

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**TRİNİTROBENZEN SÜLFONİK ASİTLE OLUŞTURULAN KOLİT  
MODELİNDE APJ RESEPTÖRÜNÜN KARACİĞERDE BİYOKİMYASAL  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Kamil ERDOĞAN**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KİMYA**  
**ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AĞUSTOS 2025**

**ANTALYA**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**TRİNİTROBENZEN SÜLFONİK ASİTLE OLUŞTURULAN KOLİT  
MODELİNDE APJ RESEPTÖRÜNÜN KARACİĞERDE BİYOKİMYASAL  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Kamil ERDOĞAN**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KİMYA**  
**ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**AĞUSTOS 2025**

**ANTALYA**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRİNİTROBENZEN SÜLFONİK ASİTLE OLUŞTURULAN KOLİT  
MODELİNDE APJ RESEPTÖRÜNÜN KARACİĞERDE BİYOKİMYASAL  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Kamil ERDOĞAN

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
tarafından TYL-2024-6584 nolu proje ile desteklenmiştir.

AĞUSTOS 2025

ANTALYA

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TRİNİTROBENZEN SÜLFONİK ASİTLE OLUŞTURULAN KOLİT  
MODELİNDE APJ RESEPTÖRÜNÜN KARACİĞERDE BİYOKİMYASAL  
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Kamil ERDOĞAN**  
**KİMYA**  
**ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Bu tez 22/07/2025 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi İlknur BİRSEN (Danışman)

Prof. Dr. Elif Sinem BİRELLER

Doç. Dr. Ömer KESMEZ

## ÖZET

### TRİNİTROBENZEN SÜLFONİK ASİTLE OLUŞTURULAN KOLİT MODELİNDE APJ RESEPTÖRÜNÜN KARACİĞERDE BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Kamil ERDOĞAN

Yüksek Lisans / Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İlknur BİRSEN

Ağustos 2025; 69 sayfa

İnflamasyon, oksidatif stres ve hücre proliferasyonu gibi fizyolojik süreçlerde görev alan apelinerjik sistem, APJ reseptörü ile bu reseptöre bağlanan apelin ve apela ligandlarından oluşmaktadır. Bu çalışmada, APJ reseptörünün farmakolojik inhibisyonunun, TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modelinde kolonik inflamasyon, mukozal bariyer bütünlüğü ve kolit ile ilişkili hepatik hasar üzerindeki biyokimyasal etkileri araştırılmıştır. APJ sinyalinin dokuya özgü farklı etkiler gösterebildiği göz önünde bulundurularak, reseptörün baskılanmasına bağlı sonuçlar, kolon ve karaciğer dokularında değerlendirilmiştir.

Çalışmada, erkek Wistar sıçanlar kontrol, F13A, TNBS ve TNBS + F13A olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Kolit modeli TNBS ile oluşturulurken, APJ reseptörünün inhibisyonunda F13A kullanılmıştır. Klinik değerlendirmelerin yanı sıra kolonda makroskopik, histolojik ve mukozal bariyer bileşenleri; karaciğerde ise histopatolojik, inflamasyon ve oksidatif stres parametreleri biyokimyasal olarak analiz edilmiştir. F13A ile kolonda kolitle ilişkili histopatolojik bulgular hafiflemiş, ZO-1 ekspresyonu, mukus üretimi ve PGE<sub>2</sub> seviyesi artmıştır. Karaciğerde ise histopatolojik ve bazı biyokimyasal parametrelerde iyileşme gözlenmiş, inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinde ise anlamlı bir düzelme izlenmemiştir.

Bu bulgular, APJ reseptörünün farmakolojik inhibisyonunun kolonik bariyer fonksiyonu üzerinde koruyucu etkiler sağlayabileceğini; ancak karaciğerdeki inflamatuvar sürece karşı terapötik etkinliğinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Farklı ligandlar veya inhibitörlerle yapılacak doz, süre ve uygulama yolunu temel alan çalışmalar, APJ sinyal yolunun dokuya özgü etkilerini daha net ortaya koyabilir ve apelinerjik sistemin inflamatuvar hastalıklardaki rolünü aydınlayabilir.

**ANAHTAR KELİMELEER:** APJ Reseptörü, F13A, İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı, Bağırsak-Karaciğer Aksı, MDA, MPO, TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub>

#### JÜRİ:

Dr. Öğr. Üyesi İlknur BİRSEN

Prof. Dr. Elif Sinem BİRELLER

Doç. Dr. Ömer KESMEZ

## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF BIOCHEMICAL EFFECTS OF APJ RECEPTOR IN THE LIVER IN TRINITROBENZENE SULFONIC ACID-INDUCED COLITIS MODEL**

**Kamil ERDOĞAN**

**MSc Thesis in Chemistry**

**Supervisor: Assistant Prof. İlknur BİRSEN**

**August 2025; 69 pages**

The apelinergic system, which plays a role in physiological processes such as inflammation, oxidative stress, and cell proliferation, consists of the APJ receptor and its ligands, apelin and apela. In this study, we investigated the biochemical effects of pharmacological inhibition of the APJ receptor on colonic inflammation, mucosal barrier integrity, and colitis-associated liver injury in a TNBS-induced experimental colitis model. Considering that APJ signaling may have tissue-specific effects, the outcomes of its inhibition were evaluated in both colon and liver tissues.

In the study, male Wistar rats were divided into four groups: control, F13A, TNBS, and TNBS + F13A. While the colitis model was induced with TNBS, F13A was used in the inhibition of the APJ receptor. In addition to clinical evaluations, macroscopic, histological, and mucosal barrier parameters were assessed in the colon, while histopathological, inflammatory, and oxidative stress markers were biochemically analyzed in the liver. With F13A, histopathological findings associated with colitis in the colon were alleviated, ZO-1 expression, mucus production and PGE<sub>2</sub> level were increased. In the liver, histopathological and some biochemical parameters improved, no significant amelioration was observed in inflammation and oxidative stress markers.

These findings suggest that pharmacological inhibition of the APJ receptor may provide protective effects on colonic barrier function; however, its therapeutic efficacy against hepatic inflammation appears to be limited. Studies based on dose, duration, and route of administration with different ligands or inhibitors may more clearly reveal the tissue-specific effects of the APJ signaling pathway and illuminate the role of the apelinergic system in inflammatory diseases.

**KEYWORDS:** APJ Receptor, F13A, Inflammatory Bowel Disease, Gut-Liver Axis, MDA, MPO, TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub>

#### **COMMITTEE:**

Assist. Prof. Dr. İlknur BİRSEN

Prof. Dr. Elif Sinem BİRELLER

Assoc. Prof. Dr. Ömer KESMEZ

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteklerini, bilgi birikimlerini benimle paylaşan ve bana yol gösteren değerli ve saygıdeğer danışmanım Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Dr. Öğr. Üyesi İlknur BİRSEN'e, bu süreçte beni destekleyen aileme, deneylerim sürecinde laboratuvarlarını bana açan Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Araştırma Laboratuvarının imkanlarından faydalanmamı sağlayan ve desteğini esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Sevil AKSU'ya, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Vecihe Nimet İZGÜT UYSAL'a ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÖZBEY ÜNLÜ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca katkılarından ve desteklerinden dolayı Burcu Dilşad KARAKUŞ'a, Ayberk YEŞİLADA'ya, Sayed Rohullah POYA'ya ve Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğr. Gör. Dr. Timur TONGUR'a, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Arş. Gör. Dr. Ceren Özcan DİKER'e, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Arş. Gör. Betül TAŞKIRAN'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitim ve öğrenim dönemimde beni 2210/A Yurt İçi Yüksek lisans bursu programıyla maddi olarak destekleyen TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZET .....                                                                       | i   |
| ABSTRACT .....                                                                   | ii  |
| ÖNSÖZ .....                                                                      | iii |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                | iv  |
| AKADEMİK BEYAN .....                                                             | vi  |
| SİMGELER.....                                                                    | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                             | xii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                          | xiv |
| 1. GİRİŞ .....                                                                   | 1   |
| 2. KAYNAK TARAMASI .....                                                         | 5   |
| 2.1. Bağırsağın Genel Özellikleri .....                                          | 5   |
| 2.1.1. Bağırsak mukoza bariyeri.....                                             | 5   |
| 2.2. Karaciğerin Genel Özellikleri .....                                         | 7   |
| 2.3. İnflamatuar Bağırsak Hastalığı (İBH) .....                                  | 8   |
| 2.3.1. İnflamatuar bağırsak hastalığında immün sistem.....                       | 9   |
| 2.4. İnflamatuar Bağırsak Hastalığının Bağırsak Dışındaki Etkileri.....          | 13  |
| 2.4.1. İnflamatuar bağırsak hastalığında karaciğer .....                         | 14  |
| 2.5. İnflamatuar Bağırsak Hastalığında Kullanılan Deneysel Kolit Modelleri ..... | 17  |
| 2.5.1. Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) indüklü kolit modeli.....             | 17  |
| 2.6. Apelinerjik Sistem.....                                                     | 18  |
| 2.6.1. Apelinerjik sistemin genel özellikleri .....                              | 18  |
| 2.6.2. APJ'nin sinyal yolları .....                                              | 20  |
| 2.6.3. APJ'nin inhibisyonunda kullanılan antagonistler .....                     | 22  |
| 2.6.4. İnflamatuar bağırsak hastalığında apelinerjik sistem .....                | 23  |
| 2.6.5. Karaciğerde apelinerjik sistem .....                                      | 24  |
| 3. MATERYAL VE METOT .....                                                       | 27  |
| 3.1. Materyaller .....                                                           | 27  |
| 3.2. Deney Hayvanları.....                                                       | 27  |
| 3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Uygulanan İşlemler.....                  | 28  |

|                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.4. Kolit Bulgularının Değerlendirilmesi.....                                                            | 28 |
| 3.5. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması .....                                                            | 29 |
| 3.6. Kolon ve Karaciğer Dokularındaki Hasar Düzeylerinin Histopatolojik<br>Olarak Değerlendirilmesi ..... | 30 |
| 3.7. İmmünohistokimyasal Analizler .....                                                                  | 31 |
| 3.8. Kolon Dokusunda Mukus Miktarının Belirlenmesi .....                                                  | 32 |
| 3.9. Miyeloperoksidaz (MPO) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi .....                                           | 32 |
| 3.10. Enzim Bağlantılı İmmünosorbent (ELİSA) Analizleri .....                                             | 33 |
| 3.11. Dokularda Protein Miktarı Ölçümü.....                                                               | 33 |
| 3.12. Plazmada ALT ve AST Miktarlarının Ölçümü .....                                                      | 33 |
| 3.13. İstatistiksel Analizler .....                                                                       | 34 |
| 4. BULGULAR.....                                                                                          | 35 |
| 4.1. APJ İnhibisyonunun Kolit Gelişimi Üzerindeki Makroskopik ve Klinik<br>Etkileri .....                 | 35 |
| 4.2. Kolon Dokularının Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi .....                                      | 38 |
| 4.3. APJ İnhibisyonunun Kolonik Mukozal Bariyer Fonksiyonlarına Etkisi.....                               | 39 |
| 4.4. Karaciğer Dokularının Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi .....                                  | 41 |
| 4.5. Karaciğerde APJ İnhibisyonuna Yanıt Olarak Gözlenen Biyokimyasal<br>Değişiklikler .....              | 43 |
| 4.5.1. Apelin düzeyi .....                                                                                | 43 |
| 4.5.2. İnflamasyonla ilişkili biyobelirteçlerin düzeyleri .....                                           | 44 |
| 4.5.3. Toksin (LPS) yükü seviyesi .....                                                                   | 45 |
| 4.5.4. NO ve PGE <sub>2</sub> düzeyleri.....                                                              | 46 |
| 4.5.5. Oksidatif stres parametreleri .....                                                                | 47 |
| 4.5.6. Plazma Enzim (ALT VE AST) Düzeyleri.....                                                           | 48 |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                                         | 49 |
| 6. SONUÇLAR .....                                                                                         | 54 |
| 7. KAYNAKLAR .....                                                                                        | 55 |

## ÖZGEÇMİŞ

## AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “TRİNİTROBENZEN SÜLFONİK ASİTLE OLUŞTURULAN KOLİT MODELİNDE APJ RESEPTÖRÜNÜN KARACİĞERDE BİYOKİMYASAL ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerler e uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

...../...../20....

Kamil Erdoğan

İmzası

XXXXXX

## SİMGELER

|    |                    |
|----|--------------------|
| %  | : Yüzde            |
| °C | : Santigrad derece |
| c  | : Santi            |
| cm | : Santimetre       |
| g  | : Gram             |
| m  | : Mili             |
| M  | : Molarite         |
| mg | : Miligram         |
| ml | : Mililitre        |
| mM | : Mikromolar       |
| n  | : Nano             |
| ng | : Nanogram         |
| nm | : Nanometre        |
| p  | : Piko             |
| pg | : Pikogram         |
| μ  | : Mikro            |
| μg | : Mikrogram        |
| μm | : Mikrometre       |

## KISALTMALAR

|       |                                     |
|-------|-------------------------------------|
| ALT   | : Alanin amino transferaz           |
| AMP   | : Antimikrobiyal peptidler          |
| AMPK  | : AMP ile aktive olan protein kinaz |
| APJ   | : Apelin reseptörü                  |
| APLNR | : APJ reseptörü                     |

|        |                                          |
|--------|------------------------------------------|
| AST    | : Aspartat amino transferaz              |
| BDB    | : Bağırsak dışı bulgu                    |
| BM     | : Bağırsak mikroorganizmaları            |
| BMB    | : Bağırsak mikrobiyotasındaki bakteriler |
| BSA    | : Sığır serum albümini                   |
| BT     | : Boğmaca toksini                        |
| cAMP   | : Siklik adenzin monofosfat              |
| CAT    | : Katalaz                                |
| CBB    | : Coomassie brilliant blue               |
| CH     | : Crohn hastalığı                        |
| COX    | : Siklooksijenaz                         |
| CXCL1  | : Kemokin CXC motif ligandı 1            |
| CYP450 | : Sitokrom P450                          |
| D-LA   | : D – Laktik asit                        |
| DAİ    | : Hastalık aktivite indeksi              |
| DAO    | : Diamin oksidaz                         |
| DH     | : Dendrik hücre                          |
| DSS    | : Dekstran sülfat sodyum                 |
| ELA    | : Elabela                                |
| eNOS   | : Endotelyal nitrik oksit sentaz         |
| EP4    | : PGE <sub>2</sub> reseptör alt tipi 4   |
| ERK1/2 | : Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz ½ |
| FRET   | : Floresan rezonans enerji transferi     |
| FSK    | : Forskolin                              |
| GGT    | : Gama glutamil tranferaz                |
| Gİ     | : Gastrointestinal                       |

|               |                                       |
|---------------|---------------------------------------|
| GPAT          | : Gliserol 3-fosfat açıl transferaz   |
| GPBR          | : G proteine bağı reseptör            |
| GSH           | : Glutasyon                           |
| H&E           | : Hematoksilen & Eozin                |
| HDAC4         | : Histon deasetilaz 4                 |
| HDAC5         | : Histon deasetilaz 5                 |
| Hep3B         | : İnsan hepatoma hücresi              |
| HIV           | : İnsan immün yetmezlik virüsü        |
| HPA           | : Hipotalmus-hipofiz-adrenal          |
| HTAB          | : Hekzadesil trimetil amonyum bromür  |
| IFN- $\gamma$ | : İnterferon- $\gamma$                |
| Ig            | : İmmünoglobulin                      |
| IL            | : İnterlökin                          |
| i.p.          | : İnteraperitoneal                    |
| İBH           | : İnflamatuar bağırsak hastalığı      |
| iNOS          | : İndüklenebilir nitrik oksit sentaz  |
| K             | : Lizin                               |
| L-NMMA        | : N <sup>o</sup> -monometil-L-arjinin |
| LDH           | : Laktat dehidrogenaz                 |
| LDL           | : Düşük yoğunluklu lipoprotein        |
| LPS           | : Lipopolisakkeritler                 |
| mAB           | : Monoklonal antikor                  |
| MAPK          | : Mitogenle Aktive Protein inaz       |
| MDA           | : Malondialdehit                      |
| MGF2          | : Miyosit güçlendirici faktör 2       |
| MHZK          | : Miyozin hafif zincir kinaz          |

|                  |                                                              |
|------------------|--------------------------------------------------------------|
| MPO              | : Miyeloperoksidaz                                           |
| NF-κB            | : Nükleer faktör kappa B                                     |
| NK               | : Doğal katil hücre                                          |
| nNOS             | : Nöronal nitrik oksit sentaz                                |
| NO               | : Nitrik oksit                                               |
| NOD2             | : Nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon alanı içeren protein 2 |
| NOS              | : Nitrik oksit sentaz                                        |
| NSAİİ            | : Steroid olmayan anti inflamatuvar ilaçlar                  |
| P                | : Prolin                                                     |
| P70S6K           | : P70 ribozomal protein S6 kinaz                             |
| PBS              | : Fosfat tamponlu salin                                      |
| PDGF-BB          | : Trombosit büyüme faktörü BB                                |
| PG               | : Prostoglandin                                              |
| PGE <sub>2</sub> | : Prostoglandin E <sub>2</sub>                               |
| PGPS             | : Peptidoglikan polisakkarit                                 |
| pH               | : Hidrojen iyonu konsantrasyonu                              |
| PI-IBS           | : Post inflamatuvar irritabl bağırsak sendromu               |
| PI3K             | : Fosfoinositid-3 kinaz                                      |
| PİMP             | : Patojenle ilişkili moleküler patern                        |
| PKC              | : Protein kinaz c                                            |
| PPARα            | : Peroksizon proliferatörle aktive edilen reseptör α         |
| PSK              | : Primer sklerozan kolanjit                                  |
| R                | : Arjinin                                                    |
| ROS              | : Reaktif oksijen türleri                                    |
| SREBP-1C         | : Sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 1c            |
| TAC              | : Total antioksidan kapasite                                 |

