif dönemi remisyona çevirmek ve remisyon sürecini uzatmaktır. Tedavi yöntemi ve yoğunluğu; hastalığın relaps sıklığına, komplikasyonuna, şiddetine ve yerleşim yerine göre belirlenmektedir (Lee, 2012).

Beslenme tedavisi, inflamasyonu önlemek adına önemlidir. Probiyotik/prebiyotik alımı, posa ve omega-3 gibi yağ asitlerinin tüketimi bu durum için yararlı olabileceği çalışmalarda öne sürülmüştür (Fernández-Bañares ve diğerleri, 1999; Gil, 2002). ÜK’nin remisyon sürecinin idamesi adına probiyotikler (orta-hafif şiddetli ÜK’de; *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *B.breve*, *B. infantis* ve *Streptococcus salivarius* subsp., Termofiller) ve prebiyotiklerin etkinliği öne sürülmektedir, bazı bakteri çeşitlerinin *in vivo* ve *in vitro* araştırmalarda proinflamatuvar sitokinleri baskıladığı ve antiinflamatuvar faktörleri uyardığı ve böylelikle koruyucu etkinliklerini gösterdikleri belirtilmektedir (Bringiotti ve diğerleri, 2014; Sood ve diğerleri, 2009).

Medikal tedavide yer alan ilaçlar; antiinflamatuvar-kortikosteroid (budesonid, hidrokortizon ve prednisolon), antiinflamatuvar-aminosalisilat/ASA (sulfasalazin, balsalazid, mesalazin ve olsalazin), immunosupresif –tiopürinler (6-merkaptopürin ve azatiopürin/AZA), immunomodulator (metotreksat, siklosporin-A/CSA ve takrolimus), antibiyotik (metranidazol, siprofloksasin) ve destekleyici biyolojik ajanlardır (TNF- α inhibitörleri: infliximab, certolizumab pegol, golimumab, adalimumab; monoklonal antikorlar: vedolizumab, natalizumab; JAK inhibitörü:Tofacitinib); fakat medikal tedaviye başlamadan önce bazı hastalıklar (malignite, mezenterik iskemi, toksisite, *Clostridium difficile*/Cytomegalovirus kaynaklı enfeksiyöz enteritis) tedavi etkinliği adına dışlanmalıdır (Friedman ve diğerleri, 2007; Marshall ve diğerleri, 1997). ÜK’de, genelde sepsis varlığında kullanılan antibiyotikler, remisyon durumunu etkilememekle birlikte, üstelik psödo membranöz kolite neden olma riskleri mevcuttur (Goldmann ve diğerleri, 2011).

Hematopoetik kök hücre transplantasyonu (HSCT), Mezenkimal kök hücrelerin (MSC) ve kolon kök hücrelerin transplantasyonunun, İBH tedavisindeki etkinliğine dair veriler çalışmalarda yer almaktadır. HSCT, *invivo* ve *invitro* araştırmalarda İBH'nin tedavisi amacıyla kullanılmış ve pozitif sonuçları olduğu belirtilmiştir (Godoi ve diğerleri, 2010). Başka bir çalışmada, normal erişkin C57BL/6 fare kolonundan intrakolonik kök hücre alınmış ve IL-10-/- farelerine transplante edilmiş, nakil gerçekleştirilen farelerde bağırsak permeabilitesinde iyileşmeler gözlemlendiği belirtilmiştir (Zhou ve diğerleri, 2012). MSC transplantasyonun gerçekleştirildiği deneyde ise infüzyonun mukozada oluşan hasarlı kriptleri ve epitel bariyer bütünlüğünü iyileştirdiğine dair veriler sunulmuştur (Liang ve diğerleri, 2011). Ratlarda MSC'nin intraperitoneal infüzyonun, TNBS ile oluşturulmuş deneysel modelin kolon dokusunda TNF- α ve IL-1 β düzeylerini azalttığı ve epitelyal apoptozu düşürdüğü belirtilmiştir (Castelo-Branco ve diğerleri, 2012).

ÜK'de cerrahi tedavi yöntemi olan kolektominin gerekliliği hastalık şiddeti ve kanser riski durumuna göre belirlenmekle birlikte hastaların %20'sinde bu operasyonun gerçekleşmesiyle düzelmeler gözlemlendiği bildirilmektedir (Saka ve diğerleri, 2014). Kolektomi cerrahi işlemiyle, ileal poş ve anal anastomozu gerçekleştirilmektedir ve böylelikle gastrointestinal sistem fonksiyonlarının bütünlüğü korunmaya çalışılmaktadır (Tiger ve diğerleri, 2012). Toksik megakolon, apse, striktür, fistül, fissür gibi komplikasyonların varlığı ve ilaç tedavisine direncin olması durumunda cerrahi tedavi endikedir (Kornbluth ve diğerleri, 2010).

2.8.7. Deneysel Kolit Modelleri

Genetik olarak dizayn edilmiş, konjenik, spontane, hücre transfer ve kimyasal madde ile indüklenen olmak üzere beş farklı kategoride dizayn edilen deneysel modeller İBH'nin patogeneze dair birçok prensibin elde edilmesini sağlamıştır (Mizoguchi, 2012). Kimyasalla indüklenen deney modellerinde yaygın olarak; asetik asit, 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), dekstran sülfat sodyum (DSS), dinitroklorobenzen (DNCB) ve oksazolon kullanılmaktadır (Randhawa ve diğerleri, 2014). İntrarektal yoldan verilen seyreltik asetik asitle oluşturulan deneysel kolit, kronik inflamatuvar bir süreç oluşturmaksızın akut olan kolit modelini temsil etmektedir (Yamada ve diğerleri, 1992). Seyreltik asetik asit verilmesiyle 4 saatte inflamasyon gerçekleşmemesine rağmen kolon epitelinde hasar gözlenmektedir. Akut inflamatuvar elemanların etkinliği başladıktan 7 gün sonra yanıtta gerileme gözlenmektedir (Qin ve diğerleri, 2011). Asetik asitle ratlarda deneysel kolit

oluşturulduğunda, yaklaşık 15-20 günde tamamen iyileşme gerçekleşmektedir (Yamada ve diğerleri, 1992). Asetik asitle oluşturulan deneysel modelde histopatolojik bulgular incelendiğinde; submukozal/mukozal nekroz, submukozal ülserasyon, nötrofil infiltrasyonu, ödem ve vasküler dilatasyon gözlenmektedir ve bu lezyonlar insandaki ÜK patolojik bulgularıyla örtüşmektedir (Randhawa ve diğerleri, 2014).

2.9. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres, Antioksidanlar, Sitokinler ve İnflamasyon

Dış katmanda eşlenmemiş elektron bulundurmaları kaynaklı meydana gelen kararsız ve çok aktif özellikteki serbest radikaller; endojen (inflamasyon, aşırı fiziksel aktivite, iske, stres, kanser, yaşlanma gibi nedenlerle oluşur) veya eksojen (radyasyon, ağır metal, hava-su kirliliği, yanlış pişirme yöntemleri gibi nedenlerle oluşur) olarak oluşabilmektedir (Pham-huy ve diğerleri, 2008; Uysal, 1998; Valko ve diğerleri, 2004). ROS, RNS, RCS ve RSS olmak üzere dört tür serbest radikal vardır, bu radikaller; karbonhidrat, protein, yağ ve en önemlisi nükleik asit gibi biyolojik açıdan mühim molekülleri olumsuz etkilemektedir ve antioksidanların yetersiz savunması sonucunda oksidatif stresi meydana getirmektedir (Naruszewicz, 2009). DNA hasarı ve lipid peroksidasyon süreçlerini gerçekleştiren mekanizmaları aktive eden ROS, apoptozu meydana getirmektedir (Robbins ve diğerleri, 2011). Ortamda oksijenin yer alması durumunda ve enzimlerin (NADPH oksidaz, SOD, MPO, NOS) varlığında; süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^-) ve nitrik oksit (NO) serbest radikalleri oluşmaktadır (Guyton ve Hall, 2013).

Antioksidanlar; endojen antioksidanlar, eksojen antioksidanlar olmak üzere 2 grupta sınıflandırılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzimatik (SOD, CAT, GPx, GR, GST, MPO) ve nonenzimatik (GSH, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzimQ 10, selenyum, α -lipoik asit, transferrin, seruloplazmin) olmak üzere ikiye ayrılırken; eksojen antioksidanlar ise vitamin-mineral-yag asitleri eksojen antioksidanlar (α -Tokoferol, β -Karoten, Askorbik asit, Folik asit, Se, Mn, Zn, omega-3, omega-6) ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar (Ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, vitamin E analogu, endojen antioksidan aktivitesini arttıran, nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları, demir redoks döngüsü inhibitörleri, nötrofil adezyon inhibitörleri, sitokinler, barbitüratlar, demir şelatları) olarak iki grupta toplanmaktadır (Akkaya, 2018; Yardımcı, 2015). Antioksidanlar etkilerini; serbest radikalleri süpürüp lipid peroksidasyonunu önleyerek, bölgesel oksijen düzeyini azaltarak, bazı radikallerin dönüşümünü sağlayıp radikal

etki göstermemesine neden olarak, geçiş metallerinin (bakır ve demir gibi) Fenton reaksiyonunu engelleyerek, zincirleme olarak meydana gelen reaksiyonlarda rol oynayan serbest radikallerle tepkimeye girip set oluşturup ortaya çıkartmaktadır (Halliwell ve diğeri, 1990). Serbest radikaller (ROS, RNS, RCS, RSS), NF-κB pathwayini uyararak proinflamatuvarların (TNF-α, TNF-beta, IL-1β, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, INF-γ) gen ekspresyonunu sağlamaktadır; ancak yeterli seviyede antioksidanın ortamda yer alması bu sinyal yolağının indüklenmesini inhibe etmektedir (Cachofeiro ve diğeri, 2008; Pieczenik ve diğeri, 2007).

Sitokinler; edinsel immün sistemle T hücrelerinden veya doğal immün sistemle NK ve mononükleer fagositoz hücrelerden üretilirler, glikoprotein veya protein yapıdadır. Sitokinler; immün yanıtın regölasyonu, hücre iletişimi ve doku onarımında rol oynamaktadır (Oberholzer ve diğeri, 2000). Sitokinler, antiinflamatuvar (IL-4, IL-10, IL-11, IL-13) ve proinflamatuvar (TNF-α, TNF-beta, IL-1β, IL-8, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, INF-γ) olmak üzere aktivasyonlarına göre ikiye ayrılmaktadırlar; bunların yanı sıra çift etkiye sahip sitokinler (IL-6, TGF-beta) de mevcuttur (Casey, 2000). COX-2'yle indüklenen iNOS gibi inflamatuvar proteinler, antiinflamatuvar ve proinflamatuvar sitokinlerin üretiminde meydana gelen dengesizlik inflamatuvar sürecin basamaklarıdır (Sakthivel ve diğeri, 2013). İnflamasyonda NO, lökotrien ve trombosit aktifleştiricinin üretimini sağlayan sitokinler; apoptozun inhibisyonunu sağlarken, NF-κB kaskatını başlatmaktadır (Hur ve diğeri, 2012; Roda ve diğeri, 2011). ÜK'de aktif dönemde NF-κB'de artış olduğu belirtilmektedir bu artışın inhibisyonu gerçekleştirildiğinde aynı zamanda TNF-α, IL-1β, IL-6 ve INF-γ sitokinleri baskılanmaktadır ve bu baskılama ÜK tedavisine önemli bir boyut kazandırmaktadır (Dou ve diğeri, 2014).

ÜK olgularının kolon mukozasında, inflamatuvar süreçte görevli hücrelerin infiltrasyonu ile birlikte aktivasyon artışı serbest radikal düzeylerini yükselttiği, özellikle kolon epitelinde hidrojen peroksit seviyelerinin yüksekliği bazal membranı ve tight junction protein yapısını hasarladığı ve böylelikle lümendeki patojenlerin mukozal bölgeye girişine sebep olarak immün yanıtı arttırıp patogeneze rol aldığı bildirilmektedir (Abdullah ve diğeri, 2011; Özgün ve diğeri, 2013; Wang ve diğeri, 2016). İBH'de oksidatif strese artış gözlenirken, antioksidan kapasitenin azaldığı belirtilmektedir (Çetinkaya ve diğeri, 2006).

2.10. Bağırsak Bariyeri

Epitel bariyer mukozada konumlanmış immün sistemin ilk savunma hattını meydana getirmektedir. Lümendeki içeriğin, epitel tabakasının altındaki yapıya enjekte edilmesiyle oluşturulan kronik granümatöz kolit sıçan modelinde gerçekleşen sistemik inflamasyon, bağırsak bariyerinin sistemdeki önemini bizlere gösterir niteliktedir (Yamada ve diğerleri, 1993). İntestinal sistem, karşıt nitelikte iki görevi aynı anda regüle etmek zorundadır; hem seçici geçirgen davranarak emilimle vücuda gerekli besin öğelerini alırken hem de lümeninde yer alan antijenlerin, mikroorganizmaların ve lüminal proinflamatuvar sitokinlerin penetrasyonunu önleyerek bağırsakta bariyer oluşturup homeostaz sağlamaktadır (Aydoğan, 2019).

Epitel örtü; kolon lümeninde yer alan immünojenik ürünlerin, sindirim sistemi kanalının immün aktif kısmına (lamina propria) ulaşmasına engel oluşturmaktadır. Bunu da epitel hücre salgısı (mukus), immün hücre salgısı (IgA), glikokaliks, fosfolipid, glikoprotein, trefoil peptidlerle desteklemektedir, böylelikle antijenlerin hücre membranına tutunmasına engel olmaktadır (Dignass, 2001). Biyolojik bariyer (gut flora, mukus tabakası), mekanik bariyer (bağırsaktaki epitel ve kapillerdeki endotel hücreleri) ve immün bariyer (GALT, T hücreleri, IgA üreten plazma hücreleri, lamina propriyada yer alan makrofaj ve dendritik hücre) olmak üzere bağırsak bariyeri dediğimiz savunma mekanizası üç temel yapıdan meydana gelmektedir (Aydoğan, 2019).

Gastrointestinal sistem, vücudu dış ortamdan ayıran, alt özofageal sfinkterden başlayıp anüse kadar devam eden epiteliyal bariyer ile örtülüdür ve bu yapının bütünlüğündeki bozulmalar lümeninde yer alan birçok maddenin inflamasyona yol açmasına sebep olabilmektedir. Epitelyal bariyer, epitel örtüsünün yanı sıra mukus, mikrobiyota, GALT (intestinal lenfoid doku), immunoglobulinler, antimikrobiyal maddeler, defensin-katalisin gibi epitel tabakasında üretilen antibiyotikler ve epitel hücre lateralinde bulunan sıkı protein bağlarından (Claudin, Occludin, JAM, Cadherin) oluşmaktadır (Arrieta ve diğerleri, 2006).

Bağırsak bariyeri; lüminal ve hücrel kısımdan oluşmaktadır. Lüminal bölüm; aktif enzimler içeren ve yüksek asiditeye sahip mide, pankreas ve safra salgıları, visköz mukus tabakası, intestinal motilite (peristaltizm) ve mikrobiyotayla bağırsak bariyeri patojenlere karşı ilk defansı sağlamaktadır (De Palma ve diğerleri, 2014; Shan ve diğerleri, 2013). Hücrel bölüm ise; mukus üretilip salgılayan goblet hücreleri, hormon sekresyonu sağlayan enterokromofin hücreler, sindirim boşluğunda yer alan antijenleri lenfoidlere sunan M hücreleri gibi hücrelerden ve %80 enterositlerden oluşan epitel hücrelerinden oluşmaktadır ve

iç çevreyi dış dünyadan ayırarak bağırsak bariyerini tamamlar niteliktedir (Van Der Flier ve diğerleri, 2009).

Tek tabaka halinde bulunan bağırsak epitel hücreleri; polarite oluşturan, hücreler arası iletişime olanak sağlayan ve epitel yapısının bütünlüğünü sürdürmesine izin veren interselüler adezyon proteinleri ile birbirine kenetlenmiştir. Bu proteinlerden en yüzeyel kısmında yer alan tight junction proteinleri, bazolateral ve apikal plazma membranı arasında hat oluşturarak küçük moleküler yapıdaki hidrofilik maddelerin geçişini regüle etmektedir (Turner, 2009). İntestinal epitel hücrelerinin bazolateral aralığı, parasellüler transport sağlayan pasif difüzyon mekanizması sunmaktadır ve tight junction proteinlerinin permeabilitesiyle düzenlenmektedir (Tsukita ve diğerleri, 2001). Bağırsak epitel hücreleri tarafından patojenik maddelere karşı salınan immunoglobulinA (IgA) ve antimikrobiyal özellikteki peptitler intestinal bariyeri desteklemektedir (Wehkamp ve diğerleri, 2007). Ayrıca otonom ve enterik sinir sistemi de, lümende içerik varlığı veya yokluğu durumunu algılayıp indirek olarak bağırsak bariyer bütünlüğünde görev almaktadır (Luyer ve diğerleri, 2005).

Bağırsak bariyeri; beslenme şekli, stres, bazı bakteri türleri ve ilaç kullanımı gibi faktörlerin etkisi altındadır (Bischoff ve diğerleri, 2014). Mukozal bariyer, kolon lümeninde yer alan gıda antijenleri ve mikrobiyotaya karşı immünolojik aktivasyonu sınırlamaktadır ama buradaki hasarlanma ÜK patogenezinde rol almaktadır. Mukozal bariyer yapısının hasarlanması proinflatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve INF- γ gibi) fazla miktarda üretilmesiyle neticelenir ve nötrofil infiltrasyonu mukozal bozulmayı arttırmaktadır. (Xavier ve diğerleri, 2007). Bağırsak bariyeri; bağırsak florası, bağırsak mukus yapısı, bağırsak epitel yapısı ve tight junction proteinlerinden meydana gelmektedir, bu başlıklar altında bağırsak bariyeri detaylı açıklanmıştır.

2.10.1. Bağırsak Florası

Gut flora; 10¹⁴'ten fazla üyesi ve 2000 farklı türüyle, konakçı arasında simbiyotik ilişki kurarak bağırsak hareketi ve sistemik immün cevabı regüle edip bağırsak epitel hücre bütünlüğünün sağlanmasına destek olmaktadır (Aydoğan, 2019).

Bağırsak florası bakterileri ve bu bakterilere yönelik bağışıklık cevabı arasındaki dengenin İBH patogenezinde rolü önemlidir (Xavier ve diğerleri, 2007). Hatta bir makalede, günümüzde inflammatuar sürecin asıl mekanizmasının, kommensal bakterilere karşı mukozada aşırı T hücre yanıtının gerçekleşmesi olduğu belirtilmiştir (Sartor, 1997).

İBH'ye sahip bireylerin kolon mikrobiyotalarında çeşitliliğin azaldığı belirtilmektedir. Lactobasillus, Bacteroides ve Eubacterium gibi anaerob bakterilerin ve Firmicutes gibi gram pozitif bakterilerin sayısı azalırken; Helicobacter Hepaticus, Clostridia, Fusobacterium, Pectinatus, Sutterella, M.paratuberculosis, Verrucomicrobium gibi patojen bakterilerin ise sayısının arttığı bildirilmiştir (Seksik ve diğerleri, 2006; Shih ve diğerleri, 2008).

2.10.2. Bağırsak Mukus Yapısı

Bağırsak epitel yapısının bariyer fonksiyon rolü, goblet hücrelerince oluşturulan mukus yapısıyla başlamaktadır (Wallace ve diğerleri, 2014). Mukus tabakası dış ve iç olmak üzere 2 kısma ayrılır, dış mukus gevşek yapısıyla lümende doğal olarak yer alan mikroorganizmalara ev sahipliği yaparken, iç mukus yoğun yapısıyla mikroorganizmalara karşı bariyer oluşturur (Viggiano ve diğerleri, 2015). Dış mukusta bakteri yoğunluğu yüksek, antimikrobik madde ve müsin az iken; iç mukusta ise tam tersi durum söz konusudur (Wallace ve diğerleri, 2014).

Mukusu oluşturan musin yapısında meydana gelen değişiklik, intestinal epitelyal yapıdaki inflamasyon sürecini etkilemektedir (Gonzalez ve diğerleri, 2004). Mukus yapısının hasarlanmasının, İBH patogenezinin etkisi şu şekilde açıklanmaktadır; mikroorganizmaların intestinal epitelyumla adezyon ve temasının artmasıyla veya mukus yapısındaki farklılığın sonucunda yararlı bakterilerin yerine patojen etkili bakterilerin geçmesiyle ilişkili olabileceği belirtilmektedir (Wallace ve diğerleri, 2014). Epitel bariyerde yer alan goblet hücreleri hem mukozal onarım hem de epitelyum savunmasında görevlidir. İBH olgularında mukus salgılamada defektler gerçekleştiği tespit edilmiştir, ÜK'de de kolon mukus yapısında incelmeye olduğu saptanmıştır (Shih ve diğerleri, 2008). Muc2 geni, müsinin üretilmesinde rol oynamaktadır, bu gende bazı bireylerde varvasyon gerçekleşmekte ve İBH'ye karşı eğilimin arttığı bildirilmektedir; aynı zamanda Muc2 geni eksiliği oluşturulan farelerde spontan kolit modeli olduğu tespit edilmiştir (Wallace ve diğerleri, 2014).

2.10.3. Bağırsak Epitel Yapısı ve Tight Junction Proteinleri

Epitel hücreleri; mukus üretilip salgılayan goblet hücreleri, hormon sekresyonu sağlayan enterokromofin hücreler, sindirim boşluğunda yer alan antijenleri lenfoidlere sunan M hücreleri gibi hücreler ve %80 enterositlerden oluşmaktadır ve iç çevreyi dış dünyadan ayırarak bağırsak bariyerini tamamlar nitelik taşımaktadır (Van Der Flier ve diğerleri, 2009).

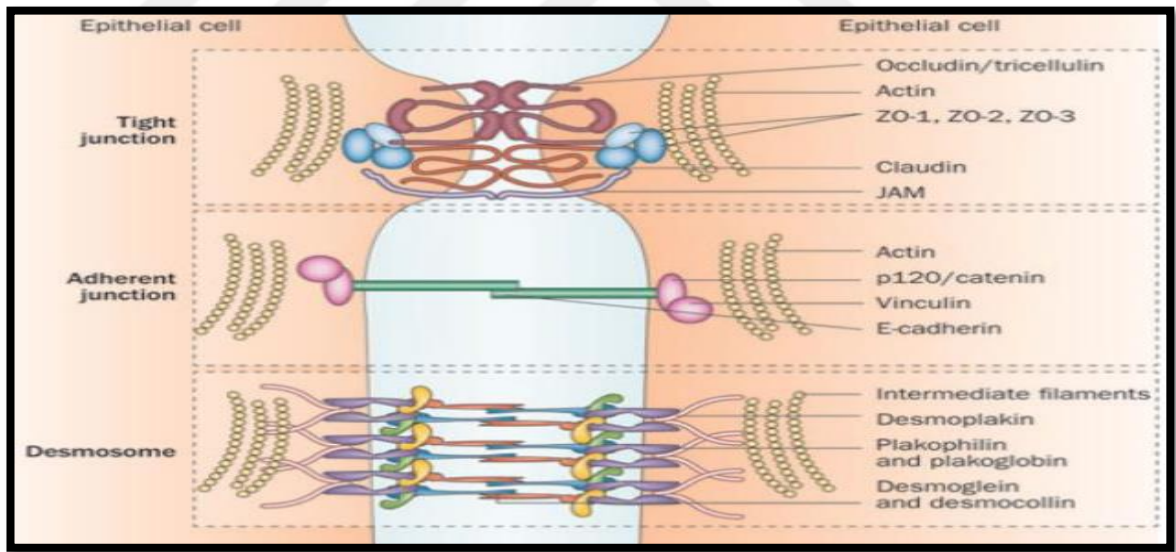
Bağırsak epitel hücrelerinin sentezlenmesi ve apoptoza uğraması denge durumundadır. Kriptte yer alan kök hücrelerden üretilen epitel hücreleri yüzeye doğru ilerlemekte ve dökülmeyi yüzeyden gerçekleştirmektedir, bu yenilenme 2-3 günde bir meydana gelmektedir (Wallace ve diğerleri, 2014).

Bağırsakta absorpsiyon; epitel hücre membranından transselüler olarak ve epitel hücreler arasında yer alan sıkı kavşaklardan ise parasellüler olarak sağlanmaktadır (Ateş, 2013). Epitel hücrelerin bazolateral kısmında yer alan, freeze-fracture elektron mikroskopunda görüntülenebilen, 50'den fazla sıkı kavşak (tight junction) proteini, adherens kavşakların (adherens junction) yanında konumlanmıştır (Matter ve diğerleri, 2003). Bağırsak epitelleri arasındaki boşlukta, fırça kenarın altında konumlanmış 80 nm uzunluğunda tight junction proteinleri, parasellüler geçişte görevlidir (Collet ve diğerleri, 1997). Çalışmalarda, molekül çapı 1,1 nm'den daha büyük olan maddelerin parasellüler aralıktan geçemeyeceği belirtilmektedir (Norris ve diğerleri, 1998).

Sıkı kavşağı; Occludin, Claudin, Tricellulin ve JAM proteinleri oluşturmaktadır ve sitoplazmik plak proteinler olan zonula occludensler (ZO-1, ZO-2, ZO-3), cingulin ve 7H6 de bu protein yapılarını desteklemektedir (Furuse ve diğerleri, 1993; Furuse ve diğerleri, 1998; Ikenouchi ve diğerleri, 2005; Martin-Padura ve diğerleri, 1998). Sıkı bağlantıları oluşturan proteinlerden en az ikisi hücreler arasında konumlanarak hücreler arasında etkileşim sağlayıp aynı zamanda intraselüler alanda bariyer görevi görmektedir. Hücre içinde yer alan iskelet proteinleri (ZO-1, ZO-2, ZO-3) ise aktine bağlıdır; aktin-miyozin kasılması ve miyozinin fosforile olması bu bağlantılar arasındaki kuvveti belirler ve böylelikle bağırsak permeabilitesi ayarlanır (Aydoğan, 2019). 1993 senesinde, ilk keşfedilen transmembran sıkı kavşak proteini Occludin'dir (~65 kDa) ve in vivo-in vitro çalışmalarda sıkı kavşakların yapı ve permeabilitesinde önemli göreve sahip olduğu gösterilmiştir (Cennet, 2018). Parasellüler transport görevinde yer alan Claudin, molekül boyutu 20-27 kDa arasında değişen en az 27 üyeden oluşan multigen ailedir (Tsukita ve diğerleri, 2019). Tight junction proteinlerinin omurga kemiğini oluşturan Claudinlerden, Claudin 1,3,5,11,14,19 kapatıcı/tıkayıcı; Claudin 2,10,15,17 ise kanal oluşturu role sahiptir (Suzuki, 2013). Epitel hücresi sadece iki hücreli değil, üç hücreli birleşme de göstermektedir; Tricellulin proteini de bu üçlü birleşmedeki triselüler kavşakta yer almaktadır, aynı zamanda ikili birleşmede de biselüler kavşakta Occludin ve Claudin proteinleriyle konumlanmaktadır (Ikenouchi ve diğerleri, 2005). Sıkı kavşakların düzenlenmesinde rol oynayan, immunoglobulin süper ailesine ait JAM; epitel, immun ve endotel hücreleri gibi birçok hücrede ekspresyonu gerçekleştirmektedir (Suzuki, 2013). Zonula Occludens proteinleri, integral zar proteinleri ile ipliksi hücre iskeleti arasında

bağ yaparak hücre gelişiminde düzenleyici görev yapmaktadır ve hücre proliferasyonu, gen ekspresyonu, apoptozisi düzenlemektedir (Ateş, 2013). Bağırsak epitel hücrelerinde, JAM-A ve JAM-4 eksprese edilir ve TJ regülasyonunda yer alır (Liu ve diğerleri, 2000). ZO-1 (~220 kDa), ZO-2 (~160 kDa), ZO-3 (~130 kDa) olmak üzere 3 tür Zonula Occludens proteini belirlenmiştir. Zonula Occludens proteinin N-terminal ucuna, hücreler arasında yer alan tight junction proteinleri bağlanırken, C-terminal ucuna da aktin sitoskeleton sistemi bağlanmış durumdadır (Cennet, 2018). Bağırsakta yer alan epitel hücrelerin (enterosit, goblet hücresi, paneth hücresi, endokrin hücresi, M hücresi) iskeletini meydana getiren protein yapıları (ZO-1, ZO-2, ZO-3), bu hücreler arasında yer alan sıkı-tutucu bağlantı proteinleri (lüminal yer alan TJ, bazal yerleşen AJC) ve hücreyi saran proteinler ile bağırsak bariyer yapısını kuvvetlendirmektedir (Aydoğan, 2019).

İnflamasyonda görev alan sitokinlerin bu süreç içinde miktarca artışı, sıkı (TJ) ve tutucu (AJC) bağlantı proteinlerinin ekspresyonunda değişikliğe yol açarak bağırsak permeabilitesini artırıp lümendeki antijenlerin hücre içerisine girip immün cevapta görevli markerların uyarılmasını sağlamaktadır (Viggiano ve diğerleri, 2015).



Resim 1. Tight Junction proteinleri ve şematik yapısı
(Neunlist ve diğerleri, 2013)

2.10.3.1. Occludin

İntestinal epitelyal sıkı bağlantılar (TJ), lümen antijenlerinin parasellüler nüfuzuna karşı yapısal bir bariyer rolü üstlenmiştir ve hücreler arası mühür veya kapı görevi görmektedir (Ma

ve diğerleri, 2018). TJ'ler, hücrenin tepesini tamamen çevreleyen ve bitişik hücrelerin TJ'leri ile sürekli bir parasellüler sızdırmazlık oluşturan ince protein komplekslerinden oluşan apikal hücreler arası bağlantılardır. Bozuk intestinal epitel TJ bariyerinin, intestinal antijenik penetrasyonda artışa ve ardından intestinal inflamasyon gelişimine yol açan önemli bir patojenik mekanizma olduğu ileri sürülmüştür (Al-Sadi ve diğerleri, 2011).

Sıkı bağlantı ile ilişkilendirilen ilk transmembran proteini Occludin'dir ve en apikal membranlarda en yaygın şekilde eksprese edilir ve boyutu 65-kDa'dur (Furuse ve diğerleri, 1993). Occludin; dört transmembran alanı, iki hücre dışı halkası ve bir hücre içi halkası olan bir tetraspanin membran proteindir; C-terminal ve N-terminal alanları sitoplazmaya yansıtılır. Occludinin N-terminal alanının işlevinde bir rol oynayıp oynamadığı bilinmemektedir. Bununla birlikte, Occludinin C-terminal alanı, ZO-1, ZO-2 ve ZO-3 dahil olmak üzere çeşitli hücre içi sıkı bağlantı proteinleri ile etkileşime girer; bu etkileşim Occludinin sıkı bağlantılara montajı için gereklidir (Rao, 2009).

Tricellulin (marvelD2) ve Occludin (marvelD1) ile marvelD3 adlı yeni bir protein kısmen birbiriyle değiştirilebilir, ancak üçü de aşağı regüle edilirse veya eksikse, ciddi sızıntı meydana gelmektedir (Raleigh ve diğerleri, 2010). Occludin ve JAM'in düzenleyici bir rolü varken, Claudinler esas olarak bağırsak bariyer fonksiyonundan sorumlu transmembran proteinlerdir. Bu epitel bariyerinin merkezi düzenleyicisi ise bağırsak mikrobiyotasıdır (Ulluwishewa ve diğerleri, 2011).

Occludinin işlevi henüz tam olarak anlaşılmamıştır, ancak hayvanlar ve hücre kültürlerini kullanan çok sayıda çalışma, bunun TJ yapısında ve bağırsak epitelinde geçirgenlikte önemli rollere sahip olduğunu göstermektedir. Son çalışmalar, Occludinin yok edilmesinin, makromoleküllere karşı hücre içi geçirgenlikte bir artışa neden olduğunu gösterdi; bu, Occludinin, TJ'nin muhafazası ve birleştirilmesinde bir rol oynadığını kanıtlar niteliktedir (Al-Sadi ve diğerleri, 2011).

Occludin knockdown, in vitro bariyer işlevini azaltmasına rağmen, iyon seçiciliğini değiştirmemektedir. Önemli in vitro veriler, Occludinin sıkı bağlantı fonksiyonu için önemli olduğunu göstermektedir (Yu ve diğerleri, 2005). Çok sayıda çalışma sıkı bağlantıların montajı ve bakımında Occludinin önemli rolünü vurgularken; Occludin knockdown çalışmaları farklı epitelde sıkı birleşme yerinin montajı için gerekli olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte, Occludin knockdown faresinin ayrıntılı bir karakterizasyonu, Occludin geninin vazgeçilmez olduğu, daha ziyade farklı organlarda epitelyal sıkı bağlantıların düzenlenmesinde karmaşık bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Occludin hücre dışı döngülerinkine karşılık gelen diziye sahip sentetik peptidler kullanılarak Occludinin

hücre dışı alanları arasındaki etkileşimlerin bozulması, sıkı bağlantıları bozar ve parasellüler geçirgenliği arttırmaktadır (Rao, 2009). Occludinin, sıkı bağlantıların montajından çok sıkı bağlantı bütünlüğünün düzenlenmesinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Saitou ve diğerleri, 2000).

Occludin +/- farelerde, bağırsak, karaciğer ve böbrek gibi dokular, morfolojik olarak vahşi tip kontrollerinkinden ayırt edilemeyen TJ'leri taşıyordu. Bu bulgular, Occludinin kendi başına TJ zincirlerinin oluşumu için gerekli olmadığını açıkça göstermektedir. Öte yandan, önceki çalışmalar, Occludinin TJs'nin bariyer fonksiyonuna doğrudan dahil olduğunu ileri sürmektedir (Wong ve diğerleri, 1997). Occludin +/- farelerin bağırsak epitel hücrelerinde elektrofizyolojik olarak TJ bariyerinde hiçbir işlev bozukluğu tespit edilmemiştir. Empedans analizi, vahşi tip ve Occludin +/- fareler arasında ince ve kalın bağırsağın epitel direncinde önemli farklılıklar tespit edilmemesine rağmen, TJ iplikçiklerinde Occludin eksikliği, bariyerin bazı yönlerini değiştirebilmektedir (Saitou ve diğerleri, 2000).

İnce bağırsağın bir murin GvHD (Graft versus Host Disease) modelindeki analizde, sıkı bağlantı proteini Occludinin aşağı regülasyonu ve lokalizasyon kayması yoluyla artan bir geçirgenlik ve morfolojik değişiklikler ile jejunumdaki bağırsak bariyer fonksiyonunda ciddi bozulma gösterdiği belirtilmektedir (Noth ve diğerleri, 2011).

Occludin ifadesinin, kısıtlayıcı olmayan veya geniş kanallı yol boyunca bağırsak TJ bariyerinin korunması için önemli olduğunu ve Occludin tükenmesinin, makromolekül akışında seçici veya tercihli bir artışa yol açtığını 2011 yılında gerçekleştirilen çalışma göstermektedir. Kusurlu bağırsak epitel sıkı bağlantı (TJ) bariyerinin, bağırsak iltihabının gelişimine katkıda bulunan önemli bir patojenik faktör olduğu gösterilmiştir. Occludin ekspresyonu; Crohn Hastalığı, Ülseratif Kolit ve Çölyak Hastalığı dahil olmak üzere bağırsak geçirgenlik bozukluklarında önemli ölçüde azalmakta, bu da Occludin ekspresyonundaki azalmanın bağırsak geçirgenliğindeki artışta bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. İlk kez bağırsak epitel hücrelerinde Occludin tükenmesinin in vitro ve in vivo olarak makromolekül akışında seçici veya tercihli bir artışa yol açtığını gösteren çalışmada; İn vivo fare bağırsağında Occludinin siRNA ile indüklenen yıkımı da bağırsak dokusunun transepitelyal direncini etkilememiştir, nispi akış oranındaki artış, daha büyük boyutlu problemler için giderek daha büyüktür, bu da Occludinin, büyük makromoleküllerin akışına karşı parasellüler bariyer işlevinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Al-Sadi ve diğerleri, 2011). Claudinlerin ise TJ gözeneklerinden (yarıçapta 4 Å) iyonik ve küçük molekül akışının düzenlenmesinde işlevsel bir role sahip olduğu bildirilmektedir (Van Itallie ve diğerleri, 2009), patolojik durumlarda, Occludin tükenmesi kısıtlayıcı olmayan yolun açılmasına yol

açarak, bakteriyel antijenler dahil olmak üzere makromoleküllerin parasellüler akışına izin vererek inflamatuvar bir yanıtı yol açmaktadır (Al-Sadi ve diğerleri, 2011). Bu bilgi ışığında kolit oluşturulan deneysel çalışmamızda, Occludinin bağırsak geçirgenliği tespiti için biyokimyasal analizi yapılması planlanmıştır.

TJ bariyer fonksiyonunda Occludinin fonksiyonel rolü ile ilgili önemli bir tartışma devam etmektedir (Al-Sadi ve diğerleri, 2011). Önceki çalışmalar, bağırsak geçirgenlik bozukluğu olan hastalıklarda ve İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı gerçekleştirilen hayvan modellerinde Occludinin bağırsak dokusu ekspresyonunun belirgin şekilde azaldığını göstermiştir (Al-Sadi ve diğerleri, 2011; Fries ve diğerleri, 1999; Gassler ve diğerleri, 2001). Bağırsak Occludin ekspresyonundaki azalmanın, bağırsak epitelyal TJ geçirgenliğinde artışa yol açan önemli bir mekanizma olabileceği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, bağırsak TJ bariyer fonksiyonunda Occludin tükenmesinin önemini destekleyen kanıtlar eksiktir (Al-Sadi ve diğerleri, 2011).

2.11. Bağırsak Geçirgenliği

Gastrointestinal sistemin epitel kaplaması, lümen içeriği ile altta yatan doku bölmeleri arasında düzenlenmiş, seçici olarak geçirgen bir bariyer oluşturur. Epitel boyunca geçirgenlik kısmen, sıkı bağlantı (TJ) olarak adlandırılan en apikal hücreler arası bağlantı olan parasellüler yolun hız sınırlayıcı bariyeri tarafından belirlenir. TJ, altta yatan apikal aktomiyosin halkasına bağlanan bir multiprotein kompleksinden oluşur. TJ yapısı-işlevi ve dolayısıyla epitel geçirgenliği, çeşitli fizyolojik ve patolojik uyarılardan etkilenir (Nusrat ve diğerleri, 2000). Sıkı bağlantılar, epitelyal bariyerlerin bakımı için kritik olan apikal komplekslerdir. Sıkı-bağlantı komplekslerinin bozulması, epitelyal bariyer disfonksiyonuna katkıda bulunan önemli bir faktördür (Choksi ve diğerleri, 2018). Bağırsak geçirgenliği, lümen ve dokular arasında çözünen ve sıvı alışverişine izin veren özelliktir; bağırsak bariyeri ise, mukus gibi hücre dışı bariyer bileşenlerini ifade etmektedir. Aynı zamanda TJ bariyer fonksiyonu ve parasellüler geçirgenliğin modifikasyonu, çeşitli hücre dışı uyarılar tarafından dinamik olarak düzenlenmektedir (Lee, 2015).

Tek bir epitel hücre tabakası, lümen ve mukozal dokular arasındaki ana fiziksel bariyeri oluşturur. Parasellüler boşluk, kavşak kompleksindeki Claudinlerin ve diğer proteinlerin bileşimi yoluyla su iyonlarının ve küçük moleküllerin akışını düzenleyen sıkı bağlantılarla (TJ) kapatılır (Bischoff ve diğerleri, 2014). Sıkı bağlantıların altında, hücre-hücre sinyalleme ve epitelyal restitüsyonun yanı sıra epitel stabilitesini destekleyen

desmozomlarda önemli olan yapışma bağlantıları (AJ) bulunur. TJ kompleksleri, hücre içi boşlukta birbirine bağlanan doku ve konuma bağlı olarak zar içi proteinler; Occludin ve Claudin ailesinin farklı üyelerinden oluşur. Occludin, Claudinler ve Tricellülin; Zonula Occludens gibi sitoplazmik yapı iskeleti proteinleri aracılığıyla bitişik hücreleri aktin hücre iskeletine bağlar (Groschwitz ve diğerleri, 2009). Tricellülin ve Occludin ile marvelD3 adlı yeni bir protein kısmen birbiriyle değiştirilebilir, ancak üçü de aşağı regüle edilirse veya eksikse, ciddi sızıntı meydana gelir (Raleigh ve diğerleri, 2010). Claudinler, su ve elektrolit kaybını kolaylaştıran sızdırmaz moleküller ve gözeneklerden oluşan sıkı birleşme proteinleri ailesidir. Zonula Occludens proteinleri (ZO-1, ZO-2 ve ZO-3) hücre-hücre iskeletini transmembran sıkı bağlantı proteinlerine bağlayan önemli hücre içi sıkı bağlantı proteinleridir (Bischoff ve diğerleri, 2014). Occludin ve bağlantı adezyon molekülünün (JAM) düzenleyici bir rolü varken, Claudinler esas olarak bağırsak bariyer fonksiyonundan sorumlu olan transmembran proteinlerdir. Bu epitel bariyerinin merkezi düzenleyicisi bağırsak mikrobiyotası olarak belirtilmektedir (Ulluwishewa ve diğerleri, 2011).