|               |                                        |
|---------------|----------------------------------------|
| Th            | : Yardımcı T hücresi                   |
| TLR2          | : Toll benzeri reseptör 2              |
| TLR4          | : Toll benzeri reseptör 4              |
| TNBS          | : Trinitro benzen sülfonik asit        |
| TNF- $\alpha$ | : Tümör nekroz faktörü-alfa            |
| U             | : Ünite                                |
| UGT           | : Uridin difosfat glikronil transferaz |
| ÜK            | : Ülseratif kolit                      |
| VEGF-A        | : Vasküler endotelyal büyüme faktörü A |
| VLDL          | : Çok düşük yoğunluklu lipoprotein     |
| ZO            | : Zonula okludens                      |
| $\beta$ -arr  | : $\beta$ -arrestin                    |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 2.1.</b> Bağırsak mukoza bariyeri (Schoultz 2020) .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 6  |
| <b>Şekil 2.2.</b> Bağırsak-karaciğer eksen (Song 2022).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 16 |
| <b>Şekil 2.3.</b> APJ'nin sinyal yolları (Melgar-Lesmes 2019).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 21 |
| <b>Şekil 4.1.</b> Deneklerin 0. ve 4. günler arasındaki yüzdesel kilo değişimleri. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunulmuştur (n=8). ** p < 0,01 ve *** p < 0,001. ....                                                                                                                                                                                                                                  | 35 |
| <b>Şekil 4.2.</b> APJ inhibisyonunun TNBS ile İndüklenen Kolonik Hasar Bulgularına Etkisi. a) Kolon dokularının temsili görüntüleri b) Kolon dokusunda makroskopik hasar düzeyleri c) Kolon ağırlık/uzunluk oranı d) Hastalık aktivite indeksi * p < 0,05, ** p < 0,01 ve *** p < 0,001. ....                                                                                                                         | 37 |
| <b>Şekil 4.3.</b> Hematoksilin-Eozin (H&E) Boyası ile Boyanmış Kolon Dokusuna Ait Temsili Mikrograflar. Mukozal ülserasyonlar, kırmızı ok başları; epitel hiperplazisi, siyah yıldız işaretleri ve derin inflamatuvar hücre infiltrasyonu, sarı çift ok ile gösterilmiştir. Görüntüler $\times 100$ büyütmede çekilmiştir. Ölçek çubukları 100 $\mu\text{m}$ 'yi göstermektedir.....                                  | 38 |
| <b>Şekil 4.4.</b> Distal kolonda ZO-1 ekspresyonunun immünohistokimyasal analizi. a) Deney gruplarına ait kolonik epitel dokuda ZO-1 lokalizasyonunun (kahverengi boyanma) 200 $\times$ ve 400 $\times$ büyütmede temsili görüntüleri. b) Distal kolon dokularında ZO-1 proteininin bağıl ekspresyon düzeyleri. Ölçek çizgileri 100 $\mu\text{m}$ 'yi temsil etmektedir. *** p < 0,001. ....                          | 40 |
| <b>Şekil 4.5.</b> a) Kolon dokusunda mukus miktarı. b) Kolon dokusunda PGE <sub>2</sub> miktarı. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur (grup başına n = 8). * p < 0,05, ** p < 0,01 ve *** p < 0,001. ....                                                                                                                                                                                                    | 41 |
| <b>Şekil 4.6.</b> Hematoksilin-Eozin (H&E) Boyası ile Boyanmış Karaciğer Dokusuna Ait Temsili Mikrograflar. Sinüzoidal dilatasyonlar, siyah oklar ile; yaygın hemorajik alanlar, sarı dikdörtgenler ile; nekroz, siyah yıldızlar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ok başları ile gösterilmiştir. Görüntüler $\times 100$ büyütmede elde edilmiştir. Ölçek çizgileri 100 $\mu\text{m}$ 'yi temsil etmektedir. .... | 42 |
| <b>Şekil 4.7.</b> Karaciğer Dokularında Apelin Düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). ** p < 0,01 ve *** p < 0,001. ....                                                                                                                                                                                                                                                              | 43 |
| <b>Şekil 4.8.</b> İnflamasyonla İlişkili Biyobelirteçlerin Düzeyleri. a) Hepatik MPO Aktivitesi b) Hepatik TNF- $\alpha$ Düzeyleri c) Hepatik IL-10 Düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). * p < 0,05, ** p < 0,01 ve *** p < 0,001. ....                                                                                                                                             | 45 |
| <b>Şekil 4.9.</b> Hepatik LPS Düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir (n=8). * p < 0,05.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 46 |
| <b>Şekil 4.10.</b> A) Hepatik NO Düzeyleri b) Hepatik PGE <sub>2</sub> Düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). * p < 0,05 ve ** p < 0,01.....                                                                                                                                                                                                                                          | 47 |

**Şekil 4.11.** Oksidatif Stres Parametreleri a) Hepatik TAC Seviyesi b) Hepatik MDA Düzeyi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8).  
\* p < 0,05, \*\* p < 0,01 ve \*\*\* p < 0,001 .....48

**Şekil 4.12.** Plazma ALT ve AST Düzeyleri a) Plazma ALT Düzeyleri b) Plazma AST Düzeyleri. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). .....48



## ÇİZELGELER DİZİNİ

**Çizelge 4.1.** Kolon histopatolojik değişikliklerinin yarı kantitatif analizi..... 39

**Çizelge 4.2.** Karaciğer histopatolojik değişikliklerinin yarı kantitatif analizi ..... 43



## 1. GİRİŞ

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) olmak üzere, bağırsak mukozasında kronik inflamasyon ile karakterize edilen bir hastalık grubudur (Hanauer 2006). ÜK ve CH'nin bazı ortak yönleri bulunmakla birlikte, bu iki hastalık hem klinik semptomlar hem de patofizyolojik özellikler açısından farklılık göstermektedir. CH'nda hastalıktan gastrointestinal (Gİ) sistemin tüm segmentleri etkilenip, inflamasyon dokunun tüm tabakalarına yayılabilmektedir. ÜK'te ise hastalıktan genellikle yalnızca kalın bağırsak ve rektum etkilenmekte, inflamasyon ise mukozal tabaka ile sınırlı kalmaktadır (Hanauer 2006).

İnflamatuvar bağırsak hastağının gelişiminde bağırsak mukozal bariyerinin ve bağırsak mukozasındaki immünolojik yanıtların önemli bir yeri vardır. Bağırsak epitel hücreleri, lümeni lamina propriadan fiziksel olarak ayıran ve bakteri ve lipopolisakkaritler (LPS) gibi endotoksin ve antijenlerin infiltrasyonunu kontrol eden çoklu bağlantı kompleksleri aracılığıyla birbirlerine bağlanarak katman oluşturur. Sıkı bağlantı (TJ), yapışkan bağlantı (AJ) ve desmozomlar ana bağlantı kompleksleridir ve transmembran proteinlerden (Occludin, Claudin-1, Claudin-4), periferik membran proteinlerinden (Zonula okludens-1 (ZO-1) ve Zonula okludens-2 (ZO-2)), bağlayıcı yapışma moleküllerinden (JAM) vb. oluşmaktadır (Groschwitz ve Hogan 2009). Kommensal ve patojenik bakterilerin epitele nüfuz etmesine ve inflamatuvar yanıt oluşturmaya neden olan başlıca faktörler, mukozal epitel hücrelerinin hasarı ve intestinal homeostazın bozulmasıdır. Bu durumlar lökosit infiltrasyonuna ve düzensiz intestinal immün yanıtına neden olmaktadır (Ordás vd. 2012). Epitel bariyerinin bozulması, bağırsaktaki mikroorganizmalar ve immün hücreleri arasında etkileşimlere yol açarak ilerleyici, kontrolden çıkmış bir inflamatuvar yanıtı yol açar. LPS ve D-laktik asit (D-LA) gibi zararlı maddeler, mukozaya infiltre olur ve dolaşıma katılarak nükleer faktör-kappa B (NF-κB) ve mitogenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yollarını aktive eder; interlökin-1beta (IL-1β), interlökin-6 (IL-6), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) ve nitrik oksit (NO) vb. salınımına neden olurken, interlökin-10 (IL-10) ekspresyonunu inhibe etmektedir ve bu durumla birlikte inflamatuvar bir yanıt oluşmaktadır (He vd. 2016).

İnsan İBH'sinin patogenezi ve karmaşık etki mekanizmalarını anlamak için en geçerli yollarından biri, deneysel hayvan modellerinin kullanılmasıdır. Bu modeller, İBH'ye benzer histopatolojik ve morfolojik değişikliklerin bağırsakta gözlemlenmesini mümkün kılar. Dolayısıyla, hayvan modelleri hem hastalığın temel mekanizmalarını incelemede hem de yeni tedavi yaklaşımlarının ve ilaç adaylarının etkinliğini değerlendirmede önemli bir araç olarak kabul edilmektedir. İBH'yi incelemek için çeşitli hayvan modelleri oluşturulmuştur; bunlar genel olarak kimyasal indüklü kolit modeli, adaptif transfer modeli, spontan kolit modeli ve genetik olarak tasarlanmış/transgenik hayvan modellerini içerir. Kolit oluşturmada yaygın kullanılan kimyasallar arasında, trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) (de Almeida vd. 2013), DSS (Cheah vd. 2013), oksazolon (Lee vd. 2012), asetik asit (Al-Rejaie vd. 2013), steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) (Pawar vd. 2011), karragenan (Pricolo vd. 1996), peptidoglikan-polisakkarit (PGPS) (Reingold vd. 2013) bulunmaktadır. Özellikle kimyasal-indüklü kolit modelleri yaygın kullanılmaktadır, çünkü bunlar kolay

tekrarlanabilirliği ve geliştirme kolaylığı açısından avantajlı deneysel kolit modelleridir (Randhawa vd. 2014).

Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), hücre aracılı bağışıklık tepkilerini indüklemekte ve bağırsakta insan İBH'sine benzer morfolojik ve histopatolojik özellikler gösteren transmural inflamasyona neden olmaktadır (de Almeida vd. 2013). TNBS, artmış lökosit infiltrasyonu, ödem ve ülserasyon ile karakterize edilen yaygın kolon inflamasyonuna yol açmaktadır (Isik vd. 2011). TNBS uygulaması, CD4<sup>+</sup> T hücresi infiltrasyonu ile kendini gösteren Th1-aracılı immün yanıtın aktivasyona neden olmaktadır. Bu nedenle, efektör sitokinler olarak IL-12 ve TNF- $\alpha$ 'yı içeren Th1 immün yanıtına yol açan bu model, özellikle insanlarda CH ile ilişkilendirilmiştir (Neurath vd. 1995). Bu nedenle, sitokin salgılama düzeni, hücre adezyonu ve immünoterapi dahil olmak üzere bağırsak inflamasyonunun birçok yönünü incelemek için sıklıkla kullanılmaktadır.

Apelinerjik sistem, ligand olarak apelin ve apela adlı iki peptidten ve bu peptidlerin bağlandığı reseptör olan apelin reseptöründen (APJ) oluşmaktadır. Her iki ligandın da izoformları bulunmaktadır. Apelinerjik sistem kalp kasının kasılması, vazodilatasyon, glikoz ve insülin homeostazisi, kardiyovasküler gelişim ve daha pek çok fizyolojik olayı düzenlemektedir. Ayrıca apelinerjik sistem HIV enfeksiyonu, kronik kalp yetmezliği, obezite, diyabet, kronik kalp rahatsızlığı gibi çeşitli patolojik sorunlar ile de ilişkilendirilmiştir (Shin vd. 2017).

APJ, 1993 yılında Q'Down ve ark. tarafından keşfedilen 380 amino asitten oluşan 7 transmembran bölgeye sahip G proteinine bağlı bir reseptördür (O'Dowd vd. 1993). APJ reseptörü, anjiyotensin II (Ang II)'nin tip 1 reseptörü (AT1R) ile yapısal benzerliği nedeniyle başlangıçta Ang II tarafından aktive edilebileceği düşünülen bir reseptördü. Ancak APJ'nin Ang II tarafından aktive edilmediği ortaya koyulmuş ve özgül bir ligandı tanımlanana kadar da yetim G proteinine bağlı bir reseptör olarak sınıflandırılmıştır (Tatemoto vd. 1998). 1998 yılına gelindiğinde ise Tatemoto ve ark. sığır mide dokusundan bir peptid izole etmişler ve bu peptide APJ reseptörünün endojen ligandının kısaltması anlamına gelen apelin ismini vermişlerdir (Tatemoto vd. 1998). Apelin, 77 amino asitten oluşmuş bir preproteindir. Apelinin preproprotein formunun proteolizi sonucu apelin-12, -13, -17, -36 ve pyroglutamathlı apelin-13 (Pyr-apelin-13) gibi çeşitli izoformlar oluşmaktadır (Shin vd. 2017).

Apelinin aksine daha yakın zamanda keşfedilen apela ise vücutta nispeten sınırlı bir dağılım göstermektedir. Apela, prostatta, böbrekte, kalpte ve pluriopotent kök hücrelerde tespit edilmiştir (Yang vd. 2017). Apelanın insanda 54 amino asitlik, zebra balığında ise 58 amino asitlik bir preproteinden oluştuğu belirlenmiştir (Huan 2017). Sinyal peptidinin çıkarılmasıyla en uzun biyoaktif izoform olan apela-32 üretilmektedir. Apela-32'nin amino asit dizisinin analizi, birden fazla dibazik bölgenin varlığını göstermektedir ve apela-22, -21 ve -11 izoformları üretmek için potansiyel preprotein konvertaz aracılı işleme işaret etmektedir.

APJ reseptörü, G protein kenetli reseptörler aracılığıyla sinyal ileterek hücrel yanıtı düzenler. Bu reseptör çoğunlukla Gi/o ve Gq proteinleri üzerinden etki göstermektedir. (El Messari vd. 2004). Forskolin (FSK) kaynaklı siklik adenosin monofosfat (cAMP) üretiminin inhibisyonu, apelin/APJ sisteminin Gai/o proteini

aracılığıyla sinyal ilettiğini düşünülmektedir. G $\alpha$ i proteininin APJ reseptörüne bağlandığı, apelin-13 ve apelin-36'nın hücre dışı asitleşme oranlarının belirlenmesiyle ispatlanmıştır. (Tatemoto vd. 1998). Adenilat siklaz ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz 1/2'nin (ERK1/2) fosforilasyonunun inhibisyonuna yönelik yapılan çalışmalar, fare apelin reseptörünün Çin hamster yumurtalık hücrelerinde G $\alpha$ i3 yerine tercihen G $\alpha$ i1 ve G $\alpha$ i2'ye bağlandığını göstermektedir (Masri vd. 2006). Apelin tarafından uyarılan ERK1/2 aktivasyonu, protein kinaz C (PKC) aracılığıyla gerçekleşmekte olup, bu durum G $\alpha$ i veya G $\alpha$ q/11'e bağlanmanın bir göstergesidir (Masri vd. 2006). Ancak, sıçanlarda apelinle indüklenen pozitif inotropik etki, boğmaca toksini (BT) ve PKC inhibitörleri ile yalnızca kısmen engellenebilmektedir. Bu sonuçlar, APJ reseptörünün bazı etkilerinin hem BT'ne duyarlı Gi/o hem de BT'ne duyarsız Gq/11 proteinlerine bağlanarak ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (Szokodi vd. 2002). Benzer sonuçlar yağ dokusundaki APJ reseptörleri için de doğrulanmıştır (Szokodi vd. 2002). G-protein-bağımlı hücre içi sinyal iletim yollarına ek olarak, apelin APJ aracılığıyla  $\beta$ -arrestin-bağımlı sinyal yolağını aktive eder ve APJ'nin desensitizasyonuna ve endositozuna neden olmaktadır. Apelin-36 ve apelin-13, APJ'nin endositozunu ve desensitizasyonunu iki yolla başlatmaktadır. Apelin-36,  $\beta$ -arrestin yolağını aktive etmek için APJ'ye bağlanır ve sonrasında  $\beta$ -arrestin, reseptörle birlikte endositoz sürecine girer ve Rab7 sinyal yolu aracılığıyla hücre içi lizozoma yerleşerek APJ'nin kalıcı desensitizasyona yol açmaktadır. Apelin-13 ise,  $\beta$ -arrestin yolağını aktive etmek için APJ'ye bağlanır. Sonrasında, apelin-13 tarafından APJ'nin endositozu,  $\beta$ -arrestinden ayrılması ve Rab4 sinyal yolu aracılığıyla hücre yüzeyine hızlı geri dönüşü ile karakterize edilir; bu durum, APJ'nin geçici desensitizasyonuna neden olmaktadır. Hem endositoz hem de desensitizasyon,  $\beta$ -arrestinin katılımını gerektirmektedir (Masri vd. 2006). Bu durum, APJ ligantlarının izoformlarının farmakolojik özelliklerinin birbirlerinden farklı olabileceğini ve dolayısıyla farklı fizyolojik etkiler gösterebileceğini göstermektedir.