Cummings ve diğerleri (2004) tarafından daha açıklayıcı yaklaşımla bağırsak bariyeri şu şekilde özetlendi: (1) Mukozal bariyer, iç ortamı lümen ortamından ayıran karmaşık bir yapıdır. (2) Fiziksel olarak bariyer, vasküler endotelden epitelyal hücre astarına kadar hücresel ve stromal bileşenleri ve çeşitli mukozal salgıların, yani müsinlerin, yonca peptitlerinin ve yüzey aktif lipidlerin etkileşimi ile bir jelden oluşan mukus tabakasını içerir. (3) Fiziksel engelin yanı sıra, sindirim salgıları, antimikrobiyal peptitler ve diğer hücre ürünlerinden (sitokinler, inflamatuvar araçlar vb.) oluşan kimyasal bir engel mevcuttur. (4) Bağırsak mikrobiyotası da bir engel olarak düşünülebilir. (5) Son olarak bağışıklık fonksiyonları ve hareketlilik bariyere katkıda bulunmaktadır (Cummings ve diğerleri, 2004).

Bağırsak bariyeri; bağırsak lümenini iç konakçıdan ayıran ve mekanik elementler (mukus, epitel tabakası), humoral elementler (defensinler, IgA), immünolojik elementler (lenfositler, doğal immün hücreler), kas ve nörolojik elementlerden oluşan fonksiyonel bir varlıktır. Bağırsak geçirgenliği ise; belirli bölgelerdeki bağırsak bariyerinin işlevsel bir özelliği olarak tanımlanır, süreç sırasında büyük ölçüde atıl olan ve bu ortamlarda yeterince ölçülebilen tanımlanmış moleküllerin bir bütün olarak veya duvar bileşenleri boyunca bağırsak duvarındaki akış oranlarını analiz ederek ölçülebilir. Sonuç olarak bağırsak geçirgenliği, bağırsak bariyerinin ölçülebilir bir özelliği olarak anlaşılabilir (Bischoff ve diğerleri, 2014).

Sağlam epitel TJ'nin önemi, İBH'de yeniden gösterilmiştir. Örneğin, Claudin-1 ve -4 ve Occludinin aşağı regülasyonunu içeren ÜK'de bu değişiklikler gözlenmiştir, ancak gözenek

oluşturan Claudin-2'nin yukarı regülasyonu olduğu belirtilmiştir (Heller ve diğerleri, 2005). İBH'nin temel patofizyolojisi tam olarak anlaşılmamıştır; fakat artmış parasellüler geçirgenlik Ülseratif Kolitli hastalardan alınan kolonik epitelde belgelenmiştir ve bu da TJ'nin Ülseratif Kolit patogenezinde de rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Schmitz ve diğerleri, 1999). Bağırsak mukozal homeostazı epitelin sürekli proliferasyonuna, farklılaşmasına ve onarımına dayanır ve bu süreçler yaralanmaya yanıt olarak sorgulanır. Bağırsak bütünlüğünün korunması, yetkin epitelyal bariyer işlevinin yanı sıra bağırsak sorunlarına yanıt vermek için sağlam onarım programları gerektirir. İBH'li hastalarda epitel bariyeri “sızdıran”dır; çok sayıda çalışma, CH ve ÜK'de daha düşük epitel direnci ve hem iltihaplı hem de iltihaplı olmayan mukozanın geçirgenliğinin arttığını göstermektedir (Choksi ve diğerleri, 2018).

2.11.1. Bağırsak Geçirgenliğini Etkileyen Faktörler

Sıkı kavşakların dinamik yapısı besin, su ve iyonların kana geçişine olanak tanırken, zararlı dış etkenlerin vücuda girişine izin vermemektedir ve bu sıkı kavşağın permeabilitesi hormonlar, sitokinler, bakteriyel toksinler ve ilaçların etkisiyle modifiye edilebilmektedir (Ateş, 2013).

Açlık-tokluk durumlarında; hormonal veya nörolojik sinyallerde; mast hücre salgıları, inflamatuvar mediatörler, bakteriyel veya viral patojen kaynaklı uyarılarda; fizyolojik veya patolojik olarak sıkı bağlar açılıp kapanarak bağırsak geçirgenliğini değişime uğratmaktadır (Kocakaya, 2009). TNF- α , IL-17, IL-22, IFN- γ ; tight junction proteinlerinin düzenlenmesinde rolleri olduğu belirtilmektedir (Xavier ve diğerleri, 2007). Bağırsak lümeninde yer alan endotoksinler, serozaya ulaşmasıyla sıkı bağların yapısını bozup geçirgenliği arttırdığı sıçan modelinde gösterilmiştir. Antidiüretik hormon ve kortikotropin salınımından bağımsız olarak, stres, bağırsak geçirgenliğini arttırdığı hayvan modellerinde gösterilmiştir. Proinflamatuvar ve proapoptotik özellikte olan sitokinlerden IFN- γ ve TNF- α , apoptoz indüksiyonundan bağımsız, sıkı bağların yapısını bozarak inflamatuvar süreçte bağırsak geçirgenliğini arttırmaktadır (Kocakaya, 2009).

Patojen bakteri ve virüsler bağırsak enfeksiyonuna ve bağırsak geçirgenliğinin değişmesine neden olabilmektedir. İntestinal patojenik *Escherichia coli* varlığında, bağırsak epitel hücreleri arasında yer alan Occludin, Claudin-1 ve Zonula Occludens-1 proteinlerinin progresif olarak azaldığı ve bu durumun bariyer disfonksiyonuyla sonuçlandığı belirtilmiştir (Cennet, 2018). Parasellüler yolda yer alan TJ protein kapıları; beslenme veya fiziksel

aktivitedeki durum, endokrinal veya nörolojik uyarım ve inflamasyonda görev alan mediyatörlerle uyumlu şekilde fonksiyon göstermektedir (Lamprecht ve diğerleri, 2012). Bağırsak geçirgenliğini bakteri toksinleri, sitokinler, büyüme faktörleri ve çeşitli gıdalar etkilemektedir. Malnutrisyonda; enfeksiyon kaynaklı permeabilitede artış ve büyümede duraklama gözlenmektedir (Cennet, 2018).

2.11.2. Bağırsak Geçirgenliği Değerlendirme Yöntemleri

2.11.2.1. Parasellüler Madde Geçiş Kitleri

Bağırsak geçirgenliğinin tespiti için birçok yöntem kullanılmaktadır, bu yöntemlerde kullanılan maddelerin ortak özellikleri ise; toksik olmaması, suda çözünmesi, küçük moleküler yapıya sahip olması, elektrik yükü taşımaması, bağırsakta metabolize olmaması ve emildiklerinde bulunduğu dokuya çökmemesi, böbreklerde toplanıp idrarla atılması ve benzer endojen yapılardan kolayca ayrıştırılıp miktarı güvenilir şekilde tespit edilmesidir (Kocakaya, 2009). Araştırılan bölgeye özgü olarak kullanılan problarla gastrointestinal sistemde spesifik bir alanın permeabilitesi değerlendirilebilmektedir; bunlara sukroz, laktuloz, sukraloz, cr-EDTA gibi maddeler örnek olarak verilebilir (Cennet, 2018).

2.11.2.1.1. FITC-dekstran ve FITC-inulin

Floresan etiketli bileşiklerden; floresan isotiyosiyanat (FITC)-dekstran ve floresan isotiyosiyanat (FITC)-inulin parasellüler permeabilitede belirteç olarak kullanılmaktadır (Jimison ve diğerleri, 2012).

2.11.2.1.2. ⁵¹Cr-EDTA Klirensi

⁵¹Krom-Etilendiamintetraasetikasit (⁵¹Cr-EDTA), gastrointestinal sistemde en uzun zamanı, su emiliminin en fazla olmasıyla orantılı olarak kolonda geçirmektedir ve bu sebeple kolon permeabilitesini gösterdiği belirtilmektedir, tespiti ise oraldan 3,7 mBq ⁵¹Cr-EDTA verilip kana geçiş oranının takibiyle sağlanmaktadır (Jenkins ve diğerleri, 1992). ⁵¹Cr-EDTA, kolonik geçirgenliği değerlendirmek için kullanılmaktadır (Arrieta ve diğerleri, 2006).

2.11.2.1.3. Sukroz

Gastroduodenal bölgenin distalinde etki gösteren, Sukraz-İzomaltaz enzimiyle parçalanarak Sukroz, o bölgenin permeabilitesinin tespitinde kullanılmaktadır (Meddings ve diğerleri, 1993). Sukroz doğal şekeri, gastroduodenal alanın değerlendirilmesi için kullanılan probdur (Arrieta ve diğerleri, 2006).

2.11.2.1.4. Sukraloz

Yapay olarak oluşturulan sukraloz, kolonik geçirgenliği değerlendirmek için kullanılmaktadır (Arrieta ve diğerleri, 2006).

2.11.2.1.5. Laktuloz ve Mannitol

Oligosakkaritlerden Laktuloz ve Mannitol kalın bağırsakta fermente edildiğinden ince bağırsak geçirgenliğinin tespitinde kullanılmaktadır (Kocakaya, 2009). Laktuloz, gastroduodenal alanın değerlendirilmesi için kullanılan probdur (Arrieta ve diğerleri, 2006). Mannitol parasellüler transport ile emilmektedir (Bijlsma ve diğerleri, 1995).

2.11.2.1.6. Ramnoz

Monosakkarit yapısındaki Rhamnoz kolonda yer alan bakteriler tarafından yıkıldığından ince bağırsağın permeabilitesini göstermektedir, fakat idrardaki şeker miktarını HPLC ile değerlendirilen bu yöntemin, bağırsak bakterilerinin aşırı çoğalması durumunda şekerlerin lümende parçalanması nedeniyle güvenilirliği azalmaktadır (Kocakaya, 2009).

2.11.2.1.7. Polietilen Glikol Polimerleri (PEG)

PEG'in; PEG400, PEG600, PEG900, PEG1000 ve PEG4000 gibi birçok farklı molekül ağırlığında polimeri mevcuttur, bunlardan P400, bir gece açlığın sonrasında 5-10 gr verilip idrarla atılan miktarına bakılarak bağırsak geçirgenliğinin tespitinde kullanılmaktadır, fakat

tadının hoş olmaması ve intravenöz kullanımında güvenilir olmayan sonuçların tespiti nedeniyle tercih edilmemektedir (Kocakaya, 2009).

2.11.2.2. Elektron mikroskopisi

İntestinal epitelyal bütünlük, hücreler arasında yer alan bağların sıkılık derecesine bağlı olarak epitelin altına sızıp ulaşabilen lantanyum adlı elementin, dokuların su banyosuna 1 mM eklenmesi suretiyle elektron mikroskopisinde, lümen den bazal membrana geçişin izlenmesiyle tespit edilmektedir (Kocakaya, 2009).

2.11.2.3. Transepitelyal Elektrik Direncinin Ölçümü (TEER)

Bağırsak epitel hücrelerinin bütünlüğünün deneysel kontrolü için TEER ölçümü yapılmaktadır ve bu ölçüm elektrotla benzer çubuklara sahip voltmetre ile iyon mobilitesini değerlendiren bir sistem olarak belirtilmektedir (Abbasi ve diğerleri, 2009). Tight junction protein ağı dinamiktir, fizyolojik ve patofizyolojik şartlarda yapısında değişiklikler meydana gelmektedir ve bu adaptasyonlar bağırsak mukozasının elektriksel rezistansını da etkilemektedir (Fasano, 2001).

2.11.2.4. ‘Caco-2’ Hücre Modeli

İnsan ve hayvanların bağırsak epitel hücrelerinden oluşturulan hücre dizileri geçirgenliğin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır ve bunlardan Caco-2 (Colon Adeno Carcinoma Cell) hücre hattı referans model olarak insan kolon adenokarsinomundan oluşturulup bağırsak bariyerinin fonksiyonel durumu değerlendirilmektedir (Artursson ve diğerleri, 2001).

2.11.2.5. İntestinal Eksplant Model

Bağırsak integritesi ve permeabilitesini değerlendirmek adına, yerleştirilen bağırsak segmentlerine kültür ortamı sunan Ussing Chamber olarak adlandırılan cihaz kullanılmaktadır; fakat kültür süresi kısadır ve uzun süreli etkilerin değerlendirilmesine olanak tanımamaktadır (Cennet, 2018).

2.11.2.6. Plazma Sitrulin

Bağırsakta glutamin aminoasitinden farklılaşmış enterositlerce üretilen sitrulin, epitalyal bariyer bütünlüğünün kantitatif olarak değerlendirilmesinde biyolojik belirteç olduğu çalışmalarda gösterilmiştir ancak; böbrek hastalığı olan bireylerde güvenilir sonucu yansıtmamaktadır (Cennet, 2018).

2.11.2.7. İdrarda Claudin-3

Bağırsak sıkı kavşak protein kaybını non-invazif olarak, idrarda ölçülen majör tıkaçıcı Claudin-3 göstermektedir (Grootjans, 2010).

2.11.2.8. Diamin Oksidaz

Bir tür endoselüler enzim olan Diamin oksidaz (DAO), sadece memelilerde intestinal stratum supravasculare villus sitoplazmasında bulunur. Bağırsak epitel hücreleri yaralandığında, endoselüler DAO intestinal hücreler arası boşluğa salınır, lenf damarına ve kana girer ve sonunda kan plazmasında stabil yüksek düzeyde DAO ile sonuçlanır. Bu nedenle, DAO'nun kandaki aktivitesi, bağırsak mukozasının olgunluğunu ve bütünlüğünü göstermektedir (Nieto ve diğerleri, 2000).

2.11.2.9. Lokal İnflamasyon Belirteçleri

Nötrofillerce üretilen, inflamasyon belirteci olan laktoferrin, kalprotektin, elastaz gibi proteinlerin dışkıda tespiti bağırsak geçirgenliği ile ilişkili olduğu bazı çalışmalarda belirtilmektedir (Langhorst ve diğerleri, 2005).

2.11.2.10. Tight Junction Proteinlerinin Değerlendirilmesi

Epitel hücrelerinin farklılaşması ve proliferasyonunda yer alan tight junction proteinleri, bağırsak lümenal kısmına yakın anastomoz ağı oluşturup bağırsak boşluğunda konumlanmış antijenlerin parasellüler transportunu önleyerek bağırsakta bariyer görevini majör olarak göstermektedir. Tight Junction proteinlerinin değerlendirilmesinde ELİSA, Western Blot,

İmmunohistokimya gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır, dokudaki dağılımı gösterdiğinden İmmunohistokimya avantajlı bir metoddur (Cennet, 2018).

2.11.2.11. Bağırsak Geçirgenliği Tespitinde Zonulin

Gram negatif bakterilerden *Vibrio cholerae*'nin salgıladığı toksinlerden biri zonula occludens (ZOT, Zonula Occludens Toxin) ve bu toksin bağırsağın epitel hücrelerinin apikal membranında yer alan reseptöre bağlanarak parasellüler geçirgenliği arttırmaktadır. Toksinin bağlandığı Zonulin adlı reseptör, bu gibi patolojik sonuçlara yol açmasının yanı sıra asıl fizyolojik etkileri sebebiyle membranda konumlandığı çalışmalarda belirtilmektedir (Wang ve diğerleri, 2000). ZOT'un bağlandığı reseptörün fizyolojik etkinliğini yansıtan ve bu reseptöre bağlanan Zonulin, tek zincir formundadır ve sıkı kavşak proteinlerinin birbirinden ayrılmasına etki etmektedir (Duerksen ve diğerleri, 2010). Rekombinant olarak üretilen pre-haptoglobulin 2 (Zonulin) üzerinden gerçekleştirilen çalışmada, pre-HP2'nin hemogloblin stabilizasyonun sağlamanın yanı sıra bağırsak permeabilitesi üzerinde de fonksiyonu olduğu belirtilmektedir (Fasano, 2012). Bakteriyel enfeksiyonlarda ve Çölyak Hastalığında, lamina propria'da üretilen ve bağırsak lümenine salınan Zonulin miktarındaki artış, bağırsak geçirgenliği patofizyolojisine etki etmektedir (El-Asmar, 2002; Fasano ve diğerleri, 2000).

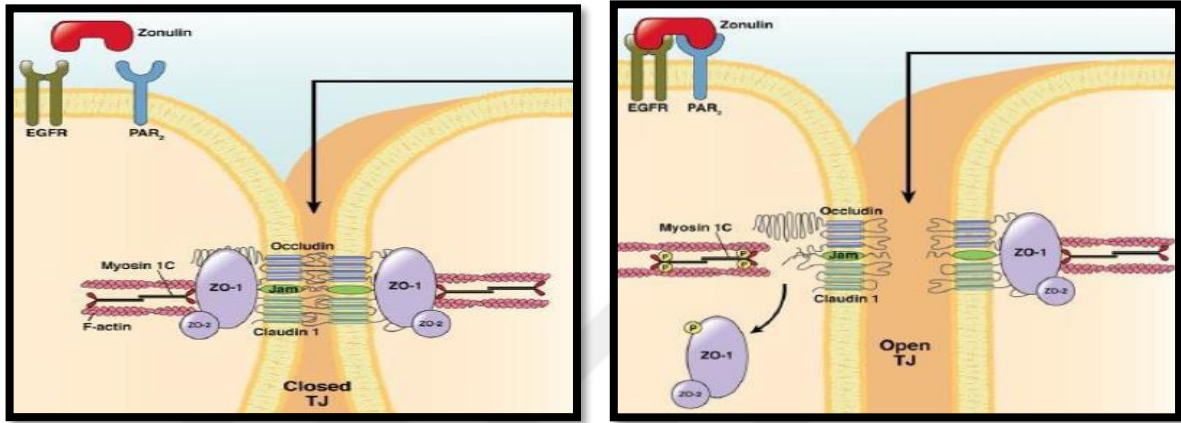
2.11.2.11.1. Zonula Occludens Toksini

TJ proteinlerinin bütünlüğünün çevresel faktörler (toksin, radyasyon, kemoterapi, prematüre doğum) sonucunda hasara uğramasıyla, bağırsak lümeninden parasellüler yolla submukozaya geçen antijenler mukozadaki immünolojik savunma sistemine iletilmektedir ve immün cevap oluşturulmaktadır; APC (Antijen sunan hücreler), B ve T lenfositler, NK, plazma hücreleri ve MHC (Majör histocompatibility complex) bu yanıtta görev almaktadır (Fasano, 2011). ZOT enterotoksinin –COOH terminal bölümü, spesifik PAR-2'ye (Proteaz ile aktiveleşen reseptör) bağlanması sonucu PKC (protein kinaz C) polimerizasyonu ile TJ proteinlerinin sökülmesi reversibl olarak gerçekleşmektedir (Fasano ve diğerleri, 1991).

İmmünoflorasan bağlanma çalışmalarında, ZOT enterotoksinin epitelyal hücre reseptörüne bağlanmasının bağırsağın jejunum ve distal ileumunda saptandığını ve villus kript hattı boyunca bu bağlanmanın azaldığı gösterilirken, kolonda bu bağlanmanın saptanamayacağı belirtilmiştir (Fasano ve diğerleri, 1997). Bakterilerle temas halinde olan

ince bağırsak Zonulin sekresyonu yapmaktadır, yalnızca proksimal bağırsak mukozasında mikroorganizmanın türü ve virülansından bağımsız olarak, bakteri temasıyla gerçekleşmektedir (Fasano, 2012).

2.11.2.11.2. Zonulin



Resim 2. Zonulinin TJ üzerine etkisinin şematik görünümü

(Fasano ve diğerleri, 2012)

ZOT (*Vibrio cholera* enterotoksini)'un etkinliğine dair mekanizma şöyle açıklanabilir, ince bağırsak (jejunum, distal ileum) enterosit epitel hücresinin lümene bakan kısmında konumlanan reseptöre bağlanan ZOT, Protein Kinaz-C α (PKC α)'nın etkin olduğu bir mekanizma ile TJ proteinlerinin ZO'lar ile bağlı olduğu aktin-miyozin yapılarını polimerize eder ve sıkı bağlantıların geçici olarak gevşemesine sebep olur ve bu sıkı bağlantıların açılmasıyla hidrostatik basınç gradiyenti istikametinde su bağırsak boşluğuna yönelir ve böylelikle ince bağırsaktaki mikroorganizmalar süpürülmektedir adeta sifonun çekilmesi gibi ve kolonizasyon önlenmektedir, aynı zamanda parasellüler geçişin serbestlenmesi bakterilerin de geçiş yolunu açtığından immünolojik yanıt da oluşturulmaktadır ve immün tolerans olmadığında (natural killer hücrelerinde fonksiyonel ve sayısal sorun varsa) otoimmün yanıtla birlikte otoantikorların oluşması tetiklenmektedir (El-Asmar, 2002; Fasano ve diğerleri, 1997; Fasano, 2006). Aslında ZOT'un rol aldığı, parasellüler yolun açıldığı bu mekanizmanın fizyolojik olarak da gerçekleştiği düşünülmekteydi ve bu düşünce doğrultusunda yapılan çalışmalarda ZOT'a işlevsel ve immünel olarak benzer ligand yapıdaki analogu Zonulin sinyal proteini bulunmuştur (Fasano ve diğerleri, 2000; Wang ve diğerleri, 2000). Zonulinin (pre-haptoglobulin 2) keşfedilmesinde rol alan ZOT, *Vibrio cholera*'dan (enterik patojen bakteri) enterotoksik olarak üretilirken, Zonulin ise bağırsak epitel hücrelerinden (mukozada)

üretilmektedir aynı zamanda beyin, akciğer ve kalp dokusundan da üretimi gerçekleştirilmektedir (Wang ve diğerleri, 2000). Zonulin, ince bağırsak epitel hücrelerinde üretilmektedir ama şu da belirtilmelidir ki Zonulin özgül reseptörleri, jejunum ve distal ileum epitel hücre yüzeylerinde bulunmaktadır (kolon epitel hücrelerinde Zonulin reseptörü bulunmamaktadır), asıl etkinliğini gösterdiği ve geçirgenliği arttırdığı gastrointestinal sistem organ bölümleri buralardır (Fasano ve diğerleri, 1997). İnce bağırsakta Zonulin salınımını tetikleyen iki önemli etken ise; gluten proteinin yapısında yer alan apolar monomerik gliadinler (genetik hassasiyete sahip bireylerde Zonulin salınımı tetiklenir) ve enterik patojen bakterilerdir (Sturgeon ve diğerleri, 2016).

Zonulinin insan vücudundaki fizyolojik faaliyetleri tam olarak bilinmese de, ön görülen fonksiyonel işlevi, lümen ile dolaşım sistemi arasındaki sirkülasyon sırasında makro besin öğelerinin, sıvıların ve lökositlerin regülasyonun sağlanmasıdır (Fasano, 2001). Zonulinin çalışmalarda sonuçlanan asıl görevini özetlersek, proksimal bağırsağın mikroorganizma kolonizasyonunu önlemektir, patojen canlının epitle teması mukozada üretilen Zonulini salmakta, salınan Zonulinin epitel reseptörüne bağlanması parasellüler yolu açmakta (reversibl) ve bu açılma sonucu antijenler submukozaya geçmekte ve sonuçta immünolojik birimler stimüle edilmektedir aynı zamanda açılan parasellüler hattan su çıkışı olmakta ve ince bağırsaktaki mikroorganizmalar temizlenmekte böylelikle kolonizasyon olayının önüne geçilmektedir (Wang ve diğerleri, 2000).

2.11.3. Bağırsak Geçirgenliğiyle İlişkili Hastalıklar

İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı, İritabl Bağırsak Sendromu, Çölyak Hastalığı ve Besin alerjisi gibi gastrointestinal hastalıklar; Şizofreni gibi nörolojik hastalıklar; Diyabet gibi hormonal hastalıklar; Sepsis gibi enfeksiyonal hastalıklar artmış permeabiliteyle yakından ilişkili rahatsızlıklardır (Shen ve diğerleri, 2006). Deneysel olarak gerçekleştirilen çalışmalarda, permeabilitenin artmasıyla sepsis ve çoklu organ yetmezliği (MOF) geliştiği gösterilmiştir (Marshall ve diğerleri, 1993).

2.11.3.1. Bağırsak Geçirgenliği ve Ülseratif Kolit

Deneysel kolit oluşturulan hayvan çalışmalarıyla, İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı'nın gelişiminde epitel hücrelerinin rolü olduğu desteklenmektedir (Schultsz ve diğerleri, 1999).

Antijenlerin vücut içerisine giriş yolağı bağırsaklardır, bağırsak permeabilitesinin sağlamlığı birçok hastalıktan korunmak adına önemlidir. Parasellüler yolda yer alan TJ proteinlerinin patolojik bozunması (radyasyon, kemoterapi, toksin kaynaklı) antijenlerin geçişine izin vermesi nedeniyle hem gastrointestinal hem gastrointestinal harici hastalıklara sebebiyet vermektedir, özellikle de HLA (insan lökosit antijeni-human leukocyte antigens) tiplerinde otoimmün rahatsızlıklara eğilim söz konusuysa (Cennet, 2018). Ülseratif Kolitli hastalarda bağırsak permeabilitesinde anormallikler gözlenmiştir (Gibson ve diğerleri, 1988). Bu hastalığa sahip bireylerin, mukus salgılayan goblet hücrelerinde azalmaya ve kolonda yer alan mukusun kalınlığında incelmeye bağlı olarak epitel ve mukozal yüzeyde bakteri seviyesinde artış olduğu belirtilmiştir (Schultsz ve diğerleri, 1999; Pullan ve diğerleri, 1994).

Patojenik etki gösteren bakteri ve virüslerden bazıları gastrointestinal sistemde tight junctionların fonksiyonlarını etkileyerek enterite neden olmaktadır (Galley ve diğerleri, 2004). Yapılan çalışmalarda, İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarından Crohn Hastalığının aktif döneminde, alınan kolon biyopsi örneklerinde Occludin ve tıkayıcı özellikte olan Claudin-5 ve Claudin-8'in azaldığı; por oluşturan Claudin-2'nin ise arttığı belirtilmiştir (Zeissig ve diğerleri, 2007). İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları'nda Claudin-1 ekspresyonu düşmektedir ve bu hastalıkla birlikte gerçekleşen diyarenin de Occludin, Claudin ve Zonula Occludens-3 internalizasyonu ile bağırsak geçirgenliğinin artması sonucu gerçekleştiği belirtilmektedir (Burgel ve diğerleri, 2002; Kucharzik ve diğerleri, 2001). Ülseratif Kollitide, bağırsak hücreleri arasında yer alan adherens junction proteini E-Cadherin'in gen ifadesinde değişiklikler olduğu sunulmaktadır (Dogan ve diğerleri, 1995). Epitel hücrelerinde N-Cadherin mutant olan farelerde, bağırsak geçirgenliğindeki artış nedeniyle İnflamatuvar Bağırsak Hastalığına benzer nitelikte mukozal inflamasyon gerçekleştiği gözlenmiştir (Hermiston ve diğerleri, 1995).

Obez olan kişiler üzerinde yapılan klinik araştırmalarda, Zonulin seviyesinde artışlarla, inflamatuvar biyobelirteçler (IL-6, TNF- α) arasında pozitif korelasyon gözlemlendiği belirtilmektedir (Cennet, 2018). Bağırsak geçirgenliğinin İBH'de arttığı, proinflamatuvar sitokinler ve antijenlerin epitel bariyeri geçebildiği belirtilmiştir, mikroorganizma yoğunluğunun en fazla olduğu terminal ileum ve kolonda tutulma sıklığı ise, kolondaki bakterilerin İBH'de rollerinin olduğunu düşündürmektedir (Guslandi, 2003). Bağırsak homeostazının disfonksiyonu; epitel integritinin bozulmasına, permeabilitenin artmasına ve böylelikle mikroorganizmaların mukozaya geçişine yol açmaktadır. İnce bağırsakta Paneth hücrelerin fonksiyonundaki anormallikler immunolojik duyarlılığı arttırarak bağırsakta inflamasyonel süreci geliştirebilmektedir (Fidan, 2016).

ÜK ve CH’de bağırsak geçirgenliğinin arttığı tespiti yapılmıştır ve sağlıklı birinci derece akrabalarda da bu hastalıkların klinik belirtileri ortaya çıkmadan geçirgenliğin saptandığı araştırmalarda belirtilmektedir ve bu hastalıkların patogeneğinde önemli bir veriyi bize sunmaktadır (Bouguen ve diğerleri, 2011; Friedman ve diğerleri, 2012).

2.12. Curcumin

Ülkemizde Safranbolu’da yetiştirilen Zerdeçal (*Curcuma Longa*), Güney Asya ülkelerinin (Hindistan, Çin, Malezya, Endonezya, Filipinler, Madagaskar, Kamboçya, Vietnam, Laos), özellikle Hindistan (Ayurveda)’nın 6000 yılı aşkındır, geleneksel tıpta kullandıkları önemli bir baharatıdır. Başlıca yetiştirici ülkeler ise başta Hindistan olmak üzere, Çin, Endonezya, Bangladeş, Tayland, Japonya, Tayvan, Burma, Afrika’nın tropikal yerleri, Karayip adaları ve Güney Amerika’nın birkaç ülkesidir (Güder, 2011; Kress ve diğerleri, 2002).

Zencefil familyasının (*Zingiberaceae*)’nın üyelerinden Zerdeçal (*Curcuma Longa*; Turmeric, Yellow Ginger, Indian Saffron; Hint safranı, Zerdeçöp, Sarıboya, Zerdeçay, Turmerik, Safran kökü)’ın rizomlarından çıkarılan ana bileşen niteliğindeki kurkuminoitler (Zerdeçalın %3-5’ni oluşturur) fenolik 4 farklı özden meydana gelmektedir. Bunlar; Curcumin (Diferuloilmetan, Turmeric, Turmeric Yellow, Natural Yellow 3; Kurkuminoitin %77’sini oluşturur), Demethoksicurcumin (DMC; Kurkuminoitin %17’sini oluşturur), Bis-demethoksicurcumin (BDMC; Kurkuminoitin %3’ünü oluşturur) ve Cyclocurcumin’dir (Akram ve diğerleri, 2010; Özarslan, 2020; Soylu, 2019; Yardımcı, 2015).

Curcuminin kimyasal olarak adlandırılması; 1,6-heptadien-3,5-dion-1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenol)-(1E,6E) veya diferuloilmetan ($C_{21}H_{20}O_6$; MA:368,3799 g/mol) şeklindedir. Curcuminin kimyasal özellikleri ise; asidik-nötr şartlarda suda çözünmezken; bazik şartta ise suda çözünmektedir; organik çözücülerden yağda, asetonda, dimetilsülfoksit (DMSO)’te ve etanolde çözünmektedir (Güder, 2011). Curcumin hidrofobiktir, lipofilik özellikteki hücre zarından kolayca sitoplazmaya geçer orada birikir fakat çekirdeğe girmez (Özarslan, 2020).

Sarı-turuncu renklere sahip, kristalize toz formdaki Curcumin (Turmerik), Japonya’da çay olarak direk tüketilirken, gıda sanayisinde ise aroma verici, koruyucu ve sarı pigment içeriğinden dolayı renklendirici olarak kullanılmaktadır (Güder, 2011; Soylu 2019).

Geleneksel tıpta asırlardır kullanılan Curcuminin, toksik ve herhangi bir yan etkisinin olmadığı ve fazla ölçülerde kullanılabilceği çalışmalarda belirtilmiştir (Güder, 2011;

Yardımcı, 2015). İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, günde diyetle 6 gr Curcumini, 3 ay süresince alan bireylerde yan etkiye rastlanmamıştır ve başka bir çalışma da bu durumu destekler niteliktedir, günde 12 gr Curcumin verilen bireylerde de doz artışına rağmen toksik etki görülmemiştir fakat sağlıklı gönüllüler üzerinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise 10-12 gr/gün oraldan Curcumin verilmiş her ne kadar tedaviye bağlı olmadığı düşünülse de 1 kişide baş ağrısı, 2 kişide Curcuminin düşük emiliminden kaynaklı sarı-yumuşak dışkı izlenmiştir (Güder, 2011).

Curcumin; antibakteriyel, antiviral, antifungal, antiinflamatuvar, antioksidan, antinositif, antidiyabetik, antikarsinojenik, antimutajenik, antialerjik ve kolesterol seviyelerini düşürücü özellik taşımaktadır (Becit ve diğerleri, 2017; Güder, 2011; Pulido-Moran ve diğerleri, 2016).

Fenolik yapı içeren Curcumin, serbest radikalleri süpürücü nitelik taşımaktadır, hatta vitamin E'den süpürücü özelliği birkaç kat daha fazla güce sahiptir (Akbay ve Pekcan, 2016). Bu süpürücü nitelikteki fonksiyonu fenolik OH içermesiyle ilişkili olduğu biyokimyasal değerlendirmelerde belirtilmektedir (Salem ve diğerleri, 2014). Eksojen antioksidan Curcumin, ROS'u tutar ve böylelikle DNA'yı oksidatif stres durumundan korumaktadır (Özarslan, 2020). Curcumin asıl antioksidan özelliğini, hücre membranına zarar veren lipid peroksidasyonunu inhibe ederek gerçekleştirmektedir (Güder, 2011). Curcumin, direkt etkinliğinin yanı sıra inflamatuvar enzim aktivasyonunu azaltarak ya da glutatyon sentezini yükselterek indirekt olarak da antioksidan özellik göstermektedir (Akbay ve Pekcan, 2016). Cu'nun Curcumin ile meydana getirdiği birleşimin SOD'un etkinliği derecesinde antioksidan özellik gösterdiği çalışmada bulunmuştur (Sreejayan, 1997). Curcuminin; SOD, CAT ve GSH düzeylerini yükselttiği bildirilmiştir (Rauf ve diğerleri, 2018).

Curcumin, inflamatuvar sitokinlerin salınımını düzenler, NF- κ B'nin fonksiyonunu inhibe ederek inflamasyonu düşürür ve sinyal iletiminde rol alan yolları düzenleyici etkinlik gösterir (Güder, 2011). Araşidonik asit metabolizmasında etkinlik gösteren COX-2 enziminin inhibisyonunu gerçekleştirerek ve inflamatuvar mediatörlerin meydana gelmesini önleyerek antiinflamatuvar fonksiyon gösteren Curcumin inflamatuvar hastalıklarda sıklıkla kullanılmaktadır (Özarslan, 2020). Zerdeçal; histamin üretiminin düşürülmesi, kortizol hormonunun etkinliğinin artırılması ve dolaşım fonksiyonlarını iyileştirmesi gibi etkileriyle de antiinflamatuvar özelliklerini sergilemeyi sürdürmektedir (Mukhopadhyay ve diğerleri, 1982).

Birçok kanser çalışmada etken madde olarak kullanılan Curcumin; proliferasyon, invazyon, anjiyogenez ve metastazı baskılayarak; apoptozun baskılanması durumunu ise inhibe ederek etkinliğini göstermektedir ve bu etkinliğin sergilenmesindeki asıl potansiyel ise

Curcuminin NF- κ B'nin blokörü olmasıdır (Soylu, 2019; Güder, 2011). Yapılan çalışmada, rektum ve kolon kanserlerinde pozitif etkinliğine dair bilgilendirme mevcuttur (Yardımcı, 2015).

Curcumin, bağırsakta tetrahidrocurcumin (THC, renksiz ve polaritesi düşük) formuna dönüşmektedir ve bağırsaktan absorbe edilip buradan dokulara gönderilmektedir, en sonunda ise karaciğere gönderilir ve safra yolu ile atılımı gerçekleştirilmektedir. Ağızdan alımı sağlanan Curcuminin %75'lik kısmı dışkıyla, %25'lik bölümü ise idrarla vücut dışına atılmaktadır; intraperitonel yoldan verildiğinde ise %11'nin safra kesesinde depo edildiği belirtilmektedir (Özarslan, 2020).

2.13. Vitamin D

D vitamini isminde yer aldığı gibi vitamin değil, aslında çok işlevli bir pro-hormondur, vücuda önemli etkileri bulunan steroid hormon kalsitriolün öncüsüdür (Feldman ve diğerleri, 2014). D vitamini terimi; kolekalsiferol, ergokalsiferol, kalsidiol ve kalsitriol içeren bir grup steroid benzeri moleküle karşılık gelir (Duffy ve diğerleri, 2017).

D vitamini 1919'da Edward Mellanby tarafından raşitizm üzerinde çalışırken keşfedildi (Mellanby, 1919). D vitamininin sınıflandırılması, yan zincirlerin yapılarındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. D vitamini altı alt sınıfa ayrılır: D₂ vitamini, ergosterol (24 metlergosterol); D₃, kolekalsiferol; D₄, 24 metilkalsülfirol; D₅, sitosterol (24-etilkoleksiliferol); D₆, Stigmasterol (24 etilgalokalsiferol) ve D₇, 24-cis-metilkolekalsiferol (Napoli ve diğerleri, 1979). Geçmişte farklı formların toksisite profili tanımlanmıştır. Sonuçlar D₃ vitamininin en toksik form olduğunu, D₅'in ise en az toksik olduğunu göstermiştir (Cheung ve diğerleri, 2012).

Güneş'ten gelen UV ışınları, 7-dehidrokolesterolü, fosfoliz aracılı termo izomerizasyon yoluyla B-halkasının bölünmesiyle sekonder steroid haline getirir (Cheung ve diğerleri, 2012). D vitamininin karaciğerde CYP27A1 (25-hidroksilaz) ile 25(OH)D₃'e ve daha sonra böbreklerde CYP27B1 (1 α -hidroksilaz) tarafından 1,25(OH)₂D₃'e metabolize edildiğini gösteren genel bir metabolizma düzeni oluşturulmuştur. Son birkaç yıldır yapılan çalışmalar, D vitamininin etki gösterdiği epitel hücrelerin CYP27B1 ifade ettiğini ve bu nedenle metabolizmanın D vitamini hedef organları tarafından uygulanabilir olduğu kanıtlanmıştır (Battault ve diğerleri, 2012).

Yağda eriyen vitamin olan D vitamini, az miktarda doğal olarak gıdalarda bulunmaktadır. Salmon (Somon balığı), uskumru, ton balığı, sardalya gibi yağlı balık türleri; kırmızı et, kanatlı yağı, yumurta sarısı, süt, mantar, brokoli, yeşil soğan, maydanoz, su teresi D vitamini yönünden zengindir (Dimitri ve diğerleri, 2007; Nighat ve diğerleri, 2016).

D vitamini, kalsiyum ve fosfat metabolizmasını düzenler ve kemik mineralizasyonu için gereklidir (Feldman ve diğerleri, 2013). Yıllar boyunca, D vitamininin sadece kemiklerde bir işlevi olmadığı, aynı zamanda apoptozun indüklenmesi, immün sistemi modüle etme, inflamasyonu inhibe etme, hücre proliferasyonunu bloke etme ve hücre farklılaşmasını teşvik etme gibi diğer bazı biyolojik süreçlerde de rol oynadığı belirtilmektedir. Böylece, D vitamini vücutta çoklu ve çeşitli etkilere aracılık edebilir. Pleitrofik etkileri nedeniyle, D vitamini birçok farklı hastalıkta, özellikle kanserde geniş çapta araştırılmıştır (Feldman ve diğerleri, 2014).

Birçok kişi, kapalı mekanlarda çalışmaları, cilt kanseri riski ile ilgili endişelenme nedeniyle güneş ışığından kaçınma, ekvatordan uzakta yaşama ve güneş ışınlarını bloke eden koyu cilde sahip olmaları gibi çeşitli yaşam faktörlerinden dolayı yeterli güneş ışığı alamıyor; sonuç olarak da, dünya genelinde çok sayıda kişinin D vitamini eksikliği bulunduğu tespit edilmiştir (Holick, 2007).