Sindirim sisteminde özellikle apelin ve APJ reseptörünün etkileri ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Literatürdeki bulgular, apelinin sağlıklı koşullarda kolonda ekspresyonunun az olduğunu, ancak inflamasyon durumunda üretiminin arttığını göstermektedir (Wang vd. 2022). DSS ile indüklenen kolit modelinde, kolonda apelinin mRNA seviyesinin artış gösterdiği ve kolit oluşturulduktan sonra iyileşme fazında Pyr-apelin-13'ün sistemik olarak 3 gün uygulanmasının, farelerde kolon epitel hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (Han vd. 2007). Sistemik olarak 4 hafta uygulanan apelin-13'ün ise, kendiliğinden kolit gelişen IL-10<sup>-/-</sup> farelerde bağırsaktaki hastalık indeksini ve inflamasyonu azalttığı rapor edilmiştir (Ge vd. 2018). Ancak apelin aynı zamanda, kortikotropin salgılatıcı faktörün (CRF) uyarıcılarından biridir. Stresin neden olduğu kolon motilitesindeki artışta apelinergic sistemin rol oynadığı, F13A uygulandığı zaman motilitedeki artışın ortadan kalktığı ve APJ'nin, CRF'nin kolon motilitesindeki düzenleyici etkisine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Bülbül vd. 2020). Çeşitli etkenlerin etkisiyle Gİ sistemde lokal olarak da aktive olabilen CRF, sadece motiliteyi değil, aynı zamanda bağırsak geçirgenliğini, inflamasyonu ve bağışıklığı da düzenlemektedir (Overman vd. 2012). İBH'ye benzer bulgular gösterebilen inflamatuvar bağırsak sendromu'nda APJ agonistinin, CRF-TLR4-proinflamatuvar sitokin sinyalini aktive ederek, kolonda visseral duyarlılığa ve epitelyal geçirgenlikte artışa neden olduğu gösterilmiştir (Nozu ve Okumura 2022). Bu bağlamda yapılan başka bir çalışmada sıçanlara intrarektal olarak 30 mg/kg dozunda TNBS uygulamasını takiben F13A, 3 günlük bir periyotta intravenöz olarak uygulanmıştır (Birsen vd. 2023). TNBS ile kolit

indüklenen sıçanlarda, kolonda fokal mukozal ülserasyon, nekroz, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve submukozal ödem ile vücut ağırlığında azalma, kolon dokusu ağırlık/uzunluk oranında artış ve proinflamatuvar sitokin seviyesinde, apelin miktarında, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesinde ve gaita kıvamında artış gözlenmiştir (Birsen vd. 2023). TNBS uygulamasından hemen sonra F13A uygulaması ise, kolondaki inflamatuvar belirteçleri azaltmış ve apelin seviyesini düşürmüştür.

Literatürdeki bulgular, Apelin/APJ sisteminin karaciğer fizyolojisi ve patolojisi üzerindeki etkilerinin koşullara göre değişebileceğini göstermektedir. Bazı çalışmalarda apelin antiinflamatuvar, antioksidan ve antisteatotik etkiler sergileyerek hepatik hasarı azalttığı ve rejenerasyonu desteklediği bildirilmiştir (Huang vd. 2017; Sagiroglu vd. 2014). Örneğin, apelin ALT, AST, LDH gibi enzim düzeylerini düşürmüştür; TNF- $\alpha$  ve MDA'yı baskılayarak GSH ve CAT düzeylerini arttırmıştır (Emam ve Gheit 2016). Apelin'in glikojen sentezini baskılayarak insülin direncini düşürebileceği, lipid birikimini azaltarak antisteatotik etki gösterebildiği, ayrıca VEGF-A ve PDGF-BB üretimini artırarak hücre sağkalımını desteklediği raporlanmıştır (Melgar-Lesmes vd. 2011; Huang vd. 2017). Öte yandan, bazı koşullarda ise bu sistemin hepatik fibrozis, siroz veya tümör oluşumu gibi patolojik süreçleri destekleyebileceği gösterilmiştir (Lv vd. 2017). Jo2 ile oluşturulan akut hepatit modelinde ise APJ reseptörünün eksik olduğu farelerde hepatik apoptoz ve doku hasarının azaldığı, JNK aktivitesinin baskılandığı gösterilmiştir (Yasuzaki vd. 2013). Ayrıca F13A'nın Kupffer hücrelerini aktive ederek TNF- $\alpha$  ve IL-6 salgısını artırabileceği ve karaciğer rejenerasyonunu destekleyebileceği öne sürülmüştür (Yoshiya vd. 2015). Tüm bu bulgular, apelinergic sistemin karaciğer üzerinde çift yönlü, duruma özgü etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

İnflamatuvar bağırsak hastalığında, apelinergic sistemin etkileri üzerinde yapılan çalışmalar doğrultusunda apelinergic sistemin etkileri kolon dokusu bağlamında çalışılmıştır. İBH'de kolon dışında patolojik süreçten etkilenen organlardan biri de karaciğer olduğu için bu tez projesinde esas olarak apelinergic sistemin karaciğerdeki muhtemel etkilerine odaklanılmıştır. APJ reseptörünün F13A ile bloke edilmesiyle, kolit ilişkili karaciğerdeki etkiler incelenerek, F13A'nın farmakolojik bir ajan olabilme potansiyeli değerlendirilmiştir. Literatürde İBH sırasında APJ reseptörünün karaciğerdeki fonksiyonlarına dair hiçbir çalışmanın bulunmaması sebebiyle yapılan tez projesi özgün bir değer taşımaktadır.

Sonuç olarak, İBH'de apelinergic sistemin bağırsak üzerindeki etkileri literatürde belirli ölçüde araştırılmıştır. Apelin'in bazı koşullarda bağırsak geçirgenliğini artırabileceği ve TNBS-aracılı kolit modelinde APJ antagonisti F13A'nın kolonda koruyucu etki gösterebildiği ortaya konmuştur (Nozu ve Okumura 2022; Birsen vd. 2023). Ayrıca İBH tedavisinde kullanılan bazı farmasötiklerin karaciğer üzerinde toksik etkiler oluşturabileceği bilinmektedir. Bu nedenle, APJ reseptörünün farmakolojik inhibisyonunun karaciğerde potansiyel faydalar sağlayabileceği hipoteziyle çalışma planlanmıştır. İBH'de sıklıkla etkilenen organlardan biri olan karaciğerde, apelinergic sistemin etkilerinin patolojik duruma göre değişkenlik gösterebilmesi nedeniyle, bu tez çalışmasında özellikle kolit ile ilişkili karaciğer hasarında APJ sinyal yolunun rolü araştırılmıştır. Literatürde, İBH modeli kullanılarak APJ reseptörünün karaciğer üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, APJ'nin F13A ile inhibisyonunun karaciğerde oluşturabileceği inflamasyon, oksidatif stres ve histopatolojik değişiklikler bu çalışma ile ilk kez değerlendirilmiştir.

## 2. KAYNAK TARAMASI

### 2.1. Bağırsağın Genel Özellikleri

İnce bağırsak, gastrointestinal (Gİ) sistemde mideden sonra gelen ve yaklaşık 7 metre uzunluğunda olan en uzun bölümdür. Burada, besinlerin sindiriminin önemli bir kısmı gerçekleşir. Duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölüme ayrılmaktadır (Volk ve Lacy 2017). Gİ sistemde doku, içten dışa doğru mukoza, submukoza, muskularis propria ve seroza olmak üzere 4 tabakaya ayrılmaktadır. Bağırsakta mukoza tabakasında epitel hücreleri (enterositler), goblet hücreleri ve enteroendokrin hücreler bulunmaktadır. Enterositlerin yüzeyleri mikrovilluslarla kaplıdır ve bu durum ince bağırsakta emilimi arttırmaktadır. Submukoza kan damarları, lenfatik sistem ve sinirlerin bulunduğu bağ dokusundan oluşurken, muskularis propriada iki kat düz kas tabakası bulunur. Seroza ise ince bağırsağın en dış tabakasıdır (Collins vd. 2025).

Kalın bağırsak, ince bağırsaktan sonra gelen sindirim sisteminin son bölümüdür. Kalın bağırsak yaklaşık 1,5 metre uzunluğunda olmakla beraber, Gİ sistemin 1/5'ini oluşturmaktadır. Kalın bağırsak mideden gelen kimusun ince bağırsakta sindirilmesi ve emilmesinden sonra geriye kalan sindirilmeyen besin maddelerinin işlenmesinde görev almaktadır. Kalın bağırsak çekum, kolon, rektum ve anal kanal olmak üzere dört bölüme ayrılmaktadır. Kolon ise beş bölüme ayrılmaktadır. Bu bölümler çekum, çıkan kolon, transvers kolon, inen kolon ve sigmoid kolondur (Ogobuiro vd. 2025).

Kalın bağırsağın üç temel işlevi vardır. Bu işlevler; su ve elektrolitlerin emilimi, vitamin üretimi ve emilimi, gaitayı oluşturmak ve rektuma iletmektir. Sindirilemeyen besin maddeleri kolona ulaştığında besin maddeleri ve suyun %90'a yakın kısmı ince bağırsak tarafından emilmiş olur. Çıkan kolonun işlevi sindirilemeyen kimustan kalan suyu diğer besin maddelerini emmek ve gaita oluşturmak üzere katılaştırmaktır. İnen kolonda ise rektuma gönderilecek olan gaita depolanmaktadır. Sigmoid kolon kolonun içindeki basıncı arttırmak için kasılır ve dışkının rektuma doğru ilerlemesini sağlamaktadır. Rektum ise gaitayı atılmasına kadar belirli bir süre tutmaktadır (Azzouz ve Sharma 2023).

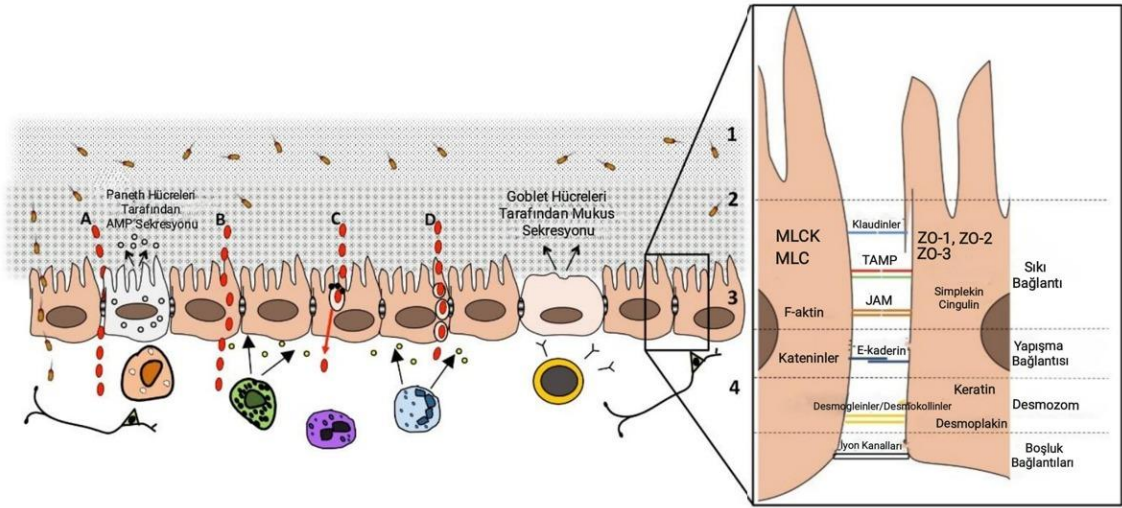
#### 2.1.1. Bağırsak mukoza bariyeri

Bağırsak mukoza bariyeri üç ana katmandan oluşmaktadır. Bunlar; fiziksel, kimyasal ve bağışıklık bariyeridir (Şekil 2.1) (Schoultz 2020). Fiziksel bariyeri, bağırsaktaki epitel hücreleri ve mukus tabakası oluşturmaktadır. Kimyasal bariyeri, antimikrobiyal peptidler (AMP), immünoglobulin (Ig) A ve diğer salgılar oluşturmaktır. Bağışıklık bariyerini ise lamina propriadaki immün sistem hücreleri oluşturmaktadır (Keita ve Söderholm 2010).

Bağırsak lümeninde safra, mide asidi ve pankreas enzimlerinin yanı sıra antimikrobiyal maddeler üreten komensal bakteriler, patojenlerin kolonizasyonunu engeller ve bakteri ile antijenlerin parçalanmasını sağlar. Epitel yüzeye bitişik mikroklima, fiziksel özellikleri ve lamina propriadaki immünoisitler tarafından salgılanan Ig A'nın etkileriyle bakteriyel yapışmayı önleyen glikokaliks ve mukus tabakalarından oluşmaktadır. Enterositler, bağlantı proteinleriyle birbirlerine bağlanarak bağırsak bariyer bütünlüğünü sağlayıp, lümen içeriğinin emilimini ve taşınmasını

gerçekleştirirken; Paneth hücreleri ise lizozim ve  $\alpha$ -defensinler gibi AMP'leri salgılayarak zararlı intraluminal uyarılara karşı savunma sağlar. Epitelin altında bulunan lamina propria, immünoglobulin ve sitokin salgılayan doğuştan ve edinilmiş bağışıklık hücrelerini içerir. Ayrıca enteroendokrin hücrelerin ve enterik sinir sisteminin ürünleri, bağırsak motilitesini uyarak potansiyel olarak zararlı unsurların bağırsakta aşağı yönde ilerlemesini sağlamaktadır (Keita ve Söderholm 2010).

Bağırsak epitel hücreleri, lümeni lamina propriadan fiziksel olarak ayıran ve bakteri, lipopolisakkaritler (LPS) gibi endotoksin ve antijenlerin infiltrasyonunu kontrol eden çoklu bağlantı kompleksleri aracılığıyla birbirlerine bağlanarak sürekli bir katman oluşturur. Sıkı bağlantı (TJ), yapışkan bağlantı (AJ) ve desmozomlar ana bağlantı kompleksleridir ve transmembran proteinlerden (Occludin, Claudin-1, Claudin-4), periferik membran proteinlerinden (Zonula okludens-1 (ZO-1) ve Zonula okludens-2 (ZO-2)), bağlayıcı yapışma moleküllerinden (JAM) vb. oluşur (Groschwitz ve Hogan 2009).



**Şekil 2.1.** Bağırsak mukoza bariyeri (Schoultz 2020)

Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) de dahil olmak üzere prostaglandinlerin (PG) sentezi memeli organizmasının herhangi bir hücresinde meydana gelebilir ve bunların üretimi için birincil substrat, hücre zarı fosfolipidlerinin bir bileşeni olan araşidonik asittir (Smit 1989). PGlerin üretimi bağırsak homeostazisi için oldukça önemlidir ve hücre çoğalması, mukus üretimi, AMP'lerin salınımı veya motilitenin düzenlenmesi gibi pek çok süreçte rol oynamaktadır. Sağlıklı koşullarda ya da özellikle hasarlı hücrelerden salınan sitokinler, mitojenler veya hormonlar gibi çeşitli uyarıların etkisi altında, sitozolik fosfolipaz A<sub>2</sub>'nin aktivasyonu gerçekleşir ve bu da zardaki araşidonik asitin hücre içine taşınmasına yol açar. Bu reaksiyonun yoğunluğu, üretilen eikozanoidlerin, yani araşidonik asit veya diğer çoklu doymamış yağ asitlerinden kaynaklanan biyoaktif moleküllerin nihai miktarını belirler (Leslie 2004). Daha sonra, endoplazmik retikulum zarlarının lümenal tarafında, araşidonik asit hemen Prostaglandin H<sub>2</sub>'ye oksijenlenir. Bu süreç Prostaglandin endoperoksit sentaz tarafından aracılık edilir. Bu enzimin iki izoformu ve birkaç takma adı vardır: prostaglandin G/H sentaz veya en yaygın kullanılan siklooksijenazdır (COX). Prostaglandin H<sub>2</sub>, üç tip PGE<sub>2</sub> sentaz tarafından katalize edilen

reaksiyonda tercihen prostaglandin E<sub>2</sub>'ye dönüştürülür: sitozolik ve mikrozomal prostaglandin E sentaz 1 ve 2 enzimleri bu dönüşümde görev almaktadır (Cheng vd. 2021). PGE<sub>2</sub>, dört G proteinine bağlı reseptör (GPBR) alt tipinden birine bağlanarak etki eder. Bu reseptörler hücre içinde farklı lokalizasyonlara sahiptir ve ayrıca sinyal iletimi ve indüklenen moleküler etki açısından farklılıklar gösterir, bu da PGE<sub>2</sub>'yi oldukça çok yönlü bir molekül yapar (Sugimoto ve Narumiya 2007). EP4 (PGE<sub>2</sub> reseptör alt tipi 4) reseptörünün, büyüme ve proliferasyonun düzenlenmesinde Gsα ve adenilat siklazin aktivasyonu yoluyla cAMP/protein kinaz A sinyalini uyardığı gösterilmiştir. Ayrıca EP4, β-arrestin (β-arr) yolu üzerinden fosfoinositid- 3-kinaz (PI3K) aktivasyonunu tetiklemektedir (Buchanan vd. 2006).

## 2.2. Karaciğerin Genel Özellikleri

Karaciğer metabolizmayı düzenleyen, ilaçların ve toksinlerin detoksifikasyonunu gerçekleştiren, sindirimde görevli, çeşitli bağışıklık hücrelerini barındıran ve vitaminlerin depolamasında görevli vücuttaki en önemli organlardan biridir. Yetişkin bir insanda vücut ağırlığının %2'sini oluşturur (Kalra vd. 2025).

Karaciğerin fonksiyonel birimleri lobüllerdir. Her lobül hekzagonaldir ve hekzagonalin her köşesinde portal triad (hepatik arter, portal ven ve safra kanalı) bulunur. Lobül fizyolojik olarak farklı apikal ve basolateral membranlara sahip hepatositlerden oluşmaktadır. Hepatositler fonksiyon ve perfüzyona göre üç bölgeye ayrılmaktadır (Kalra vd. 2025).

Birinci bölge, hepatositlerin periportal bölgesidir. Besin ve oksijen zengin kanın kolaylıkla ulaştığı bölge olduğu için en iyi perfüze edilen ve en iyi rejenerasyona uğrayan bölgedir. Yüksek perfüzyonu nedeniyle bu bölge beta oksidasyon, safra oluşumu, glukoneogenez, kolesterol oluşumu ve amino asit katabolizması gibi olaylarda başlıca rol oynamaktadır. İkinci bölge, hepatositlerin perisantral bölgesidir ve birinci ile üçüncü bölge arasında yer almaktadır. Üçüncü bölge ise portal triada uzak olması sebebiyle en düşük perfüzyona sahiptir. İlaçların biyotransformasyonu, detoksifikasyon, glikoliz, ketogenez, lipogenez, glikojen sentezi gibi olaylar ağırlıklı olarak burada gerçekleşmektedir (Kalra vd. 2025).