Farmakolojik açıdan, hastalık durumlarında kalsitriol kullanımı hiperkalsemik/hiperfosfatemik durum riskiyle engellenmiştir. Bu yan etkilere neden olmadan kalsitriolün istenen etkilerinin bir kısmını koruyan analogların geliştirilmesine neden olmuştur (Barretov ve diğerleri, 2015).

Kandaki D vitaminini belirlemede kullanılan parametre; dolaşımda yer alan ve D vitamininin ana formu olan $25(\text{OH})\text{D}_3$ 'nin düşük serum seviyesi, D vitamini eksikliğinin ana göstergesidir. $25(\text{OH})\text{D}_3$ dolaşımdaki D vitamininin baskın şeklidir. $25(\text{OH})\text{D}_3$ 'ün yarılanma ömrü 3 haftadır. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sentezi böbrekte paratiroid hormonu tarafından düzenlendiğinden artmış UVB maruziyeti genellikle dolaşımdaki $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'yi yükseltmez. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en aktif D vitamini metabolitesidir, ancak serumdaki konsantrasyonu $25(\text{OH})\text{D}$ 'ün binde biri kadardır (Garland ve diğerleri, 2006; Ness ve diğerleri, 2015).

Kandaki D vitamini miktarı referans aralığı; yeterli serum D vitamini düzeylerinin 30 ng/ml'nin (75 nmol/L) üzerinde olması önerilir (Martin-Herranz ve diğerleri, 2015). $25(\text{OH})\text{D}_3$ serum seviyeleri: <20 ng/ml eksiklik, 20-30 ng/ml yetersizlik, 30-80 ng/ml optimal değerdir (Gilbert ve diğerleri, 2012). Yıl boyunca $25(\text{OH})\text{D}_3$ konsantrasyonları 30-50 ng/ml aralığında tutulmalıdır (Pludowski ve diğerleri, 2016). Garland ve ark (2006), ideal

konsantrasyonların 75-150 ng/ml arasında olması gerektiğini belirtmiştir. D vitamininin toksikliği ise >375 ng/ml konsantrasyonunda görülmektedir (Gilbert ve diğerleri, 2012).

D vitaminin günlük önerilen miktarı; Garland ve diğerleri (2006), 30-45 ng/mL serum 25(OH)D₃ seviyesi, normal paratiroid hormonu seviyelerini korumak için gerekli en az seviye olduğunu belirtmişlerdir. Yaş, vücut ağırlığı, hastalık durumu ve etnisiteye bağlı olarak D vitamini alım dozları 400-2000 IU/gün aralığında değişebilmektedir (Pludowski ve diğerleri, 2016).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1.Gereç

3.1.1. Etik Kurul Kararı

Bu deneysel çalışma ve içeriğindeki deneysel müdahalelerde, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (ADÜ-HADYEK) 64583101/2019/131 sayılı ve 25.12.2019 tarihli kararı ile etik yönden sakınca bulunmadığı onaylandı (EK1).

3.1.2. Deney Hayvanları

Çalışmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarında yetiştirilmiş, ağırlıkları ortalama 250-300 gram olan, 12 haftalık, 48 adet Wistar albino dişi sıçan kullanıldı. Tüm sıçanlar deney boyunca 12 saat karanlık 12 saat aydınlık sirkadiyen ritimde, $22\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve %40-60 bağıl nem oranında odalarda ve alt kısmı 425x265x180 mm boyutlarında şeffaf polikarbon malzemeden üretilmiş, üstlükleri ise paslanmaz çelikten olan kafeslerde tutuldu. Deney süresi boyunca sıçanlar standart pellet yem ile ad libitum beslenmiş olup, içme suyu olarak serbest erişimli şehir şebeke suyu verildi. Hayvanların oral beslenmesi, anal yoldan asetik asit veriminden ve sakrifiyeden 24 saat önce kesilerek, su tüketimlerine müdahalede bulunulmadı. Deney, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Biyokimya analizleri, Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarında çalışıldı. Biyokimya analizleri için doku homojenizasyonu, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda sağlandı. Histopatolojik incelemeler, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.



Resim 3. Çalışmada yer alan deney hayvanları

3.1.3. Curcumin ve D vitamini

Curcumin hammaddesi aynı zamanda içeriğindeki sarı pigment kaynaklı gıda sektöründe gıda boyası olarak da kullanılmaktadır (Güder, 2011; Soylu 2019). India Glycols Limited ve Plant Lipids adlı şirketler tarafından içerik analizi gerçekleştirilen Ceneviz Gıda'dan temin ettiğimiz, Hindistan menşeli %95,35 Curcumin (hammaddeye ait analizler Resim 4 ve 5'te yer almaktadır), Pre ve Post Curcumin tedavi gruplarına, toz formu 200 mg/kg düşecek şekilde %1'lik DMSO ile vortex yardımıyla çözdürüldü, distile suyla çalkalanmış versiyonu 7 gün boyunca, ucuna gavaj aparatı takılan insülin enjektörüyle orogastrik olarak ağırlığı ortalama 300 gr olan ratlara 0,3 ml verildi (Wang ve diğerleri, 2012; Yardımcı, 2015).

plant lipids

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Invoice No	BPLGS170290
Product	Curcumin Powder 95%
Quantity	100 KG
PL Product Code	PL88707
SI No	21-24
Lot No	17007146
Mfg Date	10/02/18
Shelf Life	18 months

<i>Test Parameters</i>	<i>Specification</i>	<i>Test Results</i>
<u>Organoleptic Characteristics:-</u>		
Color/Appearance	Bright yellow fine powder	COMPLIES
Odour/Taste	no flavour reminiscent of turmeric	COMPLIES
<u>Analytical Tests:-</u>		
Curcumin	94% to 97%	95.35%
Residual Solvent	Below 100PPM	49 ppm

The product is GMO free.

Resim 4. Curcumin yüzdesini gösterir analiz sertifikası

Nutritional Value of Curcuminoids (Curcumin) 95%	
Nutritional Value	
Calories Kcal	398.0
Calories k Joule	1666
Protein(NX6.25)% by mass	Nil
Fat %by mass	0.1 g
Saturated Fat %by mass	0.07
Trans Fat %by mass	Nil
Dietary Fiber% by mass	Nil
Mono saturated Fat %by mass	Nil
Poly saturated Fat %by mass	Nil
Saccharose % by mass	Not Detected
Glucose% by mass	Not Detected
Fructose % by mass	Not Detected
Lactose% by mass	Not Detected
Maltose % by mass	Not Detected
Cholesterol mg/kg	Not Detected
Vitamin A mg/kg	Not Detected
Vitamin C mg/kg	Nil
Sodium content ,mg/kg	19.4
Calcium ,mg/kg	265.6
Iron ,mg/kg	243.2

Resim 5. Curcuminin içeriğinde yer alan besin öğeleri durumunu gösterir belge

İçeriğinde zeytinyağı bulunan damlasında 400 IU kolekalsiferol içeren Ocean Marka (Germany) D vitamini, sıçanlara 0,4 mcg/kg (16 IU/kg) D vitamin düşecek şekilde ayçiçek yağında seyreltildi, Pre ve Post D vitamin tedavi gruplarına, 7 gün boyunca, ucuna gavaj aparatı takılan insülin enjektörüyle orogastrik olarak ağırlığı ortalama 300 gr olan ratlara 0,12 ml verildi (Cantimur, 2014).



Resim 6. Deneyde kullanılan etken maddeler
(Sol: Kolekalsiferol; Sağ: %95,35 Curcumin)

3.1.4. Kullanılan Cihazlar

Analizler sırasında, Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda bulunan aşağıda sıralanan cihazlar kullanıldı.

- Santrifüj (Hettich Zentrifügen Mikro 200R, San Bio Medikal, İngiltere)
- Santrifüj (Hettich Zentrifügen Rotina 420, Almanya)
- Vorteks (Labnet International Inc. Edison NJ, ABD)
- Ultra saf su cihazı (SS 200 Şimşek Lab. Ankara)
- Hassas terazi (SARTORIUS AG BP 610, Almanya)
- Derin dondurucu (-80°C) (SANYO MDF U5186S, Japonya)
- Mikroplate okuyucu (ELx 800, BioTek Instruments Inc, ABD)
- İnkübasyon cihazı (Microtec. Type Ak120, Infors Ag, İsviçre)
- Homojenizasyon cihazı (Ultra-Turrax T8 IKA-Werke SİGMA, Almanya)
- Otomatik Plate yıkayıcı (Plate Washer DAS)
- pH metre (Hanna H1221)
- Kaynamış su banyosu (Leica)
- Otomatik pipetler (Ependorf)
- Olympus BX20 Mikroskop

- Etüv (Nüve, EN055)
- Mikrotom (Leica RM 2135)
- Buzdolabı (İndesit)
- Doku takip cihazı (Leica)
- Parafin cihazı (Leica)

3.1.5. Kullanılan Sarf Malzemeler

- Asetik asit
- Eter
- NaCl (sodyum klorür) (Merck, 6400, Almanya)
- DMSO (Sigma, Almanya)
- Fosfat tamponu (PBS phosphate buffer saline; 50 mM pH 7,4)
- Etanol absolute (Sigma, 32221)
- Ksilen (Ksilen (İzomerleri Karışımı) Extra pure, Tekkim, Catalog # TK.090270.01000)
- Parafin (Parafin Boncuk 56-58°C, Tekkim, Catalog # TK.200661.05004)
- Lam-lamel (Isotherm)
- Doku takip kaseti
- Mikrotom Bıçağı
- Formaldehit (Formaldehyde Solution Min. 37% Stabilized With About 10% Methanol, Merck, Catalog # 1.040.022.500)
- Hematoksilen (Haematoxyclin Mayer's, Bio-optica, Catalog # 05-06002/L, İtalya)
- Eozin (Eosin Aqueous, Bio-optica, Catalog # 05-10002/L, İtalya)
- Entellan (Entellan new rapid mounting medium for microscopy, Merck, Catalog # M107961.0500)
- Numune kabı (Fıratpen, Türkiye)
- Kan tüpü
- Eppendorf (Isolab)
- İnsülin enjektörü (Beybi, Türkiye)
- 10 ml yeşil uçlu enjektör (Beybi, Türkiye)
- 1000, 200, 20 mikrolitrelik mikropipet ucu

- Eldiven (Beybi, Türkiye)
- Curcumin (Ceneviz Gıda, India)
- D vitamin (Orzax Ocean Vitamin D₃ 400 IU, Germany)
- TNF- α kiti (Rat TNF-alpha ELISA kit, FineTest, Catalog #ER1393, China)
- IL-1 β kiti (Rat IL-1 β ELISA kit, Bioassay Technology Laboratory, Catalog #E0119Ra, China)
- IL-6 kiti (Rat IL-6 ELISA kit, Bioassay Technology Laboratory, Catalog #E0135Ra, China)
- INF- γ kiti (Rat IFN-Gamma ELISA kit, Bioassay Technology Laboratory, Catalog #E0103Ra, China)
- Occludin kiti (Rat Occludin ELISA kit, Bioassay Technology Laboratory, Catalog #E2185Ra, China)
- Zonulin kiti (Rat Haptoglobin/Zonulin ELISA kit, Bioassay Technology Laboratory, Catalog #E2457Ra, China)
- Sıçan yemi (Bil-Yem Gıda San. ve Tic. Ltd Şti. Standart rat yemi, Ankara)

3.2. Yöntem

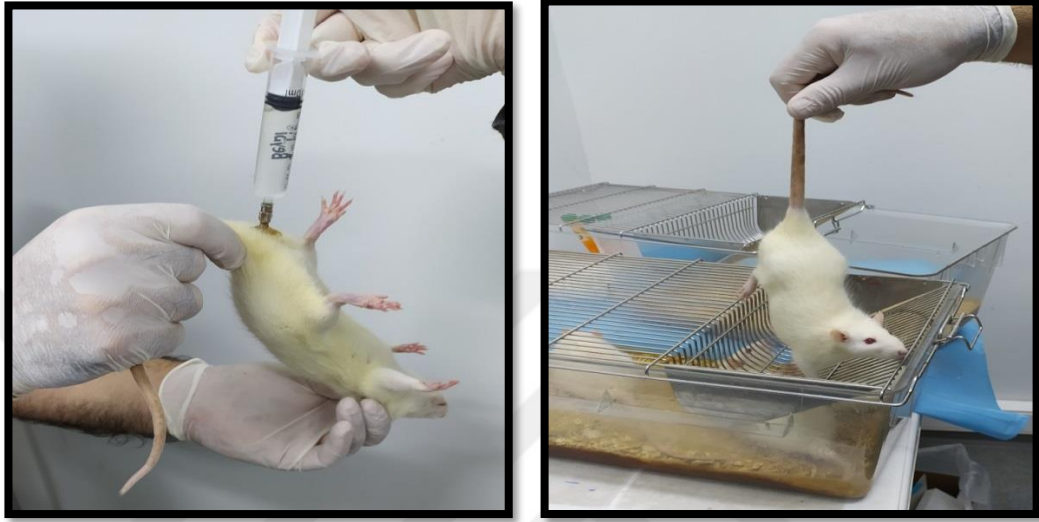
3.2.1. Deney Tasarımı

3.2.1.1. Deneysel Kolit Modeli Oluşturma Prosedürü

Kolit yapılacak sıçanlar yaklaşık 24 saat önceden aç bırakıldı, su tüketimi serbestti. Kolit yapılacak sıçanlara ucunda gavaj aparatı bulunan enjektörle, 1 ml %4'lük asetik asit anal orifisten 8 cm içeriye girilerek verildi. Asetik asit verilen sıçanlar, maddenin rektumdan dışarı çıkışını önlemek adına 30-60 sn kuyruklarından tutulup bekletildi (Cantimur, 2014).

Sıçanların tümü sakrifiye edildikten sonra kolonun son 10 cm'lik segmenti, ince bağırsağın son 2-3 cm'si (distal ileum), ince bağırsağın son 5 cm proksimalindeki 10 cm'lik (jejunum) kısmı çıkartıldı. Kolon ve ince bağırsak (jejunum ve distal ileum) segmentleri serum fizyolojik (%0,9'luk) ile dışkıdan arındırıldıktan sonra biyokimyasal analiz için kilitli poşete konulup -80°C'ye kaldırıldı. Sadece kolon segmentinin bir kısmı histopatolojik analiz için direkt numune kabındaki formal solüsyona konuldu. Hayvanlardan 5 ml kan alınıp

santrifüj edildi ve serumları eppendorflara konup -80°C'ye analiz için kaldırıldı. Dokuların (kolon, distal ileum, jejunum) ve serumun biyokimyasal analizlerinde, immünolojik durumu saptamak adına TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ düzeylerine; bağırsak geçirgenliğindeki değişimi saptamak adına Occludin ve Zonulin proteinlerinin seviyelerine; oksidan durumu saptamak amacıyla MPO değerine bakıldı ve örneklerdeki protein tayini için Bradford testi yapıldı.



Resim 7. Kolit oluşturma prosedürü

(Sol: 1 ml %4'lük Asetik asit solüsyonun intrarektal verimi, Sağ: solüsyon çıkışının önlenmesi adına 30-60 sn kuyruktan tutma prosedürü)

3.2.1.2. Deney grupları

Kontrol Grubu, Kolit Grubu, 200 mg/kg Curcumin+Kolit (Koruyucu tedavi /Pretedavi grubu), 0,4 μ g/kg (16 IU/kg) D vitamini+Kolit (Koruyucu tedavi/Pretedavi grubu), Kolit+200 mg/kg Curcumin (Post tedavi grubu), Kolit+0,4 μ g/kg (16 IU/kg) D vitamini (Post tedavi grubu) olmak üzere 8 rattan oluşan 6 gruba ayrıldı.

3.2.1.2.1. Kontrol Grubu

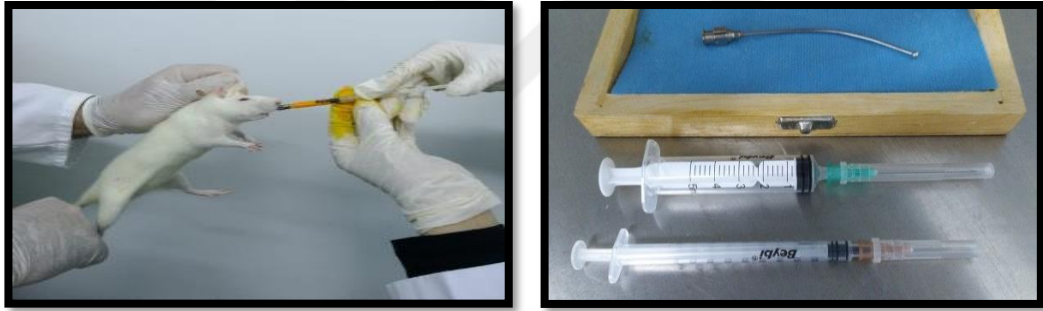
Kontrol grubundaki hayvanlar, Kolit grubuyla aynı şartlara maruz bırakıldı ve bir işlem uygulanmadı. 24 saat önce aç bırakılan ve eterle uyuşturulan hayvanlar servikal dislokasyonla sakrifiye edilip serum ve doku örnekleri alındı.

3.2.1.2.2. Kolit Grubu

Deneysel kolit, asetik asit ile oluşturuldu. Kolit yapılacak hayvanlar, kolit uygulanmasından yaklaşık 24 saat önce aç bırakılıp çalışma günü 1 ml %4'lük asetik asit gavaj aparatı yardımıyla anal orifisten 8 cm içeriye girilerek verildi. Bu gruba herhangi bir öncül tedavi uygulanmadı. Asetik asitle kolit oluşturulan deney grubu hayvanlara, intrarektal 1 ml %4'lük asetik asit 9 gün içerisinde 2 gün ara ile 2 kez uygulandı.

3.2.1.2.3. Pretedavi Curcumin

Kolit oluşturulmadan önce Curcumin verilen gruba, 200 mg/kg Curcumin (distile su ile hazırlanmış versiyonu 0,3 ml) intragastrik olarak günde 1 kez olmak üzere 7 gün verildi. İntrarektal 1 ml %4'lük asetik asit 9 gün içerisinde 2 gün ara ile 2 kez uygulandı. Asetik asit veriminden 24 saat önce ratlar aç bırakıldı.



Resim 8. İnteragastrik olarak curcumin verimi ve gavaj aparatı

3.2.1.2.4. Pretedavi D vitamini

Kolit oluşturulmadan önce D vitamini verilen gruba, 0,4 µg/kg (16 IU/kg) D vitamini (ayçiçek yağı ile hazırlanmış versiyonu 0,12 ml) intragastrik olarak günde 1 kez olmak üzere 7 gün verildi. İntrarektal 1 ml %4'lük asetik asit 9 gün içerisinde 2 gün ara ile 2 kez uygulanmıştır. Asetik asit veriminden 24 saat önce ratlar aç bırakıldı.

3.2.1.2.5. Posttedavi Curcumin

Kolit oluşturulduktan sonra, 200 mg/kg Curcumin (distile suyla seyreltilmiş versiyonuyla 0,3 ml) intragastrik olarak günde 1 kez olmak üzere 7 gün verildi. Bu uygulama öncesinde intrarektal 1 ml %4'lük asetik asit 9 gün içerisinde 2 gün ara ile 2 kez uygulanmıştır. Asetik asit veriminden 24 saat önce ratlar aç bırakıldı.

3.2.1.2.6. Posttedavi D vitamini

Kolit oluşturulduktan sonra, 0,4 µg/kg (16 IU/kg) D vitamini (ayçiçeği ile hazırlanmış versiyonu 0,12 ml) intragastrik olarak günde 1 kez olmak üzere 7 gün verildi. Bu uygulama öncesinde intrarektal 1 ml %4'lük asetik asit 9 gün içerisinde 2 gün ara ile 2 kez uygulanmıştır. Asetik asit veriminden 24 saat önce ratlar aç bırakıldı.

Deney süresince tüm hayvanlar kendi gruplarına ait manipülasyonlara tabi tutulduktan sonra, hayvanların tamamı 9. günün sonunda sakrifiye edilip kan örnekleri, ince bağırsak ve kolon doku örnekleri alındı. Sıçanlar kapalı bir kap içinde aşırı doz etere maruz bırakılmalarından hemen sonra, servikal dislokasyon gerçekleştirildi ve intrakardiyak 5 ml kan alındı. Sonra da inflamasyonlu bölgeyi içine alan yaklaşık 10 cm'lik kolon segmenti, ince bağırsağın son 2-3 cm'si (distal ileum), ince bağırsağın son 5 cm proksimalindeki 10 cm'lik (jejunum) kısmı çıkartıldı. Çıkartılan kolon segmentinin bir kısmı histopatolojik inceleme, bir kısmı da biyokimyasal inceleme için kullanıldı. Çıkartılan distal ileum ve jejunum ise bağırsak geçirgenliğinin ve inflamasyonel/oksidan durumun tespiti amacıyla sadece biyokimyasal analiz için kullanıldı. Akut kolit oluşturan asetik asitin etkinlik süreci baz alınarak son yapılan dozdan 3 gün içerisinde sakrifikasyon gerçekleştirilip örnek alınmaya dikkat edildi.

3.2.2. Analiz Yöntemleri

Hazırlanan deney gruplarındaki sıçanlarda gerçekleştirilecek deneysel modelin ve tedavi edici ajanın uygulanması sonucunda bulguların elde edilebilmesi için ağırlık ölçümü, makroskobik görünüm inceleme, biyokimyasal analizler ve histolojik analizler gerçekleştirildi.

3.2.2.1. Ağırlık Ölçümü

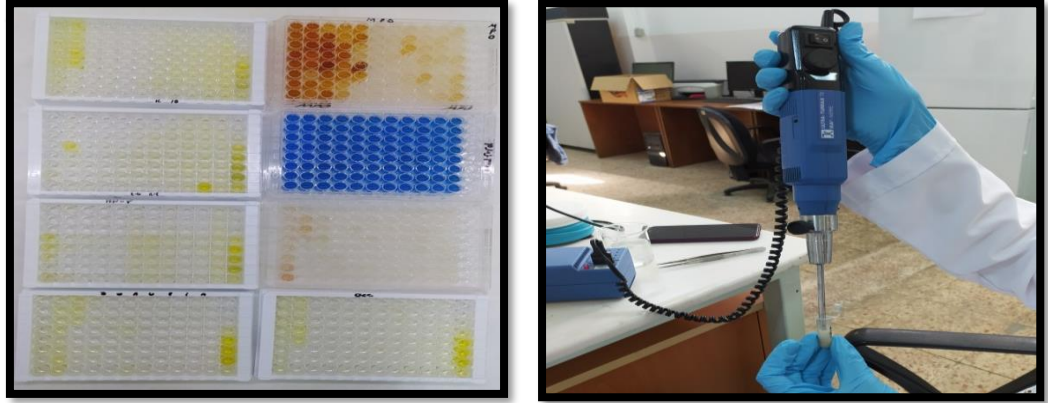
12 haftalık ratların ortalama ağırlıkları 250-300 gr olarak belirtildi. Sakrifiye günü ratlar tek tek digital tartıda tartılıp ağırlıkları not edildi. Elde edilen sonuçlar Kontrol grubu rat ağırlıklarıyla kıyaslanarak bulgular kısmında, değişim yüzdelere ait veriler Tablo 2’de sunuldu.

3.2.2.2. Makroskobik görünüm inceleme

Gruplardaki sıçanlar sakrifiye edildikten hemen sonra, biyokimyasal ve histolojik inceleme gerçekleştirmek adına kolon dokusu alınıp ayrılmadan önce makroskobik inceleme yapabilmek için kolonların fotoğrafları çekildi, fotoğraflara bulgular kısmında yer verildi.

3.2.2.3. Biyokimyasal Analiz

ELISA ile kolon, distal ileum, jejunum dokusunda ve serumda; TNF- α , IL-1 β , IL-6, İnterferon- γ , Zonulin ve Occludin düzeylerine bakıldı.



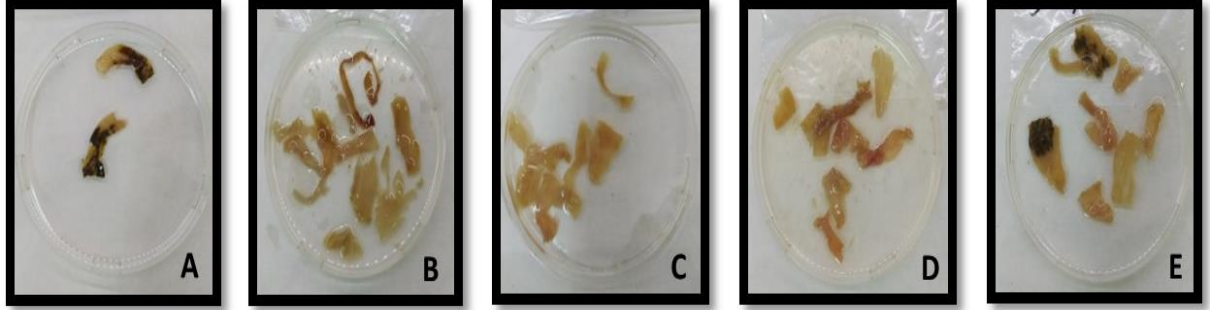
Resim 9. Kitler ve homojenizatör

(Sol: Biyokimyasal analizlere ait kitlerin toplu görseli, Sağ: Doku homojenizasyonu gerçekleştirilirken)

3.2.2.3.1. Dokuların Homojenizasyonu

Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların bağırsak dokuları çıkarıldı. Dokular tartıldı ve doku TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ , Occludin, Zonulin seviyelerinin ve MPO aktivitesinin hesaplanması için, fosfat tamponu içinde homojenize edildi. Dokudaki fazla kanı ve dışkıyı iyice gidermek için dokular serum fizyolojik içinde durulandı ve homojenizasyondan önce

tartıldı. Dokular kıyıldı ve buz üzerinde homojenleştirici ile PBS (pH=7,4) içinde homojenize edildi. Doku homojenatları daha sonra vortekslendi ve santrüfjü edildi (15000 rpm; 15 dk; 4°C) ve süpernatantlar analiz için -80°C’de bekletildi.



Resim 10. Serum fizyolojik ile dışkıdan arındırılmış doku örnekleri
(A: Kolit, B: Kolit+Cur, C: Kolit+Dvit, D: Cur+Kolit, E: Dvit+Kolit)

3.2.2.3.2. Doku Tümör Nekroz Faktör- α Düzeyi Ölçümü

Kan örnekleri 3000 devirde beş dakika santrifjü edildi ve serum numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan serumlar analiz dönemine kadar -80 derecede saklandı. Doku homojenatları santrüfjü edildi (15000 rpm; 15 dk; 4°C) ve süpernatantlar analiz için -80°C’de bekletildi. Serum ve doku örnekleri TNF- α düzeyleri rat spesifik ELİSA kiti kullanılarak değerlendirildi. Doku ve serumda TNF- α seviyesi, kit protokolü takip edilerek FineTest'den satın alınan bir TNF- α analiz kiti (Kat. No. ER1393) kullanılarak analiz edildi. TNF- α konsantrasyonu, enzime bağlı immünolojik bir yöntem ile ölçülerek sonuçlar, yaş doku gramı başına pikogram olarak, serum ise mililitre başına pikogram olarak ifade edildi. Renk yoğunluğu, numunelerden yakalanan TNF- α miktarı ile orantılı olarak, TNF- α seviyesi, 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropate okuyucu kullanılarak belirlendi.



Resim 11. TNF- α kit ve Mikropate
(Sol: Rat TNF- α ELISA kitine ait malzemeler, Sağ: Mikropate okuyucu)

3.2.2.3.3. Doku İnterlökin-1β Düzeyi Ölçümü

Kan örnekleri 3000 devirde beş dakika santrifüj edildi ve serum numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan serumlar analiz dönemine kadar –80 derecede saklandı. Doku homojenatları santrifüj edildi (15000 rpm; 15 dk; 4°C) ve süpernatantlar analiz için -80°C’de bekletildi. Serum ve doku örnekleri IL-1β düzeyleri rat spesifik ELİSA kiti kullanılarak değerlendirildi. Doku ve serumda IL-1β seviyesi, kit protokolü takip edilerek Bioassay Technology Laboratory'den satın alınan bir IL-1β analiz kiti (Kat. No. E0119Ra) kullanılarak analiz edildi. Kit protokolüne bağlı kalınarak, bir numunede bulunan IL-1β, hareketsizleştirilmiş antikor tarafından kuyucuklara bağlanır. Kuyucuklar yıkanır ve biyotinile edilmiş anti-rat IL-1β antikoruna eklenir. Bağlanmamış biyotinlenmiş antikorun yıkanmasından sonra, HRP-konjuge streptavidin, kuyucuklara pipetlenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır, ardından bir TMB substrat çözeltisi ilave edilir ve bağlanan IL-1β miktarıyla orantılı olarak renk gelişimi gözlenir. Durdurma solüsyonu rengi maviden sarıya çevirir. Uygun şekilde işlemler gerçekleştirilerek oluşan rengin yoğunluğu 450 nm’de ölçüldü, sonuçlar serumda pg/ml ve dokuda pg/gr olarak ifade edildi.

3.2.2.3.4. Doku İnterlökin-6 Düzeyi Ölçümü

Kan örnekleri 3000 devirde beş dakika santrifüj edildi ve serum numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan serumlar analiz dönemine kadar –80 derecede saklandı. Doku homojenatları santrifüj edildi (15000 rpm; 15 dk; 4°C) ve süpernatantlar analiz için -80°C’de bekletildi. Serum ve doku örnekleri IL-6 düzeyleri rat spesifik ELİSA kiti kullanılarak değerlendirildi. Doku ve serumda IL-6 seviyesi, kit protokolü takip edilerek Bioassay Technology Laboratory'den satın alınan bir IL-6 analiz kiti (Kat. No. E0135Ra) kullanılarak analiz edildi. IL-6 konsantrasyonu, enzime bağlı immünolojik bir yöntem ile ölçülerek sonuçlar, yaş doku gramı başına mikrogram olarak, serum ise litre başına mikrogram olarak ifade edildi. Renk yoğunluğu, numunelerden yakalanan IL-6 miktarı ile orantılı olarak, IL-6 seviyesi, 450 nm’ye ayarlanmış bir mikropate okuyucu kullanılarak belirlendi.

3.2.2.3.5. Doku İnterferon- γ Düzeyi Ölçümü

Kan örnekleri 3000 devirde beş dakika santrifüj edildi ve serum numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan serumlar analiz dönemine kadar -80°C derecede saklandı. Doku homojenatları santrifüj edildi (15000 rpm; 15 dk; 4°C) ve süpernatantlar analiz için -80°C 'de bekletildi. Serum ve doku örnekleri INF- γ düzeyleri rat spesifik ELİSA kiti kullanılarak değerlendirildi. Doku ve serumda INF- γ seviyesi, kit protokolü takip edilerek Bioassay Technology Laboratory'den satın alınan bir INF- γ analiz kiti (Kat. No. E0103Ra) kullanılarak analiz edildi. INF- γ konsantrasyonu, enzime bağlı immünolojik bir yöntem ile ölçülerek sonuçlar, yaş doku gramı başına mikrogram olarak, serum ise litre başına nanogram olarak ifade edildi. Renk yoğunluğu, numunelerden yakalanan INF- γ miktarı ile orantılı olarak, INF- γ seviyesi, 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropate okuyucu kullanılarak belirlendi.

3.2.2.3.6. Doku Miyeloperoksidaz Düzeyi Ölçümü

Kan örnekleri 3000 devirde beş dakika santrifüj edildi ve serum numuneleri hazırlandı. Eppendorf tüplere alınan serumlar analiz dönemine kadar -80°C derecede saklandı. Doku homojenatları santrifüj edildi (15000 rpm; 15 dk; 4°C) ve süpernatantlar analiz için -80°C 'de bekletildi. Doku ve serumda MPO aktivitesi, manual olarak analiz edildi. MPO aktivitesi, dokuda ve serumda mU/ml olarak ifade edildi. Renk yoğunluğu, numunelerden yakalanan MPO aktivitesi ile orantılı olarak, MPO durumu 460 nm'ye ayarlanmış bir mikropate okuyucu kullanılarak belirlendi.

3.2.2.3.7. Doku Occludin Düzeyi Ölçümü

Tüm reaktifler, standart solüsyonları ve örnekleri kit talimatlarına göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Tahlil, oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Test için gerekli strip sayısı belirlendi. Standart kuyucuğuna 50 μl standart eklendi. Standart kuyucuğuna antikor eklenmedi çünkü standart çözelti biyotinlenmiş antikor içeriyordu. Numune kuyucuklarına 40 μl numune eklendi ve ardından numune kuyucuklarına 10 μl anti-Ocln antikor eklenildi, ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 μl streptavidin-HRP eklendi (Boş kontrol kuyusuna eklenmedi). Plaka, kit setinden çıkan bir mühürleyici ile örtüldü. 37°C 'de 60 dakika inkübe edildi. Sızdırmaz mühürleyici çıkarıldı ve

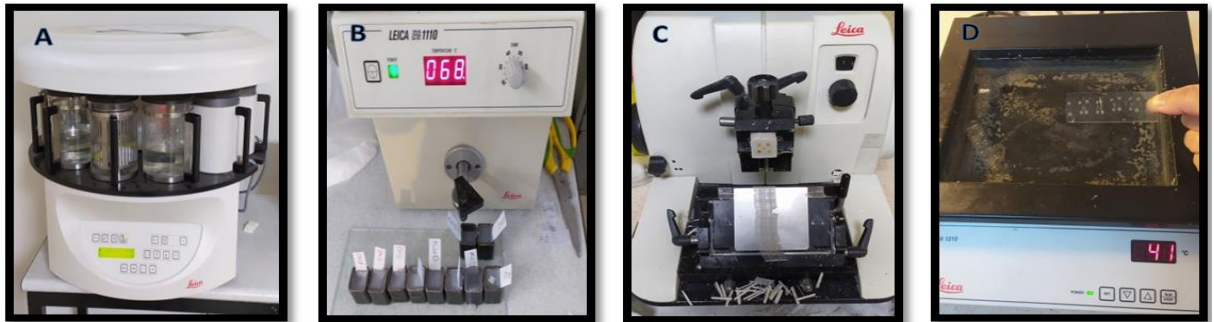
plaka 5 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Kuyular her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslatıldı. Otomatik yıkama için, tüm kuyular aspire edildi ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı, kuyular yıkama tamponu ile dolduruldu. Plaka, kağıt havlu veya başka bir emici malzemeye kurulandı. Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrate solution B eklendi. Plaka yeni bir mühürleyici ile kapalı olarak 37°C'de karanlıkta 10 dakika inkübe edildi. Her kuyuya 50 µl Durdurma Solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya döndüğü gözlemlendi. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropate okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Occludin seviyeleri dokuda ve serumda mililitre başına nanogram olarak belirtildi.

3.2.2.3.8. Doku Zonulin Düzeyi Ölçümü

Tüm reaktifleri, standart solüsyonları ve örnekleri talimatlara göre hazırlandı. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Tahlil, oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Test için gerekli strip sayısı belirlendi. Stripler kullanmak için çerçevelere yerleştirildi. Standart kuyucuğuna 50 µl standart eklendi. Standart kuyucuğuna antikor eklenmedi çünkü standart çözelti biyotinlenmiş antikor içermektedir. Numune kuyucuklarına 40 µl numune eklendi ve sonra numune kuyucuklarına 10 µl anti-Hpt/HP antikor eklendi, ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP eklendi (Boş kontrol kuyucuğuna eklenmedi). Plaka bir mühürleyici ile örtüldü ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Sızdırmaz mühürleyici çıkarıldı ve plaka 5 kez yıkama tamponuyla yıkandı. Kuyuları her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslatıldı. Otomatik yıkama için, tüm kuyular aspire edildi ve 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı, kuyular yıkama tamponu ile dolduruldu. Plaka, kağıt havlu veya başka bir emici malzemeye kurulandı. Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A eklendi ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrate solution B eklendi. Plaka yeni bir mühürleyici ile kapalı olarak 37°C'de karanlıkta 10 dakika inkübe edildi. Her kuyuya 50 µl Durdurma Solüsyonu eklendi, mavi renk hemen sarıya dönüştüğü gözlemlendi. Durdurma solüsyonunu ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropate okuyucu kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi. Zonulin seviyeleri dokuda ve serumda mililitre başına nanogram olarak belirtildi.

3.2.2.4. Histopatolojik Analiz

%10'luk formalin içeren solüsyon, 6 adet numune kaplarına paylaştırılıp tüm histolojik kolon doku örnekleri gruplanarak formaldehitte fikse edildi. Kolon dokusundaki otolizi önleyen fiksasyon işleminden sonra formalinden alınan kolon dokuları doku takip kasetine gruplar halinde yerleştirildi ve doku takibi öncesinde formalinin uzaklaştırılması için şehir şebekesi akar suyunda 24 saat bekletildi. Sonrasında kapaklı doku kasetleri içerisinde bulunan kolon örnekleri doku takip cihazında %70, %80, %95 ve en son %100'lük olacak şekilde asendan alkol serilerinde dehidre edildi (dokudaki su uzaklaştırıldı) böylelikle dokuların çok ince kesilebilmesi adına sertleşmesi sağlandı fakat bu durum aynı zaman dokunun kırılabilirliğini de arttırdı. Dokudaki alkol, ksilol serilerinden geçirilerek uzaklaştırılması sağlandı ve ksilol aynı zamanda dokunun şeffaflaştırılmasını da gerçekleştirmiştir. Doku takip cihazındaki son durak olan sıvılaştırılmış parafinle de özellikle lümeni olan dokuların her yerine parafin girişi sağlanmıştır ve dokunun belli bir postür alması kolaylaştırılmıştır. Dokunun ince kesilmesi adına gerekli sertleşmeyi sağlayan bu işlemlerden sonra asıl dilimlenecek forma girmesine yardımcı olan 68-70°C'de eritilmiş sıvı parafinle kolon dokuları kalıpların içerisine dikine gömüldü (Leica EG 1110). Kalıplardan 1 gün sonra çıkartılan doku parafin blokları, kesimi kolaylaştırmak adına buzlukta bir süre bekletildikten sonra mikrotomla (Leica RM2135) 5'er mikrometre kalınlığında kesitler alındı ve bu kesitler 40-42°C'deki su banyosuna konuldu ve buradan lamlara aktarımı gerçekleştirildi. Dokular lamda kuruduktan sonra lamlar etüvde 4 saat kadar bekletilip dokunun lama sabitlenmesi ve lama yapışan parafinlerin erimesi sağlandı. Son olarak mikroskopta gerekli görüntünün sağlanması adına preparatlar Hematoksilen&Eozin ile boyandı ve entellan ile sabitlenip üstüne lamel kapatıldı. Preparatlara ait histomikrograflar, Olympus BX51 mikroskoba monte edilmiş bir Olympus DP20 dijital kamera ile alındı.



Resim 12. Histolojik çalışmalar sırasında kullanılan cihazlar

(A: Doku takip cihazından kolon dokularının geçirilmesi, B: Dokuların kalıplara yerleştirilip eritilmiş parafinle kaplanması, C: Parafin blokların mikrotom cihazıyla kesimi, D: Kesilmiş dokuların su banyosunda açılmasını bekleyip lama konumlandırılması)

3.2.2.4.1. Hematoksilen & Eozin Boyama

Lam üzerine alınmış olan kesitler etüvde 4-6 saat boyunca 115°C'de bekletilip deparafinizasyonu sağlandıktan sonra sırasıyla 3 dk ve 4 dk dakika ksilolden ve ardından sırasıyla %100, %80'lik desendan alkol serilerinden 1'er dakika geçirildi ve distile su içerisine alındı ve burada da 3 dk bekletildi, sonrasında 3 dakika boyunca hematoksilende tutulan dokular daha sonra 1 dakika akar suda yıkandı ve su kapatıldıktan sonra 3 dk daha suda bekletildi, sonrasında 1 dk eozinde tutulmalarının ardından %80, %100'lük asendan alkol serilerinden 1'er dakika, ksilolden 2x4'er dakika geçirilerek entellan ile kapatıldı.



Resim 13. Hematoksilen & Eozin boyama

(Etüvde bekletildikten sonra lama sabitlenmiş ve parafinlerinden arındırılmış doku örneklerinin; ksilolden, desendan alkol serilerinden, hematoksilen-eozinden, sonrasında asendan alkol serilerinden ve son olarak tekrar ksilole buluşturulup bekletme prosedürlerine uyularak geçirilmesi)

3.2.2.4.2. Histopatolojik Evreleme

Tahmin edilen bağımsız parametrelerin herbiri değişikliklerin şiddetine göre 0-3 arasında (0, değişiklik yok; 1, hafif; 2, orta; 3, şiddetli), subjektif olarak uzman bir histopatolog tarafından derecelendirilerek kontrollerle karşılaştırıldı. Kalın bağırsakta mukozal hasar/nekroz, inflamasyon, submukozal ödem, submukozal kalınlaşma, mukozal hemoraji gibi parametreler histopatolojik inceleme ile değerlendirildi (Gonzalez ve diğerleri, 1999).

Tablo 1. Kolon mukozasının mikroskopik skora kriterleri
(Gonzalez ve diğeri, 1999)

Kolit Skoru	Etkilenme düzeyi
0	Etkilenme yok
1	Hafif etkilenme
2	Orta düzeyde etkilenme
3	Şiddetli etkilenme

3.2.2.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde GraphPad Prism (versiyon 7.04, GraphPad Software Inc., San Diego, ABD) programı kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel değerlendirmede oneway analysis of variance (ANOVA) ile yapıldı. Biyokimyasal değerlerin yorumlanması ve grup değerlerinin çoklu karşılaştırılması, parametrik testlerden Dunnett's multiple comparisons testi ile gerçekleştirildi. Grupların değerleri, ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi ve p değeri 0,05 istatistiksel anlamlılık için sınır kabul edildi. Histolojik değerlerin yorumlanması ve grup değerlerinin çoklu karşılaştırılması, non-parametrik testlerden Dunn's multiple comparisons testi ile gerçekleştirildi ve p değeri 0,05 istatistiksel anlamlılık için sınır kabul edildi. Ağırlık değişimi kıyasını gösteren tablonun hazırlanması ve ortalama değerlerin tespit edilmesi için Microsoft Office Excel programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Ağırlık Ölçümleri

Çalışmamızda yem ve su kısıtlaması olmadan (ad libitum yem ve çeşme suyu, yeme içmeyi engelleyici veya teşvik edici müdahalelerden kaçınılarak) sıçanların beslenmesi sağlandı. Sakrifiye işleminden önce sıçanların ağırlık ölçümleri alındı. Kolit ve tedavi gruplarından elde edilen sonuçlar, Kontrol grubu ortalama ağırlık (280,41 gr) sonuçlarıyla kıyaslanarak yüzdesel değişim şeklinde sunuldu (Tablo 2).

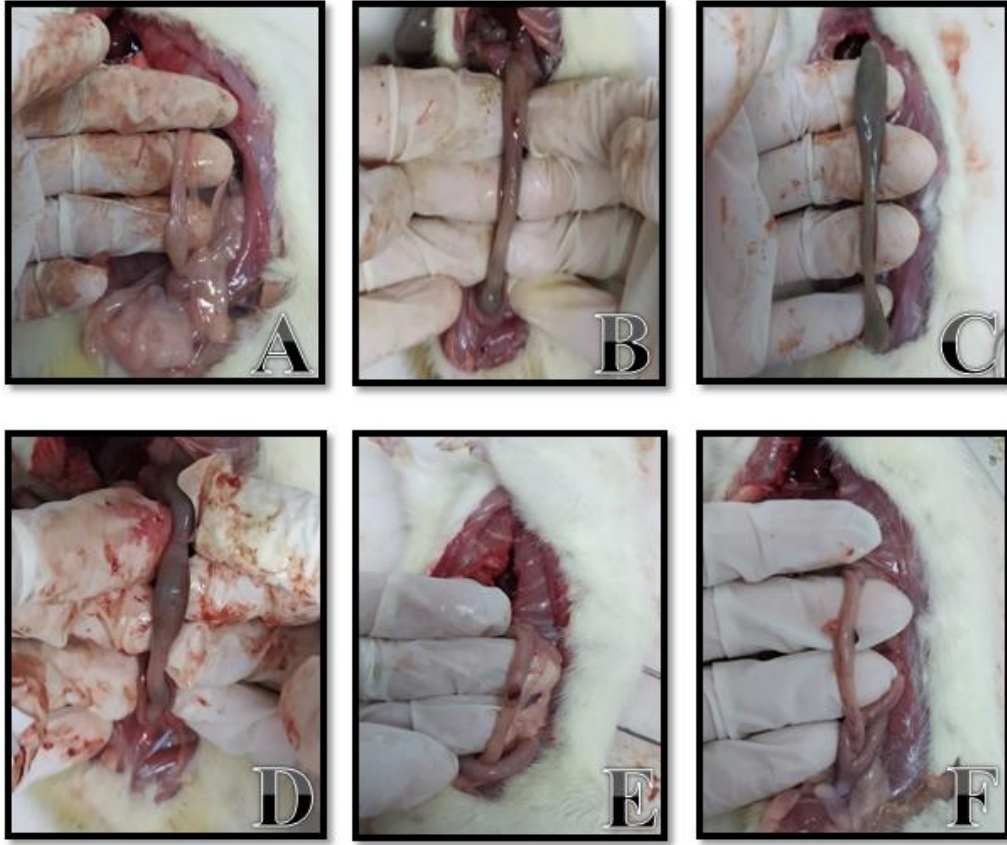
Sakrifiye gününden önceki süreçte kolit oluşturulduktan sonra post tedavi Curcumin ve D vitamini gruplarından 2'şer rat, Kolit grubundan ise 1 rat ölümü gerçekleşti. Tüm kolit gerçekleştirilen grupların bazı ratlarında özellikle ikinci kez asetik asit solüsyonu verildikten sonra ishale birlikte kanlı dışkılama gözlemlendi.

Tablo 2. Kolit oluşturulan tüm grupların Kontrol grubuyla kıyaslanarak hesaplanan ağırlık değişim yüzdeleri

	Kolit	Kolit+Cur	Kolit+Dvit	Cur+Kolit	Dvit+Kolit
Sakrifiye günü	211,14 gr	227,23 gr	243,23 gr	243,80 gr	239,91 gr
Değişim (%)	-24,70	-18,96	-13,26	-13,06	-14,44

4.2. Makroskopik Bulgular

Gruplardaki sıçanlar sakrifiye edildikten hemen sonra, biyokimyasal ve histolojik incelemeler için kolon dokusu alınıp ayrılmadan önce makroskopik inceleme yapabilmek için kolonlarının fotoğrafları çekildi. Makroskopi görüntüleri, her grubu temsil eden rastgele seçilen birer fotoğraf ile aşağıda sunuldu (Resim 14).



Resim 14. Gruplara ait temsili makroskopik kolon görünümü

(A: Kontrol, B: Kolit, C: Kolit+Cur, D: Kolit+Dvit, E: Cur+Kolit, F: Dvit+Kolit gruplarını temsilen yer alan rat kolon makroskopik görünüm örnekleri)

4.3. Biyokimyasal Bulgular

Çalışmamızda; asetik asit ile gerçekleştirilen deneysel kolit modelinde Curcumin ve D vitaminin pre ve post tedavi uygulamalarıyla; immünolojik etkileri, bağırsak geçirgenliği üzerine etkileri ve oksidan etkisi biyokimyasal olarak değerlendirildi. Biyokimyasal analiz sonuçları Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5, Şekil 6, Şekil 7’de sunuldu. Tüm biyokimyasal sonuçlara ait değerler ise Tablo 3’te yansıtıldı. Tablodaki ve grafiklerdeki; TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ , MPO, OCC sayısal değerleri kolon dokusu (kalın bağırsak son 8-10 cm’lik kısım) analiz sonuçlarına, ZON değeri ise distal ileum (ince bağırsağın 2-3 cm’lik kısmı) dokusu analiz sonuçlarına ait verilerdir. Çalışmamızda; serum ve jejenum dokuları da analiz edildi, onlara ait sonuçlara açıklama kısmında detaylı yer verildi.

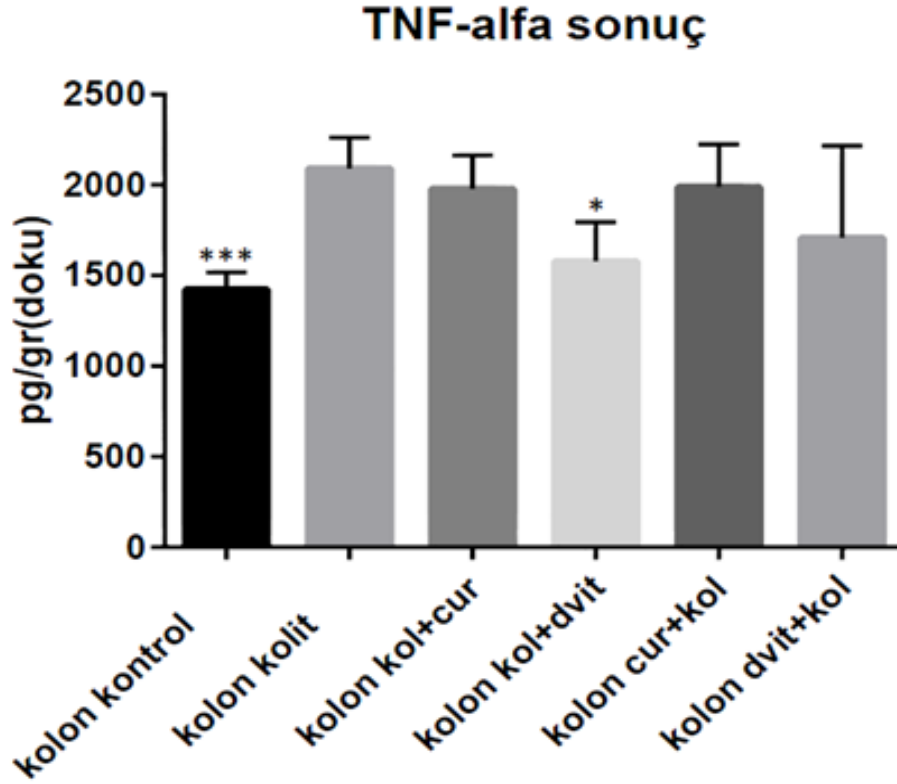
Tablo 3. Biyokimyasal bulgular

	TNF- α (pg/gr) (kolon dokusu)	IL-1 β (pg/gr) (kolon dokusu)	IL-6 (pg/gr) (kolon dokusu)	INF- γ (pg/gr) (kolon dokusu)	MPO (mU/ml) (kolon dokusu)	OCC (ng/ml) (kolon dokusu)	ZON (ng/ml) (Distal ileum)
Kontrol	1424 $\pm$ 149,7***	1343 $\pm$ 127,5*	7,14 $\pm$ 0,7788***	43,47 $\pm$ 4,124*	453,9 $\pm$ 81,44**	119,8 $\pm$ 11,07***	39,32 $\pm$ 1,816
Kolit	2092	1726	10,42	55,21	780,3	69,99	36,18
Kolit+Cur	1978 $\pm$ 160	1205 $\pm$ 127,5***	8,298 $\pm$ 0,7788*	36,19 $\pm$ 4,124***	402,4 $\pm$ 81,44***	94,81 $\pm$ 11,07	39,94 $\pm$ 1,816
Kolit+Dvit	1577 $\pm$ 160*	1449 $\pm$ 127,5	8,812 $\pm$ 0,7788	43,63 $\pm$ 4,124*	502,0 $\pm$ 81,44**	100,3 $\pm$ 11,07*	33,49 $\pm$ 1,816
Cur+Kolit	1989 $\pm$ 143,1	1276 $\pm$ 120,9**	7,532 $\pm$ 0,7388**	38,29 $\pm$ 3,912***	459,4 $\pm$ 77,26***	94,10 $\pm$ 10,50	42,03 $\pm$ 1,723**
Dvit+Kolit	1708 $\pm$ 147,7	1554 $\pm$ 127,5	9,493 $\pm$ 0,7788	46,78 $\pm$ 4,124	541,9 $\pm$ 81,44*	93,81 $\pm$ 11,07	39,02 $\pm$ 1,816

4.3.1. Kolon Dokusu Tümör Nekroz Faktör- α Düzeyi

Kontrol grubunda (1424 $\pm$ 149,7 pg/gr doku) kolonik TNF- α seviyeleri Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Kolit grubuyla post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, post tedavi D vitamini grubunun (1577 $\pm$ 160 pg/gr doku) anlamlı şekilde kolonik TNF- α seviyelerinin azaldığı görüldü (p<0,05).

Kolon doku analizlerinin haricinde serum, distal ileum ve jejunum dokularına ait TNF- α seviyeleri de incelendi. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, serum ve distal ileum TNF- α seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi, jejunumda ise anlamlı azalma söz konusu değildi; fakat Kolit+Cur grubunda, Kolit grubuna göre jejunal TNF- α seviyelerinde anlamlı azalma olduğu saptandı. Kolona yakın olan ince bağırsak bölümlerinden distal ileum TNF- α seviyelerinin, Cur+Kolit ve Dvit+Kolit gruplarında anlamlı şekilde düşüş olduğu görüldü. Serum TNF- α seviyelerinde ise tedavi gruplarında Kolit grubuna göre anlamlı düşüş gözlenmedi.



Şekil 1. Gruplar arası TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması

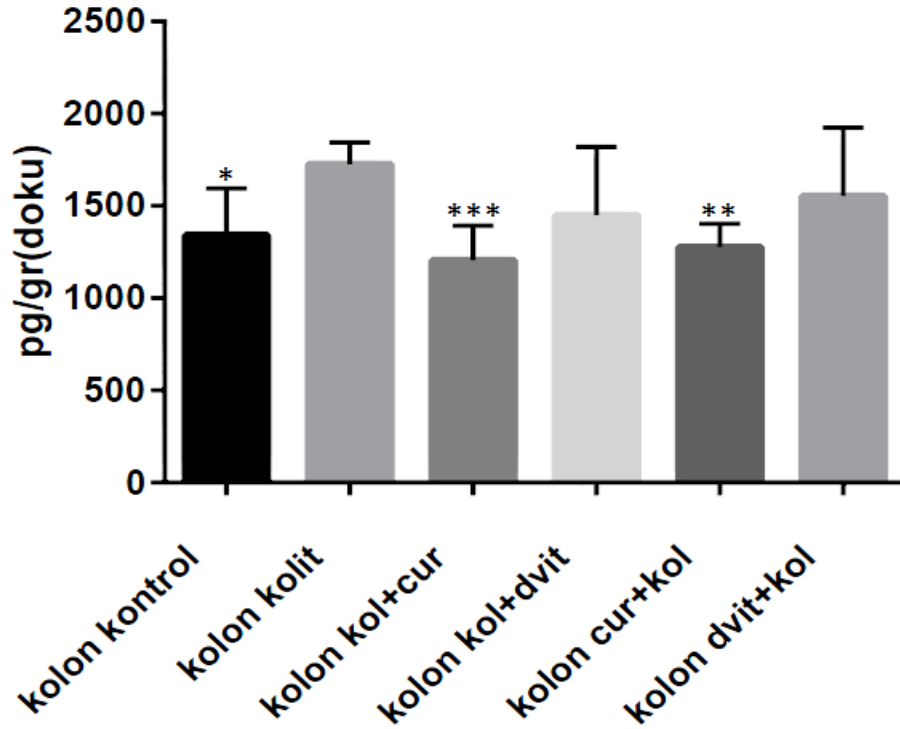
Tedavi gruplarından Kolit+Dvit’de Kolit grubuna göre anlamlı iyileşme gözlenmiştir ($p<0,05$)

4.3.2. Kolon Dokusu İnterlökin-1 β Düzeyi

Kontrol grubunda ($1343 \pm 127,5$ pg/gr doku) kolonik IL-1 β seviyeleri kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Kolit grubuyla post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, post tedavi Curcumin ($1205 \pm 127,5$ pg/gr doku) ve pre tedavi Curcumin ($1276 \pm 120,9$ pg/gr doku) gruplarının anlamlı şekilde kolonik IL-1 β seviyelerinin azaldığı görüldü. En belirgin azalmanın post tedavi Curcuminde olduğu saptandı ($p<0,05$).

Kolon doku analizlerinin haricinde serum, distal ileum ve jejunum dokularına ait IL-1 β seviyeleri de incelendi. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, jejunum IL-1 β seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi; serum ve distal ileum da ise anlamlı azalma söz konusu değildi. İnce bağırsak bölümlerinden jejunum IL-1 β seviyelerinin, Kolit+Dvit gruplarında anlamlı şekilde düşüş olduğu görüldü ve bu durum kolonik TNF- α seviyelerinin sonuçlarıyla uyumaktaydı.

IL 1-beta sonuç



Şekil 2. Gruplar arası IL-1 β düzeylerinin karşılaştırılması

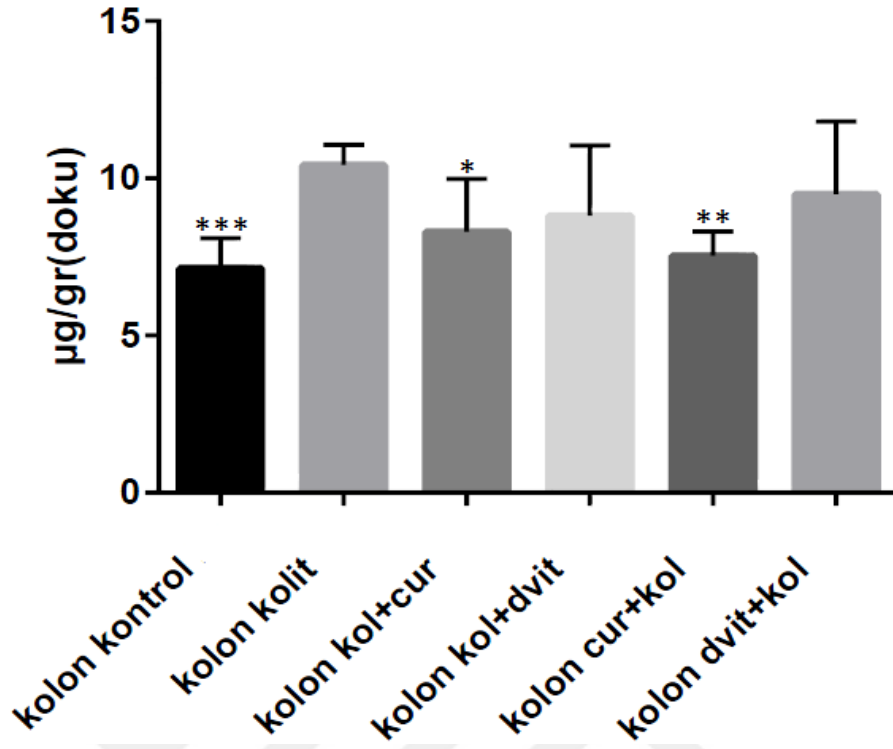
Tedavi gruplarından Kolit+Cur'da ve Cur+Kolit'de Kolit grubuna göre anlamlı iyileşme gözlenmiştir (p<0,05)

4.3.3. Kolon Dokusu İnterlökin-6 Düzeyi

Kontrol grubunda ($7,140 \pm 0,7788$ $\mu\text{g/gr}$ doku) kolonik IL-6 seviyeleri Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Kolit grubuyla post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, post tedavi Curcumin ($8,298 \pm 0,7788$ $\mu\text{g/gr}$ doku) ve pre tedavi Curcumin ($7,532 \pm 0,7388$ $\mu\text{g/gr}$ doku) gruplarının anlamlı şekilde kolonik IL-6 seviyelerinin azaldığı görüldü ve bu durum kolonik IL-1 β seviyelerinin sonuçlarıyla örtüşüyordu. En belirgin azalmanın pre tedavi Curcumin grubunda olduğu saptandı (p<0,05).

Kolon doku analizlerinin haricinde serum, distal ileum ve jejunum dokularına ait IL-6 seviyeleri de incelendi. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, serum, distal ileum jejunum IL-6 seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi. Serum IL-6 seviyelerinin Kolit+Dvit, Cur+Kolit ve Dvit+Kolit gruplarında anlamlı şekilde düşüş olduğu; ince bağırsak bölümlerinden distal ileum ve jejunum IL-6 seviyelerinin Kolit+Cur, Kolit+Dvit, Cur+Kolit ve Dvit+Kolit gruplarında yani tüm tedavi gruplarında anlamlı şekilde düşüş olduğu saptandı (p<0,05).

IL 6 sonuç



Şekil 3. Gruplar arası IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması

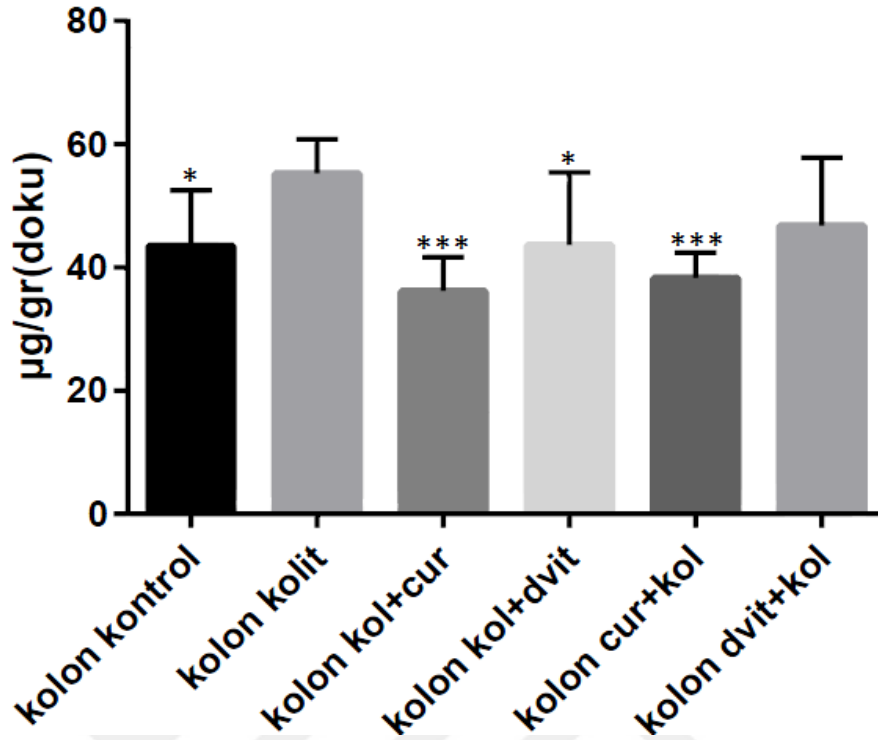
Tedavi gruplarından Kolit+Cur'da ve Cur+Kolit'de Kolit grubuna göre anlamlı iyileşme gözlenmiştir ($p<0,05$)

4.3.4. Kolon Dokusu İnterferon- γ Düzeyi

Kontrol grubunda ($43,47 \pm 4,124$ µg/gr doku) kolonik INF- γ seviyeleri Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Kolit grubuyla post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, post tedavi Curcumin ($36,19 \pm 4,124$ µg/gr doku), post tedavi D vitamini ($43,63 \pm 4,124$ µg/gr doku) ve pre tedavi Curcumin ($38,29 \pm 3,912$ µg/gr doku) gruplarının anlamlı şekilde kolonik INF- γ seviyelerinin azaldığı görüldü. En belirgin azalmanın post tedavi Curcumin grubunda olduğu saptandı ($p<0,05$).

Kolon doku analizlerinin haricinde serum, distal ileum ve jejunum dokularına ait INF- γ seviyeleri de incelendi. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, serum ve jejunum INF- γ seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi, distal ileumda ise anlamlı azalma söz konusu değildi. Serum INF- γ seviyelerinin Cur+Kolit grubunda anlamlı şekilde düşüş olduğu; ince bağırsak bölümlerinden jejunum INF- γ seviyelerinin, Kolit+Cur, Cur+Kolit ve Dvit+Kolit gruplarında Kolit grubuna göre anlamlı şekilde yükseliş olduğu görüldü ($p<0,05$).

IFN gama sonuç



Şekil 4. Gruplar arası INF-γ düzeylerinin karşılaştırılması

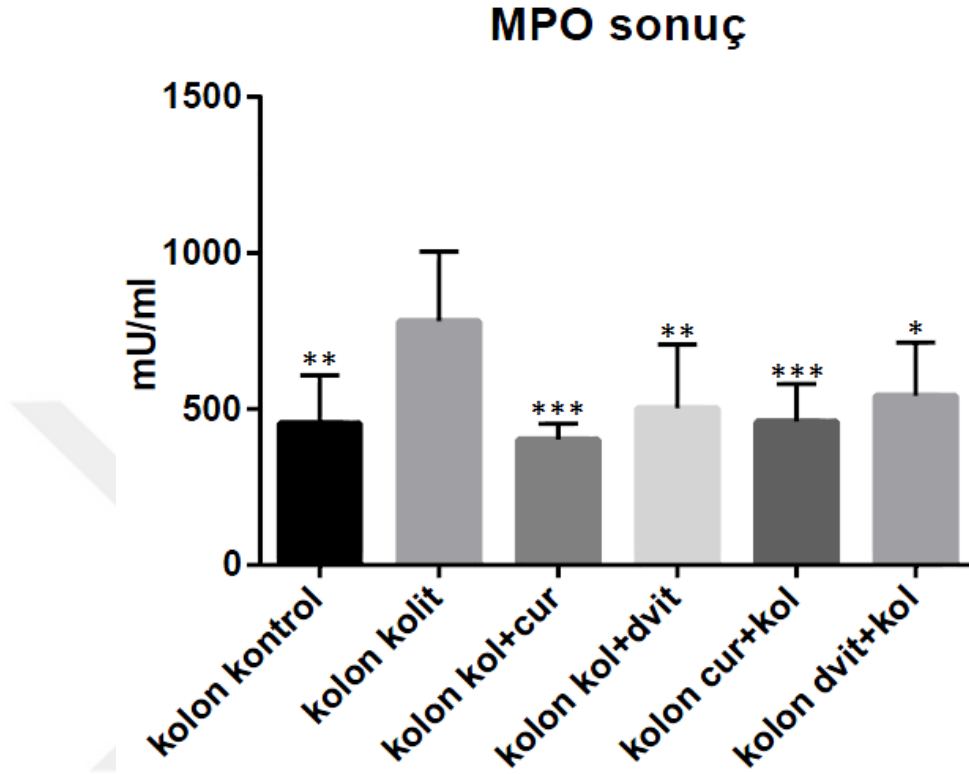
Tedavi gruplarından Kolit+Cur'da, Kolit+Dvit'de ve Cur+Kolit'de Kolit grubuna göre anlamlı iyileşme gözlenmiştir ($p<0,05$)

4.3.5. Kolon Dokusu Miyeloperoksidaz Düzeyi

Kontrol grubunda ($453,9 \pm 81,44$ mU/ml doku) kolonik MPO seviyeleri Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Kolit grubuyla post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, post tedavi Curcumin ($402,4 \pm 81,44$ mU/ml doku), post tedavi D vitamini ($502,0 \pm 81,44$ mU/ml doku), pre tedavi Curcumin ($459,4 \pm 77,26$ mU/ml doku) ve pre tedavi D vitamini ($541,9 \pm 81,44$ mU/ml doku) gruplarının anlamlı şekilde kolonik MPO seviyelerinin azaldığı görüldü. En belirgin azalmanın post tedavi Curcumin grubunda olduğu saptandı ($p<0,05$).

Kolon doku analizlerinin haricinde serum, distal ileum ve jejunum dokularına ait MPO seviyeleri de incelendi. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, distal ileum ve jejunum MPO seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi, serumda ise anlamlı azalma söz konusu değildi. İnce bağırsak bölümlerinden distal ileum MPO seviyelerinin, Kolit+Cur, Kolit+Dvit ve Cur+Kolit gruplarında Kolit grubuna

göre anlamlı şekilde düşüş olduğu; serum ve jejenum MPO seviyelerinin ise, tedavi gruplarında kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşüş görülmediği gözlemlendi.



Şekil 5. Gruplar arası MPO düzeylerinin karşılaştırılması

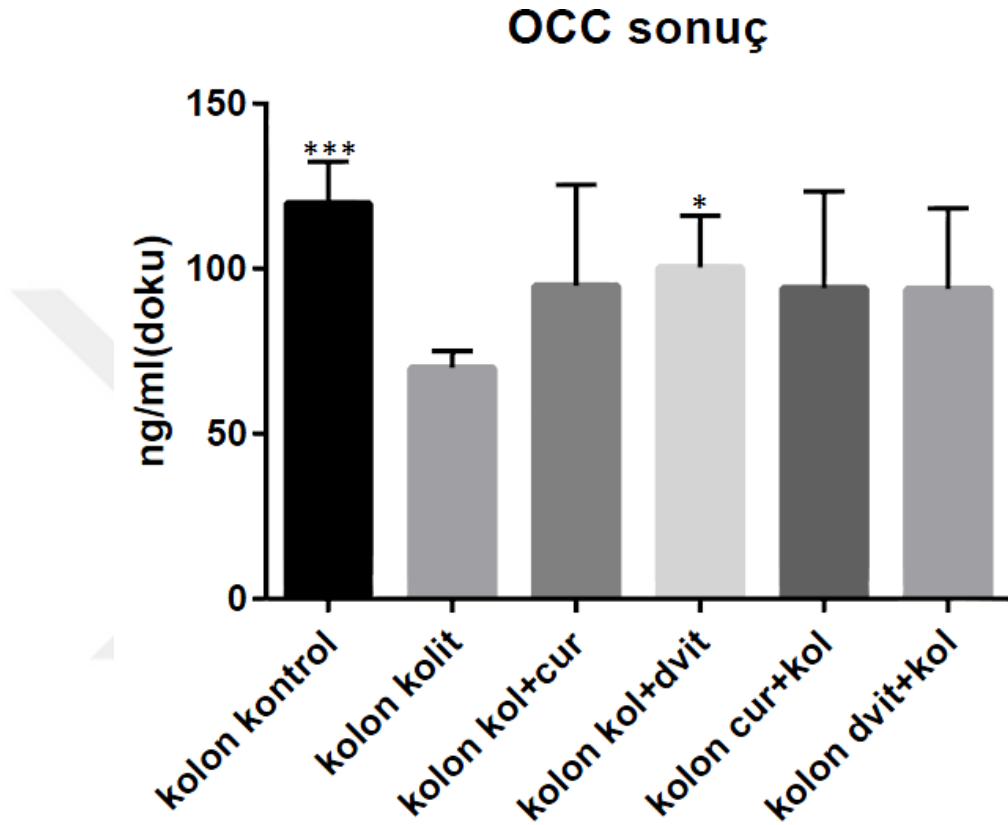
Tedavi gruplarından Kolit+Cur'da, Kolit+Dvit'de, Cur+Kolit'de ve Dvit+Kolit'de Kolit grubuna göre anlamlı iyileşme gözlenmiştir ($p<0,05$)

4.3.6. Kolon Dokusu Occludin Düzeyi

Kontrol grubunda ($119,8 \pm 11,07$ ng/ml doku) kolonik Occludin seviyeleri (bağırsak geçirgenliği tespiti için analizi gerçekleştirildi) Kolit grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olarak saptandı. Kolit grubuyla post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, post tedavi D vitamini grubunun ($100,3 \pm 11,07$ ng/ml doku) anlamlı şekilde kolonik Occludin seviyelerinin yükseldiği görüldü ($p<0,05$).

Kolon doku analizlerinin haricinde serum, distal ileum ve jejenum dokularına ait Occludin seviyeleri de incelendi. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, emilim için kıymetli bir bağırsak bölümü olan jejenumun Occludin seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde yükseklik olduğu belirlendi; serum ve distal ileumda ise

anlamli yükselik söz konusu değildi. Jejunal Occludin seviyelerinde Kolit+Dvit grubunda Kolit grubuna göre anlamli şekilde düşüş olduğu; serum Occludin seviyelerinde, Cur+Kolit ve Dvit+Kolit gruplarında Kolit grubuna göre anlamli şekilde yükseliş görüldüğü; distal ileum Occludin seviyelerinin ise, Kolit+Dvit grubunda anlamli şekilde yükseliş olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).



Şekil 6. Gruplar arası Occludin düzeylerinin karşılaştırılması

Tedavi gruplarından Kolit+Dvit’de Kolit grubuna göre anlamli artış gözlenmiştir ($p<0,05$)

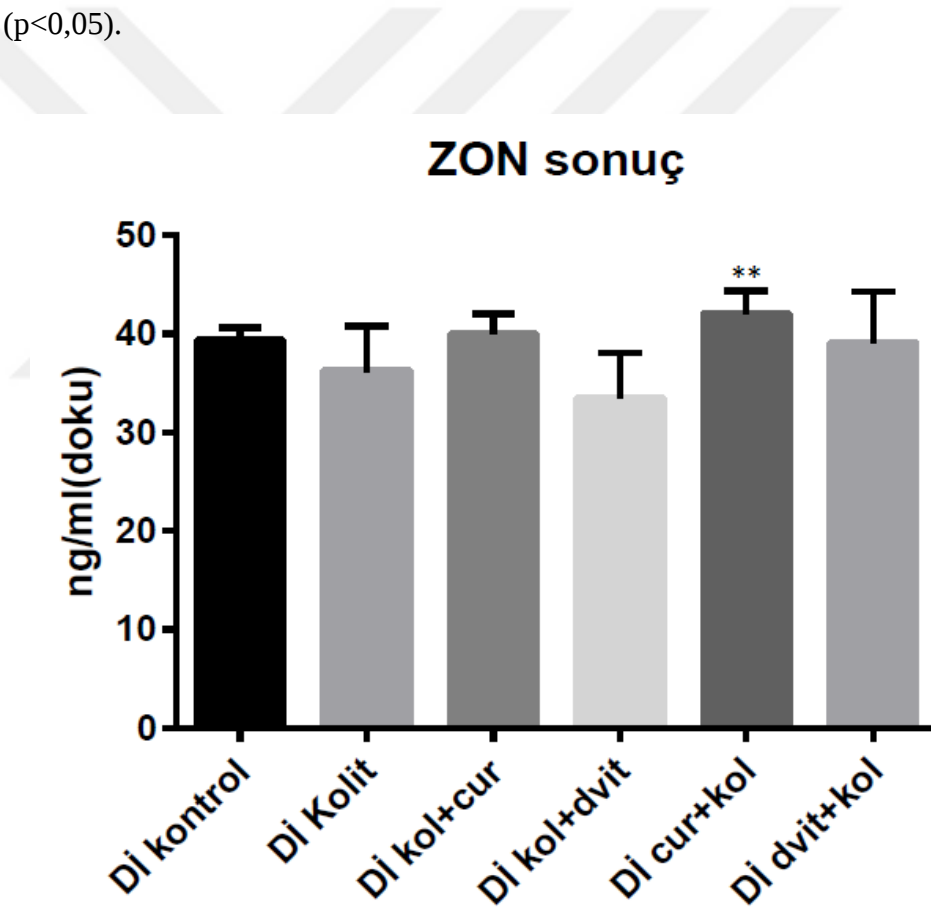
4.3.7. Distal İleum Dokusu Zonulin Düzeyi

Kolona yakın ince bağırsak bölümlerinden Distal ileum Zonulin seviyelerinin (bağırsak geçirgenliği tespiti için analizi gerçekleştirildi) Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamli yükselik söz konusu değildi. Distal ileum Zonulin seviyelerinin Cur+Kolit ($42,03 \pm 1,723$ ng/ml doku) tedavi grubunda Kolit grubuna göre anlamli yükseliş olduğu incelendi.

Her ne kadar kolonda Zonulin reseptörü bulunmadığından, kolon geçirgenliği tespitinde kolon dokusu Zonulin seviyelerine bakılması anlamlılık ifade etmese de; Kontrol grubunda ($32,08 \pm 3,442$ ng/ml doku) kolonik Zonulin seviyeleri Kolit grubuna göre anlamli şekilde

düşük olarak saptandı. Kolit grubuyla post ve pre tedavi grupları karşılaştırıldığında ise, post tedavi Curcumin ($28,22 \pm 3,282$ ng/ml doku), post tedavi D vitamin ($29,69 \pm 3,282$ ng/ml doku) ve pre tedavi Curcumin ($31,04 \pm 3,282$ ng/ml doku) gruplarında anlamlı şekilde kolonik Zonulin seviyelerinin düştüğü görüldü. En belirgin düşüklük ise post tedavi Curcumin grubunda belirlendi ($p<0,05$).

Serum ve jejenum dokularına ait Zonulin seviyeleri de incelendi. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, serum Zonulin seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi; jejenumda ise anlamlı yükselik söz konusu değildi. Serum Zonulin seviyelerinin Kolit+Dvit, Cur+Kolit ve Dvit+Kolit tedavi gruplarında Kolit grubuna göre anlamlı yükseliş olduğu; jejunal Zonulin seviyelerinin Kolit+Dvit, Cur+Kolit ve Dvit+Kolit tedavi gruplarında Kolit grubuna göre anlamlı yükseliş olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).



Şekil 7. Gruplar arası Zonulin düzeylerinin karşılaştırılması

Tedavi gruplarından Cur+Kolit’de Kolit grubuna göre anlamlı yükselme gözlenmiştir ($p<0,05$)

4.4. Histopatolojik Bulgular

Histoloji bulguları yapılan Hematoksilen & Eozin boyaması ile değerlendirildi. Boyama sonunda hazırlanan preparatlar 4X, 10X ve 40X'lik büyütmelemler halinde incelendi ve skorlandı. Kolon dokularında mukozal hasar/nekroz, inflamasyon, ödem, submukozal kalınlaşma ve hemoraji durumları değerlendirildi. Yapılan histolojik skorum için 0: hasar yok, 1: hafif, 2: orta ve 3: şiddetli hasar olarak derecelendirildi. Preparatların gruplar arası histolojik skorum sonuçlarının ortalama değerlerine Tablo 4'te yer verildi.

Tablo 4. Histolojik bulgular

	Mukozal Hasar/Nekroz	İnflamasyon	Ödem	Submukozal Kalınlaşma	Hemoraji	TOTAL
Kontrol	0****	0,63***	0****	0****	0****	0,079
Kolit	2,86	2,57	2,43	2,43	1,29	1,65
Kolit+Cur	1,63	1,25	0,63*	0,38**	0****	0,49
Kolit+Dvit	1,5	1,13*	0,25****	0****	0****	0,36
Cur+Kolit	1,33*	1,33	0,83	0,83	0,17**	0,75
Dvit+Kolit	2,33	1,83	1,17	0,67*	0***	1

Tablodaki grup ortalama hasar verilerine ve tek tek deneklere ait özel skorum verilerinde dikkat çeken durumlara, histolojik bulgular değerlendirmemizde detaylı olarak yer verildi. Grupların preparat analiz sonuçlarına göre, Kontrol grubundaki sıçanlardan alınan kolon örneklerinde mukozal hasar/nekroz, ödem, submukozal kalınlaşma, hemoraji bulguları saptanmadı. İnflamasyon ise Kontrol grubundaki 8 rattan 3 ratta (skorlar: 1, 2, 2) gözlemlendi, grubun diğer üyelerinde gözlemlenmedi. Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı olarak mukozal hasar/nekroz, inflamasyon, ödem, submukozal kalınlaşma ve hemoraji parametrelerinin ortalama skorlarının düşük olduğu saptandı ($0 < 0,05$).

En yüksek skorların gözlemlendiği Kolit grubundaki sıçanlarda tüm parametrelerde bozulma en üst düzeydeydi. Kolit grubunda en yüksek bozulma seviyesi 2,86 ile mukozal hasar/nekroz iken, en düşük bozulma seviyesi 1,29 ile hemoraji skorlamasıdır. Mukozal hasar/nekroz skorumunda, 1 rat hariç (2 skoru) diğer tüm ratlar 3 skoruna sahipti. Kolit grubunda, 0 skoruna sahip tek rat vardı ve bu 0 skoru hemoraji skorlamasına aitti. Kolit grubunun totaldeki hasar ortalaması 1,65'tir ve en yüksek hasar skoruna sahip gruptur.

Tedavi grupları incelendiğinde, post tedavi Curcumin (Kolit+Cur) grubundaki skorların, mukozal hasar/nekroz haricinde (ort 1,63 skor) Kontrol grubuna yaklaştığı saptandı.