Karaciğer safra üretiminden sorumlu bir organdır. Safra, böbrekler tarafından atılmayan maddelerin atılmasına yardımcı olan, safra asitleri ve tuzları yardımıyla lipidlerin emilimini sağlayan ve sindirime yardımcı olan önemli bir sıvıdır. Safra sıvısı, hepatositlerden safra kanallıklarına taşınır ve duodenuma doğru bir yol izler veya safra kesesinde depolanır. Duodenuma ulaşan safra içerisindeki bazı bileşenler, bağırsak bakterileri tarafından ikincil safra asitlerine dönüştürülür; bu safra asitleri ileumda emilerek enterohepatik dolaşım yoluyla yeniden kullanılmak üzere karaciğere geri taşınır. (Kalra vd. 2025).

Karaciğer yağda çözünen vitaminlerin depolandığı (A, D, E ve K vitaminleri) ve metabolize edildiği organdır. Yağda çözünen vitaminlerin çoğu, şilomikronlar veya çok düşük dansiteli lipoproteinler (VLDL) formunda bağırsaktan emilerek karaciğere taşınır. A vitamini karaciğerde stellat hücrelerde (İTO) depolanır (Kalra vd. 2025). D vitamininin aktive edilmesi için gerekli hidroksilasyon basamağında karaciğer önemli rol oynar ve D3 vitamininin 25-hidroksi D vitaminine dönüşümünde gerekli 25-hidroksilaz enziminin

bulunduğu organdır. Alfa ve gama tokoferol (E vitaminleri) molekülleri karaciğere ulaştığında alfa tokoferol VLDL veya yüksek dansiteli lipoproteinler (HDL) ile karaciğerde konjuge olurken; gama tokoferol ise karaciğerde metabolize olur ve vücuttan atılmak üzere dolaşıma salınır. K vitamini ise karaciğerde depolanmaz ve metabolize edilmez fakat gama glutamil karboksilaz koenzimi olarak gereksinim duyulur. Gama glutamil karboksilaz pıhtılaşma faktörleri II, VII, IX, X ve protein C ve protein S'nin gama karboksilasyonunda görev almaktadır (Kalra vd. 2025).

Karaciğer, ksenobiyotiklerin detoksifiye edilmesinde rol alan organdır. Karaciğer lipofilik bir formdan daha hidrofobik forma dönüştürmek için ksenobiyotikleri faz 1 ve faz 2 reaksiyonları vasıtasıyla transforme etmektedir. Bu faz 1 ve faz 2 reaksiyonları hepatositlerin düz endoplazmik retikulumunda gerçekleşmektedir. Faz 1 reaksiyonları sitokrom P450 (CYP450) enzim ailesini kullanarak oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz yoluyla ksenobiyotiklerin daha hidrofilik bir formda olmasını sağlamaktadır. Faz 2 reaksiyonları faz 1 reaksiyonları sonucu oluşan metabolitleri kana veya safraya salgılanmak üzere daha hidrofilik bir forma getirmek için konjuge etmektedir. Faz 2 reaksiyonlarında gerçekleştirilen konjugasyon ise; glutatyon, glukronat ve sülfat ile metabolitlerin konjuge edilerek daha hidrofilik bir forma dönüştürülmesi şeklinde olmaktadır (Kalra vd. 2025).

Karaciğer, bilirubin metabolizmasında da rol oynayan önemli bir organdır. Eritrositlerin parçalanması karaciğer, dalak ve kemik iliğinde gerçekleşmektedir. Eritrositlerin parçalanmasının sonucu olarak hem grubu açığa çıkmaktadır. Hem indirgenir. Karaciğer dolaşımdaki albümine bağlı konjuge olmayan bilirubini alır. Karaciğere taşınan bilirubin daha hidrofilik hale gelmek için faz 2 reaksiyonu ile uridin difosfat glukroniltransferaz (UGT) enzimi aracılığıyla konjugasyona uğrar. Konjuge olan bilirubin ya safraya salgılanır ya da böbreklere taşınarak atılmak üzere kana verilmektedir. Safraya verilen konjuge bilirubin bağırsak duvarından emilemez ve dışkı ile atılmaktadır. Konjuge bilirubin moleküllerinin bazıları bağırsak bakterileri tarafından bağırsaktan emilmek üzere ürobilinojene veya konjuge olmayan bilirubine dönüştürülür ve bağırsaktan emilerek enterohepatik dolaşıma katılmaktadır (Kalra vd. 2025).

### 2.3. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (İBH)

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığı (CH) gibi bağırsak mukozasının tekrarlayan ve kronik inflamasyonu ile meydana gelen bir hastalık grubudur (Hanauer 2006). CH ve ÜK arasında ortak özellikler bulunmasına rağmen, bu iki hastalık çeşitli klinik semptom ve patofizyolojik özelliklerle ayırt edilirler (Hanauer 2006). CH'nda tüm GI sistemin inflamasyonu gözlenirken; ÜK'te hastalık özellikle kalın bağırsağı ve rektumu etkilemekte ve inflamasyon mukoza ile sınırlı kalmaktadır.

İnflamatuvar bağırsak hastalığının patogeneğinde anormal mukozal immün yanıtın etkin olduğu ve mikrobiyal faktörlerin ve epitel hücre anormalliklerinin de bu tepkiyi kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Strober vd. 2007). Genetik yatkınlık, çevresel faktörler ve anormal bağışıklık yanıtı hastalığın başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır (Mayer 2010).

İnflamatuvar bağırsak hastalığının tedavisinde kortikosteroidler, salisilatlar, immümodülatörler ve biyolojik tedavilerden yararlanılmaktadır. Bu tedavi yöntemlerinde amaç hastalığa sebep olan mekanizmayı ortadan kaldırmaktan ziyade hastalığı remisyonunda tutmaktır (Wilhelm 2017). İBH'nin tedavisi sürekli, bu nedenle de ekonomik yönden bakıldığında Avrupa'da 4,5–5 milyar Euro, Amerika Birleşik Devletleri'nde ise 6,3 milyar dolar gibi bir maliyete neden olmaktadır (Dias vd. 2019).

İnflamatuvar bağırsak hastalığında gözlenen komensal ve patojenik bakterilerin epitele nüfuz etmesine ve inflamatuvar bir yanıt oluşturmaya neden olan başlıca faktörler, mukozal epitel hücrelerinin hasarı ve intestinal homeostazın bozulmasıdır. Bu durum lökosit infiltrasyonuna ve düzensiz intestinal bağışıklık yanıtına yol açmaktadır (Ordás vd. 2012). Epitel hücreleri, lümen içindeki mikroorganizmaların bağışıklık yanıtını tetiklemesini önleyen sıkı bir bariyer oluşturan sıkı bağlantılarla (TJ'ler) birbirine bağlanır ve transmembran proteinlerin (Occludin, Claudin-1, Claudin-4), periferik membran proteinlerinin (ZO-1 ve ZO-2) ve bağlanma yapışma moleküllerinin (JAM) ifade seviyeleri bu süreçle yakından ilişkilidir (Groschwitz ve Hogan 2009). Epitel bariyerinin bozulması, bağırsak mikropları ve bağışıklık hücreleri arasında etkileşimlere yol açarak ilerleyici, kontrolden çıkmış bir inflamatuvar yanıtı açar. LPS, D-laktik asit (D-LA) ve diamin oksidaz (DAO) ile temsil edilen zararlı maddeler mukozaya nüfuz eder ve dolaşıma girerek ilgili nükleer faktör-kappa B (NF- $\kappa$ B) ve mitogenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yollarını aktive eder ve sonuçta interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) ve nitrik oksit (NO) vb. salınımına neden olmaktadır ve interlökin-10 (IL-10) ekspresyonunu inhibe etmektedir ki bu durumla birlikte inflamatuvar bir yanıt oluşmaktadır (He vd. 2016).

Mukus tabakasının ÜK hastalarında daha ince ve daha az süreklilikte olduğu gözlenmiştir (Pullan vd. 1994). ÜK hastalarında değişmiş bir mukus glikozilasyonu tespit edilmiştir ve glikanlar daha kısadır, genellikle daha az karmaşık bir yapıya sahiptir ve sülfatlanmaları azalmıştır (Larsson vd. 2011; Raouf vd. 1992). Sülfatlar musinlere negatif yük kazandırmakta ve glikanların enzimatik bozunmaya karşı direncini arttırdığı için, azalan sülfatlama musinlerin bakteriyel enzimatik bozunmaya karşı daha savunmasız olmasına neden olmaktadır ve pozitif yüklü AMP'ler musinler tarafından elektrostatik olarak bağlandığından mukus tabakasında AMP'lerin daha az etkili bir şekilde tutulmasına neden olmaktadır (Bucki vd. 2008).

### 2.3.1. İnflamatuvar bağırsak hastalığında immün sistem

Genetik düzeyde, İBH tanılı hastalarda bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde protein ekspresyonunu kodlayan veya düzenleyen 200'den fazla gende çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır (Flynn ve Eisenstein 2019). Bu bulgu, İBH hastalarının bağışıklık sistemini etkileyen ve onları inflamatuvar hastalıklar geliştirme olasılıklarını artıran bir genetik yatkınlığa sahip olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmalar, nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı içeren protein 2 / kaspaz aktivasyon alanı (NOD2/CARD15) olarak bilinen ve kromozom 16q12 üzerinde yer alan bir lokusun özellikle CH ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu lokustaki homozigot mutasyonlar, CH riskini yaklaşık 40 kat artırırken; heterozigot mutasyonlar 2–4 kat artmış riskle ilişkilendirilmiştir. Başlıca makrofajlarda, Paneth hücrelerinde, dendritik hücrelerde, bağırsak epitel hücreleri ve T lenfositlerinde ifade edilen NOD2, gram pozitif ve gram negatif bakteriyel peptidoglikanlardaki muramil peptidi tanır. Ek olarak, NOD2 NF- $\kappa$ B yolunu aktive

ederek intestinal homeostazda yer alan proinflamatuvar ve koruyucu moleküllerin salgılanmasını düzenler. NOD2'nin spesifik mutasyonları, muramil dipeptid ile kusurlu bir bağlanmaya neden olur ve bunun sonucunda NF- $\kappa$ B aktivasyonunda değişiklik meydana gelir. Bu değiştirilmiş yol, lümen içindeki bakteri sayısını artırır, patojenlerin ortadan kaldırılmasını azaltır ve Paneth hücrelerinde NOD2 ekspresyonuna izin veren defensinler gibi AMP'lerin seviyelerini engeller. Bu nedenle, NOD2'deki mutasyonlar ve devam eden bir inflamatuvar süreç, bağırsak bariyerinin bozulmasına neden olmada belirleyici olabilir ve olası bir disbiyozu yol açabilir (Venkataraman ve Rivas 2019).

Bağırsağın bütünlüğünün korunmasına önemli ölçüde katkıda bulunan doğuştan gelen bağışıklığın diğer etkili hücreleri lenfoid hücrelerdir (LH). LH'ler bağırsak enfeksiyonlarına karşı savunmaya katılır, adaptif bağışıklığı düzenler, hem lenfoid dokuların oluşumunda hem de homeostazda ve doku rejenerasyonunda önemli bir rol oynar (Cortez vd. 2015). Kan, bademcikler, timüs, karaciğer, bağırsak, akciğer, cilt, rahim ve kemik iliği gibi vücudun farklı bölgelerinde tanımlanmıştır. Doğal lenfositler, Gİ sistemin hem sağlıklı hem de hastalıklı durumlarında önemli rol oynarlar. Özellikle bağırsak bariyerinde, ince bağırsak ve kolonun lamina propriasında bulunurlar. Sitokin üretimi, T lenfositlere benzer ancak CD3<sup>+</sup> T hücrelerinden farklı sitotoksik aktivite gösterirler. Ayrıca stromal hücreler ve diğer bağışıklık hücreleriyle doğrudan hücre-hücre etkileşimleri yoluyla bağışıklık yanıtına katkıda bulunurlar. Belirli transkripsiyon faktörlerinin ifadesine ve farklı sitokin profillerine dayanarak, üç farklı LH alt tipini ayırt etmek mümkündür. Grup 1'in (LH1) LH'leri, transkripsiyon faktörü T-bet'i ifade eder, IL-12, IL-18 ve IL-15'e yanıt verir ve interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) ve TNF- $\alpha$  üretir. Grup 2 LH'ler (LH2), transkripsiyon faktörü GATA-3'ü ifade eder, IL-25, IL-33 ve TSLP'ye yanıt verir ve IL-5, IL-13, IL-9 ve amfiregulin üretir. Helmantik enfeksiyonlara karşı ve astım ve alerjilerin patogeneğinde önemli bir rol oynarlar. Transkripsiyon faktörü ROR $\gamma$ -t'yi ifade eden Grup 3 LH'ler (LH3), IL-1 $\beta$  ve IL-23'e yanıt verir ve lenfoid dokuların gelişiminde ve konak ile mikroplar arasındaki dengede mukozal yüzeyler düzeyinde önemli bir rol oynayan sitokinler olan IL-22 ve IL-17A'yı üretir (Philip ve Artis 2013). Bu grup ayrıca, lenf düğümleri ve bağırsaktaki Peyer plakları gibi ikincil lenfoid dokuların oluşumunda rol oynayan lenfoid doku indükleyici hücrelerini de içerir (Mjösberg ve Spits 2016).

Bağırsaktaki mikrobiyal istilaya karşı inflamatuvar yanıtlar, dendritik hücreler (DH) ve patojenle ilişkili moleküler paternlere (PİMP'ler) yanıt veren makrofajlar gibi doğuştan gelen bağışıklık sisteminin hücreleri sayesinde meydana gelir. İBH'de, inflamasyon bölgesinde yüksek sayıda DH gözlemlenmiştir. Bu hücreler CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfositleri, doğal katil (NK) hücreler ve doğal katil T (NKT) hücreleri gibi efektör hücreleri aktive eder ve düzenleyici hücrelerin aktivasyonunu inhibe eder. Dahası, CH ve ÜK'li hastaların bağırsak mukozasındaki DH'ler, sağlıklı bireylere kıyasla yüksek Toll benzeri tip 2 ve 4 reseptörleri (TLR2 ve TLR4) ekspresyonu gösterir ve ayrıca yüksek seviyelerde CD40 ifade eder (de Souza ve Fiocchi 2016). DH'lerin etkisi, yüksek seviyelerde IL-12 ve IL-6 üretimine yol açarak mukozayı değiştirir ve inflamasyonu tetiklemektedir. Bu hücreler, kemokinler CCL19 ve CCL21'e bağlanan ve bunların ikincil lenfoid organların T hücre alanlarına göç etmesine neden olan CCR7 reseptörünü ifade eder ve bu da inflamasyonu daha da teşvik etmektedir (Neurath 2014).

Bazı proinflamatuvar sitokinler İBH'nin ilerlemesine katılır. Kolon mukozasında IL-1 sitokin ailesinden aktif IL-1 $\beta$ 'nin kolon mukozasında ve IL-18 üretiminin arttığı CH'de yüksek seviyelerde bulunduğu bilinmektedir (Dinarello 2009). IL-6 ve TNF- $\alpha$  da

inflamatuvar yanıtta öncü bir rol oynamaktadır. Pleiotropik bir sitokin olan IL-6, kolon epitel hücrelerinde sitoplazmik transkripsiyon faktörleri STAT1 ve STAT3'ü aktive eder ve çözünür reseptörüyle birlikte ÜK ve CH'li hastalarda artmaktadır. Öte yandan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-23'ün artan ekspresyonuna katkıda bulunarak İBH'nin patogenezinde temel bir rol oynar ve CH ve ÜK'i klinik olarak kötüleştirir. Dahası, bu patolojilerden etkilenen hastalarda TNF- $\alpha$  için çözünür reseptörlerin serum konsantrasyonu önemli ölçüde artmaktadır. TNF reseptörü I hem ÜK'de hem de CH'de aşırı ekspresyon gösterirken, TNF reseptörü II yalnızca CH hastalarında yukarı düzenlenmektedir. Bu nedenle bu iki molekül İBH tanısında kullanılabilir. (Sanchez vd. 2008). IL-10 tüm lökositlerde üretilen bir sitokindir (Kühn vd. 1993). IL-10 anti-inflamatuvar bir sitokindir. İBH'da ise IL-10 uygulamasının olumlu veya olumsuz sonuçlar verdiğine dair çalışmalar mevcuttur (Tomoyose vd. 1998).