Kolit+Cur grubunda hemoraji skorlamasında tüm ratlar 0 skoruna sahipti. Kolit+Cur grubunda en yüksek bozulma seviyesi 1,63 ile mukozal hasar/nekroz iken, en düşük bozulma seviyesi 0 ortalama ile hemoraji skorlamasıdır, grubun totaldeki hasar ortalama skorlaması ise 0,49'tur. Bu grupta inflamasyon, ödem, submukozal kalınlaşma ve hemoraji skorlamasında 0 puan alan ratlar mevcuttur; hiçbir parametrede 3 puan alan rat yoktur. Kolit+Cur grubunda; ödem, submukozal kalınlaşma ve hemorajide anlamlı olarak azalma gözlemlendi ($p<0,05$).

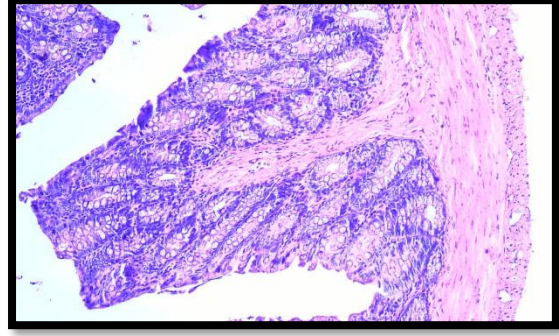
Post tedavi D vitamin (Kolit+Dvit) grubundaki skorların, mukozal hasar/nekroz haricinde (ort 1,5 skor) Kontrol grubuna yaklaştığı saptandı. Kolit+Dvit grubunda submukozal kalınlaşma ve hemoraji skorlamasında tüm ratlar 0 skoruna sahipti, ödem skorlamasında da 2 rat (1 skor) haricinde durum benzerdi. Kolit+Dvit grubunda en yüksek bozulma seviyesi 1,5 ile mukozal hasar/nekroz iken, en düşük bozulma seviyesi 0 ortalama ile submukozal kalınlaşma ve hemoraji skorlamasıdır, grubun totaldeki hasar ortalama skorlaması ise 0,36'dır ve Kontrol grubundan sonra en düşük skora sahip gruptur. Bu grupta mukozal hasar/nekroz, inflamasyon, ödem, submukozal kalınlaşma ve hemoraji skorlamasında 0 puan alan ratlar mevcuttur; hiçbir parametrede 3 puan alan rat yoktur. Mukozal hasar/nekroz haricinde tüm parametrelerde anlamlı iyileşme gözlemlendi. Tedavi gruplarından, yalnızca Kolit+Dvit grubunda inflamasyonda anlamlı olarak azalma görüldüğü saptandı. Ödemde ve submukozal kalınlaşmada en anlamlı iyileşmeye bu grupta ulaşıldı ($0<0,05$).

Pre tedavi Curcumin (Cur+Kolit) grubundaki skorların tümünün Kontrol grubuna yaklaştığı saptandı. Cur+Kolit grubunda hemoraji skorlamasında 1 rat (1 skor) hariç diğer tüm ratlar 0 skoruna sahipti. Cur+Kolit grubunda en yüksek bozulma seviyesi 1,33 ile mukozal hasar/nekroz ve inflamasyon iken, en düşük bozulma seviyesi 0,17 ortalama ile hemoraji skorlamasıdır, grubun totaldeki hasar ortalama skorlaması ise 0,75'tir. Bu grupta mukozal hasar/nekroz, inflamasyon, ödem, submukozal kalınlaşma ve hemoraji skorlamasında 0 puan alan ratlar; mukozal hasar/nekroz ve inflamasyon 3 puan alan rat mevcuttur. Tedavi gruplarından, yalnızca Cur+Kolit grubunda mukozal hasar/nekrozda anlamlı olarak azalma görüldüğü saptandı. Bu grupta da diğer tüm tedavi gruplarında olduğu gibi hemorajide de anlamlı azalma söz konusudur ($p<0,05$).

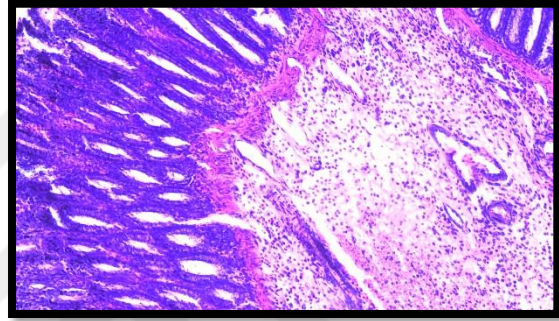
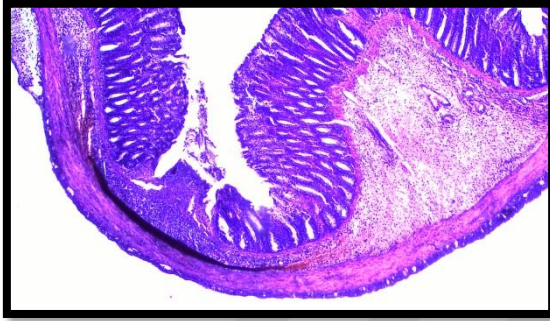
Pre tedavi D vitamini (Dvit+Kolit) grubundaki skorların, mukozal hasar/nekroz (ort 2,33 skor) ve inflamasyon (ort 1,83 skor) haricinde Kontrol grubuna yaklaştığı saptandı, bu grupta mukozal hasar/nekroz skor ortalaması dikkat çekici seviyede Kolit grubuna yakındı. Dvit+Kolit grubunda hemoraji skorlamasında tüm ratlar 0 skoruna sahipti. Dvit+Kolit grubunda en yüksek bozulma seviyesi 2,33 ile mukozal hasar/nekroz iken, en düşük bozulma

seviyesi 0 ortalama ile hemoraji skorlamasıdır, grubun totaldeki hasar ortalama skorlaması ise 1'dir ve Kolit grubundan sonra en yüksek skora sahip gruptur. Bu grupta ödem, submukozal kalınlaşma ve hemoraji skorlamasında 0 puan alan ratlar; mukozal hasar/nekroz skorlamasında 3 puan alan ratlar mevcuttur. Bu grupta submukozal kalınlaşmada ve hemorajide anlamlı düzeyde azalma saptandı ($p<0,05$).

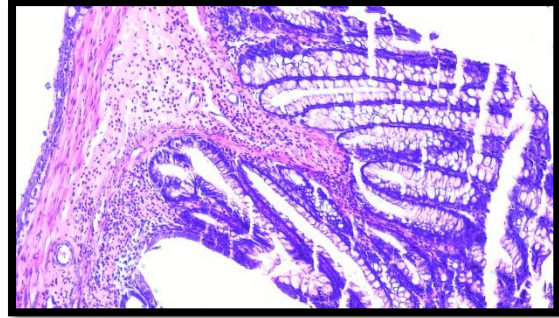
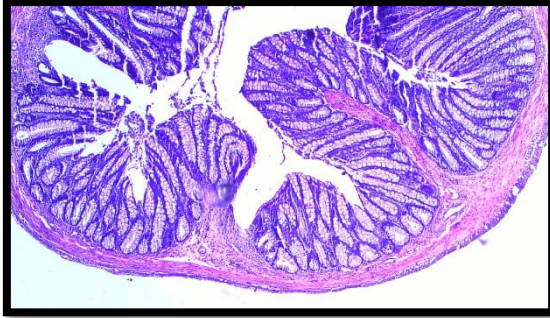
Bu sonuçlar, Asetik Asit sonucu gerçekleşen kolon örneklerindeki bozulmalara karşı, pre-post Cur ve Dvit ile tedavinin etkili olduğunu histolojik olarak gösterdi. Gruplar Kolit grubuna göre kıyaslandığında, tüm tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farkın olduğu tek parametrenin Hemoraji olduğu saptandı. Mukozal hasar/nekroz parametresi hariç tüm parametrelerde en anlamlı değere sahip grup Kolit+Dvit olduğu tespit edildi. Total skor baz alındığında, en düşük değer elde edilmesi sebebiyle ve aynı zamanda en çok parametrede en yüksek anlamlılığa sahip olması nedeniyle post tedavi D vitaminin iyileşmeyi istatistiksel olarak arttırdığı saptandı.



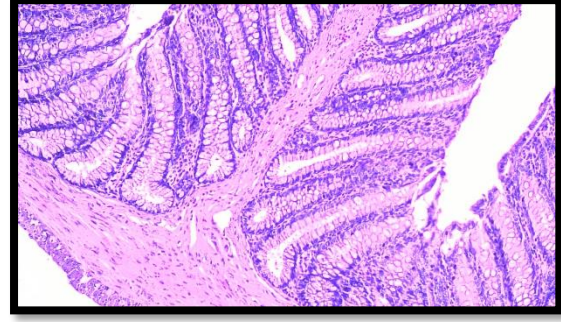
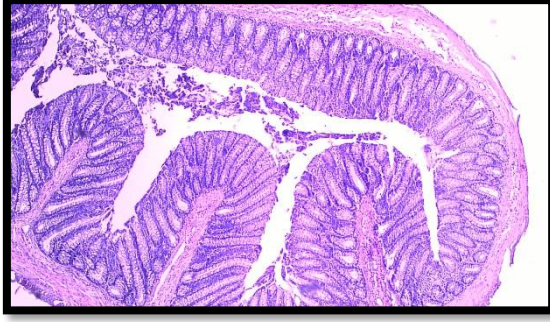
Resim 15. Kontrol grubunun temsili histomikrografi
(Sol: 4x, Sağ: 10x, H&E boyama)



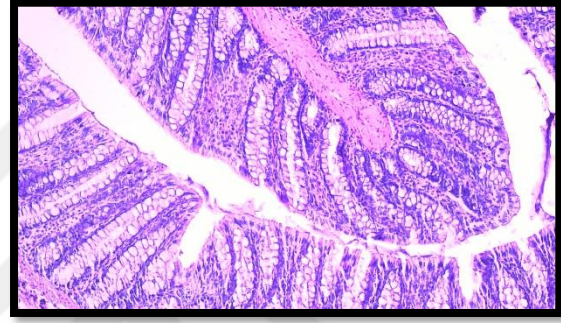
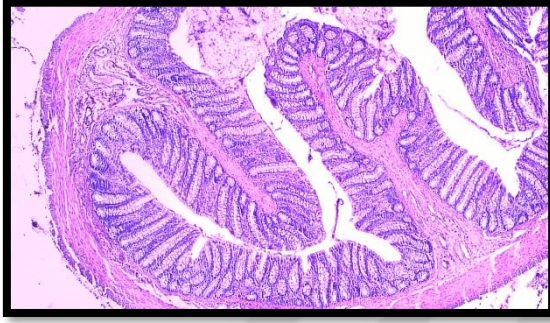
Resim 16. Kolit grubunun temsili histomikrografi
(Sol: 4x, Sağ: 10x, H&E boyama)



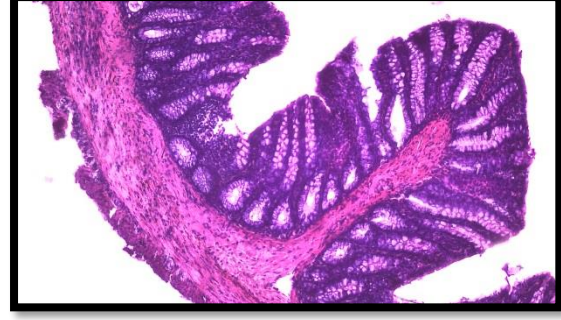
Resim 17. Kolit+Cur grubunun temsili histomikrografi
(Sol: 4x, Sağ: 10x, H&E boyama)



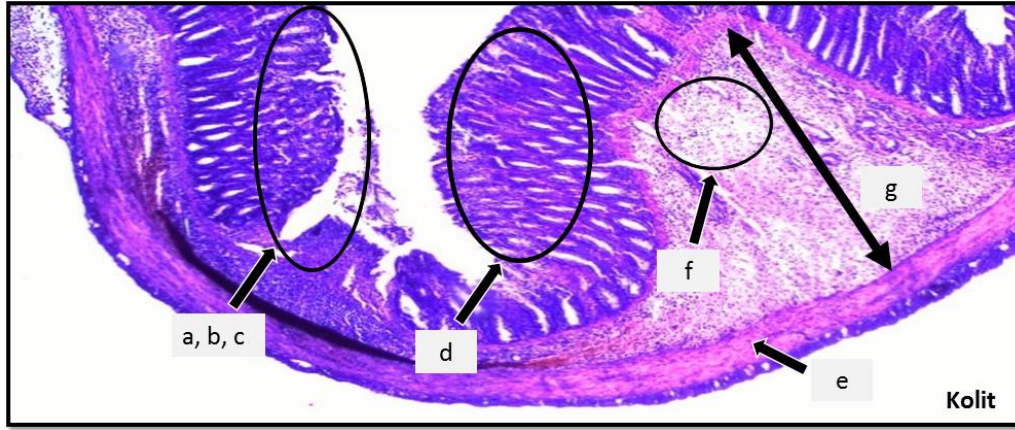
Resim 18. Kolit+Dvit grubunun temsili histomikrografi
(Sol: 4x, Sağ: 10x, H&E boyama)



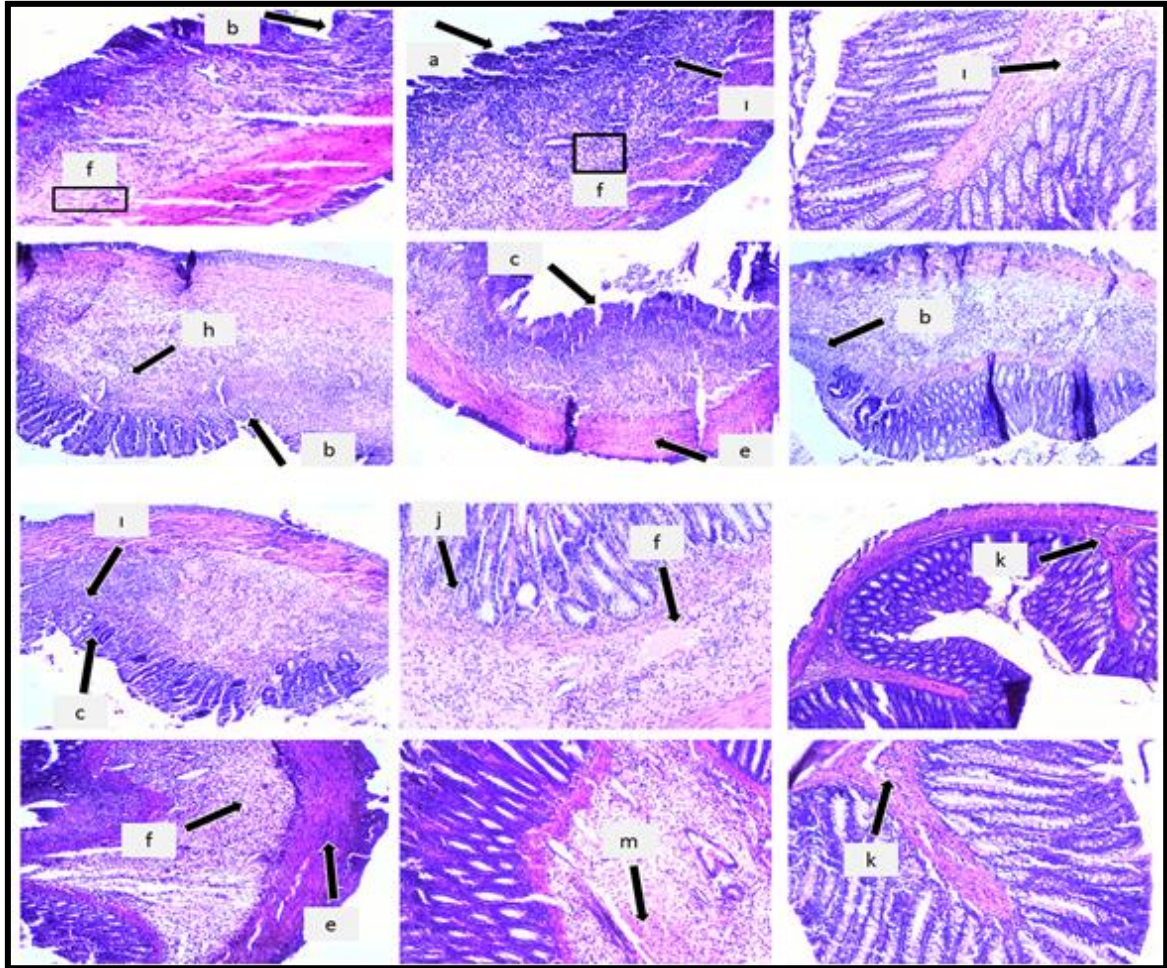
Resim 19. Cur+Kolit grubunun temsili histomikrografi
(Sol: 4x, Sağ: 10x, H&E boyama)



Resim 20. Dvit+Kolit grubunun temsili histomikrografi
(Sol: 4x, Sağ: 10x, H&E boyama)



Resim 21. Kolit grubu temsili histomikrografının histopatolojik bulguları



Resim 22. Kolit grubuna ait kolon dokularının histopatolojik bulguları

(**a**; epitelial deformasyon, **b**; mukozal hasar/nekroz, **c**; kript deformasyonu, **d**; goblet bozulması/azalması, **e**; duvar kalınlaşması, **f**; ödem, **g**; submukozal kalınlaşma, **h**; yaygın infiltrasyon, **i**; infiltrasyon, **j**; kript deformasyonu, **k**; genişlemiş kan damarı, **m**; hemoraji)

5. TARTIŞMA

Dünya çapında yaklaşık beş milyon insanı etkileyen İBH; Kuzey Amerika, Kuzey-Batı Avrupa ülkelerinde sıklığı ve yaygınlığı yüksek iken Latin Amerika, Güney-Doğu-Orta Avrupa, Asya, Afrika ülkelerinde ise sıklığı ve yaygınlığı kuzey-batı ülkelere göre düşük seyretmektedir, fakat son 10 yıl içerisinde güney-doğu ülkelerinde de hastalık sıklığında yükselme gözlenmektedir (Fumery ve diğerleri, 2014; Göktürk ve Karaca, 2012). Ülseratif Kolit ve Crohn Hastalığı gibi kollektif bir inflamatuvar hastalık olan İnflamatuvar Bağırsak Hastalığına sahip hastalarda bağırsak geçirgenliği artışı ve buna bağlı bozukluklar yaygındır (Hossen ve diğerleri, 2019). Bu şekilde geniş bir popülasyona sahip olan bu hastalıkla ilgili çalışmalar yaygın olmasına rağmen tedavilerinde aşama kaydedebilmek oldukça önemli görünmektedir. Bu nedenle; asetik asitle oluşturulmuş deneysel kolit modelinde Zonulin ve Tight Junction proteinlerinden Occludin seviyelerine bakılarak, Curcumin ve D vitaminin, Ülseratif Kolit hastalığında bağırsak geçirgenliğine etkisini incelemek ve ek olarak bu etken maddelerin inflamatuvar ve oksidan süreçteki rolünü araştırmak amacı ile çalışmamızı gerçekleştirdik.

Tight junction bariyerinin bozulması ve artan parasellüler geçirgenlik, ardından lümen pro-enflamatuvar moleküllerin geçirgenliğinde artışa ve mukozada bağışıklık sisteminin aktifleşmesine neden olarak, sürekli iltihaplanma ve doku hasarına neden olabilmektedir (Lee ve diğerleri, 2015). Aynı zamanda, bağırsak sıkı birleşme bariyerinin sitokinler ve patojenler tarafından dinamik olarak düzenlendiği varsayılmaktadır (Liverani ve diğerleri, 2016). Aslında inflamasyonel/oksidan durum ve bağırsak geçirgenliği arasındaki bu sıkı ilişki ve kısır döngü çalışmamızın temelini oluşturmaktadır. Etiyolojisi tam olarak açıklanamayan Ülseratif Kolit hastalığının patofizyolojisinin tespiti adına majör basamağın araştırmalarımız ışığında, Tight Junction yapısındaki bozunmalar, olarak görmemiz de deney tasarımıma yön vermede önemini korumaktadır.

Curcumin, tıbbi bir bitki olan *Curcuma longa*'nın zerdeçal rizomundan elde edilen doğal bir polifenoldür ve yaygın olarak köri tozunda kullanılır (Lobo de Sá ve diğerleri, 2019). *Curcuma longa*'nın temel bileşeni olan Curcumin, anti-inflamatuvar ve anti-kanserojen özelliklere sahip bir fitokimyasaldır. Curcuminin farmakokinetiği ve zayıf sistemik biyoyararlanımı, tercihen bağırsak epitel hücrelerini hedeflediğini düşündürmektedir ve sınırlı çalışmalarda oksidanla indüklenen bağırsak bariyer disfonksiyonunu iyileştirdiği gösterilmiştir (Midura-Kiela ve diğerleri, 2012; Wang ve diğerleri, 2012). Curcuminin

etkisine, p38'in MKP-1'e (MAP Kinase Phosphatase-1) bağı inaktivasyonu ve NF-κB aracılı transkripsiyonun inhibisyonu aracılık eder. Curcuminin anti-inflamasyon, anti-oksidasyon ve serbest radikal giderimi üzerinde sadece *in vitro* değil, aynı zamanda *in vivo* olarak da etkisi olduğu yapılan çalışmalar kanıtlamıştır. Anti-enflamatuar ve anti-oksidan aktiviteleri olan Curcumin, bağırsak mukoza bariyerini ve diğer ilgili bağırsak hastalıklarını korumak için etkili bir reaktif olarak kullanılabilir (Nieto ve diğerleri, 2000). Shen ve diğerleri (2007) gerçekleştirdiği araştırmada ise, Curcuminin antioksidan aktiviteyi tetiklediği ve bu yolla nötrofil infiltrasyonunu ve ROS'un meydana getirilmesini düşürdüğünü bildirmiştir. Çalışmamızda Curcumin etken maddesinin ÜK durumunda; proinflamatuar/immünoregülatör, oksidan ve intestinal permeabilite parametrelerine etkisine dair süreci araştırmada bu veriler önder olmuştur. Aminosalisilatların NF-κB inhibitörleri olduğu bildirilmiştir, Curcumin ise NF-κB sinyal iletim yolları üzerinde daha geniş etkilere sahiptir, ek olarak Curcumin Mitojenle Aktive olan Protein Kinazı (MAPK) inhibe eder, c-FOS ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS) aktivitesini de inhibe eder, bu nedenle potansiyel olarak aminosalisilatlara kıyasla daha geniş bir anti-enflamatuar etki spektrumuna sahip olduğu saptanmıştır (Hanai ve diğerleri, 2006). Aslında bu gibi çalışmalar da, ilaç yerine yan etkisi henüz literatürde belirtilmeyen Curcumini tercih etmemizde etkindir.

D vitamini, İnflamatuar Bağırsak Hastalığının yanı sıra diğer immün aracılı bozukluklarda immüno-düzenleyici bir etkiye sahiptir ve bağırsak geçirgenliği, doğuştan ve adaptif bağışıklık üzerindeki etkisi ve mikrobiyotanın bileşimi ve çeşitliliği, bağırsak homeostazının korunmasına katkıda bulunur (Olmedo-Martín ve diğerleri, 2019). Araştırmada yer alan bu bilgiler D vitaminin çalışmamızda kullanılmasındaki nedeni kısa ve öz şekilde açıklamaktadır. İBH hastalarında, genel popülasyona göre daha fazla D vitamini eksikliği prevalansı vardır ve bu eksiklikle hastalığın daha kötü seyri arasında olası bir ilişki mevcuttur (Olmedo-Martín ve diğerleri, 2019). Aynı zamanda, ÜK hastalarının %31,6'sının D vitamini eksikliğinden muzdarip olduğu belirtilmiştir (Parizadeh ve diğerleri, 2019). Nicholson ve diğerleri (2012), yardımcı bir tedavi olarak D vitamininin kolitin kontrolüne destekleyici olabileceğine dair bazı kanıtlar olmasına rağmen, bu kanıt İBH tedavisinde D vitamini kullanımını haklı çıkarmak için yeterli olmadığını meta-analizleri sonucunda bildirmiştir. Bu gibi meta-analiz sonuçları da bu konuyla ilişkili çalışmaların artışını desteklemektedir ve çalışmamızın önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda rat kolon dokusuna asetik asit verilmesiyle inflamasyonel sürecin startı verildi ve bu start ile saptamak istediğimiz durum; Kontrol grubuna kıyasla proinflamatuar (TNF-α, IL-1β, IL-6), immünoregülatör (INF-γ) ve oksidan (MPO) biomarkerların

seviyelerindeki değişim; bu süreçte terapötik ve profilaktik olarak verilen antioksidan/antiinflamatuvar etkinliğe sahip Curcuminin ve antiinflamatuvar etkinliği bulunan D vitaminin değişimdeki rolü ile bağırsak geçirgenliği arasındaki ilişkidir.

İBH türlerinden ÜK ile proinflamatuvar ve immünoregülatör parametrelerin düzeyleri değişikliğe uğramaktadır, çalışmamızda bu durumun tespitiye yönelik TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve INF- γ seviyelerine bakılmıştır. Funakoshi ve diğerleri (1998)'nin gerçekleştirdiğı çalışmada, proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1 β ve IL-6'nın, Th2 aracılı oluşan ÜK patofizyolojisinde görev aldıkları ve bu mediyatörlerdeki artışın inflamatuvar skor seviyesini yükselttiğı bildirilmektedir. Ayrıca bu sitokinlerin yükselmesi akut faz yanıtının meydana gelmesine ve ateş yükselmesine sebep olmaktadır (Funakoshi ve diğerleri, 1998). Başka bir çalışmada, IL-1 β ve IL-6'nın; İBH prognozunda görev aldığı bildirilmektedir (Cho ve diğerleri, 2011). ÜK'deki sinyal yollarından olan ve hastalıkla birlikte artışı saptanan NF- κ B'nin inhibisyona uğratılması, IL-6, IL-1 β , TNF- α ve INF- γ gibi sitokinleri baskıladığı ve ÜK tedavi sürecinde mühim bir stratejiyi oluşturduğı belirtilmektedir (Dou ve diğerleri 2014; Zhang ve diğerleri 2014). TNF- α , esas olarak aktive edilmiş T hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir. Klinik çalışmalar, TNF- α 'nın İBH hastalarının bağırsak mukozasında, serumunda ve dışkılarında yükseldiğini göstermektedir (Lee, 2015). Mononükleer fagosit hücrelerinden IL-6 ve IL-1 üretimini uyaran TNF- α düzeylerinde ÜK'de görülen yükselmeler birçok araştırma ile desteklenmektedir, bununla birlikte serum ve dokuda TNF- α ve IL-1 düzeylerinde seyreden artış ÜK'de reaktiviteyle orantılı olduğı bildirilirken, ÜK'nin refrakter sürecinde TNF- α monoklonal antikoru medikal tedavi amacıyla kullanılması, TNF- α 'nın hastalıkla ilişkisini destekler niteliktedir (Casellas ve diğerleri, 1994; Sartor, 1994). ÜK'li bireylerin makroskobik olarak etkilenme tespit edilen ve edilmeyen kolon kısımlarından elde edilen mukozal biyopsi numuleriyle yapılan kıyaslamada; etkilenme tespit edilen kısımda TNF- α seviyelerinde anlamlı düzeyde yükseklik olduğı sunulmaktadır, bu araştırmayla TNF- α ve inflamasyonun korele olduğı desteklenmektedir (Paradisi ve diğerleri, 2009). Üniversitemizde yürütölen çalışmalarda, TNBS ile oluşturulan kolit modelinde kolon dokusu TNF- α , IL-1 ve IL-6 seviyelerinin Sham/Kontrol grubuna nazaran anlamlı şekilde arttığı bildirilmektedir (Ek ve diğerleri, 2014; Şirinyıldız, 2020). İnflamatuvar yanıtı düzenleyen INF- γ 'nın, İBH tanıılı bireylerin bağırsak mukozalarında seviyeleri yükselmektedir (Stallmach ve diğerleri, 2004). Murata ve diğerleri (1995), IL-6 ve IL-8'de artışın ÜK'nin patolojisinde etkili olduklarını sunmaktadır. IL-1 β 'nin ise, enflamatuvar koşullar altında bağırsak mukozasında belirgin şekilde yükseldiğı bildirilmektedir (Dinarello, 1994). Klinik çalışmalarda, terapötik kullanım için şu anda bir IL-1 reseptör antagonisti

geliştirilmektedir, bu da IL-1 β 'nin bağırsak iltihaplanma sürecinde merkezi bir rol oynadığını göstermektedir (Barksby ve diğerleri, 2007). Diğer araştırmalarla paralel olarak, kan plazması ve dokusunda deneysel kolit modellerinde incelenen IL-1 düzeylerinde yükselme olduğu bildirilmektedir (Hyams ve diğerleri, 1994). Araştırmaların birçoğunda karşılaştığımız İBH'deki TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve INF- γ seviyelerindeki yükselmeler çalışmamızla da örtüşmektedir. Çalışmamızda, Kontrol grubunda kolonik TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ seviyeleri Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında Kontrol grubunda Kolit grubuna göre, serum ve distal ileum TNF- α seviyelerinde; jejunum IL-1 β seviyelerinde; serum, distal ileum ve jejunum IL-6 seviyelerinde; serum ve jejunum INF- γ seviyelerinde anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi ($p<0,05$). Verilerimize uyum göstermeyen başka bir çalışmada ise, Kontrol grubuyla İBH grubu karşılaştırıldığında, TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde anlamlı farklılığın olmadığı; ama verilerimizle uyumlu olarak IL-6 seviyesindeyse anlamlı farklılığın olduğu belirtilmektedir (Göral ve diğerleri, 2007). Bu bulgunun çalışmamızdan farklı sonuçlar içermesi; Göral ve diğerlerinin gerçekleştirdiği çalışma insanlar üzerindedir ve ÜK tanılı bu hastalar aynı zamanda medikal tedavi de almaktadır, bu durum bizim hayvan çalışmamızla sonuçların uyuşmasını olumsuz etkilemiş olabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımızla farklılık gösteren diğer bir araştırmada ise, INF- γ ve IL-2'de düşüşün ÜK'nin patolojisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Murata ve diğerleri, 1995). INF- γ ve IL-2'deki düşüşün patolojiye yol açması, bu sitokinlerin aynı zamanda immünoregülatör özellikte olması nedeniyle olabileceğini düşündürmektedir.

MPO enzimi düzeyleri, nötrofilin sekestrasyonunu destekler özelliktedir (Cantimur, 2014). İnflamatuvar süreçte ekstrasellüler alana salınan MPO, nötrofil aktivitesinin duyarlı ve kantitatif biomarkeri olduğu bilinmektedir (Krawisz ve diğerleri, 1984). ÜK'li bireylerde oksidatif strese görev alan parametrelerde yükselme, antioksidan değerlerde (CAT, SOD, GSH) ise azalma olduğu saptanmıştır (Koch ve diğerleri, 2000). Üniversitemizde yürütülen benzer çalışmalarda, TNBS ile oluşturulan kolit modelinde, kolon dokusu MPO seviyesinin Sham ve Kontrol gruplarına nazaran anlamlı şekilde yükselme saptandığı bildirildi (Çelikten, 2018; Ek ve diğerleri, 2014; Şirinyıldız, 2020). Çalışmamız da bu verilerle paralellik sergilemektedir, Kontrol grubunda kolonik MPO seviyeleri Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Distal ileum ve jejunum MPO seviyelerinde de Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Çalışmamızda, Curcuminin ÜK üzerindeki etkinliğini saptamak amacıyla proinflamatuvar/immünoregülatör (TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ) ve oksidan parametrelere

(MPO) dair veriler analiz edildi. Richman ve Rhodes (2013)'in İBH hastaları için diyetle dayalı kanıtları sundukları araştırma, Curcuminin ve diğer antioksidan nitelikli polifenollerin ratlarda gerçekleştirilen deneysel kolit modelinde yararlı etkinliğine dair bilgiler içermektedir. Hatta başka bir çalışma bu durumu desteklemektedir, Curcuminin bir fare kolit modelinde, Trinitrobenzen Sülfonik Asit (TNBS) tarafından indüklenen kolonik inflamasyonu baskılayabildiği gösterilmiştir (Sugimoto ve diğerleri, 2002). Zheng ve diğerleri (2019), Ülseratif Kolitte adjuvan Curcumin tedavisinin klinik remisyonu indüklemeye etkili olduğunu ve aminosalisilik asitlerden mesalaminin adjuvan tedavisi olan Curcuminin, Ülseratif Kolitte etkili ve güvenli olduğunu gerçekleştirdikleri meta-analizde bildirmiştir. Hanai ve diğerleri (2006)'nin Japonya'da randomize, çok merkezli, çift kör, plasebo kontrollü, Curcuminin Kolit relapsının önlenmesindeki etkisine dair gerçekleştirdiği çalışmada, remisyondaki ÜK'li 89 hasta alındı. 45 hastaya kahvaltıda ve akşam yemeğinden sonra 1 gr Curcumin verildi. Tedavi etme niyeti temelinde değerlendirilen nüks oranları, Curcumin ve plasebo arasında önemli bir fark gösterdiği ve ayrıca Curcumin hem CAI (Klinik Aktivite İndeksi)'yi hem de EI (Endoskopik İndeks)'yi iyileştirdiği, böylece ÜK ile ilişkili morbiditeyi baskıladığı, remisyonu sürdürmede umut veren ve güvenli bir ilaç gibi görüldüğü çalışmada belirtildi. Curcuminin, birkaç randomize klinik çalışmada antiflojistik bileşik mesalazin ile birlikte tamamlayıcı bir terapötik madde olarak kullanıldığında Ülseratif Kolit hastalarında remisyonu sürdürmede faydalı olduğu gösterilmiştir (Hanai ve diğerleri, 2006; Lang ve diğerleri, 2015). Singla ve diğerleri (2014)'nin gerçekleştirdiği pilot çalışmada, NCB-02 (standardize curcumin preparatı) lavman kullanımının, hafif-orta derecede distal ÜK'li hastalarda plaseboya kıyasla hastalık aktivitesinde daha fazla iyileşme sağlama eğiliminde olabileceğine dair bazı kanıtlar bulunmuştur. Ayrıca 8 haftada, Ülseratif Kolit Hastalıkları Aktivite İndeksinde 3 puan azalma ve endoskopik aktivitede iyileşme ve hastalık remisyonunu sürdürmedeki etkinliğine dair olumlu sonuca vardıklarını bildirmiştir. Kumar ve diğerleri (2012) ÜK'de remisyonun sürdürülmesi için Curcuminin randomize, plasebo kontrollü çalışmaları dahil ettikleri meta-analizde, Curcumin, mesalamin veya sülfasalazin ile birlikte yardımcı tedavi olarak verildiğinde pasif ÜK'de remisyonun sürdürülmesi için güvenli ve etkili bir tedavi olabileceğini saptamıştır. Mesalamin tedavisine Curcumin ilavesi, hafif-orta derecede aktif ÜK olan hastalarda klinik ve endoskopik remisyonu indüklemeye plasebo ve mesalamin kombinasyonundan üstün olduğu ve hiçbir belirgin yan etki yaratmadığı çalışmada bildirildi ve sonucunda Curcuminin ÜK tedavisi için güvenli ve umut verici bir ajan olabileceği sunulmuştur (Lang ve diğerleri, 2015). Curcuminin, ÜK hastalığındaki önemini sunduğumuz birçok araştırma desteklemektedir ve yapılan çalışmaların birçoğu çalışmamız bulgularını ve

tezimizi destekler özelliktedir; bunun yanı sıra Curcuminin inflamatuvar biomarkerlar üzerine etkisine gelecek olursak, bir dizi karmaşık mekanizma yoluyla, inflamatuvar sitokin ekspresyonu üzerindeki olumsuz etkileri hafiflettiği çalışmada gösterilmiştir (Hasan ve diğerleri, 2014). Curcumin nanopartiküllerinin, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 dahil olmak üzere proinflamatuvar mediatörleri kodlayan mRNA'ların ekspresyonunu baskıladığı yapılan bir çalışmada sunulmuştur (Masahi ve diğerleri, 2017). Başka çalışmada ise, TNF- α ve IL-1 β serum seviyelerinin Curcumin tedavisi ile düşürüldüğü belirtilmektedir ve aynı zamanda Curcumin takviyesinin, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini indükleyebildiği ve NF- κ B DNA bağlanma aktivitesini azalttığı bildirilmektedir (Feng ve diğerleri, 2019). Song ve diğerleri (2010), Curcumin'in sıçan modellerinde D-laktat, DAO (Diamin Oksidaz), MPO, ICAM-1, IL-1 β ve TNF- α düzeylerini düşürdüğünü; IL-10 ve SOD düzeylerini artırdığını araştırmaları sonucunda buldular ve Curcuminin I- κ B'yi bastırdığını ve NF- κ B'nin çekirdeğe translokasyonunu engellediğini gösterdiler. Çalışmamız, Curcuminin inflamasyona karşı olumlu etkilerinin sunulduğu araştırmalar ile paralellik sergilemektedir. Çalışmamızda, post tedavi ve pre tedavi Curcumin gruplarında anlamlı şekilde kolonik IL-1 β , IL-6, INF- γ ve MPO seviyelerinin azaldığı görüldü; IL-6 seviyesi hariç en fazla azalma pre tedavi Curcumine kıyasla post tedavi Curcumin grubundaydı; aynı zamanda bu azalmaların post ve pre tedavi D vitamini gruplarından fazla olduğu da saptandı. Serum, distal ileum ve jejunum dokularındaki durumlar da çalışmamızda kıyaslandı. Kolit grubuna göre jejunal TNF- α seviyelerinde Kolit+Cur grubunda; serum IL-6, INF- γ ve distal ileum TNF- α seviyelerinde Cur+Kolit grubunda; distal ileum ve jejunum IL-6 seviyelerinde ve distal ileum MPO seviyelerinde Kolit+Cur ve Cur+Kolit gruplarında anlamlı şekilde düşüş olduğu incelendi ($p<0,05$). INF- γ 'nın makrofajları aktive ettiği ve çeşitli hücre sinyalleşme yolu ile TNF- α üretimine aracılık ettiği bilinmektedir. Bu sitokinlerin üretimi, IL-12'nin salgılanmasından etkilenir. IL-12'nin artan ekspresyonunun, TNF- α ve INF- γ sekresyonunu uyardığı bilinmektedir (Rossato ve diğerleri, 2012). Ayrıca; IL-6, TNF- α , INF- γ ve IL-12 gibi sitokinlerin plazma seviyeleri, orta dozda Curcumin (1000 mg/kg) ile azaldığı, fakat ilginçtir ki diyetle daha yüksek Curcumin dozu (1500 mg/kg) ile bu sitokinlerin seviyesinin düşmek yerine arttığı saptanmıştır ve Curcuminin iki fazlı bir doz etkisine neden olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada kullanılan düşük ve orta dozların, inflamatuvar sitokinleri hafifletmede, daha yüksek bir dozdan etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Hasan ve diğerleri, 2014). Çalışmamızda ise, araştırmalarla zıtlık oluşturan şu bulgulara rastlandı; jejunum INF- γ seviyelerinin, Kolit+Cur ve Cur+Kolit gruplarında Kolit grubuna göre anlamlı şekilde yükseliş olduğu görüldü ($p<0,05$).

Çalışmamızda, D vitaminin ÜK üzerindeki etkinliğini saptamak amacıyla proinflamatuvar/immünoregülatör (TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ) ve oksidan (MPO) parametrelere dair veriler analiz edilmiştir. Leslie ve diğerleri (2008)'nin gerçekleştirdikleri Kohort çalışmasında, İBH hastalarında D vitamini eksikliği gözlemlendiği ve kanda 25(OH)D₃ seviyesinin düşüklüğünün İBH riskini arttırdığı belirtilmektedir. Raftery ve diğerleri (2012) de bağışıklık sistemi regüle edici D vitaminindeki eksikliğin İBH patogenezinde etkinliği olduğunu ileri sürmüştür. Supplement olarak sunulan D vitaminlerini dışlayarak sadece güneş ışığı baz alınıp gerçekleştirilen Avrupa'daki çalışmalarda, güneş ışığıyla olan temasın azalması durumunun İBH patogenezinde rol aldığı ve güneş ışığıyla kurulan bu hipotezin inflamasyonu regüle eden D vitamini senteziyle bağlantılı olduğunu saptadıkları belirtilmiştir (Ananthakrishnan ve diğerleri, 2011). D vitamini eksikliğin, bir spontan kolit modeli olan IL-10 -/- farelerde enterokoliti şiddetlendirdiği ve mortaliteyi artırdığı ve diyetle D vitamini takviyesinin bu modelde koliti iyileştirdiği ve mortaliteyi azalttığı bildirilmektedir (Cantorna ve diğerleri, 2000). Bir meta-analizde, İBH'li hastalar için optimal bir D vitamini takviyesi protokolü henüz belirlenmediği, ancak 30 ile 50 ng/mL arasındaki serum 25-hidroksi vitamin D₃ seviyelerini hedeflemenin güvenli görüldüğü ve İBH hastalık aktivitesi için faydalar sağlayabileceği bildirilmiştir (Hlavaty ve diğerleri, 2015). Gubatan ve diğerleri (2017) ise klinik remisyon dönemlerinde 35 ng/mL veya daha düşük serum D vitamini seviyelerinin, ÜK'de nüksetme riskini artırdığı sonucuna ulaşmıştır. Bu gibi daha birçok literatür verileri D vitaminin ÜK'deki önemini sergilemektedir. D vitaminin ÜK'deki inflamatuvar parametreler üzerine etkisini ele alan çalışmaları incelediğimizde; D vitamini tedavisinin [25(OH)D veya 1,25(OH)D], proinflamatuvar sitokinleri inhibe ettiği ve hücre kültüründe antiinflamatuvar sitokin üretimini desteklediği bildirilmiştir (Barker ve diğerleri, 2015). Önemli sayıda kanıt, İBH'nin hayvan modellerinde, D vitamininin anti-enflamatuvar etkilerini desteklemektedir (O'Sullivan, 2015). Ülseratif Kolitli hastaların prospektif Kohort çalışmasında ise, daha yüksek serum D vitamini düzeylerinin serum antiinflamatuvar sitokin oranları ve klinik sonuçlar arasında pozitif korelasyon olduğu sunulmuştur (Gubatan ve diğerleri, 2018). Gubatan ve diğerleri (2018)'nin gerçekleştirdiği bu Kohort çalışmasında, D vitaminin anti-enflamatuvar serum sitokin profilleri ile ilişkili olduğunu anti-enflamatuvar sitokin paternlerinin, Ülseratif Kolitli hastalarda yüksek serum D vitamini seviyelerinin koruyucu etkilerine aracılık edebileceği belirtilmiştir. Serum IL-4+IL-10/IL-6+TNF- α 'ya daha yüksek bir oranı, klinik relaps riskinde azalmayla; IL-4+IL-10/IL-17A+TNF- α 'ya daha yüksek bir oranı ise histolojik mukozal iyileşmeyle ilişkilendirildi ve serum anti-enflamatuvar ile proinflamatuvar sitokin oranlarının Ülseratif Kolit klinik relapsının yeni bir

prediktörü olabileceği bildirildi (Gubatan ve diğerleri, 2018). İn vitro ve klinik çalışmalar, D vitamini desteğinin anti-inflamatuar sitokinleri arttırdığına dair kanıt sağlamaktadır ve düşük serum D vitamini seviyesinin, inflammatuar sitokinlerin kronik yükselmesinin bir nedeni olmaktan çok bir sonucu olduğu bildirilmektedir (Barker ve diğerleri, 2015). Kolit modellerinde D vitamini eksikliğinde, DSS'yle oluşturulan kolitin duyarlılığında artış olduğu çalışmada sunulmaktadır ayrıca takviye olarak D vitamini alımının kolondaki iltihabi durumun şiddetini düşürdüğü belirtilmektedir (Cantorna ve diğerleri, 2000). Sharifi ve diğerleri (2019)'nin yaptıkları çift kör, randomize kontrollü çalışmada; plaseboya kıyasla, D vitaminin, serum TNF- α , IFN- γ ve IL12p70 seviyeleri üzerinde önemli azaltıcı etkilere sahip olduğu, ancak IL-4 ve IL-10'un serum seviyeleri üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı saptanmıştır; aynı zamanda D vitaminin, Th1 bağışıklık tepkilerini inhibe ettiğini ve Th2 tepkileri üzerinde ise hiçbir etkisi yok gibi görüldüğü bildirilmiştir. Satio ve diğerleri (2016), aktif dönemdeki ÜK hastalarının kolon biyopsilerinin 1,25(OH) $_2$ D $_3$ ile inkübe edildiği zaman, IL-13 ve IL-6 düzeylerinde bir azalma kaydedildiğini bildirdiler. Genç yetişkinlerde, proinflammatuar sitokinlerden TNF- α , IFN- γ , IL-1 β 'nin artışıyla, düşük D vitamini serum seviyelerinin [serum 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) $\leq$ 32 ng/mL] örtüştüğü bildirilmektedir (Barker ve diğerleri, 2013). D vitamininin proinflammatuar sitokinleri (TNF- α ve IL-6) azalttığı ve antiinflammatuar (IL-10) sitokinleri arttırdığı gösterilmiştir (Carrillo ve diğerleri, 2011; Shab-Bidar ve diğerleri, 2012). Zhao ve diğerleri (2012), 1,25(OH) $_2$ D $_3$ eklenmesi, DSS'nin yol açtığı TNF- α ve INF- γ 'nın yüksek ekspresyonunu iyileştirdiğini ve böylelikle kolon iltihabını inhibe ettiğini çalışmalarında göstermiştir. Bu bulgularla tutarlı olarak, yaz boyunca serum 25(OH)D ve 1,25(OH)D konsantrasyonlarındaki mevsimsel artış, sitokin üretiminde bir down-regülasyon ile ilişkilidir (Khoo ve diğerleri, 2011). Asetik asitle deneysel kolit oluşturulan ve D vitaminin TNF- α , IL-1 β ve MPO seviyelerine etkisi incelenen bir tez çalışmasında, ön tedavi ve tedavi gruplarında TNF- α , IL-1 β ve MPO düzeylerinin kolit grubuna göre anlamlı şekilde düştüğü belirtilmiştir (Cantimur, 2014). Çalışmamızda da incelediğimiz araştırma sonuçlarıyla örtüşen veriler elde edilmiştir. Kolit grubuyla post ve pre tedavi D vitamin grupları karşılaştırıldığında, post tedavi D vitamini grubunun anlamlı şekilde kolonik TNF- α ve INF- γ seviyelerinin azaldığı görüldü. Pre ve post tedavi D vitamini grubunun anlamlı şekilde kolonik MPO seviyelerinin de azaldığı tespit edildi. INF- γ ve MPO'daki azalma post tedavi D vitamini grubunda daha fazlaydı; ancak bu azalmanın pre ve post Curcumin grubunda daha fazla olduğu gözlemlendi. TNF- α 'daki azalma ise tedavi gruplarında en fazla post tedavi D vitamini grubundaydı ve D vitamini tedavi gruplarındaki azalma Curcumin tedavi gruplarından yüksekti. IL-1 β , IL-6, INF- γ ve MPO seviyelerindeki

azalma, tedavi grupları kıyaslandığında Curcumin gruplarında, D vitamini gruplarına göre yüksek iken; bu durumdan farklı olarak TNF- α düzeylerindeki düşme D vitamini gruplarında Curcumin gruplarına göre daha fazlaydı. Bu durumun IL-1 β , IL-6 ve INF- γ kitlerinin markasının aynı; TNF- α kit markasının ise diğer kitlerden farklı olmasıyla ilişkisi olabileceğini düşünmekteyiz. Aynı zamanda D vitaminin bir hormon olması; Curcuminin ise bir metabolit olması da durumu açıklamaktadır. D vitamini enterositler tarafından daha kullanılabilir bir ürün özelliğindedir, hızlı cevap niteliği taşıyan, hızlı sindirilen-emilen bir maddedir; Curcumin ise emilimi düşük bir maddedir, çoğunluğu idrar ya da dışkı yoluyla atılmaktadır, vücutta birikmez ve başka bileşiklere dönüşen kimyasal bir üründür. Gerçekleştirdiğimiz model akut bir kolit modelidir; bu nedenle vücutta depo edilen ve inflamasyona hızlı cevap veren D vitamini etkinliğini daha iyi göstermiş olması muhtemeldir. Curcuminin etkinliğini net görmek amacıyla daha uzun süreli kullanılması önerilmektedir. Curcuminin daha çok proinflamatuvar biomarkerda D vitaminine nazaran daha yüksek etkinlik göstermesi de, önemli bir antiinflamatuvar ajan olduğunu göstermektedir. Serum, distal ileum ve jejunum dokularındaki durumlar da çalışmamızda kıyaslandı. Kolona yakın olan ince bağırsak bölümlerinden distal ileum TNF- α seviyelerinde ve jejunum IL-1 β seviyelerinde Dvit+Kolit grubunda; serum, distal ileum ve jejunum IL-6 seviyelerinde Kolit+Dvit ve Dvit+Kolit gruplarında; distal ileum MPO seviyelerinde, Kolit+Dvit grubunda Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşüş olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Yer verilen araştırmalardan farklı olarak ise çalışmamızda, jejunum INF- γ seviyelerinde, Dvit+Kolit grubunda Kolit grubuna göre anlamlı şekilde yükseliş olduğu görüldü ($p<0,05$). Ayrıca belirtilmesi gereken bir durum ise, ön tedavi ve post tedavi gruplarına verilen 0,4 mcg (16 IU) D vitamini miktarını enjekte edilecek düzeye getirebilmek adına ayçiçek yağı ile seyrelttik, fakat çalışmalarda; İBH'de mısır özü yağı ve ayçiçek yağı gibi n-6 yağ asitlerince zengin kaynakların proinflamatuvar sitokin miktarını yükselttiği; zeytin yağı gibi n-9 yağ asitlerince zengin kaynaklarınsa bağırsaklık sistemi üzerine olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir (Besler, 2008).

Epitel bariyer işlevi büyük ölçüde hücreler arası TJ tarafından belirlenir. TJ, bileşiklerin bağırsak mukozası boyunca parasellüler hareketini kısıtlamaktan sorumludur; TJ'de artmış geçirgenlik, bağırsakta hem enfeksiyon hem de inflamasyon oluşumu için önemli bir alan sağlayabilmektedir (Zhao ve diğerleri, 2012). Epitelyal TJ bütünlüğünün kaybı ile ilişkili kolonik inflamasyondan da anlaşılabileceği üzere, bu fonksiyon mukozal homeostazın sürdürülmesi için kritiktir (Catalioto ve diğerleri, 2011). Araştırmalarda belirtilen TJ'lerdeki bu önemli rol, asetik asitle deneysel kolit gerçekleştirdiğimiz ratlar üzerinde de gözlenmesi gereken kritik bir veri olduğu gerçeğini bize sunmuştur ve çalışmamızın yöntemini

belirlemede basamak olmuştur. Kolit patofizyolojisindeki yeri yadsınamayacak kadar önemli olan TJ'ların aktivasyonu ve TJ proteinlerinin ekspresyonu, bağırsak geçirgenliği tespitindeki incelemelerimizin temel mantığını oluşturmaktadır. TJ'ların aktivasyonunu etkileyen Zonulin ve TJ proteinlerinden antijen gibi makromoleküllerin geçişinde önemli bariyer oluşturan Occludin seviyelerinin incelenmesi araştırmamızın mantığını destekler nitelik taşımaktadır. TJ'nin bütünlüğünü korumanın önemi, TJ'nin bozulmasının ve bunun sonucu olarak parasellüler geçirgenliğin artmasının gastrointestinal bozuklukların patogeneğinde çok önemli olduğu son raporlarda vurgulanmıştır (Wang ve diğerleri, 2012). Aslında bu son raporlarda da belirtildiği gibi, aradaki ilişkinin tespiti ÜK etiyojisi için de kıymetli sonuçlara varmada önemlidir. Biz de çalışmamızda, hastalıkların kalıcı tedavilerinde etiyopatogenezin anlaşılmasının elzem olduğu bilincinde ilerleyerek rotamızı belirledik, bütçemizin el verdiği birçok durumu gözlemlerimize dahil ettik, özellikle çalışmalarda da belirtilen bağırsak geçirgenliğinin kolitteki yerini inceledik. Artmış bağırsak geçirgenliğinin, IL-10 -/- farelerde kolit gelişiminde önemli bir etiyojik olay olabileceği düşünülmektedir. Bu yönde yapılan bir çalışmada, IL-10 geni eksikliği olan farelerde ince bağırsak geçirgenliğinin azaltılmasının koliti zayıflattığı sonuçlarla desteklenmektedir (Arrieta ve diğerleri, 2008). Bu çalışmada da belirtildiği gibi bağırsak geçirgenliği ve kolit arasında ilişki mevcut, bunun yanı sıra sitokinlerin de bağırsak geçirgenliğinde etkisi olduğunu araştırmalar göstermektedir. Sitokinlerin IP üzerindeki etkisine dair birçok çalışmaya yer verdik, ama önceliğimiz biyokimyasal analizlerimizde bulunan TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve INF- γ 'nın etkisine yönelik araştırmaları sunmaktır. TJ bariyerindeki sitokin aracılı disfonksiyon sonucunda, immünolojik aktivasyon ve doku inflamasyonu görülmektedir ve bu durum çeşitli bağırsak ve sistemik hastalıkların başlamasına veya gelişmesine öncü olduğu çalışmalarda bildirilmektedir (Farhadi ve diğerleri, 2003). ÜK'e sahip kişilerde, bağırsak geçirgenliğinde anormallikler olduğu belirtilmektedir (Gison ve diğerleri, 1988). Bağırsak mukozal bariyerinin hasarlanması sonucunda; TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve INF- γ gibi sitokinlerin üretiminde artış olduğu çalışmada gösterilmektedir (Xavier ve Podolsky, 2007). Enfeksiyon sırasında ve İBH'de indüklenen TNF- α ve IFN- γ gibi enflamatuar sitokinlerin genel olarak bağırsak geçirgenliğini arttırdığı gösterilmiştir (Corridoni ve diğerleri, 2012). TNF- α gastrointestinal bariyer fonksiyonunun ve geçirgenliğin düzenlenmesinde önemli rolünü öne süren birçok çalışma mevcuttur (Clayburgh ve diğerleri, 2006; Suenart ve diğerleri, 2002). Bağırsak Caco-2 hücrelerinde, TJ regülasyonunda önemli bir role sahip olan MLCK (Miyozin Hafif Zincir Kinaz) ekspresyonu, TNF- α ile indüklenen bariyer defekti ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. TEER ölçümünde TNF- α ile indüklenen azalma, MLCK ekspresyonu ve

MLC (Miyozin Hafif Zinciri) fosforilasyonu pozitif korelasyon göstermektedir (Ma ve diğ erleri, 2005). Ek olarak, bağırsak HT-29/B6 hücrelerinde, TNF- 'nın TEER'i, intestinal epitel hücrelerinde gözenek oluşturucu Claudin-2 ekspresyonu yoluyla azalttığı görülmüştür (Mankertz ve diğ erleri, 2009). Hem  K hem de CH hastalarının bağırsaklarında MLCK ekspresyonu ve MLC fosforilasyonu gözlenir, bu da İBH hastalarının artan bağırsak geçirgenliğinde sitoskeletal düzensizliğin rol oynadığını gösterir (Blair ve diğ erleri, 2006). TNF- , bağırsak TJ geçirgenliğini arttırmaktadır, Caco-2 TJ geçirgenliğinde TNF-  ile indüklenen artışın NF-kappa B aktivasyonunun aracılık ettiği belirtilmektedir ve geçirgenlikteki artış, ZO-1 protein ekspresyonunun NF-kappa B'ye bağlı aşağı reg lasyonu ve bağlantı lokalizasyonundaki değişiklik ile ilişkilendirilmiştir (Ma ve diğ erleri, 2004). Son  alışmalar IL-1 'nin de bağırsakta artan TJ geçirgenliğine neden olduğunu göstermektedir. Bağırsak Caco-2 hücrelerinde IL-1 , TEER'i azaltır ve inülin akışını arttırır; bu kısmen, Occludinin azalmış ekspresyonu-yeniden dağıtımı ve MLCK ile MLC fosforilasyonunun artan ekspresyonuna aracılık ettiğini bildirmektedir (Al-Sadi ve diğ erleri, 2008). İBH'de görülen başlıca IL-6 kaynağının bağırsak epitel hücreleri ve lamina propria mononükleer hücreleri olduğu gösterilmiştir (Kusugami ve diğ erleri, 1995). Son  alışmalar, IL-6'nın da bağırsak TJ regülasyonunda rol oynadığını göstermektedir (Suzuki ve diğ erleri, 2011). IL-6'nın, Mitojenle Aktive olan Protein Kinaz (MAPK)/Hücre Dışı Sinyalle Düzenlenen Kinaz (ERK) yoluyla intestinal epitel hücrelerinde gözenek oluşturucu Claudin-2'de bir artışla birlikte katyonlara seçici olarak parasellüler geçirgenliği arttırdığı, ancak makromoleküllere geçirgen olmadığı bildirilmiştir (Lee, 2015). INF- 'nın da IP'deki değişiklikte görev aldığı saptanmıştır (Funakoshi ve diğ erleri, 1998). Son  alışmalar da bu durumu destekler niteliktedir, INF- 'nın TJ proteinlerinin yeniden dağılımı, ekspresyonu ve aktin hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi yoluyla intestinal epitel hücrelerinde parasellüler geçirgenliği arttırdığı gösterilmiştir (Bruewer ve diğ erleri, 2005). Başka bir çalışmada, INF- 'nın, TEER  l  m n n pasif iyon akışına ve mannitol gibi çözünen maddelerin parasellüler akışının artması ile belirlendiği üzere, parasellüler geçirgenlikte bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (Nusrat ve diğ erleri, 2000). INF- 'nın TJ  zerindeki yukarıda açıklanan etkileri, karmaşık olmasına rağmen, patofizyolojik bir ilişkiye sahip olabilir çünkü İBH olan hastaların kolonik mukozasında INF-  ekspresyonu artmış ve parasellüler geçirgenlik de artmıştır (Schmitz ve diğ erleri, 1999). Çalışmamızda biyokimyasal analizlerde yer verdiğimiz proinflamatuvar sitokinlerden TNF- , IL-1 , IL-6 ve immünoregülatör sitokinlerden INF- 'nın inflamatuvar süreç haricinde, bağırsak geçirgenliği üzerinde de önemli etkileri olduğu yapılan araştırmalarda belirtilmiştir. Aslında bu

proinflamatuar/immünoregülatör biomarkerların artmasında, bağırsak geçirgenliği artışının önemli etkisi vardır ve bu artışın yukarı regülasyonu da bağırsak geçirgenliği mekanizmasını olumsuz etkilemektedir. Çalışmalarda da belirtildiği üzere arada kısır bir döngü mevcuttur. İnflamatuvar sürecin tedavisi IP'de durumun olumlu seyretmesine sebep olabileceği gibi, IP'nın artışıdaki durumun düzeltilmesi de inflamasyonu pozitif yönde etkileyecektir.

Bağırsak geçirgenliği bozukluğu olan hastalarda bağırsak dokusunda Occludin seviyeleri azalmıştır, Occludin tükenmesinin bağırsak TJ bariyer fonksiyonu üzerindeki etkisinin anlaşılması hem klinik hem de bilimsel bir ilişkiye sahiptir (Ciccocioppo ve diğerleri, 2006; Coeffier ve diğerleri, 2010; Gassler ve diğerleri, 2001; Zeissig ve diğerleri, 2007). Bağırsak geçirgenliği ve Occludin arasındaki bu bağ, çalışmamızda IP tespiti için Occludin seviyelerine bakılmasının önemini sunmuştur. Occludin, çok sayıda membranla ilişkili protein içeren sıkı bağlantı kompleksi ile koordine olabilen büyük bir sitoplazmik uzantıya sahiptir (Schneeberger ve diğerleri, 2004). Occludin, ilk entegre sıkı bağlantı proteindir ve en apikal membranlarda en yaygın şekilde eksprese edilir (Furuse ve diğerleri, 1993). Occludin ve JAM'in düzenleyici bir rolü varken, Claudinler esas olarak bağırsak bariyer fonksiyonundan sorumlu olan transmembran proteinlerdir, aynı zamanda bu epitel bariyerinin merkezi düzenleyicisi bağırsak mikrobiyotası olduğu sunulmuştur (Ulluwishewa ve diğerleri, 2011). Noth ve diğerleri (2011) yapılan çalışmaları incelediklerinde, kolitle koordine olarak gerçekleşen bariyer fonksiyonundaki hasarlanma ile ilgili son verilerin; Occludin ekspresyon düzeyindeki ve lokalizasyonundaki değişimlerin artışı gözlenen parasellüler geçirgenlik için mühim olduğu sonucuna varılmıştır. Aynı zamanda Occludin geninin promotörü, Occludinin transkripsiyonunu negatif olarak düzenleyen bir TNF- α yanıt elementi barındırdığı bildirilmektedir (Mankertz ve diğerleri, 2000). Al-Sadi ve diğerleri (2011)'nin gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda, bağırsak epitel hücrelerindeki Occludin tükenmesinin, in vitro ve in vivo olarak, daha büyük boyutlu moleküllerin parasellüler akışında moleküler boyuta bağlı bir artışa yol açtığı gösterilmektedir. Önceki yayınlarla birleştirilen bu veriler, Claudinlerin TJ gözeneklerinden (yarıçapta 4 Å) iyonik ve küçük molekül akışının düzenlenmesinde işlevsel bir role sahip olduğunu göstermektedir (Van Itallie ve diğerleri, 2009). Oysa Occludin büyük makromoleküllerin akışının düzenlenmesinde, muhtemelen kısıtlayıcı olmayan veya geniş kanallı yolla işlev görür. Occludin tükenmesi kısıtlayıcı olmayan yolun açılmasına yol açarak, bakteriyel antijenler dahil olmak üzere makromoleküllerin parasellüler akışına izin vererek inflamatuvar bir yanıtı yol açmaktadır (Ma ve diğerleri, 2018). TJ proteinlerinden Occludin seviyelerine bakmanın kritik önemini bize bu çalışma bildirmiştir ve diğer TJ proteinlerine nazaran Occludin'in inflamasyona neden

olan, antijen içeren makromolekülerin geçişinde major etkiye sahip olması asıl olarak bu proteinin düzeylerinin incelenmesi gerektiğini göstermiştir. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı hayvan modellerinde Occludinin bağırsak dokusu ekspresyonunun belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir (Fries ve diğerleri, 1999; Gassler ve diğerleri, 2001). Bağırsak Occludin ekspresyonundaki azalmanın, bağırsak epitelyal TJ geçirgenliğinde artışa yol açan önemli bir mekanizma olabileceği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, bağırsak TJ bariyer fonksiyonunda Occludin tükenmesini destekleyen kanıtlar eksiktir (Al-Sadi ve diğerleri, 2011). ÜK hastalarında, Occludin, Claudin-1, Claudin-4 ve JAM-A'nın azalmış ifadesi ve yeniden dağılımı; artmış gözenek oluşturan Claudin-2 ifadesi görülmektedir (Vetrano ve diğerleri, 2008). Başka bir çalışmada da benzer olarak, ÜK'de, Claudin-1, Claudin-4'ün ve Occludin'in down-regülasyonu; gözenek oluşturan Claudin-2'nin ise yukarı regülasyonu gözlenmektedir (Heller ve diğerleri, 2005). Occludin mRNA ekspresyonu, sağlıklı kontrol grubuna kıyasla ÜK remisyon hastalarında kolon mukozasından önemli ölçüde azaldığı ve Occludin gen ekspresyonunda aktif ve remisyon ÜK grupları arasında farklı ekspresyon seviyeleri bulunduğu bildirilmiştir ve bununla birlikte aktif ÜK, remisyondaki ÜK'ye kıyasla ilginçtir ki önemli ölçüde artmış Occludin seviyelerine sahip olduğu da belirtilmektedir, aktif ve remisyon ÜK hastaları arasındaki bu farklı durum Occludin ekspresyonu, enflamatuvar süreç sırasında sıkı bağlantının epitel hücre polaritesinin korunmasıyla açıklanabileceği belirtilmektedir (Yamamoto-Furusho ve diğerleri, 2012). Çalışmamız yapılan araştırma sonuçlarını destekler nitelik taşımaktadır, Kontrol grubunda kolonik Occludin seviyeleri Kolit grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olarak saptandı. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, emilim için kıymetli bir bağırsak bölümü olan jejunumun Occludin seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde yükseklik olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Klinik öncesi ve klinik çalışmalar, bağırsak geçirgenliğini modüle eden bir protein grubu olan Zonulin ailesinin, otoimmün, enfektif, metabolik ve tümör hastalıkları dahil olmak üzere çeşitli kronik inflamatuvar hastalıklarda rol oynadığını göstermiştir. Zonulin, hem epitelyal hem de endotel bariyer fonksiyonlarının bir modülatörüdür; sağlık ve hastalıktaki rolü aktif araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Bağırsak disbiyozu, Zonulin salınımına neden olabilir ve bu da lümen içeriğinin epitel bariyerinden geçişine yol açarak, artan geçirgenliğe neden olan proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına sebebiyet vererek, diyet ve mikrobiyal antijenlerin yoğun akışına yol açan ve T hücrelerinin aktivasyonunu tetikleyen bir kısır döngü oluşturmaya neden olabilir (Fasano, 2020). Son yıllarda, bozulmuş bağırsak geçirgenliğinin, İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının başlangıcından önceki erken bir olayı

temsil ettiği varsayılmaktadır (Caviglia ve diğerleri, 2019). Aslında bu araştırmada belirtilen durum tam olarak, çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz deneysel kolit modelinde neden IP'yi belirlemeye yönelik biyomarkernlara baktığımızı özetlemektedir. Obeziteye sahip bireylerde gerçekleştirilen klinik çalışmalarda, Zonulin düzeyindeki yükselme ile, inflamasyon biyobelirteçlerinden IL-6 ve TNF- α arasında pozitif korelasyon görüldüğü bildirilmektedir (Cennet, 2018). IL-10 geni eksikliği ile kolit oluşturulan farelerin, daha önce ince bağırsak geçirgenliğini azalttığı gösterilen küçük bir peptit olan AT-1001 (bir Zonulin peptit inhibitörü) ile tedavi edilmesi sonucunda, ince bağırsak geçirgenliğinde belirgin bir düşüş, kolonik mukozal geçirgenlikte önemli bir azalma ve elektrik direncinde artış olduğu ve aynı zamanda bir kolon eksplantında TNF- α salgılanmasının ise, tedavi edilen grupta önemli ölçüde daha düşük olduğu bildirilmektedir (Arrieta ve diğerleri, 2008). Toplam 118 İBH hastası (86 Crohn Hastalığı ve 32 lseratif Kolit) ve 23 sağlıklı kontrol bulunduğu prospektif çalışmada, serum Zonulin konsantrasyonun İBH grubunda kontrole kıyasla daha yüksek olduğu, CH'li hastalar ve K'li hastalar arasında serum Zonulin konsantrasyonunda hiçbir fark gözlenmediği, serum Zonulin konsantrasyonu ile hastalık süresi arasında korelasyon gözlenmediği, serum ve dışkı Zonulin seviyesi arasında hiçbir korelasyon gözlenmediği bildirilmektedir (Caviglia ve diğerleri, 2019). Çalışmamızdaki bulgular da araştırmalarla paralellik sergilemektedir, Kontrol grubunda kolonik Zonulin seviyeleri, Kolit grubuna göre anlamlı şekilde düşük olarak saptandı. Yapılan biyokimyasal analiz sonuçlarında, serum Zonulin seviyelerinin Kontrol grubunda, Kolit grubuna göre anlamlı düzeyde düşüklük olduğu belirlendi ($p<0,05$). Zonulin bağırsak epitel hücrelerince antijen, patojen veya toksik maddelerle bağırsağın karşılaşması durumunda üretilmektedir ve bu proteinin etkinlik gösterebilmesi, intestinal epitel hücrede reseptörü olmasına bağlıdır. Zonulinin TJ'lar arası bağı fizyolojik olarak açabilmesi, jejenum ve distal ileum gibi Zonulin reseptörü bulunduran epitel hücrelere sahip intestinal kısımlarda gerçekleşmektedir ve bağırsak geçirgenliğinin tespiti ancak bu dokulardan elde edilen numunelerle kıymetli sonuç sağlayacaktır. Kolon epitel hücrelerinde ise, Zonulin reseptörü bulunmamaktadır ve bu nedenle bağırsak geçirgenliğini arttırmada bu intestinal kısımda etkinlik göstermemektedir. Kolonda Zonulin tespit edilebilir, dışkıda tespit edilmesi mantığıyla benzer olarak ancak kolondaki bağırsak geçirgenliğinin tespiti için kolon Zonulin seviyelerine bakılması bu bölüm Zonuline ait reseptör barındırmadığından kıymetsizdir. Bu durum Genel Bilgiler kısmında kaynak belirtilerek detaylı açıklanmıştır. Çalışmamızda kolon Zonulin seviyesine, dışkıda bakılması mantığıyla ve kolonda gerçekleşen bir hastalık olan K'yi ele almamız sebebiyle bakıldı. Kolonik inflamasyonla birlikte Zonulin seviyesinin gruplar arasında nasıl değişime uğradığı

merak konusuydu. Çalışmamızda, en anlamlı sonuçların kolon Zonulin seviyesinde gerçekleşmesi sebebiyle kolonik Zonulin seviyesi grafiğine yer verilmeliydi; fakat yukarıda belirtilen açıklama kaynaklı bu grafiğe Bulgular kısmında yer verilmedi. Çalışmamızda Bulgular kısmında, onun yerine bazı sonuçlar bekleneni yansıtmasa da kolona yakın ince bağırsak bölümü distal ileumdaki Zonulin seviyelerine ait grafik paylaşıldı.

Ghosh ve diğerleri (2014), Curcuminin LPS'nin neden olduğu bağırsak epitel hücre bariyeri geçirgenliğinin bozulmasını önlemedeki doğrudan etkilerini yaptıkları çalışmada ortaya koymaktadır. Bu araştırmada, bakteriyel endotoksin LPS (lipopolisakkarit)'nin translokasyonuna yol açan bağırsak geçirgenliğinde artışın, Batı diyetiyle beslenme sonucunda emilemeyen antibiyotiklerin uygulanması yoluyla bağırsağın seçici dekontaminasyonun ve ayrıca iltihapla bağlantılı hastalıkların hafifletilmesiyle sonuçlanan durumun, Curcuminin oral takviyesi yoluyla olduğu gösterilmektedir. TNF- α , IFN- γ , IL-1 β ve IL-13 sekresyonu, mukozal sitokin fırtınasına neden olmaktadır ve intestinal TJs'nin bozulmasına ve epitel apoptozunun indüksiyonuna yol açtığı belirtilmiştir ve sitokinlerin salınımı esasen bariyer kusurlarından sorumlu olduğu saptanmıştır (Lobo de Sá ve diğerleri, 2019). Bu yapılan çalışmada, *Campylobacter jejuni* ile enfekte ko-kültürlerde, sıkı bağlantıların yeniden dağılımı ve TNF- α , IL-1 β ve IL-6 salgılanmasıyla temsil edilen artmış bir enflamatuvar yanıt gözlemlendi ve Curcumin ile bu durum tersine çevrildiği gösterildi ve sonuç olarak, Curcumin *Campylobacter jejuni* ile tetiklenen bağışıklık kaynaklı bariyer kusurlarına karşı koruma sağladığı sunuldu, hastalarda terapötik ve koruyucu bir ajan olabileceği yapılan çalışmada bildirildi (Lobo de Sá ve diğerleri, 2019). Occludin, TJ'de lokalize edilmiş en çok çalışılan transmembran proteindir. Önceki çalışmalar, Occludinin TJ bariyer fonksiyonunun düzenlenmesinde büyük öneme sahip olduğunu ve ZO-1 tarafından hücre bağlantılarına dahil edildiğini göstermiştir (Guo ve diğerleri, 2005). Bu nedenle, Occludin ve ZO-1, TJ'nin montajı ve epitel bariyer işlevi için çok önemlidir. Curcumin TJ bütünlüğünü korumaktadır, bu hipotez, Curcuminin Caco-2 hücre katmanlarında ZO-1 protein seviyelerinde TNF- α ile indüklenen azalmayı önlediğini gösteren bir çalışma ile desteklenmiştir (Ma ve diğerleri, 2004). Feng ve diğerleri (2019)'nin araştırmasında, Curcuminin (%98 curcumin, Sigma, oral takviye), bağırsakta (ileal dokudaki) sıkı bağlantı proteini Zonula Occludens-1 ve Occludin'in ekspresyonunu artırarak, bağırsak bariyer disfonksiyonunu daha da iyileştirdiği belirtilmektedir. Wang ve diğerleri (2012)'nin gerçekleştirdiği in vitro çalışma, Curcuminin hem oksijenaz-1 (HO-1)'in güçlü bir indükleyicisi olduğunu ve bağırsak epitel TJ'sinin oksidatif stres kaynaklı bozulmasını iyileştirebileceğini göstermektedir. HO-1 bağımlı mekanizma ayrıca bağırsak bozukluğunun

tedavisi amacıyla Curcumin preparatları geliştirmek için bir gerekçe sağlamaktadır. Curcumin, insan bağırsak epitel hücrelerinde hem oksijenaz-1 ekspresyonunu arttırarak hidrojen peroksit kaynaklı epitel bariyer bozulmasını iyileştirmektedir. Curcuminin insan bağırsak epitel hücrelerinde oksidatif stres kaynaklı bağırsak bariyerinin bozulması üzerindeki koruyucu etkisi bu çalışmayla açıklanmıştır. Birçok araştırmada sunulduğu gibi Curcumin İP’de olumlu etki göstermektedir. Çalışmamızın temelinde yatan ÜK’nin etiyopatogenezini açıklamada bir basamak olabilme, bununla birlikte bu mekanizmayla örtüşen tedavi bileşenini sunma hedefi ve araştırmalarımızda bağırsak geçirgenliğini merkeze koymamız; tedavi sürecinde de Curcumin gibi önemli bir antiinflamatuvar ve antioksidan fenolik bileşikle çalışma isteğini doğurdu. Çalışmamız bulgularına bakacak olursak, yapılan araştırmalarla örtüşen sonuçların haricinde zıtlıklar da mevcuttur. Serum Occludin seviyelerinde, Cur+Kolit grubunda Kolit grubuna göre anlamlı şekilde ve beklediğimiz gibi yükseliş gözlemlendi. Post tedavi Curcumin ve pre tedavi Curcumin gruplarında anlamlı şekilde Kolit grubuna kıyasla kolonik Zonulin seviyelerinin düştüğü görüldü. Çalışmamızda beklenmedik şekilde, araştırmalarla uyuşmayan şu sonuçlar da elde edildi; serum, jejunum ve distal ileum Zonulin seviyelerinde Cur+Kolit tedavi grubunda Kolit grubuna göre anlamlı yükseliş olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).

Epitel bariyer fonksiyonu, esas olarak sıkı bağlantı proteinleri tarafından düzenlenir. Ülseratif Kolit, inflamasyon ve epitelyal bariyer disfonksiyonu ile birlikte Th2 immün yanıtı ile karakterize edilir, buna Claudin-2 protein fonksiyonunda yükselme de dahildir (Satio ve diğerleri, 2016). $1,25(OH)_2D_3$, gastrointestinal mukozadaki savunma mekanizmalarını arttırabilir ve İBH’de mukozal hasarı önleyebilir. $1,25(OH)_2D_3$, TJ proteinlerinin ekspresyonunu sürdürerek bariyer bütünlüğü üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabilir ve böylece bağırsak iltihabının şiddetini azaltabilir (Zhao ve diğerleri, 2012). Dimitrov ve White (2017), D vitaminin, intestinal bariyer bütünlüğü, bağırsaktaki doğuştan gelen ve uyarlanabilir bağışıklık, mikrobiyal yük ve kompozisyon üzerindeki etkilerini göz önünde bulundurarak, İBH’de D vitamini takviyesinin potansiyel terapötik faydası için mekanik bir temel sağladığını ortaya koymaktadır. Satio ve diğerleri (2016), Claudin-1 ve Claudin-2 proteinlerinin aktif ÜK’de yukarı regüle edildiğini; $1,25(OH)_2D_3$ ile tedavinin, hem iltihaplı hem de iltihaplı olmayan kanaldaki Claudin-1 ve Claudin-2 protein seviyelerini düşürdüğünü; Claudin-4 ve Claudin-7 proteinlerinin ise aktif ÜK’de aşağı regüle edildiğini ve seviyeleri $1,25(OH)_2D_3$ ile inkübasyondan sonra yükseldiğini bildirmiştir. Zhao ve diğerleri (2012), $1,25(OH)_2D_3$ ’ün, DSS ile indüklenen kolit modelindeki bağırsak bariyer kaybını hafiflettiği, parasellüler geçirgenliği zayıflattığı ve TJ’nin DSS kaynaklı bozulmasını önlediğini; aynı zamanda DSS

model grubunda, kolondaki TJ proteinlerinden ZO-1, Occludin ve Claudin-1 ekspresyonlarının kontrol grubuna göre belirgin şekilde azaldığını yaptıkları çalışmada bildirmektedir. Bu in vitro sonuçlar, in vivo gözlem ile tutarlı olduğunu, 1,25(OH)₂D₃'ün epitelyal mukozadaki TJ bütünlüğünü koruyarak kısmen DSS ile indüklenen koliti azalttığını göstermektedir (Zhao ve diğerleri, 2012). Yoğun bakım hastaları üzerinde gerçekleşen bir araştırmada, artan D vitamini serum seviyeleri ile medyan plazma endotoksin ve Zonulin seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir (Eslamian ve diğerleri, 2018). Birçok araştırmada sunulduğu gibi D vitamini IP'de olumlu etki göstermektedir. Çalışmamızın temelinde yatan ÜK'nin etiyopatogenezini açıklamada bir basamak olabilme, bununla birlikte bu mekanizmayla örtüşen tedavi bileşenini sunma hedefi ve araştırmalarımızda bağırsak geçirgenliğini merkeze koymamız; tedavi sürecinde de vitamin D gibi önemli bir antiinflamatuvar bileşikle çalışma isteğini doğurdu. Çalışmamız bulgularına bakacak olursak, yapılan araştırmalarla örtüşen sonuçların haricinde zıtlıklar da mevcuttur. Kolit grubuyla post ve pre D vitamini tedavi grupları karşılaştırıldığında, post tedavi D vitamini grubunun anlamlı şekilde kolonik Occludin seviyelerinin araştırmalarla paralellik göstererek yükseldiği görüldü. Hatta kolon Occludin seviyelerinde tek anlamlı yükselme post D vitamini grubundaydı. Serum Occludin seviyelerinin, Dvit+Kolit grubunda; distal ileum Occludin seviyelerinin, Kolit+Dvit grubunda Kolit grubuna göre anlamlı şekilde yükseliş olduğu gözlemlendi. Araştırmalarla zıt olarak ise, jejunal Occludin seviyelerinin Kolit+Dvit grubunda anlamlı şekilde düşüş olduğu saptandı. Bağırsak geçirgenliği tespitinde kullandığımız Zonulin seviyelerindeki durum ise şudur; post tedavi D vitamin grubunda anlamlı olarak kolonik Zonulin seviyelerinin beklendiği şekilde düştüğü görüldü. Serum ve jejunal Zonulin seviyelerinin Kolit+Dvit ve Dvit+Kolit tedavi gruplarında Kolit grubuna göre beklenmedik şekilde anlamlı yükseliş olduğu gözlemlendi (p<0,05).