İnflamatuvar bağırsak hastalarının mukozasında yüksek konsantrasyonlarda bulunan proinflamatuvar bir sitokin olan IL-17 de önemli bir rol oynar. İmmünohistokimyasal çalışmalar, ÜK ve CH'li deneklerin mukozasında sağlıklı deneklere kıyasla yüksek seviyelerde IL-17A miktarı tespit edilmiştir (Lee vd. 2018). IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-21, IL-23 ve TGF- $\beta$  ile birlikte IL-17A'nın yüksek üretimi, mukozal Th17 hücrelerini aktive eder (Zhou vd. 2007). ÜK ve CH'li denekler, disbiyozdaki değişmiş mikrobiyomdan gelen sinyaller nedeniyle Th17 ailesiyle ilgili birçok sitokini aşırı ifade ettiği görülmektedir. Ayrıca ÜK'li deneklerin periferik kan mononükleer hücrelerinde (PKMH) IL-17 ekspresyonunun hastalığın şiddetiyle ilişkisi olduğu gösterilmiştir ve bu sitokin STAT3 yolunun aktivasyonu aracılığıyla inflamatuvar bir rol oynamaktadır (Lee vd. 2018). Th17 lenfositlerin bağırsaktaki bağışıklık tepkilerini dengede tutmak için düzenleyici T hücreleri (Treg) tarafından hassas bir şekilde düzenlenmesi gerekir. Treg hücreleri Foxp3 ekspresyonu yapmaktadır ve anti inflamatuvar sitokinler IL-10 ve TGF- $\beta$  üretmektedir dolayısıyla anti inflamatuvar aktivite göstermektedir. Ayrıca, fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, Treg hücrelerinin IL-10 ifadesi sayesinde bağırsaktaki inflamasyonu baskılayabileceğini göstermiştir (Geem vd. 2015). Bu hücre tipi, sessiz İBH'li deneklerin aksine, aktif İBH'li hastaların periferik kanında neredeyse tamamen azalmıştır ve bu da hastalığın ilerlemesini önlemedeki önemini vurgulamaktadır. Fizyolojik koşullarda hem Th17 hem de Treg hücreleri bağırsak mukozasında bulunur ve burada patojenik mikroorganizmalara karşı koruyucu işlevler gerçekleştirir ve böylece efektör T hücrelerinin yanıtlarını sınırlamaktadır. Th17 ile Treg dengesinin değişmesi, İBH'nin başlangıcında önemli bir rol oynayan bağırsak mikrobiyomundan etkilenir. Aslında, bağırsak disbiyozu vakalarında, İBH'ye duyarlılık artar (Omenetti ve Pizarro 2015). Bu bulgu, Treg hücreleri tarafından aracılık edilen kronik bağırsak iltihabındaki potansiyel terapötik etkilerle ilişkilidir. İBH için olası yeni tedaviler arasında monoklonal antikolar (mAb'ler) tarafından proinflamatuvar sitokinlerin veya reseptörlerinin nötralizasyonu yer almaktadır. Örneğin, fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, IL-12 ve IL-23 p40'a karşı yönlendirilen mAb'lerin kolitin şiddetini iyileştirebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, IL-21'e karşı mAb, dekstran sülfat sodyum (DSS) ile indüklenen kolitli farelerde kolondaki T hücrelerinin infiltrasyonunun ve iltihaplı bağırsaktaki IL-6 ve IL-17A gibi bazı proinflamatuvar sitokinlerin aşağı düzenlenmesine yol açmaktadır (Stolfi vd. 2011).

İnflamatuvar bağırsak hastağında inflamatuvar sitokinler Th-1 tarafından salgılanır (Lee vd. 2018). Bu sitokinler bağırsakta fibroblastların, nötrofillerin ve makrofajların

birikimine neden olmaktadır. Biriken intestinal fibroblastlar fibroza neden olurken, nötrofiller intestinal matrisin bozulmasını sağlayan elastaz salgılar, makrofajlar ise TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 üreterek matrisin bozulmasına, epitelin hasarına, endotel aktivasyonuna ve vasküler bozulmaya neden olarak bağırsakta inflamasyona neden olmaktadır (Adegbola vd. 2018).

Prostaglandin E<sub>2</sub>, kanser ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Ilsley vd. 2005). İBH ile ilgili bir çalışmada artmış PGE<sub>2</sub> düzeyinin dendrik hücrelerden IL-23 ve IL-17 salınımını arttırdığı, fakat IL-12 ve IL-27 salınımını azalttığını göstermiştir. IL-23 ve IL-17'nin artışı kolon mezenterik lenf düğümlerinde IL-12 p35 ekspresyonunda azalma ve kolon dokusuna infiltre olan nötrofiller ile CD4+ IL-17+ T hücrelerinin sayısında artış olduğu belirlenmiştir. Bu şekilde PGE<sub>2</sub>'nin inflamasyonu tetiklediği belirlenmiştir (Sheibanie vd. 2007). Yapılan bir çalışmada, PGE<sub>2</sub> ve PGE<sub>2</sub> reseptörü EP4'ün hem ülseratif kolit hastalarında hem de DSS ile indüklenmiş deneysel kolitli farelerde aşağı regüle olduğunu bulunmuştur. Ayrıca, PGE<sub>2</sub> ile tedavi kolitte mukozal hasarı hafifletmiştir. Ayrıca  $\beta$ -arr1 ekspresyonunun hem insan hem de fare kolitinde azaldığını tespit edilmiştir.  $\beta$ -arr1'in hedefli olarak bloklanması, PI3K/Akt sinyalini aktive ederek DSS ile indüklenen hasarı takiben yabancıl tip (WT) farelere kıyasla kolit belirtilerini artırmıştır. Ayrıca PGE<sub>2</sub>, esas olarak EP4/ $\beta$ -arr1/p-Akt sinyalini artırarak deneysel kolitin epitelyal proliferasyonunun korunmasına katkıda bulunmuştur. Bu bulgular, PGE<sub>2</sub> aracılı kolon epitel bariyerinin bütünlüğünde  $\beta$ -arr1'in önemli rolünü göstermiş ve EP4/ $\beta$ -arr1/p-Akt sinyalini ülseratif kolitte yeni bir terapötik hedefi olarak belirlemek için yeterli bilimsel kanıt sağlamıştır (Peng vd. 2017). PGE<sub>2</sub>, İBH'de kolon hücre proliferasyonunu ve sıkı bağlantı proteinlerinin miktarını artırır; hücre geçirgenliğini ve kolondaki proinflamatuvar sitokinlerin miktarını azaltmaktadır. TNBS indüklü kolit oluşturulmuş ve mPGES-1 (mikrozomal prostoglandin E sentaz-1) nakavt olan sıçanlarda PGE<sub>2</sub> sentezi yapılamamaktadır ve IL-17A ile IFN- $\gamma$  miktarında artış ile kolitin şiddetlendiği görülmüştür (Kojima vd. 2024).

Miyeloperoksidaz (MPO), peroksidaz enzim ailesinin peroksidaz-siklooksijenaz alt grubuna dahil bir enzimdir. Nötrofiller ve monositler tarafından salgılanır ve doğuştan gelen bağışıklıkta rol oynar (Arnhold 2020). MPO, fagositik hücrelerde hidrojen peroksidi hipokloröz asite dönüştüren bir enzimdir. Hipokloröz asit insan vücudunda üretilen en güçlü oksidan moleküllerden biri kabul edilmektedir (Aratani 2018). Nötrofiller, patojenlere karşı ilk savunma hattı olarak kabul edilir ve fagositoz sırasında, çoğu bakterinin öldürüldüğü ve fagozomlarda sindirildiği solunum patlaması adı verilen bir süreçte görev alırlar. Nötrofillerdeki MPO ile zenginleştirilmiş azurofilik granüller, fagozomla birleşir ve ortak zar yırtıldığında fagozomlara salınır. Bu nötrofiller, patojenlerle karşılaştıktan sonra, süperoksit, hidrojen peroksit ve MPO aktivitesinin birincil ürünü olan HOCl gibi diğer reaktif oksijen türevlerinin üretimine yol açan NADPH oksidazın aktivasyonu yoluyla bir solunum patlaması üretir. MPO-HOCl'nin antimikrobiyal aktiviteleri yalnızca bakterileri öldürmekle sınırlı değildir, aynı zamanda mantarları, virüsleri, eritrositleri, tümör hücrelerini, NK hücreleri ve trombositleri de öldürür, bu da doğuştan gelen bağışıklık tepkisindeki rolünü gösterir. Ayrıca MPO'nun solunum patlamasını sonlandırmada rol oynadığı, MPO eksikliği olan nötrofilli bireylerde solunum patlamasının uzadığı ve hidrojen peroksit üretiminin arttığı bildirilmiştir (Pahwa vd. 2023). MPO ve oksidan ürünü olan hipokloröz asit vücutta lipitler, proteinler, nükleik asitlerle reaksiyona girerek ateroskleroz gibi inflamatuvar hastalıklar sebep olduğu

belirlenmiştir (Aratani 2018). Kim ve ark. yaptığı DSS indüklü kolit modelinde kolonda MPO miktarında artış olduğu belirlenmiştir (Kim vd. 2012).

Nitrik oksit (NO) birçok hücre için hem hücre içi hem de hücre dışı düzenleyici işlevlere sahip serbest radikal özellikli bir haberci moleküldür. Endojen NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından katalize edilen reaksiyonda guanidin grubundaki terminal nitrojenin oksidasyonu ile L-argininden üretilir (Calcerrada vd. 2011). NOS'un iki farklı işlevsel formu tanımlanmıştır: yapısal ve indüklenebilir formlar. Yapısal izoformlar olan endotelial (eNOS) ve nöronal NOS'lar (nNOS) tarafından NO sentezi yapılmakta ve normal fizyolojik koşullar altında düşük seviyelerde NO üretilmektedir (Calcerrada vd. 2011). Üçüncü izoform olan indüklenebilir NOS (iNOS), farklı uyarılar üzerine makrofajlarda, nötrofillerde, endotel ve düz kas hücrelerinde yüksek oranda ifade edilir. Endotoksin ve/veya sitokin tarafından indüklendikten sonra, iNOS yüksek ve sürekli NO üretimine neden olmaktadır. Bu yüksek NO seviyeleri toksik olabilir ve sağlıklı dokuya zarar verebilir. Doku hasarı, NO'nun reaktif oksijen türlerinden biri olan süperoksit anyonuyla etkileşimi sonucu oluşabilir ve bu da inflamatuvar yanıtın yukarı regülasyonuna daha fazla katkıda bulunan peroksinitrit oluşumuna neden olur (Palatka vd. 2005). Kolon mukozasının aktif inflamasyonu, inflamatuvar hücreler (makrofajlar ve nötrofiller), endotel hücreleri ve düz kas hücreleri tarafından salgılanan sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IFN- $\gamma$ ) üretiminin artmasıyla ilişkilidir. Bu sitokinler, NO salınımının artmasına ve bunun sonucunda peroksinitrit, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonları gibi reaktif ürünlerin oluşmasına neden olan iNOS'u indükler. Peroksinitrit sitotoksik etkiler gösterir ve geçirgenlikte ek bir artışla birlikte, membran lipid peroksidasyonuna, DNA zincirlerinin parçalanmasına ve poli (ADP riboz) sentazın aktivasyonuna neden olur, bu da enerji tüketimine ve hücre içi ATP miktarının bozulmasına yol açar. Peroksinitrit oluşuktan sonra doku hasarına ve inflamasyona neden olmaktadır (Calcerrada vd. 2011).

İnsanlarda ve çeşitli hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda NO'nun İBH'da rol oynayabileceği bildirilmiştir (Boughton-Smit 1994). Bir çalışmada NO sentazın (NOS) yan ürünü olan sitrülün konsantrasyonunun ÜK'li hastaların biyopsi örneklerinde arttığını göstermiştir. Tüm NOS tiplerinin bir inhibitörü olan N<sup>o</sup>-monometil-L-arjinin (L-NMMA) ile inkübasyon kolon biyopsilerindeki sitrülün miktarını önemli ölçüde azaltmıştır. Bu durum artan sitrülün miktarının NO aktivitesindeki artışın bir göstergesi olduğunu göstermektedir (Middleton vd. 1993). Yapılan başka bir çalışmada ise iNOS miktarının kontrol grubuna göre yaklaşık 8 kat arttığı görülmüştür (Middleton vd. 1993). TNBS veya DSS indüklü kolit modelleri üzerinde yapılan bir çalışmada oral yolla doksiziklin uygulaması, hastalık aktivite indeksini (DAİ) ve kolon hasarını azalttığı, bununla beraber NO miktarında da bir azalma gözlenmiştir (Garrido-Mesa vd. 2015).

#### 2.4. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığının Bağırsak Dışındaki Etkileri

İnflamatuvar bağırsak hastalığı yalnızca Gİ sistemi değil, aynı zamanda vücudun birçok başka organlarını da etkileyebilen sistemik bir hastalıktır. Gİ sistemi dışındaki organların tutulumu genellikle İBH'nin bağırsak dışı bulguları (BDB'leri) olarak adlandırılmaktadır (Garber ve Regueiro 2019). Etkilenen organa bağlı olarak BDB'ler değişen sıklıkta ortaya çıkmaktadır. BDB'ler, İBH tanısından önce veya sonra ortaya çıkabilir ve İBH hastalarının yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. BDB'ler spesifik tedaviler gerektirir veya en azından bağırsak iltihabının tedavisine karar verirken dikkate alınması gerekmektedir (Garber ve Regueiro 2019). BDB'ler altta yatan

İBH'nin şiddetlenmesiyle birlikte ortaya çıkabilir veya İBH aktivitesinden bağımsız olabilmektedir (Rogler vd. 2021).

Bağırsak dışı komplikasyonlar, bağırsaktaki inflamasyonun doğrudan veya dolaylı sonuçlarıdır. Bu bulgular, bağırsak dışında bulunan ve patogenezi bağırsaktan gelen bağışıklık tepkilerinin yayılmasına/taşınmasına bağlı olan veya İBH ile ortak bir çevresel veya genetik yatkınlığı paylaşan bir inflamatuvar patoloji olarak da tanımlanabilmektedir (Hedin vd. 2019). BDB'ler hem ÜK'de hem de CH'de yaygın gözlenir (Luchetti vd 2019).

Hem CH hem de ÜK'de, BDB'ler en sık kas-iskelet sisteminde (örn. periferik ve aksiyel artrit, entezit), ciltte (piyoderma gangrenozum, eritema nodozum, Sweet sendromu ve aftöz stomatit), hepatobiliyer sistemde (primer sklerozan kolanjit) ve gözlerde (episklerit, ön üveit ve iritis) görülür. Ancak, hemen hemen her organda gözlenebilir. Bu organ belirtileri klinik olarak belirgin olmayabilir veya tespit edilmesi kolay olmayabilir. Örneğin, İBH ile ilişkili akut veya kronik pankreatit nadirdir (Garcia vd. 2020). Ancak asemptomatik ekzokrin yetmezlik, pankreas kanalı anormallikleri ve hiperamilazemi İBH hastalarının %18'inde görülür ve ekzokrin pankreas dokusuna karşı antikolar, CH'li hastaların %29'una kadar bulunabilir ancak ÜK'de bulunmaz (Ramos vd. 2016). Pnömonit veya primer sklerozan kolanjit (PSK) gibi diğer durumlar, ÜK'li hastalarda proktokolektomiden (kalın bağırsağın tamamen çıkarılması) sonra bile devam edebilmektedir (Klebl vd. 2005).

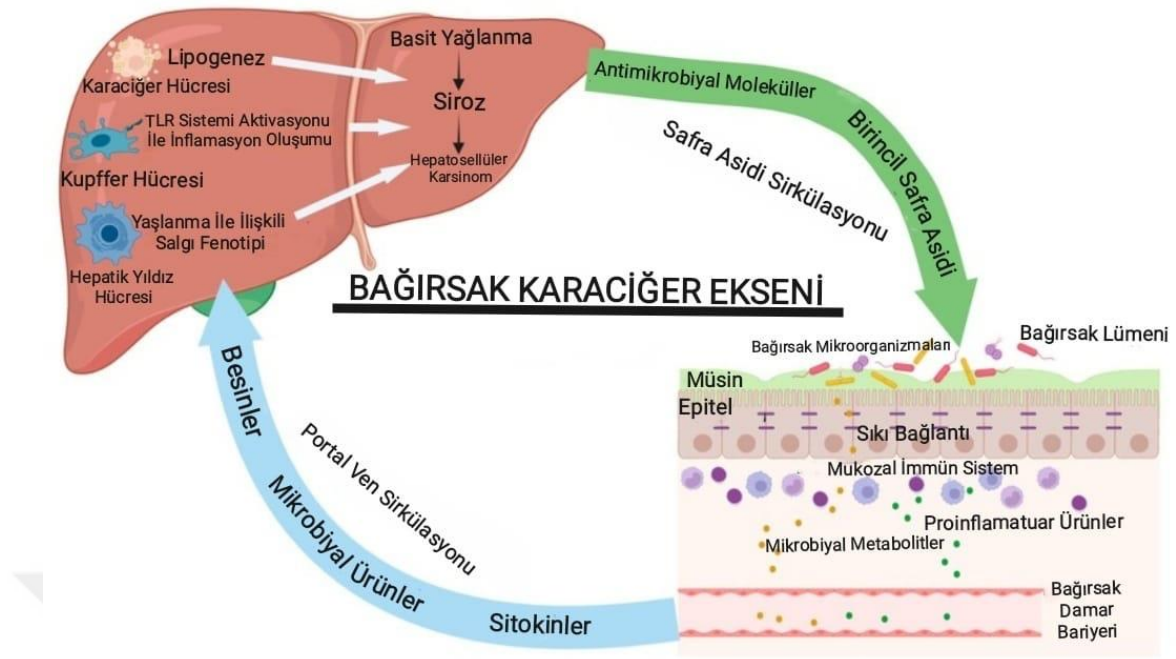
#### **2.4.1. İnflamatuvar bağırsak hastalığında karaciğer**

Bağırsak ile karaciğer arasındaki ilişki, bağırsak-karaciğer eksenini olarak bilinen karmaşık bir etkileşim ağına dayanır (Şekil 2.2) (Song 2022). Bu ekseninde, bağırsak florası, bağırsak bariyer fonksiyonu, mikrobiyal metabolitler ve immün yanıtlar, karaciğer sağlığını doğrudan etkileyebilir. İBH, bu eksenin bozulmasına yol açarak karaciğer hasarına ve portal hipertansiyona neden olabilir (Iwakiri ve Groszmann 2006).