Goblet hücreleri, yoğun şekilde glikosile olan ve muazzam ağ benzeri bir yapıya polimerize edilen müsin salgılar. Müsin 2, kalın ve ince bağırsakta salgılanan müsinin ana bileşenidir ve bağırsak mikroplarını epitel yüzeyinden uzakta tutmada anahtar rol oynamaktadır (Bischoff ve diğerleri, 2014). İBH'nin hem deneysel modellerinde hem de insanlarda; mukus tabakası bakterilere karşı daha geçirgen hale gelir ve bu nedenle bu hastalıkta ve muhtemelen diğer bağırsak bozukluklarında kritik etiyolojik faktörler olarak kabul edilmektedir (Johansson ve diğerleri, 2014). ÜK'ye sahip bireylerde yapılan incelemede goblet hücre sayısında düşüş olduğu bildirilmektedir (Pullan ve diğerleri, 1994). Daig ve diğerleri (1996)'nin gerçekleştirdiği araştırmada, IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin birçoğunun IL-8'i ekspre ettiği ve IL-8 sekresyonundaki bu artışın da aktif

dönemdeki kolitin histolojik skor derecesiyle korelasyon gösterdiği sunulmaktadır. ÜK'li vakalarda; epitelde nekroz, intestinal mukozada ödem, polimorfonükleer hücrelerden ve immünolojik hücrelerden meydana gelen kript abseleri, vasküler konjesyon ve ülser izlenmektedir (Balmus ve diğerleri, 2016). Curcuminin kültürlenmiş bağırsak bozukluklarında birkaç endojen antioksidanı indükleyebildiği ve in vivo olarak Trinitrobenzen Sülfonik Asit ile indüklenen kolitte mukozal hasarı azaltabildiği gösterilmiştir (Ma ve diğerleri, 2004). Zhao ve diğerleri (2012)'nin gerçekleştirdiği çalışmada, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, DSS model grubundaki kolonun histolojik incelemesinde; epitel tabakasında yaygın ülserasyon, ödem, bağırsak duvarında kript hasarı, muskularis mukozasında fibroz, granülosit ve mononükleer hücrelerin mukozaya infiltrasyonunu gösterdiği sunuldu. DSS model grubundaki fareler ile karşılaştırıldığında, 1,25(OH)₂D₃ ile muamelenin; DDS ile indüklenen kolit histolojik skorunda azalmalar olduğu bildirildi (Zhao ve diğerleri, 2012). Çalışmamızda ise, en yüksek histolojik skorların gözlendiği Kolit grubunda, tedavi gruplarına göre tüm parametrelerde bozulma en üst düzeydeydi. Curcumin ve D vitamini tedavi gruplarındaki kolon kesitleri incelendiğinde ise, ortalama total histolojik skor sonuçlarında hafif etkilenme (total skor=1) veya daha düşük (total skor <1) değerler söz konusuydu. Tüm tedavi gruplarında anlamlı olarak hemorajik iyileşme söz konusuydu. Tedavi grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ise, post tedavi D vitamini grubunun histolojik olarak iyileşmenin en iyi gözlendiği grup olarak saptanmıştır. Kısıtlılığımız; asetik asit verimi öncesi anestezi yapılmaması ve kolon boşaltma eyleminin gerçekleştirilmemesi solüsyonun tam enjeksiyonunu ve hedef noktaya verimi olumsuz etkilemiştir. Solüsyonun kolon dokusundaki etkinliğini arttırabilmek adına ise, %4'lük asetik asit solüsyonu veriminden 24 saat önce ratlar aç bırakıldı, bu durum kolit yapılacak tüm gruplarda gerçekleştirildi.

Sonuç olarak; çalışmamız, Curcuminin antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizma yoluyla terapötik ve profilaktik etkinliğini kanıtlar nitelikte olup; Curcuminin bağırsak geçirgenliğine etkisine dair anlamlı ve beklenen şekilde bir sonuç elde edilememesine rağmen; terapötik olarak D vitamini kullanımının, antiinflamatuvar etkinlik ve oksidan parametreleri düşürme yoluyla kolitle artan bağırsak geçirgenliğini tedavi etmede önemli rolü olduğu kanaatine ulaşıldı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İBH hastalıklarından ÜK’de artan bağırsak geçirgenliği (IP)’nde Curcumin ve D vitaminin terapötik ve proflaktik etkinliğine dair durum biyokimyasal olarak analiz edildi ve bu durum inflamatuvar ve oksidan parametrelerle desteklendi, istatistiksel olarak anlamlı çıkan veriler bu kısımda sunuldu. Aynı zamanda ÜK’de Curcumin ve D vitaminin terapötik ve proflaktik etkisine dair biyokimyasal ve histolojik olarak elde ettiğimiz istatistiksel olarak anlamlı çıkan sonuçlara da bu bölümde yer verildi.

Tight Junction (TJ) proteinlerden Occludin ve ince bağırsak (jejunum, distal ileum) parasellüler geçiş hattını açmada rol oynayan Zonulin bağırsak geçirgenliği durumunun tespiti amacıyla analiz edildi. Kolit grubunda, Kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşüş gösteren kolon ve jejunum dokusu Occludin seviyesi ve anlamlı bir şekilde yükseliş gösteren serum ve kolon dokusu Zonulin seviyeleri, ÜK’de bağırsak geçirgenliğinin arttığını destekler niteliktedir. Kolit grubunda, Kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yükseklik gösteren kolon dokusu TNF- α , IL-1 β , IL-6, INF- γ ve MPO seviyeleri ve kolon hasarlanmasındaki yüksek histopatolojik skorlama değerleri de deneysel çalışma prosedürümüzde yer alan Asetik Asitin, deneysel kolit (akut) oluşturmadaki önemini vurgulamaktadır. Kolit oluşturma prosedürünün çalışmamız sonuçlarıyla tasdiklenmesi neticesinde, çalışmamızın deneysel kolit modeli uygulanacak araştırmalara basamak olabileceği kanaatindeyiz.

Tedavi gruplarından kolit oluşturulduktan sonra ve kolit oluşturmadan önce Curcumin verilmesinin kolon dokusu biyokimyasal analiz sonuçları incelendiğinde; inflamatuvar biomarkerlardan IL-1 β , IL-6, INF- γ ve oksidan parametrelerden MPO’da en çok bu iki grupta (Kolit+Cur ve Cur+Kolit) anlamlı düşüklük saptanmıştır. Bu sonuçlar bize ÜK tedavisinde Curcuminin antiinflamatuvar ve antioksidan mekanizma yoluyla terapötik ve proflaktik etkinliğini kanıtlar niteliktedir. Çalışmamızda, Curcuminin IP’ye etkisine dair anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Pre ve post tedavi Curcumin, kolon dokusu Zonulin seviyelerini Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürmüştür. Asıl IP tespiti için kullandığımız distal ileum, jejunum ve serum Zonulin seviyelerinde ise ön tedavi Curcumin grubunda, beklenmedik şekilde Kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselme saptanmıştır. Curcuminin IP’ye etkisine dair çalışmalara, uygulama süresi/doz değişiklikleri yapılarak devam edilmelidir.

Tedavi gruplarından kolit oluşturulduktan sonra D vitaminin terapötik olarak eklenmesinin, Kolit grubuna kıyasla kolon dokusu Occludin seviyesini anlamlı bir şekilde

arttırdığı gözlenmiştir, aynı zamanda bu durumla paralel olarak Kolit+Dvit grubunda kolon dokusu TNF- α ve INF- γ seviyelerinde anlamlı derecede düşüklük tespit edilmiştir, TNF- α 'daki en anlamlı azalma Kolit+Dvit grubundayken; INF- γ 'daki en anlamlı azalma Kolit+Cur grubundaydı ve kolon dokusu Zonulin seviyeleri, her ne kadar kolon geçirgenliğinin tespitinde kullanılsa da, Kolit+Dvit grubunda anlamlı bir şekilde azalmıştır, ancak kolon Zonulin seviyesindeki azalma Kolit+Cur grubunda daha anlamlı bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda TNF- α ve INF- γ 'nın bağırsak geçirgenliğini arttırmada rol oynayan proinflamatuvar sitokinlerden olduğu belirtilmektedir. Kolit+Dvit grubundaki yukarıdaki bahsedilen istatistiksel anlamlı sonuçlar TNF- α 'nın IP'yi arttırması durumunu destekler niteliktedir, D vitaminin kolon dokusunda TNF- α ve INF- γ 'yı anlamlı bir şekilde düşürmesi ve oksidan parametrelerden MPO seviyelerini de anlamlı bir şekilde azaltması; IP'yi antiinflamatuvar etkinlik ve oksidan seviyeleri azaltma yoluyla düşürdüğünü tahmin etmekteyiz. Bu tespit, D vitaminin kolitle artan bağırsak geçirgenliğini tedavi etmede önemli rolü olduğunu düşündürmektedir. Özellikle kolon dokusundaki analiz sonuçlarını baz aldığımızda Kolit grubu ve diğer tedavi gruplarıyla kıyaslandığında Kolit+Dvit grubunda en düşük histolojik hasarlanma skoru, en düşük TNF- α seviyesi, en yüksek Occludin ekspresyonu görülmesi; jejunum dokusundaki analiz sonuçlarını baz aldığımızda ise Kolit grubu ve diğer tedavi gruplarıyla kıyaslandığında Kolit+Dvit grubunda en düşük IL-1 β ve IL-6 seviyesi tespit edilmesi D vitaminin terapötik etkisine dair önemi bizlere göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Abbasi, S., Khani, H., Gholivand, M.B., Naghipour, A., Farmany, A., Abbasi, F. (2009). A kinetic method for the determination of thiourea by its catalytic effect in micellar media. *Spectrochim Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 72, 327-331.
- Abdallah, D.M., Ismael, N.R. (2011). Resveratrol abrogates adhesion molecules and protects against TNBS-induced ulcerative colitis in rats. *Canadian Journal Physiology Pharmacology*, 89(11), 811-818.
- Abera, F.N., Ellenberg, J.H. (2008). Use of the Non-invasive Components of the Mayo Score to Assess Clinical Response in Ulcerative Colitis. *Inflammatory Bowel Disease*, 14(12), 1660–1666. doi:10.1002/ibd.20520
- Abraham, C., Cho, J.H. (2009) Inflammatory Bowel Disease. *The New England Journal of Medicine*, 361, 2066–78.
- Abreu, M.T., Fukata, M., Arditi, M. (2005). TLR signaling in the gut in health and disease. *The Journal of Immunology*, 174, 4453–4460.
- Akkaya, K. (2018). *Sıçanlarda Akrilonitril İle Oluşturulmuş Oksidatif Strese Karşı Timokinon Ve Kurkuminin Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin.
- Akram, M., Shahab-Uddin, A.A., Usmanghani, K., Hannan, A., Mohiuddin, E., Asif, M. (2010). Curcuma Longa And Curcumin: A Review Article. *Romanian Journal of Biology Plant Biology*, 55(2), 65-70.
- Al-Sadi, R., Khatib, K., Guo, S., Ye, D., Youssef, M., Ma, T. (2011). Occludin regulates macromolecule flux across the intestinal epithelial tight junction barrier. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*. 300, 1054–1064.
- Al-Sadi, R., Ye, D., Dokladny, K., Ma, T.Y. (2008). Mechanism of IL-1 β -induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *The Journal of Immunology*, 180, 5653–5661.
- Ananthakrishnan, A.N., Khalili, H., Higuchi, L.M., Bao, Y., Korzenik, J.R., Giovannucci, E.L., ... Chan, A.T. (2012). Higher predicted vitamin D status is associated with reduced risk of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 142(3), 482-9.
- Anderson, C.A., Boucher, G., Lees, C.W., Franke, A., D'Amato, M., Taylor, K.D., ... Rioux, J.D. (2011). Meta-Analysis Identifies 29 Additional Ulcerative Colitis Risk Loci,

- Increasing The Number Of Confirmed Associations To 47. *Nature Genetics*, 43(3), 246-52.
- Arrieta, M.C., Bistritz, L., Meddings, J.B. (2006). Alterations in intestinal permeability. *Gut*, 55(10), 1512-20.
- Arrieta, M.C., Bistritz, L., Meddings, J.B. (2006). Alterations in intestinal permeability. *Gut*, 55, 1512-1520.
- Arrieta, M.C., Madsen, K., Doyle, J., Meddings, J. (2009). Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient Mouse. *Gut*, 58(1), 41-8.
- Artursson, P., Palm, K., Luthman, K. (2001). Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46, 27-43.
- Ateş, M. (2013). *Barsaklardan Parasellüler İlaç Absorpsiyonu Üzerine Permeabilite Artırıcı Ajanların Etkisinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Aydın, S., Becit, M., Başaran, N. (2017). Curcuminin terapötik ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi. *Journal Of Literature Pharmacy Sciences*, 6(2), 126-142.
- Aydoğan Avşar, P. (2019). *Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu tanılı hastalarda Zonulin ve Claudin-5 kan düzeylerinin değerlendirilmesi ve hastalığın patogeneziindeki potansiyel rolü*. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
- Balmus, I.M., Ciobica, A., Trifan, A., Stanciu, C. (2016). The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in inflammatory bowel disease: Clinical aspects and animal models. *The Saudi Journal of Gastroenterology*, 22, 3-17.
- Balmus, I.M., Ciobica, A., Trifan, A., Stanciu, C. (2016). The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in inflammatory bowel disease: Clinical aspects and animal models. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 22, 3-17.
- Barbara, A.H., Ranjana, G., Judy, H.C. (2002). Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(1), 79–94.
- Barbara, A.H., Ranjana, G., Judy, H.C. (2002). Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(1), 79–94.
- Barker, T., Martins, T.B., Hill, H.R., Kjeldsberg, C.R., Dixon, B.M., Schneider, E.D. ... Weaver, L.K. (2013). Circulating pro-inflammatory cytokines are elevated and peak power output correlates with 25-hydroxyvitamin D in vitamin D insufficient adults. *European Journal of Applied Physiology*, 113(6), 1523-1534.
- Barker, T., Victoria, E., Levy, R.M., Templeton, J., Goldfine, H., Schneider, E.D., ... Lindell, K. (2015). Weaver. Supplemental vitamin D increases serum cytokines in those with

- initially low 25-hydroxyvitamin D: a randomized, double blind, placebo-controlled study. *Cytokine*, 71(2), 132-138.
- Barksby, H.E., Lea, S.R., Preshaw, P.M., Taylor, J.J. (2007). The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. *Clinical and Experimental Immunology*, 149, 217–225.
- Barretov, S.G., Neale, R.E. (2015). Vitamin D and pancreatic cancer. *Cancer Letters*, 368, 1-6.
- Battault, S., Whiting, S.J., Peltier, S.L., Sadrin, S., Gerber, G., Maixent, J.M. (2012). Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *European Journal of Nutrition*, 52(2), 429-41. doi: 10.1007 / s00394-012-0430-5
- Baumgart, D.C., Carding, S.R. (2007). Inflammatory Bowel Disease: cause and immunobiology. *Lancet*, 369, 1626-40.
- Beckman, J.S., Beckman, T.W., Chen, J., Marshall, P.A., Freeman, B.A. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*, 87, 1620-25.
- Besler, T. (2008). Diyet El Kitabı. A. Baysal (Ed.), İnflamasyon ve Enfeksiyon Hastalıklarında Beslenme içinde (6. bs., ss. 365-373). Ankara: Hatiboğlu Yayınları.
- Bijlsma, P. B., Peeters, R. A., Groot, J. A., Dekker, P. R., Taminiau, J. A. Van Der Meer, R. (1995). Differential in vivo and in vitro intestinal permeability to lactulose and mannitol in animals and humans: a hypothesis. *Gastroenterology*, 108(3), 687-696.
- Bischoff, S.C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J.D., Serino, M., ... Wells, J.M. (2014) Intestinal permeability-a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*, 14, 189.
- Blair, S.A., Kane, S.V., Clayburgh, D.R., Turner, J.R. (2006). Epithelial myosin light chain kinase expression and activity are upregulated in inflammatory bowel disease. *Laboratory Investigation*, 86, 191–201.
- Blonski, W., Buchner, A., Lichtenstein, G.R. (2012). Clinical predictors of aggressive/disabling disease: ulcerative colitis and crohn disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 41(2), 443-62.
- Both, H., Torp-Pedersen, K., Kreiner, S. (1983). Clinical appearance at diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease in a regional patient group. *Gastroenterology*, 18, 987-991.

- Bouguen, G., Chevaux, J.B., Peyrin-Biroulet, L. (2011). Recent advances in cytokines: Therapeutic implications for inflammatory bowel diseases. *World of Journal Gastroenterology*, 17(5), 547-56.
- Bozkurt, N., Yıldız E. (2008). Sindirim Sistemi Hastalıklarında Beslenme. A. Baysal (Ed.) İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları içinde (4. bs., ss. 143-178). Ankara: Hatiboğlu Yayınları.
- Bruewer, M., Utech, M., Ivanov, A.I., Hopkins, A.M., Parkos, C.A., Nusrat, A. (2005). Interferon- γ induces internalization of epithelial tight junction proteins via a macropinocytosis-like process. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 19, 923–933.
- Bürgel, N., Bojarski, C., Mankertz, J., Zeitz, M., Fromm, M., Schulzke, J.D. (2002). Mechanisms of diarrhea in collagenous colitis. *Gastroenterology*, 123, 433-443.
- Cachofeiro, V., Goicochea, M., Garcia de Vinuesa S., Oubiña, P., Lahera, V., Luno, J. (2008). Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney International*, 4–9.
- Cantimur, A.T. (2014). *Deneyisel ülseratif kolit modelinde d-vitamini'nin koruyucu ve tedavi edici etkilerinin değerlendirilmesi*. Yandal Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.
- Cantorna, M.T., Munsick, C., Bemiss, C., Mahon, B.D. (2000). 1,25-Dihidroksikolekalsiferol, deneyisel murin enflamatuvar bağırsak hastalığının semptomlarını önler ve iyileştirir. *The Journal of Nutrition*, 130(11), 2648–2652.
- Carrillo, A.E., Flynn, M.G., Pinkston, C., Markofski, M.M., Jiang, Y., Donkin, S.S., Teegarden, D. (2011). Vitamin D supplementation during exercise training does not alter inflammatory biomarkers in overweight and obese subjects. *European Journal of Applied Physiology*, 112, 3045-3052.
- Casellas, F., Papo, M., Guarner, F., Antolin, M., Armengol, J.R., Malagelada, J.R. (1994). Intraluminal colonic release of immunoreactive tumour necrosis factor in chronic ulcerative colitis. *Clinical Science of Nutrition*, 87, 453-458.
- Casey, L.C. (2000). Immunologic response to infection and it's role in septic shock. *Critical Care Clinics*, 16, 193-213.
- Castelo-Branco, M.T., Soares, I.D., Lopes, D.V., Buongusto, F., Martinusso, C.A., Do Rosario Jr, A., ... Souza, H.S.P. (2012). Intraperitoneal but not intravenous cryopreserved mesenchymal stromal cells home to the inflamed colon and ameliorate experimental colitis. *PLoS One*, 7(3), 33360.

- Catalioto, R.M., Maggi, C.A., Giuliani, S. (2011). Intestinal epithelial barrier dysfunction in disease and possible therapeutical interventions. *Current Medicinal Chemistry*, 18, 398–426.
- Caviglia, G.P., Dughera, F., Ribaldone, D.G., Rosso, C., Abate, M.L., Pellicano, R., ... Astegiano, M. (2019). Serum Zonulin in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study. *Minerva Medica*, 110(2), 95-100.
- Cennet, Ö. (2018). *Besinler ve gastrointestinal sistem salgılarının deneysel sıçan modelinde intestinal bütünlük üzerine etkileri*. Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
- Cheung, F.S., Lovicu, F.J., Reichardt, J.K. (2012). Current progress in using vitamin D and its analogs for cancer prevention and treatment. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 12, 811–837.
- Cho, E.J., Shin, J.S., Noh, Y.S., Cho, Y.W., Hong, S.J., Park, J.H. ... Lee, K.T. (2011). Anti-inflammatory effects of methanol extract of *Patrinia scabiosaefolia* in mice with ulcerative colitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 136, 428-435.
- Cho, H.J. (2008). Inflammatory bowel disease: Genetic and epidemiologic considerations. *World Journal of Gastroenterology*, 14(3), 338-47.
- Choksi, Y.A., Reddy, V.K., Singh, K., Barrett, C.W., Short, S.P., Parang, B. ... Williams, C.S. (2018). BVES Is Required for Maintenance of Colonic Epithelial Integrity in Experimental Colitis by Modifying Intestinal Permeability. *Mucosal Immunology*, 11(5), 1363–1374.
- Ciccocioppo, R., Finamore, A., Ara, C., Di Sabatino, A., Mengheri, E., Corazza, G.R. (2006). Altered expression, localization, and phosphorylation of epithelial junctional proteins in celiac disease. *The American Journal of Clinical Pathology*, 125, 502–511.
- Clayburgh, D.R., Musch, M.W., Leitges, M., Fu, Y.X., Turner, J.R. (2006). Coordinated epithelial NHE3 inhibition and barrier dysfunction are required for TNF-mediated diarrhea in vivo. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 116(10), 2682-2694.
- Coeffier, M., Gloro, R., Boukhattala, N., Aziz, M., Lecleire, S., Vandaele, N., ... Reimund, J.M., (2010). Ducrotte P. Increased proteasome-mediated degradation of Occludin in irritable bowel syndrome. *The American Journal of Gastroenterology*, 105(5), 1181-8.
- Collett, A., Walker, D., Sims, E., He, Y.L., Speers, P., Ayrton, J. ... Warhurst, G. (1997). Influence of morphometric factors on quantitation of paracellular permeability of intestinal epithelia in vitro. *Pharmaceutical Research*, 14(6), 767-773.

- Collins, A.R., Cadet, J., Moller, L., Poulsen, H.E., Viñae, J. (2004). Are we sure we know how to measure 8-oxo-7,8-dihydroguanine in DNA from human cells? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 423, 57–65.
- Corridoni, D., Pastorelli, L., Mattioli, B., Locovei, S., Ishikawa, D., Arseneau, K.O., ... Pizarro, T.T. (2012). Probiotic bacteria regulate intestinal epithelial permeability in experimental ileitis by a TNF-dependent mechanism. *Plos One*, 7, 42067.
- Cummings, J.H., Antoine, J.M., Azpiroz, F., Bourdet-Sicard, R., Brandtzaeg, P., Calder, P.C., ... Watzl, B. (2004). PassCLAIM–gut health and immunity. *European Journal of Nutrition*, 43(2), 118-173.
- Çelikten, S. (2018). *TNBS ile oluşturulmuş deneysel kolit modelinde tokoferol ve dexpanthenol'un ayrı ayrı ve birlikte olası etkilerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- Çetinkaya, A., Bülbüloğlu, E., Kantarçeken, B., Çıralık, H., Belge Karutaş, E., Büyükbaş, M.E., Gümüşalan, Y. (2006). Effects of L-carnitine on oxidant/antioxidant status in acetic acid-induced colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 51(3), 488-494.
- Dağlı, Ü. (2006). İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları Derneğinin El Kitabı. Ü. Dağlı (Ed.), İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarının Epidemiyolojisi içinde (1. bs., ss. 5-219.). Ankara: İnflamatuvar Barsak Hastalıkları Derneği.
- Daig, R., Andus, T., Aschenbrenner, E., Falk, W., Schölmerich, J., Gross, V. (1996). Increased interleukin 8 expression in the colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut*, 38, 216-222.
- Dede, A.M. (2007). *Deneysel kolit modelinde Drotrecogin Alfa (Activated Xigris)'nın bakteriyel translokasyonu önlemede etkinliğinin değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Isparta.
- De Palma, G., Collins, S.M., Bercik, P., Verdu, E.F. (2014). The microbiota-gut-brain axis in gastrointestinal disorders: stressed bugs, stressed brain or both? *The Journal of Physiology*, 592, 2989-2997.
- Dignass, A.U. (2001) Mechanisms and modulation of intestinal epithelial repair. *Inflammatory Bowel Disease*, 7(1), 68-77.
- Dikmen, D.Ç. (2018). *Deneysel kolit oluşturulan sıçanlarda yapılan kolon anastomozuna fekal transplantın etkisi*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
- Dimitri, P., Rickets, B.N. (2007). New insights into a re-emerging problem. *Current Opinion in Orthopaedics*, 18, 486-493.

- Dimitrov, V., White, J.H. (2017). Vitamin D signaling in intestinal innate immunity and homeostasis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 15(453), 68-78.
- Dinarello, C.A. (1994). The interleukin-1 family: 10 years of discovery. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 8, 1314–1325.
- Di Sabatino, A., Biancheri, P., Rovedatti, L., McDonald, T.T., Corazza, G.R. (2012). New pathogenic paradigms in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Disease*, 18, 368–371.
- Doğan, A., Wang, Z.D., Spencer, J. (1995). E-cadherin expression in intestinal epithelium. *Journal of Clinical Pathology*, 48(2), 143-6.
- Dotan, I., Mayer, L. (2002). Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 18(4), 421-7.
- Dou, W., Zhang, J., Ren, G., Ding, L., Sun, A., Deng, C., ... Wang, Z. (2014). Mangiferin attenuates the symptoms of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice via NF- κ B and MAPK signaling inactivation. *International Immunopharmacology*, 23(1), 170-178.
- Dubuquoy, L., Jansson, E.A., Deeb, S., Rakotobe, S., Karoui, M., Colombel, J.F., ... Desreumaux, P. (2003). Impaired expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 124(5), 1265-76.
- Duerksen, D.R., Wilhelm-Boyles, C., Veitch, R., Kryszak, D., Parry, D.M. (2010). A comparison of antibody testing, permeability testing, and Zonulin levels with small-bowel biopsy in celiac disease patients on a gluten-free diet. *Digestive Diseases and Sciences*, 55, 1026-1031.
- Duffy, M.J., Murray, A., Synnott, N.C., O'donovan, N., Crown, J. (2017). Vitamin D Analogues: Potential Use in Cancer Treatment. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 112, 190-197.
- Ek, R.O., Serter, M., Ergin, K., Cecen, S., Unsal, C., Yıldız, Y., Bilgin, M.D. (2014). Protective effects of citicoline on TNBS-induced experimental colitis in rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 15;7(4), 989-97.
- El-Asmar, R., Panigrahi, P., Bamford, P., Berti, I., Not, T., Coppa, G.V., ... Fasano, A., (2002). Host-dependent Zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*, 123(5), 1607-15.
- Elson, C.O. (2000). Commensal bacteria as targets in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 119, 254-7.

- Erbayrak, M., Turkay, C., Eraslan, E., Çetinkaya, H., Kasapoğlu, B., Bektaş, M. (2009). The role of fecal calprotectin in investigating inflammatory bowel diseases. *Clinics(Sao Paulo)*, 64(5), 421-5.
- Eroschenko, V.P. (2016). DiFiore'nin Histoloji Atlası fonksiyonel ilişkileriyle. R. Demir (Çev. Edt.), Sindirim Sistemi Kısım III: İnce ve Kalın Bağırsaklar içinde (12. bs., ss. 341-365). Ankara: Palme Yayıncılık.
- Eslamian, G., Ardehali, S.H., Hajimohammadebrahim-Ketabforoush, M., Shariatpanahi, Z.V. (2018). Association of intestinal permeability with admission vitamin D deficiency in patients who are critically ill. *Journal of Investigative Medicine*, 68(2), 397-402.
- Etchevers, M.J, Aceituno, M., Garcia-Bosch, O., Ordas, I., Sans, M., Ricart, E., Panes, J. (2009). Risk factors and characteristics of extent progression in ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Disease*, 15, 1320–5.
- Fakhoury, M., Negrulj, R., Mooranian, A., Al-Salami, H. (2014). Inflammatory bowel disease: clinical aspects and treatments. *Journal of Inflammation Research*, 7, 113-120.
- Farhadi, A., Banan, A., Fields, J., Keshavarzian, A. (2003). Intestinal barrier: an interface between health and disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 18, 479–497.
- Fasano, A. (2001). Intestinal Zonulin: Open sesame! *Gut*, 49, 159-162.
- Fasano, A. (2006). Regulation of Intercellular Tight Junctions by Zonula Occludens Toxin and Its Eukaryotic Analogue Zonulin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 915(1), 214–22.
- Fasano, A. (2011). Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity and cancer. *Physiological Reviews*, 91(1), 151-175.
- Fasano, A. (2012). Intestinal permeability and its regulation by Zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10(10), 1096-1100.
- Fasano, A. (2012). Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1258(1), 25–33.
- Fasano, A. (2020). All disease begins in the (leaky) gut: role of Zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *Research*, 9(69).
- Fasano, A., Baudry, B., Pumphlin, D.W., Wasserman, S.S., Tall, B.D., Ketley, J.M., Kaper, J.B. (1991). *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(12), 5242-5246.

- Fasano, A., Not, T., Wang, W., Uzzau, S., Berti, I., Tommasini, A., ... Goldblum, S.E., (2000). Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet*, 355(9214), 1518-9.
- Fasano, A., Uzzau, S., Fiore, C., Margaretten, K. (1997). The enterotoxic effect of zonula occludens toxin on rabbit small intestine involves the paracellular pathway. *Gastroenterology*, 112(3), 839-846.
- Fegan, B., Rishmond, S. (2003). Epidemiology of inflammatory bowel disease. *The Clinician's Guide to Inflammatory Bowel Disease*, 1-6.
- Feldman, D., Krishnan, A.V., Swami, S. (2013). In Osteoporosis. *Elsevier Academic Press*, 283-329.
- Feldman, D., Krishnan, A.V., Swami, S., Giovannucci, E., Feldman, B.J. (2014). The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature Reviews Cancer*, 14, 342-57.
- Feng, D., Zou, J, Su, D., Mai, H., Zhang, S., Li, P., Zheng, X. (2019). Curcumin prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis in ApoE^{-/-} mice by improving intestinal barrier function and reducing endotoxin and liver TLR4/NF- κ B inflammation.. *Nutrition Metabolism (Londra)*, 15, 16-79.
- Fernández-Bañares, F., Hinojosa, J., Sánchez-Lombraña, J.L., Navarro, E., Martínez-Salmerón, J.F., García-Pugés, A., ... Gassull, M.A. (1999). Randomized clinical trial of *Plantago ovata* seeds (dietary fiber) as compared with mesalamine in maintaining remission in ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 94, 427-33.
- Fidan, K. (2016). *Ülseratif Kolitte Netrin-1 Düzeyinin Hastalığın Klinik Aktivitesindeki Önemi, TNF- α Ve IL-6 İle İlişkisi*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Fraser, I.D., Condon, R.E., Schulte, W.J., DeCosse, J.J., Cowles, V.E. (1981). Longitudinal muscle of muscularis externa in human and nonhuman primate colon. *The Archives of Surgery*, 116(1), 61-3.
- Friedman, S., Blumberg, R.S. (2012). Inflammatory Bowel Disease. In: Longo DL, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson JL, Loscalzo J. Harrison. *Principles of Internal Medicine*, 4961-83.
- Friedman, S.L., McQuaid, K.R., Grendell, J.H. (2003). Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology. *Second edition McGraw-Hill Company*, 108-130.
- Friedman, S.L., McQuaid, K.R., Grendell, J.H. (2007). İtihabi Barsak Hastalıkları. N. Osmanoğlu (Çev. Edt.), *Gastroenteroloji Tanı ve Tedavi içinde* (2. bs., s.108-130) Ankara: Güneş Kitabevi.

- Fries, W., Mazzon, E., Squarzone, S., Martin, A., Martines D., Micali A., ... Citi, S., Longo, G. (1999). Experimental colitis increases small intestine permeability in the rat. *Laboratory Investigation*, 79, 49–57.
- Froicu, M., Cantorna, M.T. (2007). Vitamin D and the vitamin D receptor are critical for control of the innate immune response to colonic injury. *BMC Immunology*, 8, 5–5.
- Fry, R.D., Kodner, I.J. (1985). Anorectal disorders. *CIBA Clinical Symposia*, 37, 6.
- Fumery, M., Dauchet, L., Vignal, C., Gower-Rousseau, C. (2014). Epidemiology, risk factors and factors associated with disabling course in inflammatory bowel disease. *Revue du Praticien*, 64(9), 1210-15.
- Funakoshi, K., Sugimura, K., Anezaki, K., Bannai, H., Ishizuka, K., Asakura, H. (1998). Spectrum of cytokine gene expression in intestinal mucosal lesions of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Digestion*, 59(1), 73-8.
- Furuse, M., Fujita, K., Hiiragi, T., Fujimoto, K., Tsukita, S. (1998). Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to Occludin. *Journal of Cell Biology*, 141, 1539–1550.
- Furuse, M., Hirase, T., Itoh, M., Nagafuchi, A., Yonemura, S., Tsukita, S., Tsukita, S. (1993). Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *Journal of Cell and Biology*, 123(6), 1777–1788.
- Galipeau, H.J., Verdu, E.F. (2016). The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. *Neurogastroenterology & Motility*, 28(7), 957-965.
- Galley, H.F., Webster, N.R. (2004). Physiology of the Endothelium. *British Journal of Anaesthesia*, 93, 105-113.
- Garland, C.F., Gorham, E.D., Lipkin, M., Newmark, H., Mohr, S.B., Holick, M.F., With, D. (2006). The Role of Vitamin D in Cancer Prevention. *American Journal of Public Health*, 96.
- Gassler, N., Rohr, C., Schneider, A., Kartenbeck, J., Bach, A., Obermuller, N., ... Autschbach, H.F. (2001). Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. *The American Journal of Physiology Gastrointestinal Liver Physiology*, 281, 216–228.
- Gastroenterology Organisation [WGO]. (2016). Inflammatory Bowel Disease, 2015. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27741097/> adresinden erişildi.
- Geremia, A., Jewell, D.P. (2012). The IL-23/IL-17 pathway in inflammatory bowel disease. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*, 6, 223–237.

- Ghosh, S.S., Bie, J., Wang, J., Ghosh, S. (2014). Oral Supplementation with Non-Absorbable Antibiotics or Curcumin Attenuates Western Diet-Induced Atherosclerosis and Glucose Intolerance in LDLR^{-/-} Mice – Role of Intestinal Permeability and Macrophage Activation. *Plos One*, 9(9), e108577.
- Gibson, P.R., Van de Pol, E., Barratt, P.J., Doe, W.F. (1988). Ulcerative colitis--a disease characterised by the abnormal colonic epithelial cell? *Gut*, 29(4), 516-21.
- Gil, A. (2002). Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomed Pharmacother*, 56, 388-96.
- Gilat, T., Grossman, A., Fireman, Z., Rozen, P. (1986). The genetics and epidemiology of inflammatory bowel disease. *Karger*, 84-8.
- Gilbert, R, Martin, R.M., Fraser, W.D., Lewis, S., Donovan, J., Hamdy, F., Neal, D.E., Lane, J.A., Metcalfe, C. (2012). Predictors of 25-hydroxyvitamin D and its association with risk factors for prostate cancer: evidence from the prostate testing for cancer and treatment study. *Cancer Causes and Control*, 23, 575–588.
- Godoi, D.F., Cardoso, C.R., Ferraz, D.B., Provençatto, P.R., Cunha, F.Q., Silva, J.S., Voltarelli, J.C. (2010). Hematopoietic SCT modulates gut inflammation in experimental inflammatory bowel disease. *Bone Marrow Transplant*, 45, 1562–1571.
- Goldmann, L., Ausiello, D. (2011). Goldman-Cecil Medicine. A. Sonsuz (Ed.), *Ülseratif kolit içinde* (23. bs., ss. 1044-50). İstanbul: Güneş Tıp Kitabevi.
- Gonzalez, R., Medina, F.S., Martinez-Augustin, O., Nieto, A., Galvez, J., Risco, S. (2004). Anti inflammatory effect of diosmectite in hapten-induced colitis in the rat. *The British Journal of Pharmacology*, 141, 951-60.
- Göktürk, S., Karaca, Ç. (2012). İnflamatuvar bağırsak hastalıkları epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Gastroenterohepatol-Special Topics*, 5(3), 11-6.
- Göral, V., Celenk, T., Kaplan, A., Sit, D. (2007). Plasma cytokine levels in ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology*, 54(76), 1130-3.
- Gözükara, E.M. (2011). Biyokimya. E.M. Gözükara (Ed.), *Sitokinler içinde* (5. bs., ss: 881-89). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Grootjans, J., Thuijls, G., Verdam, F., Deriks, J.P.M., Lenaerts, K., Buurman, W.A. (2010). Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2, 61-69.
- Groschwitz, K.R., Hogan, S.P. (2009). Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 124, 3-20.

- Guan, Q., Zhang, J. (2017). Recent advances: The imbalance of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Mediators Inflammation*, 481-258.
- Gubatan, J., Mitsuhashi, S., Zenlea, T., Rosenberg, L., Robson, S., Moss, A.C. (2017). Low Serum Vitamin D During Remission Increases Risk of Clinical Relapse in Patients With Ulcerative Colitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 15(2), 240-246.
- Gubatan, J., Mitsuhashi, S., Longhi, M.S., Zenlea, T., Rosenberg, L., Robson, S., Moss, A.C. (2018). Higher serum vitamin D levels are associated with protective serum cytokine profiles in patients with ulcerative colitis. *Cytokine*, 103, 38-45.
- Guo, X., Rao, J.N., Liu, L., Zou, T., Keledjian, K.M., Boneva, D., ... Wang, J.Y. (2005). Polyamines are necessary for synthesis and stability of Occludin protein in intestinal epithelial cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288, 1159-1169.
- Guslandi, M. (2003). Probiotics for chronic intestinal disorders. *The American Journal of Gastroenterology*, 98(3), 520-1.
- Guyton, A.C., Hall, J.E. (2013). *Textbook of medical physiology tıbbi fizyoloji*. Ç. Yeğen (Ed.), *Sindirim Sistemi Fizyolojisi içinde* (12. bs., ss. 100-900). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Güder, F. (2011). *Kurkuminin Barsaklardan İlaç Absorpsiyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 280(1), 1-8.
- Halme, L., Paavola-Sakki, P., Turunen, U., Lappalainen, M., Färkkilä, M., Kontula, K. (2006). Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 12(23), 3668-3672.
- Hanai, H., Iida, T., Takeuchi, K., Uchijima, M., Nagata, T., Koide, Y. (2006). Curcumin Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis: Randomized, Multicenter, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4(12), 1502-1506.
- Hanauer, S.B. (2005). Sandborn WJ, Kornbluth A, et al. Delayed-release oral mesalamine at 4.8 g/day (800 mg tablet) for the treatment of moderately active ulcerative colitis: the ASCEND II trial. *The American Journal of Gastroenterology*, 100, 2478-85.
- Hanauer, S.B., Hommes, D.W. (2010). Inflammatory bowel disease. *Expert Review Clinical Immunology*, 6(4), 499-500.

- Hasan, S.T., Zingg, J.M., Kwan, P., Noble, T., Smith, D., Meydani, M. (2014). Curcumin modulation of high fat diet-induced atherosclerosis and steatohepatosis in LDL receptor deficient mice. *Atherosclerosis*, 232(1), 40-51.
- Hassan, V., Hassan, S., Seyed-Javad, P., Ahmad, K., Asieh, H., Maryam, S. ... Siavash, A. (2013). Association between Serum 25 (OH) Vitamin D Concentrations and Inflammatory Bowel Diseases (IBDs) Activity. *Medical Journal of Malaysia*, 68(1), 34-8.
- Heller, F., Florian, P., Bojarski, C., Richter, J., Christ, M., Hillenbrand, B., ... Schulzke, J.D. (2005). Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis and cell restitution. *Gastroenterology*, 129, 550-564.
- Hermiston, M.L., Gordon, J.I. (1995). In vivo analysis of cadherin function in the mouse intestinal epithelium: essential roles in adhesion, maintenance of differentiation, and regulation of programmed cell death. *Journal of Cell Biology*, 129(2), 489-506.
- Hibi, T., Ogata, H. (2006). Novel pathophysiological concepts of inflammatory bowel disease. *Journal of Gastroenterology*, 41(1), 10-6.
- Hlavaty, T., Krajcovicova, A., Payer, J. (2015). Vitamin D therapy in inflammatory bowel diseases: who, in what form, and how much? *Journal of Crohn's and Colitis*, 9(2), 198-209.
- Holick, M.F. (2007). This is an extensive review of vitamin D synthesis, metabolism and action, with a focus on the causes and extent of worldwide vitamin D deficiency. *The New England Journal of Medicine*, 357, 266–281.
- Hossen, I., Hua, W., Ting, L., Mehmood, A., Jingyi, S., Duoxia, X., ... Junsong, X. (2019). Phytochemicals and inflammatory bowel disease: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7, 1-25.
- Hur, S.J., Kang, S.H., Jung, H.S., Kim, S.C., Jeon, H.S., Kim, I.H., Lee, J.D. (2012). Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease. *Nutrition Research*, 32(11), 801-816.
- Hyams, J.S., Fitzgerald, J.E., Wyzga, N., Treen, W.R., Justinich, C.J., Kreutzer D.L. (1994). Characterization of circulating interleukin-1 receptor antagonist expression in children with inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 39, 1893-1899.
- Ikenouchi, J., Furuse, M., Furuse, K., Sasaki, H., Tsukita, S. (2005). Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *Journal of Cell Biology*, 171, 939–945.

- Imielinski, M., Hakonarson, H. (2010). Breaking new ground in inflammatory bowel disease genetics: genome-wide association studies and beyond. *Pharmacogenomics*, 11(5), 663-5.
- Irvine, E.J. (2001). A critical review of epidemiologic studies in inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 36, 2-15.
- Jenkins, A.P., Nukajam, W.S., Menzies, I.S. ve Creamer, B. (1992). Simultaneous administration of lactulose and 51Cr-ethylenediaminetetraacetic acid. A test to distinguish colonic from small-intestinal permeability change. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 27(9), 769-73.
- Jimison, L.H., Tria, S.A., Khodagholy, D., Gurfinkel, M., Lanzarina, E., Hama, A., ... Owens, R.M. (2012). Measurement of barrier tissue integrity with an organic electrochemical transistor. *Advanced Materials*, 24, 5919-5923.
- Johansson, M.E., Gustafsson, J.K., Holmén-Larsson, J., Jabbar, K.S., Xia, L., Xu, H., ... Hansson, G.C. (2014). Bacteria penetrate the normally impenetrable inner colon mucus layer in both murine colitis models and patients with ulcerative colitis. *Gut*, 63(2), 281-291.
- John, S., Luben, R., Shrestha, S.S., Welch, A., Khaw, K.T., Hart, A.R. (2010). Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and the aetiology of ulcerative colitis: a UK prospective cohort study. *European Journal of Gastroenterology Hepatology*, 22(5), 602-606.
- Jostins, L., Ripke, S., Weersma, R.K., Duerr, R.H., McGovern, D.P., Hui, K.Y., ... Cho, J.H. (2012). Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*, 491(7422), 119-24.
- Judge, T.A., Lichtenstein, GR. (2003). *Inflammatory bowel disease: Current diagnosis and treatment in gastroenterology*. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2, 108-30.
- Kaya, M.N. (2018). *Ülseratif Kolit Hastalık Aktivasyon Düzeyi ile D Vitamini Düzeyi Arasındaki Korelasyon*. İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi, Balıkesir.
- Khoo, A.L., Chai, L.Y., Koenen, H.J., Sweep, F.C., Joosten, I., Netea, M.G., Van der Ven A.J.A.M. (2011). Regulation of cytokine responses by seasonality of vitamin D status in healthy individuals. *Clinical and Experimental Immunology*, 164, 72-79.
- Klement, E., Reif, S. (2005). Breastfeeding and risk of inflammatory bowel disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82(2), 486.

- Kocakaya, O. (2009). Glukagon benzeri peptid-2'nin deneysel artrit modelinde intestinal permeabilite ve gastrointestinal inflamasyon üzerindeki etkileri. Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- Koch, T.R., Yuan, L.X., Stryker, S.J., Ratliff, P., Telford, G.L., Opara, E.C. (2000). Total antioxidant capacity of colon in patients with chronic ulcerative colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(9), 1814-9.
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., Kuchroo, V.K. (2009). IL-17 and Th17 Cells. *Annual Review of Immunology*, 27, 485–517.
- Kornbluth, A., Sachar, D.B. (2010). Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *The American Journal of Gastroenterology*, 105(3), 50123-524.
- Koutrobakis, I.E., Ulachonikolis, I.G. (2000). Appendectomy and the development of ulcerative colitis; results of a meta-analysis of published case-control studies. *The American Journal of Gastroenterology*, 95(1), 171-176.
- Köseler, E., Metin, S., Saka, M. (2014). Gastrointestinal Sistem Hastalıkları ve Beslenme Tedavisi. A.E. Tüfekçi (Ed.), *Hastalıklarda Beslenme Tedavisi* içinde (168 bs., ss:541-639). Ankara: Hatiboğlu Yayınları.
- Krawisz, J.E., Sharon, P., Stenson, W.F. (1984). Quantitive assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assesment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology*, 87(6), 1344-50.
- Kress, W.J., Prince, L.M., Williams, K.J. (2002). The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *American Journal of Botany*, 89 (10), 1682-1696.
- Kucharzik, T., Walsh, S.V., Chen, J., Parkos, C.A., Nusrat, A. (2001). Neutrophil transmigration in inflammatory bowel disease is associated with differential expression of epithelial intercellular junction proteins. *The American Journal of Pathology*, 159, 2001-2009.
- Kumar, S., Ahuja, V., Sankar, M.J., Kumar, A., Moss, A.C. (2012). Curcumin for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 17, 10.
- Kusugami, K., Fukatsu, A., Tanimoto, M., Shinoda, M., Haruta, J.I., Kuroiwa, A., ... Sarai, S. (1995). Elevation of interleukin-6 in inflammatory bowel disease is macrophage- and epithelial cell-dependent. *Digestive Disease and Sciences*, 40, 949–959.

- Lakatos, P.L., Lakatos, L., Kiss, L.S., et al. (2012). Treatment of extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *Digestion*, 86(1), 28-35.
- Lamprecht, M., Frauwallner, A. (2012). Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. *Medicine and Sport Science*, 59, 47-56.
- Lang, A., Salomon, N., Wu, J.C.Y., Kopylov, U., Lahat, A., Har-Noy, O., ... Ben-Horin, S. (2015). Curcumin in Combination With Mesalamine Induces Remission in Patients With Mild-to-Moderate Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Clinical of Gastroenterology Hepatology*, 13(8), 1444-9.
- Langhorst, J., Elsenbruch, S., Mueller, T., Rueffer, A., Spahn, G., Michalsen, A., Dobos, G.J. (2005). Comparison of 4 neutrophil-derived proteins in feces as indicators of disease activity in ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 11, 1085-1091.
- Lee, J.C. (2012). Predicting the course of IBD: light at the end of the tunnel. *Digestive Diseases*, 30, 95-99.
- Lee, S.H. (2015). Intestinal Permeability Regulation by Tight Junction: Implication on Inflammatory Bowel Diseases. *Intestinal Research*, 13(1), 11–18.
- Leslie, W.D., Miller, N., Rogala, L., Bernstein, C.N. (2008). Vitamin D status and bone density in recently diagnosed inflammatory bowel disease: the Manitoba IBD Cohort Study. *American Journal of Gastroenterology*, 103, 1451–1459.
- Liang, L., Dong, C., Chen, X., Fang, Z., Xu, J., Liu, M., ... Han, Z.C. (2011). Human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate mice trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis. *Cell Transplant*, 20, 1395-1408.
- Lichtenstein, G.R., Abreu, M.T., Cohen, R., Tremaine, W. (2006). American Gastroenterological Association Institute technical review on corticosteroids, immunomodulators, and infliximab in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 130(3), 940-87.
- Lim, W.C., Hanauer, S.B., Li, Y.C. (2005). Mechanisms of disease: vitamin D and inflammatory bowel disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, 2, 308-315.
- Lin, J.F., Chen, J.M., Zuo, J.H., Yu, A., Xiao, Z.J., Deng, F.H., Nie, B., Jiang, B. (2014). Meta-analysis: fecal calprotectin for assessment of inflammatory bowel disease activity. *Inflamm Bowel Dis*, 20, 1407-15.
- Liu, Y., Nusrat, A., Schnell, F.J., Reaves, T.A., Walsh, S., Pochet, M., Parkos, C.A. (2000). Human junction adhesion molecule regulates tight junction resealing in epithelia. *Journal of Cell Science*, 113, 2363–2374.

- Liverani, E., Scaioli, E., Digby, R.J., Bellanova, M., Belluzzi, A. (2016). How to predict clinical relapse in inflammatory bowel disease patients. *World Journal of Gastroenterology*, 22(3), 1017-1033.
- Lobo de Sá, F.D., Butkevych, E., Natramilarasu, P.K., Fromm, A., Mousavi, S., Moos, V., ... Bücker, R. (2019). Curcumin Mitigates Immune-Induced Epithelial Barrier Dysfunction by *Campylobacter jejuni*. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4830.
- Loftus, E.V. (2004). Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*; 126(6), 1504-1517.
- Louis, E. (2001). The immuno-inflammatory reaction in Crohn's disease and ulcerative colitis: characterisation, genetics and clinical application. Focus on TNF alpha. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*, 64, 1-5.
- Luyer, M.D., Greve, J.W., Hadfoune, M., Jacobs, J.A., Dejong, C.H., Buurman, W.A. (2005). Nutritional stimulation of cholecystokinin receptors inhibits inflammation via the vagus nerve. *Journal of Experimental Medicine*, 202, 1023-1029.
- Ma, T.Y., Anderson, J.M. (2006). Tight junctions and the intestinal barrier. In: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 53, 587-639.
- Ma, T.Y., Boivin, M.A., Ye, D., Pedram, A., Said, H.M. (2005). Mechanism of TNF- α modulation of Caco-2 intestinal epithelial tight junction barrier: role of myosin light-chain kinase protein expression. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology*, 288, 422–430.
- Ma, T.Y., Iwamoto, G.K., Hoa, N.T., Akotia, V., Pedram, A., Boivin, M.A., Said, H.M. (2004). TNF-alpha-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF-kappa B activation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology*, 286, 367–376.
- Ma, T.Y., Nighot, P., Al-Sadi, R. (2018). Tight junctions and the intestinal barrier. *Physiology of the Gastrointestinal Tract:Elsevier*, 6(53), 587-639.
- Madretsma, S., Wolters, L.M, Van Dijk, J.P. (1996). In-vivo effect of nicotine on cytokine production by human non-adherent mononuclear cells. *European J ournal of Gastroenterology and Hepatology*, 8, 1017-20.
- Mankertz, J., Amasheh, M., Krug, S.M., Fromm, A., Amasheh, S., Hillenbrand, S.T., ... Schulzke, J.D. (2009). TNF- α up-regulates Claudin-2 expression in epithelial HT-29/B6 cells via phosphatidylinositol-3-kinase signaling. *Cell and Tissue Research*, 336, 67–77.

- Mankertz, J., Tavalali, S., Schmitz, H., Mankertz, A., Riecken, E.O., Fromm, M., Schulzke, J.D. (2000). Expression from the human Occludin promoter is affected by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma. *Journal of Cell Science*, 113(11), 2085-2090.
- Maradana, M.R., Thomas, R., O'Sullivan, B.J. (2013). Targeted delivery of curcumin for treating type 2 diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57, 1550-1556.
- Markov, A.G., Veshnyakova, A., Fromm, M., Amasheh, M., Amasheh, S. (2010). Segmental expression of Claudin proteins correlates with tight junction barrier properties in rat intestine. *Journal of Comparative Physiology B*, 180, 591-598.
- Marshall, J.C., Christou, N.V., Meakins, J.L. (1993). The gastrointestinal tract. The "undrained abscess" of multiple organ failure. *Annals of Surgery*, 218, 111-119.
- Marshall, J.K., Irvine, E.J. (1997). Rectal corticosteroids versus alternative treatments in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut*, 40, 775-81.
- Martinez, F.O., Sica, A., Mantovani, A., Locati, M. (2008). Macrophage activation and polarization. *Frontiers in Bioscience*, 13, 453-461.
- Martin-Herranz, A., Salinas-Hernández, P. (2015). Vitamin D supplementation review and recommendations for women diagnosed with breast or ovary cancer in the context of bone health and cancer prognosis/risk. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 96, 91-99.
- Martin-Padura, I., Lostaglio, S., Schneemann, M., Williams, L., Romano, M., Fruscella P., ... Dejana, E. (1998). Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *Journal of Cell Biology*, 142, 117-127.
- Masahi, O., Nishida, A., Sugitani, Y., Nishino, K., Inatomi, O., Sugimoto, M., ... Andoh, A. (2017). Nanoparticle curcumin ameliorated experimental colitis via modulation of gut microbiota and induction of regulatory T cells. *Plos One*, 12, e0185999.
- Matter, K., Balda, M.S. (2003). Signalling to and from tight junctions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4, 225-236.
- Meddings, J.B., Sutherland, L.R., Byles, N.I., Wallace, J.L. (1993). Sucrose: a novel permeability marker for gastroduodenal disease. *Gastroenterology*, 104(6), 1619-26.
- Mellanby, E. (1919). An experimental investigation on rickets. *The Lancet*, 1, 407-412.
- Menekşe, E. (2007). *Deneyisel kolit modeli üzerine 3-amino benzamid'in kolon patlama basıncı üzerine etkisi*. Uzmanlık Tezi. Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara.

- Midura-Kiela, M.T., Radhakrishnan, V.M., Larmonier, C.B., Laubitz, D., Ghishan, F.K. (2012). Curcumin, kolonik epitel hücrelerinde interferon-sinyalini inhibe eder. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology*, 302, 85–96.
- Mizoguchi, A. (2012). Animal models of inflammatory bowel disease. In: Progress in molecular biology and translational science. *Academic Press*, 263-320.
- Molodecky, N.A., Soon, I.S., Rabi, D.M., Ghali, W.A., Ferris, M., Chernoff, G., ... Kaplan, G.G. (2012). Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*, 142(1), 46-54.
- Mukhopadhyay, A., Basu, N., Ghatak, N., Gujral, P.K. (1982). Anti-inflammatory and irritant activities of curcumin analogues in rats. *Agents and Actions*, 12(4), 508-515.
- Murata, Y., Ishiguro, Y., Itoh, J., Munakata, A., Yoshida, Y. (1995). The role of proinflammatory and immunoregulatory cytokines in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Journal of Gastroenterology*, 30(8), 56-60.
- Napoli, J.L., Fivizzani, M.A., Schnoes, H.K., Deluca, H.F. (1979). Synthesis of vitamin D5:its biological activity relative to vitamins D3 and D2. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 197, 119-125.
- Naruszewicz, M. (2009). Chronic intake of potato chips in humans increases the production of reactive oxygen radicals by leukocytes and increases plasma C-reactive protein: a pilot study. *The American journal of clinical nutrition*, 89(3), 773-777.
- Nerich, V., Jantchou, P., Boutron-Ruault, M.C., Monnet, E., Weill, A., Vanbockstael, V., ... Carbonnel, F. (2011). Low exposure to sunlight is a risk factor for Crohn's disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 33, 940-945.
- Ness, R.A., Miller, D.D., Wei, L.I. (2015). The role of vitamin D in cancer prevention. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 13(7), 0481-0497.
- Nicholso, I., Dalzell, A.M., El-Matary, W. (2012). Vitamin D as a therapy for colitis: a systematic review. *Journal of Crohns Colitis*, 6(4), 405-411.
- Nicholson, I., Dalzell, A.M., El-Matary, W. (2012). Vitamin D as a therapy for colitis: A systematic review. *Journal of Crohn's and Colitis*, 6(4), 405–411.
- Nieto, N., Torres, M.I., Fernández, M.I., Girón M.D., Ríos, A., Suarez, M.D., Gil, A. (2000). Experimental ulcerative colitis impairs antioxidant defense system in rat intestine. *Digestive Diseases and Sciences*, 45, 1820–1827.
- Nighat, Y.S., Jain, M., Kapil, U., Seenu, V., Kamal, V.K., Pandey, R.M. (2016). Nutritional risk factors and status of serum 25(OH)D levels in patients with breast cancer: A case

- control study in India. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 175, 55-59.
- Norris, D.A., Puri, N., Sinko, P.J. (1998). The effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 34, 135-154.
- Noth, R., Lange-Grumfeld, J., Stüber, E., Kruse M.L., Ellrichmann, M., Häslér, R., ... Arlt, A. (2011). Increased intestinal permeability and tight junction disruption by altered expression and localization of Occludin in a murine graft versus host disease model. *BMC Gastroenterology*, 11, 109.
- Nusrat, A.1., Turner, J.R., Madara, J.L. (2000). Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions. IV. Regulation of tight junctions by extracellular stimuli: nutrients, cytokines, and immune cells. *American Journal of Physiology Gastrointest Liver Physiology*, 279(5), 851-7.
- Oberholzer, A., Oberholzer, C., Moldawer, L.L. (2000). Cytokine signaling regulation of the immune response in normal and critically ill states. *Critical Care Medicine*, 28, 3-12.
- Okumuş, E.Ü., (2019). *Ülseratif kolit olgularının aktivasyon takibinde fekal kalprotektin değerinin endoskopik aktivite skorlaması ile karşılaştırılması*. Tıpta Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.
- Olmedo-Martín, R.V., González-Molero, I., Olveira, G., Amo-Trillo, V., Jiménez-Pérez, M. (2019). Vitamin D in Inflammatory Bowel Disease: Biological, Clinical and Therapeutic Aspects. *Current Drug Metabolism*, 20(5), 390-398.
- Ordas, I., Rimola, J., Rodriguez, S., Gallego, M., Ricart, E., Panes, J. (2012). Imaging of the colon in inflammatory bowel disease: ready for prime time? *Current Drug Targets*, 13(10), 1252-60.
- O'Sullivan, M. (2015). Vitamin D as a novel therapy in inflammatory bowel disease: new hope or false dawn? *Proceedings of the Nutrition Society*, 74(1), 5-12.
- Özarıslan, Ç. (2020). *4-Nonilfenol maruziyetinin wistar albino sıçanlarda spermatogenez üzerine yapısal ve fonksiyonel etkileri: curcumin'in koruyucu rolü*. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak.
- Özgün, E., Özgün, G.S., Eskiocak, S., Yalçın, O., Gökmen, S.S. (2013). Effect of L-carnitine on serum paraoxonase, arylesterase and lactonase activities and oxidative status in experimental colitis. *Turkish Journal of Biochemistry*, 38(2), 145-153.
- Özkan, B., Döneray, H. (2011). D Vitaminin iskelet sistemi dışı etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 54, 99-119.

- Paradisi, A., Maisse, C., Coissieux, M.M., Gadot, N., Lepinasse, F., Delloye-Bourgeois, C., ... Mehlen, P. (2009). Netrin-1 up-regulation in inflammatory bowel diseases is required for colorectal cancer progression. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 106(40), 17146–17151.
- Parizadeh, S.M., Jafarzadeh-Esfehani, R., Hassanian, S.M., Mottaghi-Moghaddam, A., Ghazaghi, A., Ghandehari, M., ... Avan, A. (2019). Vitamin D in inflammatory bowel disease: From biology to clinical implications. *Complementary Therapies in Medicine*, 47, 102189.
- Peker, D.M. (2016). *Ülseratif kolit ve crohn hastalığı aktivite indeksi ile anksiyete, depresyon arasındaki ilişki*. Uzmanlık Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon.
- Pereira, C., Gracio, D., Teixeira, J.P., Magro, F. (2015). Oxidative stress and DNA damage: Implications in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(10), 2403-17.
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- Pieczenik, S.R., Neustadt, J. (2007). Mitochondrial dysfunction and molecular pathways of disease. *Experimental and Molecular Pathology*, 83, 84-92.
- Pludowski, P., Michael, F.H., William, B.G., Jerzy, K., Mario, R.M., Afrozul, H., ... Sunil J.W. (2016). Vitamin D supplementation guidelines. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*.
- Pulido-Moran, M., Moreno-Fernandez, J., Ramirez-Tortosa, C., Ramirez-Tortosa, M. (2016). Curcumin and health. *Molecules*, 21(3), 264.
- Pullan, R.D., Thomas, G.A., Rhodes, M., Newcombe, R.G., Williams, G.T., Allen, A., Rhodes, J. (1994). Thickness of adherent mucus gel on colonic mucosa in humans and its relevance to colitis. *Gut*, 35, 353-359.
- Qin, H.Y., Wu, J.C., Tong, X.D., Sung, J.J., Xu, H.X., Bian, Z.X. (2011). Systematic review of animal models of post-infectious/postinflammatory irritable bowel syndrome. *Journal of Gastroenterology*, 46, 164-174.
- Rachmilewitz, D. (1989). Coated mesalazine (5-aminosalicylic acid) versus sulphasalazine in the treatment of active ulcerative colitis: a randomised trial. *BMJ*, 14, 298, 82-86.
- Radhakrishna, R. (2009). Occludin phosphorylation in regulation of epithelial tight junctions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1165, 62–68.
- Raftery, T., O'Morain, C., O'Sullivan, M. (2012). Vitamin D: new roles and therapeutic potential in inflammatory bowel disease. *Current Drug Metabolism*, 10.

- Raftery, T., Martineau, A.R., Greiller, C.L., Ghosh, S., McNamara, D., Bennett, K., ... O'Sullivan, M. (2015). Effects of vitamin D supplementation on intestinal permeability, cathelicidin and disease markers in Crohn's disease: Results from a randomised double-blind placebo-controlled study. *United European Gastroenterology Journal*, 3(3), 294-302.
- Raleigh, D.R., Marchiando, A.M., Zhang, Y., Shen, L., Sasaki, H., Wang, Y., Long, M., Turner, J.R. (2010). Tight junction-associated MARVEL proteins marveld3, Tricellulin, and Occludin have distinct but overlapping functions. *Mol Biol Cell*, 21, 1200-1213.
- Randhawa, P.K., Singh, K., Singh, N., Jaggi, A.S. (2014). A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. *Korean Journal of Physiology Pharmacology*, 18, 279-288.
- Rauf, A., Imran, M., Orhan, I.E., Bawazeer, S. (2018). Health perspectives of a bioactive compound curcumin: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 74, 33-45.
- Retsky, J.E., Kraft, S.C. (1995). The extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Disease*, 474-91.
- Richman, E., Rhodes, J.M. (2013). Evidence-based dietary advice for patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 38(10), 1156-1171.
- Rizzo, A., Pallone, F., Monteleone, G., Fantini, M.C. (2011). Intestinal inflammation and colorectal cancer: a double-edged sword? *World Journal Gastroenterology*, 17(26), 3092-100.
- Robbins, D., Zhao, Y. (2011). The role of manganese superoxide dismutase in skin cancer. *Enzyme Research*. doi:10.4061/2011/409295.
- Roda, G., Marocchi, M., Sartini, A., Roda, E. (2011). Cytokine networks in ulcerative colitis. *Ulcers*, 391787.
- Ross, M.H., Pawlina, J.L. (2014). *Histology A Text and Atlas: Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. B. Baykal (Ed.), *Gastrointestinal Sistem Histolojisi* içinde (6. bs., ss. 622-626). Palme Yayıncılık: İstanbul.
- Rossato, M., Curtale, G., Tamassia, N., Castellucci, M., Mori, L., Gasperini, S. ... Bazzoni, F. (2012). IL-10-induced microRNA-187 negatively regulates TNF-alpha, IL-6, and IL-12p40 production in TLR4-stimulated monocytes. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 109, 3101-3110.

- Saibeni, S., Folli, C., de Franchis, R., Borsi, G., Vecchi, M. (2003). Diagnostic role and clinical correlates of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) in Italian patients with inflammatory bowel diseases. *Digestive Liver Disease*, 35(12), 862-8.
- Saitou, M., Fujimoto, K., Doi, Y., Itoh, M., Fujimoto, T., Furuse, M., ... Tsukita, S. (1998). Occludin-deficient Embryonic Stem Cells Can Differentiate into Polarized Epithelial Cells Bearing Tight Junctions. *Journal of Cell Biology*, 141, 397-408.
- Saitou, M., Furuse, M., Sasaki, H., Schulzke, J.D., Fromm, M., Takano, H., ... Tsukita, S. (2000). Complex Phenotype of Mice Lacking Occludin, a Component of Tight Junction Strands. *Molecular Biology of the Cell*, 11(12), 4131-4142.
- Sakamoto, N., Kono, S., Wakai, K., Fukuda, Y., Satomi, M., Shimoyama, T., ... Tanaka, H. (2005). Epidemiology Group of the Research Committee on Inflammatory Bowel Disease in Japan. Dietary risk factors for inflammatory bowel disease: a multicenter case-control study in Japan. *Inflammatory Bowel Disease*, 11(2), 154-163.
- Sakthivel, K.M., Guruvayoorappan, C. (2013). Amentoflavone inhibits iNOS, COX-2 expression and modulates cytokine profile, NF- κ B signal transduction pathways in rats with ulcerative colitis. *International Immunopharmacology*, 17(3), 907-916.
- Salem, M., Rohani, S., Gillies, E.R. (2014). Curcumin, a promising anti-cancer. *The Royal Society of Chemistry Advances*, 21(4), 10815–10829.
- Sartor, R.B. (1994). Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiologic and clinical considerations. *Gastroenterology*, 106, 533-539.
- Sartor, R.B. (1997) Pathogenesis and immune mechanisms of chronic inflammatory bowel diseases. *The American Journal of Gastroenterology*, 92, 5-11.
- Satsangi, J., Grootcholten, C., Holt, H., Jewell, D.P. (1996). Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. *Gut*, 38(5), 738-41.
- Schmitz, H., Barmeyer, C., Fromm, M., Runkel, N., Foss, H.D., Bentzel, C.J., ... Schulzke, J.D. (1999). Altered tight junction structure contributes to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 116(2), 301-309.
- Schneeberger, E.E., Lynch, R.D. (2004). The tight junction: a multifunctional complex. *American Journal of Physiology Cell Physiology*, 286, 1213–1228.
- Schultz, C., Van Den Berg, F.M., Ten Kate, F.W., Tytgat, G.N., Dankert, J. (1999). The intestinal mucus layer from patients with inflammatory bowel disease harbors high numbers of bacteria compared with controls. *Gastroenterology*, 117(5), 1089-97.

- Seksik, P., Sokol, H., Lepage, P., Vasquez, N., Manichanh, C., Mangin, I., ... Marteau, P. (2006). Review article: the role of bacteria in onset and perpetuation of inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 24(3), 11-8.
- Shab-Bidar, S., Neyestani, T.R., Djazayeri, A., Eshraghian, M.R., Houshiarrad, A., Kalayi, A., ... Gharavi, A. (2012). Improvement of vitamin D status resulted in amelioration of biomarkers of systemic inflammation in the subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*, 28(5), 424-430.
- Shan, M., Gentile, M., Yeiser, J.R., Walland, A.C., Bornstein, V.U., Chen, K., ... Cerutti, A. (2013). Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science*, 342, 447-453.
- Sharifi, A., Vahedi, H., Nedjat, S., Rafiei, H., Hosseinzadeh-Attar, M.J. (2019). Effect of single-dose injection of vitamin D on immune cytokines in ulcerative colitis patients: a randomized placebo-controlled trial. *Wiley Online Library, Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*, 127(10), 681-687.
- Shen, L., Turner, J.R. (2006). Role of epithelial cells in initiation and propagation of intestinal inflammation. Eliminating the static: tight junction dynamics exposed. *The American Journal of Physiology Gastrointestinal Liver Physiology*, 290, 577-582.
- Shen, S.Q., Zhang, Y., Xiang, J.J., Xiong, C.L. (2007). Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *World Journal of Gastroenterology*, 13(13), 1953-1961.
- Shih, D.Q., Targan, S. (2008). Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 14(3), 390-400.
- Silverberg, M.S., Mirea, L., Bull, S.B., Murphy, J.E., Steinhart, A.H., Greenberg, G.R., ... Siminovich, K.A. (2003). A population-and family-based study of Canadian families reveals association of HLA DRB1*0103 with colonic involvement in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Disease*, 9(1), 1-9.
- Singla, V., Mouli, V.P., Garg, S.K., Rai, T., Choudhury, B.N., Verma, P., ... Ahuja, V. (2014). Induction with NCB-02 (curcumin) enema for mild-to-moderate distal ulcerative colitis - a randomized, placebo-controlled, pilot study. *Journal of Crohn's Colitis*, 8(3), 208-14.
- Song, W.B., Wang, Y.Y., Meng, F.S., Zhang, Q.H., Zeng, J.Y., Xiao, L.P., ... Zhang, Z.H. (2010). Curcumin Protects Intestinal Mucosal Barrier Function of Rat Enteritis via Activation of MKP-1 and Attenuation of p38 and NF- κ B Activation. *Plos One*, 24.

- Sood, A., Midha, V., Makharia, G.K., Ahuja, V., Singal, D., Goswami, P., ... Tandon, R.K. (2009). The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clinical of Gastroenterology Hepatology*, 7, 1202-1209.
- Soufli, I., Toumi, R., Rafa, H., Touil-Boukoffa, C. (2016). Overview of cytokines and nitric oxide involvement in immuno-pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 7, 353-60.
- Soylu, S. (2019). *Zerdaçal (Curcuma Longa L.) Bitkisinin Kimyasal Bileşiminin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.
- Söderholm, J.D., Peterson, K.H., Olaison, G., Franzén, L.E., Weström, B., Magnusson, K.E., Sjö Dahl, R. (1999). Epithelial permeability to proteins in the noninflamed ileum of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 117, 65–72.
- Spitz, J., Hecht, G., Taveras, M., Aoy, E., Alverdy, J. (1994). The Effect of Dexamethasone Administration on Rat Intestinal Permeability: The Role of Bacterial Adherence. *Gastroenterology*, 106, 35-41.
- Sreejayan, N., Rao, M.N.A., Priyadarsini, K.I., Devasagayam, T.P.A. (1997). *International Journal of Pharmacology*, 151, 127–130.
- Stallmach, A., Giese, T., Schmidt, C., Ludwig, B., Mueller-Molaian, I., Meuer, S.C. (2004). Cytokine/chemokine transcript profiles reflect mucosal inflammation in Crohn's disease. *International Journal of Colorectal Disease*, 19, 308–315.
- Stenson, W.B., Hanauer, S.B., Cohen, R.D. (2009). Inflammatory bowel disease. *Textbook of Gastroenterology*, 1386-472.
- Stenson, W.F. (2014). The universe of arachidonic acid metabolites in inflammatory bowel disease: can we tell the good from the bad? *Current Opinion in Gastroenterology*, 30, 347-51.
- Stenson, W.F., Korzenik, J., Yamada, T., Alpers, D.H., Kaplowitz, N., Laine, L., ... Powell, D.W. (2003). *Text-Book of Gastroenterology*, 1699-759.
- Stio, M., Retico, L., Annese, V., Bonanomi, A.G. (2016). Vitamin D regulates the tight-junction protein expression in active ulcerative colitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 51(10), 1193-1199.
- Sturgeon, C., Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*, 4(4): 1251-384.

- Suenaert, P., Bulteel, V., Lemmens, L., Noman, M., Geypens, B., Assche, V.G., ... Rutgeerts, P. (2002). Anti-tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. *American Journal of Gastroenterology*, 97(8), 2000-2004.
- Sugimoto, K., Hanai, H., Tozawa, K., Aoshi, T., Uchijima, M., Nagata, T., Koide, Y. (2002). Curcumin ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis in mice. *Gastroenterology*, 123, 1912-1922.
- Suzuki, T. (2013). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cellular and Molecular Life Science*, 70, 631-659.
- Suzuki, T., Yoshinaga, N., Tanabe, S. (2011). Interleukin-6 (IL-6) regulates Claudin-2 expression and tight junction permeability in intestinal epithelium. *Journal of Biological Chemistry*, 286(312), 63–31271.
- Şahbazoğlu, T. (2017). *Remisyonda ülseratif kolit hastalarında serum Zonulin düzeyleri ile depresyon ve anksiyete arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara.
- Şirinyıldız, F. (2020). *Deneyisel hayvan modelinde incir (ficus carica) çekirdeği yağının TNBS ile indüklenen kolit üzerine olası etkilerinin araştırılması*. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- Tezel, A. (2009). Etiopathogenesis of Ulcerative Colitis. *Turkiye Klinikleri Journal of Gastroenterohepatology Special Topics*, 2(1), 7-12.
- Tezel, A., Dökmeci, G., Eskiocak, M., Ümit, H., Soyulu, A.R. (2003). Epidemiological Features of Ulcerative Colitis in Trakya, Turkey. *The Journal of International Medical Research*, 31(2), 141-8.
- Tibble, J.A., Bjarnason, I. (2001). Fecal calprotectin as an index of intestinal inflammation. *Drugs Today(Barcelona)*, 37(2), 85-96.
- Tiger, G.G., Seow, C.H., Ghosh, S., Molodecky, N., Rezaie, A., Moran, G.W. ... Panaccione, R. (2012). Decreasing colectomy rates for ulcerative colitis: a population-based time trend study. *The American of Journal Gastroenterology*, 107(12), 1879-87.
- Timmer, A., Preiss, J.C., Motschall, E., Rücker, G., Jantschek, G., Moser, G. (2011). Psychological interventions for treatment of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, 6913.
- Truelove, S.C., Witts, L.J. (1955). Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *British Medical Journal*, 2, 1041– 8.
- Tsukita, S., Furuse, M., Itoh, M. (2001). Multifunctional strands in tight junctions. *Nature Reviews Molecular and Cell Biology*, 2, 285-293.

- Tsukita, S., Tanaka, H., Tamura, A. (2019). The Claudins: From Tight Junctions to Biological Systems. *Trends in Biochemical Sciences*, 44(2), 141–52.
- Turner, J.R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 9, 799-809.
- Ulluwishewa, D., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Wells, J.M., Roy, N.C. (2011). Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. *The Journal of Nutrition*, 141, 769-776.
- Uysal, M. (1998). Serbest Radikaller, Lipit Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidant Dengeyi Etkileyen Koşullar. *Klinik Gelişim*, 11, 336-341.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M, Rhodes, C.J., Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266, 37-56.
- Van der Flier L.G., Clevers, H. (2009). Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annual Review of Physiology*, 71, 241-260.
- Van Itallie C.M., Anderson, J.M. (2006). Claudins and epithelial paracellular transport. *Annual Review of Physiology*, 68, 403–429.
- Van Itallie, C.M., Holmes, J., Bridges, A., Anderson, J.M. (2009). Claudin-2-dependent changes in noncharged solute flux are mediated by the extracellular domains and require attachment to the PDZ-scaffold. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1165, 82–87,
- Van Limbergen, J., Russell, R.K., Drummond, H.E., Aldhous, M.C., Round, N.K., Nimmo, E.R., ... Wilson, D.C. (2008). Definition of phenotypic characteristics of childhood-onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 135(4), 1114-22.
- Vdoviakova, K., Petrovova, E., Maloveska, M., Kresakova, L., Teleky, J., Elias, M.Z.J., Petrasova, D. (2016). Surgical Anatomy of the Gastrointestinal Tract and Its Vasculature in the Laboratory Rat. *Gastroenterology Research and Practice*, 2632368.
- Venkatesvarlu, V. (2008). Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. *Hyderabad: Global Media*, 6.
- Ventham, N.T., Kennedy, N.A., Nimmo, E.R., Satsangi, G. (2013). Beyond gene discovery in inflammatory bowel disease: the emerging role of epigenetics. *Gastroenterology*, 145, 293–308.
- Vermeire, S., Peeters, M., Rutgeerts, P. (2000). Diagnostic approach to IBD. *Hepatogastroenterology*, 47(31), 44-8.

- Vermeire, S., Van, Assche, G., Rutgeerts, P. (2004). C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Disease*, 10(5), 661-5.
- Vetrano, S., Rescigno, M., Cera, M.R., Correale, C., Rumio, C., Doni, A., ... Danese, S. (2008). Unique role of junctional adhesion molecule-a in maintaining mucosal homeostasis in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 135(1), 173–184.
- Viggiano, D., Ianiro, G., Vanella, G., Bibbò, S., Bruno, G., Simeone, G., Mele, G. (2015). Gut barrier in health and disease: focus on childhood. *European Review of Medical Pharmacological Sciences*, 19(6), 1077–85.
- Von Lampe, B., Barthel, B., Coupland, S.E., Riecken, E.O., Rosewicz, S. (2000). Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut*, 47, 63–73.
- Wallace, J.L., McKnight, W., Asfaha, S., Liu, D.Y. (1998). Reduction of acute and reactivated colitis in rats by an inhibitor of neutrophil activation. *The American Journal of Physiology*, 274, 802-8.
- Wallace, K.L., Zheng, L.B., Kanazawa, Y., Shih, D.Q. (2014). Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1), 6-21. doi: 10.3748/wjg.v20.i1.6.
- Wang, N., Wang, G., Hao, J., Ma, J., Wang, Y., Jiang, X.Y., Jiang, H.Q. (2012). Curcumin improves hydrogen peroxide-induced epithelial barrier disruption by upregulating both oxygenase-1 expression in human intestinal epithelial cells. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(7), 1792–1801.
- Wang, W., Uzzau, S., Goldblum, S.E., Fasano, A. (2000). Human Zonulin, a potential modulator of intestinal of intestinal tight junctions. *Journal of Cell Science*, 113, 4435-4440.
- Wang, Z., Li, S., Cao, Y., Tian, X., Zeng, R., Liao, D.F., Cao, D. (2016). Oxidative stress and carbonyl lesions in ulcerative colitis and associated colorectal cancer. *Oxidative Medicine and Cell Longevity*, 9875298.
- Water, C., Lichtenstein, G.R. (2006). Ulcerative Colitis. In: Sleisenger Fordtran's Gastrointestinal and liver disease. *Philadelphia; Saunders Elseiverp*, 2499-548.
- Wehkamp, J., Schmid, M., Stange, E.F. (2007). Defensins and other antimicrobial peptides in inflammatory bowel disease. *Current Opinion in Gastroenterology*, 23, 370-378.
- Wendland, B., Aghdassi, E., Tam, C., Carrier, J., Steinhart, A.H., Wolman, S.L., ... Allard, J.P. (2001). Lipid peroxidation and plasma antioxidant micronutrients in Crohn's disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 259-64.

- Williams, J.G., Hughes, L.E., Hallett, M.B. (1990). Toxic oxygen metabolite production by circulating phagocytic cells in inflammatory bowel disease. *Gut*, 31(2), 187-93.
- Wong, V., Gumbiner, B.M., Barry, A., Gumbiner, M. (1997). A synthetic peptide corresponding to the extracellular domain of Occludin perturbs the tight junction permeability barrier. *Journal of Cell Biology*, 136, 399-409.
- Xavier, R.J., Podolsky, D.K. (2007). Unraveling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 448, 427-434.
- Yamada, T., Sartor, R.B., Marshall, S., Specian, R.D. ve Grisham, M.B., (1993). Mucosal injury and inflammation in a model of chronic granulomatous colitis in rats. *Gastroenterology*, 104(3), 759-71.
- Yamamoto-Furusho, J.K., J.Mendivil-Rangel, E., Fonseca-Camarillo, G. (2012). Differential Expression of Occludin in Patients with Ulcerative Colitis and Healthy Controls. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(10), 1999.
- Yardımcı, M. (2015). *Timokinon, Silimarin Ve Curcumin'in Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde Terapötik Etkilerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Yu, A.S., McCarthy, K.M., Francis, S.A., McCormack, J.M., Lai, J., Rogers, R.A., ... Schneeberger, E.E. (2005). Knockdown of Occludin expression leads to diverse phenotypic alterations in epithelial cells. *American Journal of Physiology Cell Physiology*, 288, 1231-1241.
- Zanello, G., Kevans, D., Goethel, A., Silverberg, M., Tyler, A., Croitoru, K. (2014). Genetics and Innate and Adaptive Immunity in IBD. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, 79, 41-55.
- Zapata, L.B., Paulen, M.E., Cansino, C., Marchbanks, P.A., Curtis, K.M. (2010). Contraceptive use among women with inflammatory bowel disease: A systematic review. *Contraception*, 82(1), 72-85.
- Zavos, C., Kountouras, J., Katsinelos, P., Zavos, N., Matrella, E. (2007). Diagnostic role of upper gastrointestinal endoscopy in patients with inflammatory bowel disease. *Ghana Medical Journal*, 41(3), 144-5.
- Zeissig, S., Burgel, N., Gunzel, D., Richter, J., Mankertz, J., Wahnschaffe, U., ... Schulzke, J.D. (2007). Changes in expression and distribution of Claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut*, 56, 61-72.

- Zemljic, M., Pejkovic, B., Krajnc, I., Lipovsek, S. (2014). Biological pathways involved in the development of inflammatory bowel disease. *Wiener klinische Wochenschrift*, 19-20(126), 626–633.
- Zhang, J., Dou, W., Zhang, E., Sun, A., Ding, L., Wei, X., ... Wang, Z. (2014). Paeoniflorin abrogates DSS-induced colitis via a TLR4-dependent pathway. *American Journal Physiology Gastrointestinal Liver Physiology*, 306, 27-36.
- Zhao, H., Zhang, H., Wu, H., Li, H., Liu, L., Guo, J., ... Xiaolan Zhang. (2012). Protective role of 1,25(OH)₂vitamin D₃ in the mucosal injury and epithelial barrier disruption in DSS-induced acute colitis in mice. *BMC Gastroenterology*, 12(57).
- Zheng, T., Wang, X., Chen, Z., He, A., Zheng, Z., Liu, Ç. (2019). Efficacy of adjuvant curcumin therapy in ulcerative colitis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 35(5), 722-729.
- Zhou, Q., Price, D.D., Dreher, K.L., Pronold, B., Callam, C.S., Sharma, J., Verne, G.N. (2012). Localized colonic stem cell transplantation enhances tissue regeneration in murine colitis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16, 1900–1915.
- Zhu, H., Li, Y.R. (2012). Oxidative stress and redox signaling mechanisms of inflammatory bowel disease: updated experimental and clinical evidence. *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, 237, 474–480.