Gastrointestinal sistem, patojen ilişkili moleküler desenlerin (PİMD'lerin) ve metabolitlerin kaynağı olan çok sayıda mikroorganizmayı, özellikle de bakterileri içermektedir (Ma vd. 2018). Normal koşullar altında, az miktarda bağırsak mikrobiyotasındaki bakteriler (BMB'ler) ve metabolitler karaciğere girer ve hızla temizlenir. Ancak, bağırsak disbiyozunda olduğu gibi, bağırsak bariyer geçirgenliği arttığında, büyük miktarda BMB ve BMB metabolitleri karaciğere girerek karaciğerde bağışıklık sisteminin aktivasyonuna ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimine yol açmaktadır (Giuffrè vd. 2020). Artan bağırsak geçirgenliği, potansiyel olarak BMB ve metabolitlerinin bileşimindeki patolojik değişikliklerden veya BMB'lerin indüklediği inflamatuvar yanıtın kaynaklanan bağırsak mukozasındaki sıkı bağlantının bozulmasından dolayıdır (Giorgio vd. 2014). Dendritik hücreler, bağırsak epiteli altında güçlü bir savunma oluşturmaktadır. Düzensiz BMB'ler, olgunlaşmamış dendritik hücreleri IL-23 üretmeye teşvik eder, bu da aktif CD4<sup>+</sup> T hücrelerindeki yüzey reseptörleriyle etkileşime girerek IL-17A ve IL-22'nin salgılanmasını sağlar ve böylece lokal bir bağırsak inflamatuvar yanıt oluşmaktadır (Sewell ve Kaser 2022). Dendritik hücreler ve makrofajlar inflamatuvar yanıtı şiddetlendirmek için IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler üretmektedir (Ng vd. 2011). Yüksek miktarda üretilen proinflamatuvar sitokinler, inflamatuvar yükü arttırmanın yanı sıra bağırsak epitel hücreleri

arasındaki sıkı bağlantıları etkilemektedir. IL-1 $\beta$ , bağırsak epitel hücrelerinin bağlantılarını ve sıkılığını doğrudan bozmak için granülositleri aktive etmektedir (Coccia vd. 2012). TNF- $\alpha$ , bağırsak epitelinde miyozin hafif zincir kinaz (MHZK) protein ekspresyon seviyesini artırır (Ma vd. 2005). MHZK, bağırsak epitel hücrelerini birbirine bağlayan sıkı bağlantıların geçirgenliğinin artmasına yol açmaktadır (He vd. 2020). Dahası, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ , bağırsak epitel hücrelerini etkileyen ve E-kalmodulin de dahil olmak üzere apikal ve bazal lateral membranlardaki proteinleri değiştiren endoplazmik retikulum stresini indüklemektedir. Bu durum, bağırsak epitelinin sıkı bağlantılarını daha da bozmaktadır (Chotikatum vd. 2018). Bu sitokinlerin salınımı, epitel hücrelerine bağlanan ve toksik partikülleri (perforin ve granzimler gibi) serbest bırakan NK hücreleri aktive edebilir ve epitel hücrelerinde apoptozu indükler (Rohr vd. 2020). Dahası, dendritik hücreler antijenleri fagosite eder, bu da T hücrelerini aktive eder ve yardımcı T hücrelerinin Th1, Th2 ve Th17 hücrelerine farklılaşmasını uyarır. Th1 hücreleri, sitotoksik T hücrelerinin aktive ederek çoğalmalarını indükler ve bağırsak epitel hücrelerine saldırmasına neden olmaktadır. IL-18, Th1 hücreleri tarafından önemli miktarda IFN- $\gamma$  salgılanmasını teşvik eden proinflamatuvar bir sitokindir. IFN- $\gamma$ , bağırsak epitel hücrelerinde apoptozu indükler ve böylece bağırsak epitelinin bütünlüğünü bozmaktadır (Chang 2020). Th2 hücreleri, B hücrelerini aktive ederek bu hücrelerin çoğalmasına ve IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılayan plazma hücrelerine farklılaşmasına neden olmaktadır (Romagnani 1994). Bu faktörlerin, lokal eozinofil ve mononükleer infiltrasyon, artan mukus üretimi ve epitel hücre proliferasyonu ve hipertrofisi ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır (Fort vd. 2001). Ek olarak, IL-13 epitel hücrelerinde STAT6'yı aktive eder ve bağırsak epitelindeki sıkı bağlantıları etkilemektedir (Lin vd. 2019). IL-13 ayrıca bağırsak epitel hücrelerinin apoptozunu indükleyebilir ve bağırsak geçirgenliğini daha da artırabilmektedir (He vd. 2018). Th17 hücreleri, inflamatuvar yanıtları aracılık etmek için IL-17A salgılamaktadır (Lee vd. 2018). Büyük miktarda proinflamatuvar sitokin, inflamatuvar yükü artırmanın yanı sıra bağırsak epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantıları etkilemektedir (Wang vd. 2024).

Artan bağırsak geçirgenliği, BMB'lerin ve LPS ve endotoksinler gibi metabolitlerin portal dolaşıma geçişinin artmasına neden olur (Wang vd. 2021). Trimetilamin ve alkol de dahil olmak üzere BMB'ler tarafından üretilen metabolitler karaciğer üzerinde doğrudan toksik etki yapmaktadır. BMB'nin ayırt edici moleküler yapıları olan PİMD'ler doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktivasyonu yoluyla karaciğer hasarına neden olmaktadır (Li vd. 2022). BMB, toll benzeri reseptörler (TLR'ler) ve inflamazomları kapsayan karaciğerdeki patojen tanıma reseptörleri tarafından tespit edilir. TLR'ler, Kupffer hücreleri ve hepatik stellat (yıldız) hücreler gibi hepatik sinüzoidal hücrelerde de bulunur ve hücre zarlarında yer alan PİMD'leri tanır (Nakamoto ve Kanai 2014). TLR aracılı sinyal yolları, karaciğer hasarına neden olan veya onu şiddetlendiren inflamatuvar sitokinlerin sürekli üretimine yol açmaktadır (Kesar ve Odin 2014).



Şekil 2.2. Bağırsak-karaciğer eksen (Song 2022)

Sıçanlarda DSS indüklü kolit modeli üzerinde yapılan çalışmada bağırsak-karaciğer ekseninin karaciğer hasarındaki rolü incelenmiştir. Özellikle, karaciğer sinüzoidal endotelial hücrelerinin bu süreçteki fonksiyonları değerlendirilmiştir. Kolit kaynaklı karaciğer hasarında, nötrofiller karaciğerde aktive olmuştur. Hasar gören sinüzoidal endotelial hücreleri hem yapısal hem de işlevsel değişiklikler göstermiş ve LPS uyarısı ile Kemokin CXC Motif Ligandı 1 (CXCL1) ve TNF- $\alpha$  ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı görülmüştür (Wang vd. 2021).

Primer sklerozan kolanjit (PSK), İBH hastalarında görülen en önemli hepatobiliyer BDB'lerden biridir. PSK hastalarının %60-80'inde altta yatan bir İBH teşhis edilebilmektedir (Rossi vd. 2016). PSK, ÜK hastalarında %5'e varan bir yaygınlıkta CH hastalarında daha az sıklıkla bulunmaktadır (Kaplan vd. 2007). PSK çocuk popülasyonuna kıyasla yetişkin İBH hastalarında daha sık bulunmaktadır (Kaplan vd. 2007). ÜK hastalarında PSK gelişimi için risk faktörleri erkek cinsiyet, ÜK hastalarında pankolit ve apendektomi öyküsüdür (Fraga vd. 2017). Klinik olarak yükselmiş alkalen fosfataz veya gama-glutamil transferaz (GGT) serum seviyeleri daha ileri değerlendirmeyi gerektirmektedir. Histolojik olarak PSK, intrahepatik ve ekstrahepatik safra yollarında lenfositlerin infiltrasyonu ve bunu takiben fibrozu tetikleyen bir inflammatuar süreç ile karakterizedir ve bu durum safra kanallarının daralmasına yol açabilmektedir. Bu durum uzun vadede karaciğer sirozu, son evre karaciğer hastalığı ve kolanjiyokarsinom izleyebilir (Dean vd. 2020). En önemlisi, PSK'li İBH hastalarında kolorektal karsinom gelişimi için on kat daha fazla risk bulunmasıdır (Feverly vd. 2007).

PSK'nin patofizyolojisi iyi anlaşılmamıştır. PSK hastalarında karaciğer nakli olmadan ortalama sağ kalım süresinin 10 ila 12 yıl olduğu bildirilmektedir (Tischendorf vd. 2007). Ursodeoksikolik asit PSK hastalarında sıklıkla reçete edilirken sağ kalım veya karaciğer sirozu veya malignite gibi diğer sorunlar için önemli bir fayda göstermemektedir (Poropat vd. 2011). İBH hastalarında bağırsak iltihabının tedavisi de

PSC'in seyrini değiştirmemiştir. ÜK için kolektomi yapılan hastalarda PSK'nin kötüleştiği tanımlanmıştır ve İBH ile ilişkili PSK nedeniyle karaciğer nakli yapılan hastalarda greft reddini önlemek için immünoşüpresyon uygulanmasına rağmen kolon iltihabı sıklıkla daha da şiddetlenmektedir (Gelley vd. 2014). PSK hastalarında safra kesesi polipleri yüksek malign potansiyele sahiptir ve kolesistektomi ile tedavi edilmelidir (Gelley vd. 2012).

PSK'nin yanı sıra karaciğerin BDB'leri arasında otoimmün hepatit, IgG4 ile ilişkili kolanjit ve granülomatöz hepatit bulunmaktadır. Ek olarak, karaciğeri etkileyebilen ve hepatite neden olabilen birden fazla İBH tedavisi bulunmaktadır (tiyopürinler, metotreksat, anti-TNF antikörleri ve JAK inhibitörleri vb.). Ayrıca immünoşüpresyon hepatit B'nin yeniden aktive olmasına yol açabilir veya CMV, EBV ve diğerleri gibi diğer virüslerin aracılık ettiği hepatite neden olabilmektedir (Gizard vd. 2014).

## **2.5. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında Kullanılan Deneysel Kolit Modelleri**

İnflamatuvar bağırsak hastalığında etkili bir tedavi yöntemi geliştirmek için hastalığın moleküler mekanizmaları ayrıntılı bir şekilde açıklığa kavuşturulmalıdır. Bu amaçla çeşitli deneysel kolit modelleri tasarlanmıştır. İnsan İBH'sinin patogenezi ve karmaşıklığını incelemek için uygun bir yaklaşım, hayvanlarda İBH'yi indüklemektir. İBH'nin hayvan modelleri, bağırsaktaki histopatolojik ve morfolojik değişikliklerin doğru anlaşılması için vazgeçilmez bir modelleme yöntemidir. Sonuç olarak, hayvan modelleri İBH'yi tedavi etmek ve belirli bir ilacın olası etki mekanizmasını incelemek için yeni bir terapötik ilacın geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İBH'yi incelemek için çeşitli hayvan modelleri oluşturulmuştur; bunlar genel olarak kimyasal indüklü kolit modeli, adaptif transfer modeli, spontan kolit modeli ve genetik olarak tasarlanmış/transgenik hayvan modelini içerir. Kolit oluşturmada yaygın kullanılan kimyasallar arasında, trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) (de Almeida vd. 2013), DSS (Cheah vd. 2013), oksazolon (Lee vd. 2012), asetik asit (Al-Rejaie vd. 2013), steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler) (Pawar vd. 2011), karragenan (Pricolo vd. 1996), peptidoglikan-polisakkarit (PGPS) (Reingold vd. 2013) yer almaktadır. Çeşitli modeller arasında, kimyasal aracılı modeller yaygın olarak kullanılır, çünkü bunlar kolay tekrar edilebilirlik ve geliştirme kolaylığı açısından avantajlı deneysel kolit modelleridir (Randhawa vd. 2014).

### **2.5.1. Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) indüklü kolit modeli**

Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), hücre aracılı bağışıklık tepkilerini harekete geçirir ve insan İBH'sine benzer morfolojik ve histopatolojik özellikler gösteren bağırsakta transmural inflamasyona neden olmaktadır (de Almeida vd. 2013). TNBS, artmış lökosit infiltrasyonu, ödem ve ülserasyon ile karakterize edilen yaygın kolon inflamasyonuna yol açmaktadır (Isik vd. 2011). TNBS uygulaması CD4<sup>+</sup> T hücresi infiltrasyonu ile kendini gösteren Th1-aracılı bağışıklık tepkisinin aktivasyona yol açmaktadır. Bu nedenle, efektör sitokinler olarak IL-12 ve TNF- $\alpha$ 'yı içeren Th1 bağışıklık tepkisine doğru eğilime dayanarak, bu model özellikle insanlarda CH ile ilişkilendirilmiştir (Neurath vd. 1995). Bu nedenle, çok faydalı bir modeldir ve sitokin salgılama düzeni, hücre yapışması ve immünoterapi dahil olmak üzere bağırsak inflamasyonunun birçok yönünü incelemek için sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca,

BALB/C arka planında IFN- $\gamma$  <sup>-/-</sup> farelerle yapılan çalışmalar, TNBS kolitinin TH2-aracılı kolon hipertrofisi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Dohi vd. 2000). Dahası, TNBS visseral duyarlılığa, motilite disfonksiyonuna, geçirgenlik artışına ve sekresyon değişikliklerine de neden olduğu için sıklıkla post-inflamatuvar irritabl bağırsak sendromu (PI-İBS) modeli olarak da yaygın kullanılmaktadır (Qin vd. 2011). TNBS, doğrudan kimyasal etkisiyle değil, kolonun otolog veya mikrobiyal proteinlerini haptenize ederek bunları konak bağışıklık sistemi için immünojenik hale getirmesi sonucu gelişen gecikmiş aşırı duyarlılık tepkisiyle bağırsak iltihabına neden olur. TNBS aracılı kolit modeli, IL-12 ve TNF- $\alpha$  gibi çeşitli sitokinlerin yer aldığı, Th1-aracılı bağışıklık yanıtıyla gelişen; haptenizasyon temelli, transmural infiltrasyon ve inflamasyonla sonuçlanan bir kolit modelidir (da Silva vd. 2010).

Deneyssel olarak, TNBS alkolde çözülür ve kolit oluşturmak için kemirgenlerde intrarektal olarak verilir. Alkol sadece bir çözücü veya taşıyıcı olarak kullanılmakla kalmaz, aynı zamanda mukozal bariyeri kırarak bağırsakta inflamasyonun oluşturulmasına yardımcı olur (Neurath vd. 1995). Çeşitli araştırmacılar, eter/halotan/kloral hidrat vb. kimyasallar kullanılarak oluşturulabilen anestezinin başlatılmasından önce 12-24 saatlik bir açlığın gerektiğini göstermiştir. Sıçanlarda kolit oluşturmak için benimsenen en yaygın yöntem, çeşitli dozlarda olabilen TNBS'nin %50'lik etanolde karıştırılması sonrasında yaklaşık 8 cm proksimal anal kanala tıbbi poliüretan kateter (dış çap 2 mm) yardımıyla enteral olarak uygulanmasıdır. TNBS uygulandıktan sonra, sızıntıyı önlemek ve eşit dağılımını sağlamak için baş aşağı pozisyonda 1-3 dakika boyunca denekler tutulmaktadır. Kolit indüksiyonundan 2-6 gün sonra, çeşitli histolojik ve immünohistokimyasal teknikler kullanılarak kolon inflamasyonunun derecesini değerlendirmek için sıçanlar feda edilmektedir.

Sıçanlara farklı dozlarda uygulanabilen TNBS, doza bağlı bir şekilde akut inflamasyon ve hasara neden olur. %25 ile %50 alkol arasında değişen alkol konsantrasyonlarında, patolojik skorun yani inflamasyonun, TNBS-%50 etanol uygulanan sıçanlarda daha anlamlı olduğu bulunmuştur (Yang vd. 2012).

## 2.6. Apelinerjik Sistem

### 2.6.1. Apelinerjik sistemin genel özellikleri

Apelinerjik sistem, ligand olarak apelin ve apela adlı iki peptidten ve bu peptidlerin bağlandığı reseptör olan apelin reseptöründen (APJ) meydana gelmektedir. Her iki ligandın da çeşitli izoformları bulunmaktadır. Apelinerjik sistem kalp kasının kasılması, vazodilatasyon, glikoz ve insülin homeostazisi, kardiyovasküler gelişim ve daha birçok fizyolojik sürece etki etmektedir. Ayrıca apelinerjik sistem HIV enfeksiyonu, kronik kalp yetmezliği, obezite, diyabet, kronik kalp rahatsızlığı gibi çeşitli patolojik sorunlar ile de ilişkilendirilmiştir (Shin vd. 2017).

APJ, 1993 yılında Q'Down ve ark. tarafından keşfedilen 380 amino asitten oluşan 7 transmembran bölgeye sahip G proteinine bağlı bir reseptördür. APJ, anjiyotenin tip 1 reseptörü (AT1R) ile % 40 oranında amino asit dizisi homolojisine sahiptir (O'Dowd vd. 1993). Anjiyotensin II ile etkileşimi olmadığı için ve aktivatör bir ligandının tanımlanması sürecine kadar APJ, yetim G proteinine bağlı reseptör olarak da adlandırılmıştır (Tatemoto vd. 1998). 1998 yılında Tatemoto ve ark. sığır mide dokusu

özütlerinden APJ reseptörünün endojen ligandının kısaltması anlamına gelen apelin adlı peptidi izole etmişlerdir (Tatemoto vd. 1998).

APJ reseptörünün vücutta geniş bir dağılımı vardır ve birçok organ ve dokuda farklı düzeylerde ekspresyon gösterir. APJ reseptörü, merkezi sinir sisteminde özellikle hipotalamus, medulla oblongata ve omurilik gibi bölgelerde yüksek düzeyde ekspresyon edilir. Bu bölgelerdeki APJ ekspresyonu su dengesi, stres yanıtları ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynar (Pope vd. 2012). Kalp ve damarlar, APJ reseptörünün en yoğun ekspresyon gösterdiği bölgeler arasındadır. Kalp kası hücrelerinde ve damar endotel hücrelerinde yüksek düzeyde ekspresyon bulunur. APJ reseptörü, kalp kasılmasını düzenler, vazodilatasyona neden olur ve kan basıncının kontrolünde önemli bir rol oynar. Akciğerlerde APJ reseptör ekspresyonu, özellikle endotel hücrelerinde ve küçük damar yapılarında yoğunlaşmıştır. Bu ekspresyon, pulmoner hipertansiyona karşı koruyucu etkiler sağlamaktadır (Pope vd. 2012). Böbreklerde APJ reseptörü, özellikle proksimal tübüller ve bazı damar yapılarında bulunur. Bu ekspresyon, su ve tuz dengesinin düzenlenmesinde ve böbrek fonksiyonlarının korunmasında rol oynar (Müller vd. 2018).

Apelin, 77 amino asitten oluşmuş bir preproteindir. Apelinin preproprotein formunun proteolizi sonucu apelin-12, -13, -17, -36 ve Pyr-apelin-13 gibi çeşitli izoformlar oluşmaktadır (Shin vd. 2017). Apelinin N-terminalinde yer alan 22 amino asitlik bölümü sinyal peptidi olarak görev yaparken, C-terminaldeki 55 amino asitlik bölümü APJ ile etkileşim sağlayan aktif bölgeyi oluşturur (Tatemoto vd. 1998). Apelinin izoformları arasında dokularda en yaygın bulunması ve biyolojik olarak en aktif form olması sebebiyle araştırmalarda apelin-13 üzerinde daha fazla durulmaktadır (Shin vd. 2017).

Beyinde APJ'nin ve ardından midede apelinin ilk keşfinden bu yana, hem ligandın hem de reseptörün vücuttaki bilinen doku dağılımı önemli ölçüde genişlemiştir ve artık merkezi sinir sistemi dışında kardiyovasküler sistem, sindirim sistemi, üreme sistemi, boşaltım sistemi ile yağ ve iskelet kasları gibi pek çok farklı periferik dokularda da üretildikleri ortaya koyulmuştur (Kleinz ve Davenport 2005). Apelinerjik sistemin sıçanlarda, farelerde ve insanlarda gözlemlenen dağılımı O'Carroll ve ark. tarafından ayrıntılı olarak incelenmiştir (O'Carroll vd. 2013). Apelinin aksine daha yakın zamanda keşfedilen apela (Toddler/Elabela olarak da bilinmektedir) ise vücutta nispeten sınırlı bir dağılım göstermektedir. Chng ve arkadaşları, apela hakkındaki ilk raporda, yetişkin insan prostatında ve böbreğinde apela mRNA'sının varlığına dikkat çekmiştir (Chng vd. 2013). O zamandan beri, apela kalpte böbrekte ve pluriopotent kök hücrelerde tespit edilmiştir (Yang vd. 2017). Apelin ve apela lokalizasyonu arasında bazı farklılıklar vardır ve her iki ligand da apelinerjik sistem fizyolojisi için önemli moleküllerdir (Shin vd. 2017).

Apelinin keşfinden yaklaşık 15 yıl sonra apela isimli bir ligant keşfedilmiştir (Chng vd. 2013). Apelanın insanda 54 amino asitlik, zebra balığında ise 58 amino asitlik bir preproteinden oluştuğu belirlenmiştir ve N-terminal 22 amino asitlik bir kısmın sinyal peptid dizisine karşılık geldiği belirlenmiştir (Huan 2017). Sinyal peptidinin çıkarılmasıyla en uzun biyoaktif izoform olan apela-32 üretilmektedir. Apelin-55'te olduğu gibi, apela-32'nin amino asit dizisinin analizi, birden fazla dibazik bölgenin varlığını göstermektedir ve apela-22, -21 ve -11 izoformları üretmek için potansiyel proprotein konvertaz aracılı işleme işaret etmektedir. Tüm izoformlar, oldukça korunmuş

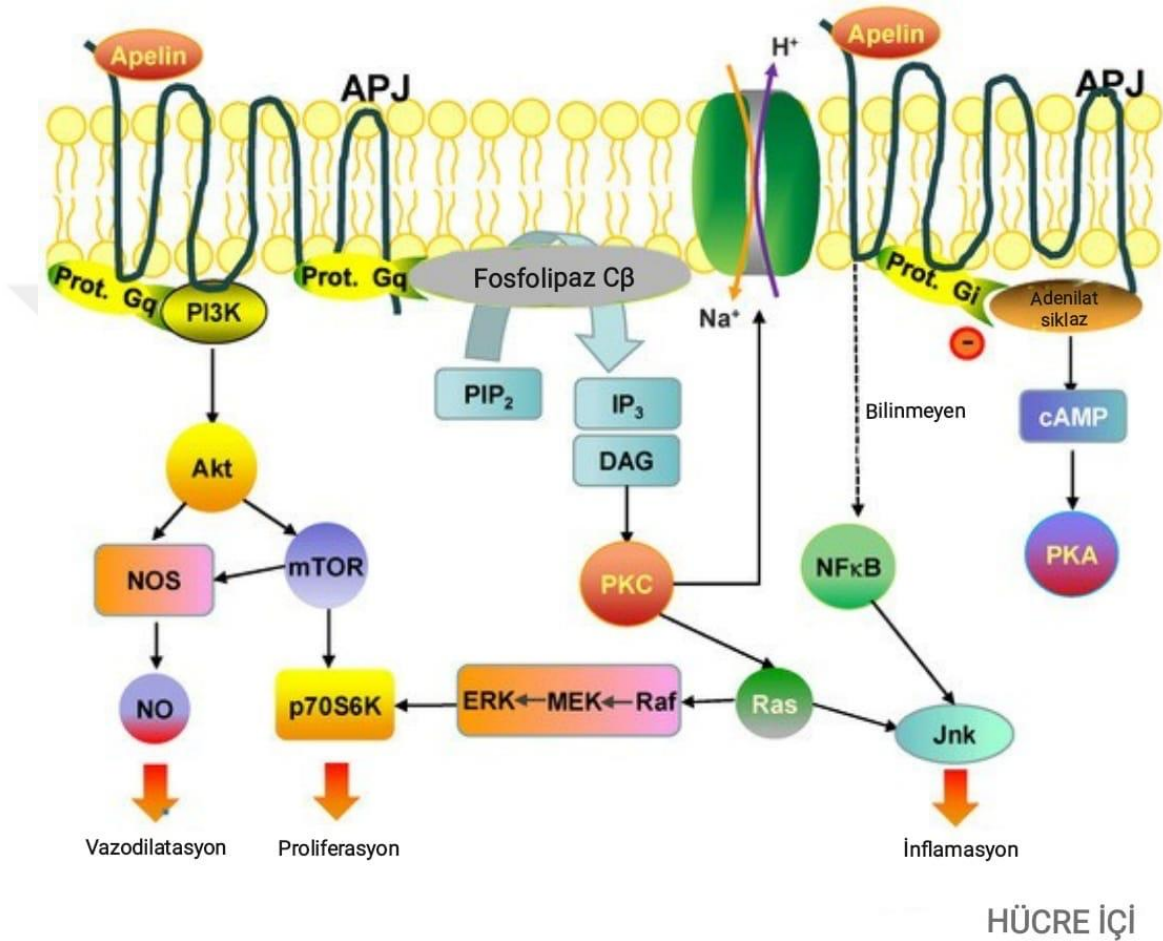
bir 7 C-terminal kalıntısı kümesi içerir. Bu izoformlardan sadece apela-11, apela mRNA'sını ifade eden embriyolarda kütle spektrometrisi yoluyla endojen olarak gözlenmiştir (Pauli vd. 2014). Ancak, diğer izoformların muhtemelen *in vivo*'da da mevcut olduğu görülmüştür, zira sıçan plazmasında apela-32'nin inkübasyonu ilk 9 kalıntıyı ve apela-22'yi içeren bir N-terminal alanı üretmiştir (Murza vd. 2016). Bu, R9 (arjinin) ile R10 ve R10 ile K11 (lizin) arasındaki bölünmeleri düşündürmektedir. Bu, apela-23'ün potansiyel üretimini gösterebilir, apela-23'ün üretilip üretilmediği veya apela-22'den salınan N-terminal alanının ekzoproteazlar tarafından daha fazla işlenip işlenmediği henüz bilinmemektedir. Buna rağmen, bu sonuç plazmada işleme enzimlerinin varlığını göstermektedir. Apela'nın yakın zamanda tanımlanmış olması nedeniyle, bu peptidin işlenmesinde veya deaktivasyonunda rol oynayan spesifik enzimler henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Apela-32, apelin-13'te olduğu gibi bir N-terminal glutamine sahiptir. Bu kalıntı, apelin-13'e benzer şekilde kendiliğinden piroglutamata dönüşür bu da muhtemelen bu izoformun kararlılığını artırmaktadır (Huang vd. 2017).

Apelin ve apela'yı açıkça ayıran bir özellik, sinyal peptidi bölünmesinden sonra sırasıyla sistein kalıntılarının yokluğu veya varlığıdır. Apelinde sisteinler yalnızca sinyal peptidinde bulunur ve bu da sinyal peptidi işlenmesi için potansiyel olarak önemli olan dimer oluşumuyla sonuçlanmaktadır (Lee vd. 2005). Apela'da ise tersine 22 amino asitlik kalıntılı sinyal peptid sistein içermemektedir. Aksine apela-54, 39. ve 44. pozisyonlarında iki yüksek oranda korunmuş sistein içermektedir (Pauli vd. 2014). Bu durum intra (apela-32 için) ve moleküller arası disülfür köprüsü oluşumuna izin vermektedir. Bunu desteklemek için, apela-11 kendiliğinden dimerleşmektedir (Huang vd. 2017). Ancak, dimerizasyonun apela peptidinin işlevinde nasıl bir rol oynadığı şu an için belirsizdir çünkü disülfür köprüsü oluşumunu engelleyen faktörler apela-11'de yalnızca küçük konformasyonel farklılıklara neden olmaktadır ve AR aracılı G-protein-bağımlı veya bağımsız yollar aracılığıyla apela-14 analoglarının gücünü önemli ölçüde etkilememektedir (Huang vd. 2017). Disülfür bağlarının fizyolojik olarak meydana gelip gelmediği ise belirsizdir. *In vitro* olarak ne HPLC ne de kütle spektrometrisi, rekombinant üretim ve saflaştırmada apela-32'de molekül içi veya moleküller arası disülfür köprüsü oluşumuna dair kanıt göstermemiştir ancak disülfür köprüsü oluşumunu düşündüren indirgeyici ve oksitleyici koşullar arasında uzak-UV CD spektropolarimetresiyle küçük farklılıklar gözlemlenebilmiştir. Bu nedenle, endojen apela izoformlarının dimerizasyon durumunu ve bu sistein kalıntılarının oynayabileceği fizyolojik amacı karakterize etmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Huang vd. 2017).

### 2.6.2. APJ'nin sinyal yolları

Apelin/APJ sistemi, G protein kenetli reseptörler aracılığıyla sinyal ileterek hücresel yanıtları düzenler (Şekil 2.3) (Melgar-Lesmes 2019). Bu sistem çoğunlukla Gi/o ve Gq proteinleri üzerinden etki eder (El Messari vd. 2004). Forskolin (FSK) kaynaklı siklik adenosin monofosfat (cAMP) üretiminin inhibisyonu, apelin/APJ sisteminin Gai/o proteini aracılığıyla sinyal ilettiğini düşündürmektedir. Gai proteininin APJ reseptörüne bağlandığı, apelin-13 ve apelin-36'nın hücre dışı asitleşme oranlarının belirlenmesiyle doğrulanmıştır (Tatemoto vd. 1998). Adenilat siklaz ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz 1/2'nin (ERK1/2) fosforilasyonunun inhibisyonuna yönelik yapılan deneyler, murin apelin reseptörünün Çin hamster yumurtalık hücrelerinde Gai3 yerine tercihen Gai1 ve Gai2'ye bağlandığını göstermektedir (Masri vd. 2006). Apelin tarafından uyarılan

ERK1/2 aktivasyonu, protein kinaz C (PKC) aracılığıyla gerçekleşmekte olup, bu durum G $\alpha$ i veya G $\alpha$ q/11'e bağlanmanın göstergesidir (Masri vd. 2006). Ancak, sıçanlarda apelinle indüklenen pozitif inotropik etki, boğmaca toksini (BT) ve PKC inhibitörleri ile yalnızca kısmen engellenebilmektedir. Bu sonuçlar, APJ reseptörünün bazı etkilerinin hem BT'ye duyarlı G $\alpha$ i/o hem de BT'ye duyarsız G $\alpha$ q/11 proteinlerine bağlanarak ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir (Szokodi vd. 2002). Benzer sonuçlar yağ dokusundaki APJ reseptörleri için de doğrulanmıştır (Szokodi vd. 2002).



**Şekil 2.3.** APJ'nin sinyal yolları (Melgar-Lesmes 2019)

İnsan göbek kordonu endotelial hücrelerinde, aktive olmuş APJ, apelin olmaksızın G $\alpha$ i3'e bağlanmakta; bu durum histon deasetilaz 4 ve 5'in (HDA4 ve HDA5) fosforilasyonuna, sitoplazmaya translokasyonuna ve ardından transkripsiyon faktörü olan miyosit güçlendirici faktör 2'nin (MGF2) aktivasyonuna yol açmaktadır (Kang vd. 2013). Apelin/APJ sisteminin aktivasyonu ayrıca; fosfatidilinositol 3-kinaz/protein kinaz B (PI3K/Akt), P70 ribozomal protein S6 kinaz (P70S6K), nitrik oksit sentaz (NOS), AMP ile aktive olan protein kinaz (AAPK), reaktif oksijen türleri (ROS) ve diğer bazı hücre içi sinyal yollarını da tetikleyerek, transkripsiyon faktörlerini hedef almak suretiyle hücre içi işlevleri düzenleyebilmektedir. (D'Aniello vd. 2009).

G-protein-bağımlı hücre içi sinyal iletim yollarına ek olarak, apelin APJ aracılığıyla  $\beta$ -arrestin (arr)-bağımlı sinyal yolunu aktive eder ve APJ'nin

desensitizasyonuna ve endositozuna neden olmaktadır. Apelin-36 ve apelin-13, APJ'nin endositozunu ve desensitizasyonunu iki şekilde başlatmaktadır. Apelin-36,  $\beta$ -arr yolağını aktive etmek için APJ'ye bağlanır ve sonrasında  $\beta$ -arr, reseptörle birlikte endositoz sürecine girer ve Rab7 sinyal yolu aracılığıyla hücre içi lizozoma yerleşerek APJ'nin kalıcı desensitizasyona yol açmaktadır. Apelin-13 ise,  $\beta$ -arr yolağını aktive etmek için APJ'ye bağlanır. Sonrasında, apelin-13 tarafından APJ'nin endositozu,  $\beta$ -arr'dan ayrılması ve Rab4 sinyal yolu aracılığıyla hücre yüzeyine hızlı geri dönüşü ile karakterize edilir; bu durum, APJ'nin geçici desensitizasyonuna yol açar. Hem endositoz hem de desensitizasyon  $\beta$ -arr'ın katılımını gerektirmektedir (Masri vd. 2006). Bu durum, apelin izoformlarının farmakolojik özelliklerinin birbirlerinden farklı olabileceğini ve dolayısıyla farklı fizyolojik etkiler üretebileceğini göstermektedir.

Apelin-K16P'nin (apelin peptidinin 16. pozisyonundaki lizinin (K), prolin (P) ile değiştirilmiş bir formudur) hücre içi G-protein-bağımlı sinyal yollarını aktive ettiği, ancak APJ'ye ve endositoza bağlanmak üzere  $\beta$ -arr yolağını aktive etmediği bulunmuştur. Daha ileri çalışmalar, apelin-K16P'nin sıçanlarda kan basıncını düşürme yeteneğini kaybettiğini ortaya koymuştur (El Messari vd. 2004). Bu durum, apelin aracılığıyla kan basıncının düşmesinin  $\beta$ -arr bağımlı sinyal yolu ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Deneysel bulgular, APJ'nin ser 348'indeki mutasyonun G proteininin aktivasyonunu ve aşağı akış sinyal yollarını etkilemediğini, ancak inaktif  $\beta$ -arr ile sonuçlandığını göstermektedir (Chen vd. 2014).

GPBR süper ailesinin bir üyesi olarak APJ, monomer görevi görmesinin yanı sıra diğer GPBR'lerle heterodimer yapılar oluşturabilir ve farklı biyolojik etkilere katılabilmektedir. İmmünopresipitasyon ve floresan rezonans enerji transferi (FRET) deneyleri APJ ve Ang-II reseptörünün dimerizasyonunun, Ang-II ile ilişkili sinyal yollarını inhibe ettiğini ve aterosklerozun gelişmesine neden olan proinflamatuvar sitokinlerin salınımının ve oksidatif stresin de azalabileceğini bu bağlamda ateroskleroz gelişiminin baskılanabildiği göstermiştir (Chun vd. 2008). Çalışmalar, APJ ve  $\kappa$ -opioid reseptörü arasında, PKC'yi aktive ederek ERK fosforilasyonunu artıran ve PKA aktivitesini inhibe ederek hücre çoğalmasını destekleyen bir heterodimer olduğunu doğrulamaktadır (Li vd. 2012). Bunun yanında APJ, insan göbek kordonu endotelial hücrelerinde bradikinin tip 1 reseptörleriyle bir heterodimer oluşturabilmektedir ve heterodimer G $\alpha$ q1 birleştirerek PKC aktivitesini ve hücre içi Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonunu artırabilmekte ve bunun sonucunda endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) fosforilasyonunu ve hücre çoğalmasını uyarabilmektedir (O'Carroll vd. 2013). Ancak GPBR dimerinin sinyal yolu ve biyolojik özelliklerdeki değişiklikler hala belirsizliğini korumaktadır (Hu vd. 2021).

### 2.6.3. APJ'nin inhibisyonunda kullanılan antagonistler

APJ reseptörü ile etkileşime giren çeşitli antagonist maddeler tanımlanmıştır. Bu maddeler F13A ([Ala13]-Apelin-13), ALX40-4C, MM54, ML221 ve protamindir (Read vd. 2019).

Zhou ve ark. ALX40-4C HIV'in bağlandığı CXCR4 kemokin reseptöründe tanımlanmıştır (Zhou vd. 2003). Reseptöre 2,9  $\mu$ M IC<sub>50</sub> ile doğrudan bağlandığını ve apelin tarafından indüklenen internalizasyonun inhibisyonunu gösterilmiştir. Antagonistik etkilerine rağmen, seçici bir apelin antagonisti olarak kullanılabileceğine

dair çok az bulgu bulunmaktadır. Başlangıçta CXCR4 antagonist olarak tanımlanmıştır ve bir dizi yüksek yüklü amino asit dizisi apelin reseptörünü bloke etmede etkili olsa da diğer GPBR'ler üzerinde seçiciliği bulunmamaktadır. Seçicilik olmadan farmakolojik bir araç olarak ya da tedavide kullanım bulması olası değildir (Read vd. 2019).

MM54, sol ventrikül kalp homojenatlarında insan apelin reseptörüne submikromolar afinite ile bağlanmaktadır ( $KD = 320$  nM). MM54, apelin aracılı  $\beta$ -arrestin alımını ( $KB = 118$  nM) ve reseptör internalizasyonunu ( $KB = 1,3$   $\mu$ M) antagonize etmiştir ancak G protein yolunu bir agonist olarak aktive etmiştir ( $EC50 = 1,4$   $\mu$ M). MM54 aynı zamanda glioblastomayı tedavi etmek için de kullanılmıştır (Harford-Wright vd. 2017).

Küçük bir molekül olan ML221 apelin reseptörü aracılığıyla hem cAMP hem de  $\beta$ -arrestin sinyaliyle karşı mikromolar aralıkta antagonistik etki göstermiştir (Maloney vd. 2012). Bununla birlikte pH 7.4'te sulu ortamda çok sınırlı çözünürlük ve zayıf stabilite ile zayıf bir farmakokinetik profil göstermiştir ve bu nedenle in vivo çalışmalar için önerilmemektedir. Bununla birlikte ML221 apelin ve ELA'nın etkisini in vitro olarak etkili bir şekilde antagonize eder ve bu nedenle, özellikle apelin reseptörü için iyi bir seçiciliğe sahip olduğu için in vitro çalışmalar için yararlıdır (Yang vd. 2017).

Protamin, APJ için 390-nM afinite gösterir ve G proteini ve  $\beta$ -arrestin bağımlı hücre içi sinyalleme açısından tam bir antagonist olarak davranmaktadır. Ex vivo ve in vivo olarak protamin anjiyogenez, glukoz toleransı ve vazodilatasyon gibi apelinin iyi bilinen etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Protaminin antagonist aktivitesi hem in vitro hem de in vivo heparin tedavisi ile tamamen tersine çevrilmektedir (Le Gonidec vd. 2017).

Apelin aktivitesi üzerine ilk yapısal çalışmalar, Pyr-apelin-13'ün C-terminal fenilalanin kalıntısının alanin ile değiştirilmesiyle sentezlenen F13A olarak adlandırılan bir molekülle olmuştur. Pyr-apelin-13'ün aksine F13A, sıçan APJ'si ile transfekte edilen çin hamster yumurtalık hücrelerinde forskolin ile uyarılan cAMP birikimini inhibe etmede etkisizdir (N vd. 2000) ve kan basıncında apelin-13 ile indüklenen düşüşleri antagonize eder (Lee vd. 2005). Ayrıca F13A, hücre içi kalsiyum mobilizasyonunda Pyr-apelin-13'ten yaklaşık sekiz kat daha düşük bir etki gösterir, cAMP birikiminin yaklaşık üç kat daha düşük bir inhibisyonu ve çeşitli hücre hatlarında ifade edilen insan APJ'si için 2 ila 14 kat daha düşük reseptör bağlanma etkinliği göstermektedir (Medhurst vd. 2003). Bununla birlikte, in vitro insan APJ'si için F13A, Pyr-apelin-13 ile karşılaştırılabilir bağlanma, kalsiyum mobilizasyonu ve içselleştirme tepkileri sergilerken, insan kalp dokusunda F13A, sol ventrikülde [125I]-Pyr-apelin-13 ile bağlanma için rekabet eder ve endotelden arındırılmış safen venini etkili bir şekilde daraltır. Bu nedenle, bu mutant peptidin bir antagonist olarak hareket ettiği bildirilmiş olsa da, rekabetçi bir agonist olarak da hareket edebilmektedir (Fan vd. 2003).

#### 2.6.4. İnflamatuvar bağırsak hastalığında apelinergic sistem

Apelinergic sistemin bilinen bağırsak fizyolojisindeki düzenleyici etkileri daha çok motilite, madde absorpsiyonu ve enzim salgıları ile ilişkilidir (Huang vd. 2019). İBH ile ilişkili olarak, apelin üretiminin hem CH'li hem de ÜK'li hastaların kolonlarında arttığı immunohistokimyasal olarak gözlenmiştir (Han vd. 2007). Aynı çalışmada DSS

ile indüklenen fare ve sıçan kolit modellerinde kolonda apelinin mRNA seviyesinin artış gösterdiği ve kolit oluşturulduktan sonra iyileşme fazında Pyr-apelin-13'ün sistemik olarak 3 gün uygulanmasının, farelerde kolon epitel hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. IL-6 ve IFN- $\gamma$  dahil olmak üzere pro-inflamatuar sitokinlerin, insanlarda İBH patogenezinde ve kemirgenlerde deneysel kolitte kritik roller oynadığı bilinmektedir (Brown ve Mayer 2007). Bu sitokinlerin Jak/STAT yoluyla aracılığıyla sıçanlarda ileumda apelin ekspresyonunu arttırdığı ortaya koyulmuştur (Han vd. 2008). 2018'de yayınlanan bir başka çalışmada ise sistemik olarak kronik uygulanan (4 hafta) apelin-13'ün, spontan olarak kolit gelişen IL-10<sup>-/-</sup> farelerde ERK1/2 ve Akt yolları üzerinden hastalık indeksini ve inflammatuar skoru azalttığı ve lenfatik fonksiyonu güçlendirdiği rapor edilmiştir (Ge vd. 2018).

Literatürdeki bulgular, apelinin sağlıklı koşullarda kolonda ekspresyonunun az olduğu, ancak inflamasyon koşullarında üretiminin arttığını göstermektedir (Wang vd. 2022). Bu bağlamda yapılan bir çalışmada sıçanlara intrarektal olarak 30 mg/kg dozunda TNBS uygulamasını takiben F13A, 3 günlük bir periyotta intravenöz olarak uygulanmıştır (Birsen vd. 2023). Kolit oluşturulan sıçanlarda, kolonda fokal mukozal ülserasyon, nekroz, inflammatuar hücre infiltrasyonu ve submukozal ödem ile birlikte vücut ağırlığında azalma, kolon dokusu ağırlık/uzunluk oranında artış ve proinflammatuar sitokin seviyesinde, apelin miktarında, MPO enziminin aktivitesinde ve dışkı kıvamında artış gözlenmiştir. TNBS uygulamasından hemen sonra F13A uygulaması ise, TNBS'nin neden olduğu kolitteki bu bulgulara ve patolojik durumda önemli bir azalmaya ve aynı zamanda apelin seviyesinde de düşmeye neden olmuştur. Apelin aynı zamanda, kortikotropin salgılatıcı faktörün (CRF) sekreatoglarından biridir. Stresin neden olduğu kolon motilitesindeki artışta apelinergic sistemin rol oynadığı ve APJ antagonisti (i.p.) uygulandığı zaman motilitedeki artışın ortadan kalktığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Bülbül vd. 2020). Bununla birlikte APJ'nin, CRF'nin kolon motilitesindeki düzenleyici etkisine katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Bülbül vd. 2020). Stres sırasında hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın aktivasyonu sırasında ve aynı zamanda çeşitli etkenlerin etkisiyle GİS'te lokal olarak da aktive edilebilen CRF, sadece motiliteyi değil, aynı zamanda geçirgenliği, inflamasyonu ve bağışıklığı da düzenlemektedir (Overman vd. 2012). İnflamatuar bağırsak sendromu'nda APJ agonistinin, CRF-TLR4-proinflammatuar sitokin sinyali aktive ederek, kolonda visseral duyarlılığa ve epitelyal geçirgenlikte artışa neden olduğu gösterilmiştir (Nozu ve Okumura 2022). CRF, immün sistem hücrelerini uyararak proinflammatuar sitokin seviyesinde artışa neden olmaktadır (Overman vd. 2012). Dolayısıyla bu çalışmalar, apelinergic sistemin sadece doğrudan kendi reseptörü üzerinden değil, aynı zaman farklı koşullarda dokuda görev alan diğer mediyatörlerin salgıları üzerinden de bağırsak fizyolojisini regüle edebileceğini göstermektedir.

#### 2.6.5. Karaciğerde apelinergic sistem

APJ reseptörü karaciğerde; hepatositlerde, Kupffer hücrelerinde, sinüzoidal endotel hücrelerinde, hepatik stellat hücrelerde ve kolanjiyositlerde yoğun bir şekilde eksprese edilmektedir (Yokomori vd. 2011). Literatürdeki çalışmalar, Apelin/APJ sisteminin karaciğer fizyolojisi ve patolojisi üzerindeki etkilerinin farklı koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymuştur. Apelinergic sistem bazı koşullarda koruyucu etkiler gösterebilirken, bazı koşullarda hepatik fibrözün, sirozun ve hatta kanserin oluşumuna katkı sağlayabilir (Lv vd. 2017). Emam ve ark.'nın karaciğer hasarı

geçiren sıçanlar üzerinde yaptığı deneylerde, apelinin serumdaki ALT, AST ve LDH seviyelerini azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca apelin hepatik kaspaz-3, TNF- $\alpha$  ve MDA seviyelerini azaltmış, GSH ve CAT miktarlarını ise artırmıştır. Apelinin proinflatuar sitokinlerin (IL-6, IL-1 $\beta$ ) ortadan kaldırılması ve antiinflatuar sitokin IL-10'un güçlendirilmesi yoluyla antiinflatuar etkisi de gözlenmiştir (Emam ve Gheit 2016). Kronik hepatit C hastalarında dolaşımdaki serum apelin seviyesi dalgalanmaktadır ve bu durum enfeksiyonun evresine bağlıdır (El-Mesallamy vd. 2011). Ayrıca, apelin hepatositlerde glikojen sentezini etkileyebilmektedir. İnsan HepG2 hücreleri ve primer fare hepatositleri üzerinde gerçekleştirilen bir in vitro çalışmada, apelinin bu hücrelerde glikojen sentezini azalttığı ve insülin direncine karşı etkiler gösterdiği raporlanmıştır. (Chu vd. 2013). Apelinin insan hepatoma hücrelerinde (Hep3B) ve primer fare hepatositlerinde trigliseritlerin hücre içi içeriğini azaltarak lipid birikimini engellediğini bulunmuştur. Apelin sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 1c (SDEBP-1c) ve gliserol-3-fosfat açıltransferaz (GPAT) ekspresyonunu da baskılamaktadır ancak hepatosit hücrelerinde peroksizom proliferatörle aktive edilen reseptör $\alpha$ 'nın (PPAR $\alpha$ ) ekspresyonu apelin konsantrasyonu ile ilişkilidir ve bu da apelinin hepatositlerde antisteatotik etkisini doğrulamaktadır (Huang vd. 2017). Bunlar dışında farmakolojik olarak apelin uygulamasının sıçanlarda hepatik iskemi reperfüzyon hasarını hafiflettiği bildirilmiştir (Sagiroglu vd. 2014).

Karaciğerde apelin/APJ sisteminin diğer yandan, rejenerasyonda inhibitör bir rol oynayabileceği saflaştırılmış hamster anti-fare FAS monoklonal antikoru Jo2'nin intraperitoneal enjeksiyonu ile akut hepatit modeli oluşturulan APJ<sup>-/-</sup> fareler ve yabancı tip fareler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada gösterilmiştir (Yasuzaki vd. 2013). Bu modelde, karaciğerde apelin ve APJ mRNA ekspresyon düzeylerinde artış gözlemlenmiştir. Yabancı tip farelerde hepatik hemoraji ile AST, ALT ve kaspaz 3, 8 ve 9 aktivitelerinin plazma düzeylerinde artış saptanırken; buna karşılık APJ<sup>-/-</sup> farelerde, karaciğer apoptozunun ve hasarının yabancı tip farelere kıyasla önemli ölçüde hafiflediği ve JNK aktivasyonunun güçlü bir şekilde inhibe edildiği ortaya konulmuştur. APJ antagonisti olan F13A, Kupffer hücrelerinin aktivasyonunu doğrudan sağlayarak TNF- $\alpha$  ve IL-6 salgılanmasını tetikleyebileceği ve böylece APJ inhibisyonunun, karaciğerin kısmi rezeksiyonu sonrasında hepatosit proliferasyonunu arttırabileceği düşünülmektedir (Yoshiya vd. 2015). Dahası, kanıtlar apelin ve TNF- $\alpha$  arasındaki ilişkinin karaciğer rejenerasyonunun gelişiminde önemli olduğunu ortaya koymuştur (Fausto vd. 2012). Bu bulgular, apelin/APJ sisteminin karaciğer rejenerasyonu sürecinde yer aldığını göstermektedir. Ayrıca apelin/APJ sinyalinin, hepatik fibroz veya siroz oluşumuna katkı sağlayabileceği ileri sürülmektedir (Yasuzaki vd. 2013). İnsan hepatositlerinde apelin reseptörünün aşırı ekspresyonu, proinflatuar ve profibrojenik faktörler (hipoksi, lipopolisakkarit, TNF- $\alpha$  ve anjiyotensin-II) ile indüklenebilmektedir. Apelin tarafından APJ'nin uyarılması, vasküler endotelial büyüme faktörü-A (VEGF-A) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB) sentezinin artışı ile hücre sağkalımının desteklenmesiyle sonuçlanmaktadır (Melgar-Lesmes vd. 2011).

Sonuç olarak, İBH'de apelin/APJ sisteminin bağırsak üzerindeki etkileri literatürde belirli ölçüde araştırılmıştır. Apelin'in bazı koşullarda bağırsak geçirgenliğini artırabileceği ve TNBS-aracılı kolit modelinde APJ antagonisti F13A'nın kolonda koruyucu etki gösterebildiği ortaya konmuştur (Nozu ve Okumura 2022; Birsan vd. 2023). Ayrıca İBH tedavisinde kullanılan bazı farmasötiklerin karaciğer üzerinde toksik

etkiler oluşturabileceği bilinmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, APJ reseptörünün kolit sırasında farmakolojik inhibisyonunun karaciğerde potansiyel faydalar sağlayabileceği hipoteziyle çalışma planlanmıştır. İBH’de sıklıkla etkilenen organlardan biri olan karaciğerde, apelinergic sistemin etkilerinin patolojik duruma göre değişkenlik gösterebilmesi nedeniyle, bu tez çalışmasında özellikle kolit ile ilişkili karaciğer hasarında APJ sinyal yolunun rolü araştırılmıştır. Literatürde, İBH modeli kullanılarak APJ reseptör blokajının karaciğer üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamaktadır. Bu nedenle, APJ’nin F13A ile farmakolojik olarak inhibisyonunun TNBS-aracılı kolite bağlı karaciğer hasarına etkileri ile ilk kez bu çalışma ile değerlendirilmiştir.



### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyaller

Çalışmada kullanılan reaktifler ve kitler aşağıda listelenmiştir:

- Rat Apelin ELISA Kiti (Bioassay Technology Laboratory (BT Lab), Katalog No: E1026Ra)
- Rat IL-10 ELISA Kiti (BT Lab, Katalog No: RE3187R)
- Rat MDA ELISA Kiti (BT Lab, Katalog No: RE10165)
- Rat TAS Kiti (Elabscience, Katalog No: E-BC-K801-M)
- Rat PGE<sub>2</sub> ELISA Kiti (A.B.T., Katalog No: ABT10131Ra)
- Rat NO ELISA Kiti (Elabscience, Katalog No: E-BC-K035-M)
- Rat TNF- $\alpha$  ELISA Kiti (YI Biont, Katalog No: YLA0118RA)
- Rat LPS ELISA Kiti (BT Lab, Katalog No: E0191Mo)
- Salin (PBS) Tablet (Invitrogen, Katalog No: 3002)
- Bradford Protein Assay Kiti (Thermo Scientific, Katalog No: 23200)
- TNBS (2,4,6-Trinitrobenzen Sulfonik Asit) (Sigma, Katalog No: P2297)
- Hekzadesiltrimetilamonyum Bromür (HTAB) (Sigma, Katalog No: H-5882)
- O-dianisidin dihidroklorür (Sigma, Katalog No: D9154)
- Diaminobenzidin Tetrahidroklorür (DAB) (Sigma, Katalog No: D4293)
- Etanol (İSOLAB, Katalog No: 100983)
- Formaldehit (İSOLAB, Katalog No: 818708)
- Hidrojen Peroksit (İSOLAB, Katalog No: 107298)
- Dietil Eter (İSOLAB, Katalog No: 914.023.2501)
- Sodyum Klorür (MERCK, Katalog No: 106406)
- ZO-1 Antikoru (Elabscience, Katalog No: E-AB-52081)
- Biyotinlenmiş Goat Anti-Rabbit IgG Sekonder Antikoru (Vector Laboratories, Katalog No: BA-1000)
- [Ala13]-Apelin-13 trifloroasetat tuzu (F13A) (MedChemExpress (MCE), Katalog No: HY-P3162A)
- Sükroz (Sigma, Katalog No: S9378)
- Magnezyum Klorür (MERCK, Katalog No: 7791-18-6)
- Alsiyan Mavisi (Sigma, Katalog No: A5268)
- Sodyum Asetat (Sigma, Katalog No: S2889)
- GOT/AST-PIII Dri-Chem Slide (Fujifilm)
- GPT/ALT-PIII Dri-Chem Slide (Fujifilm)

#### 3.2. Deney Hayvanları

Tez çalışmasında 32 adet erkek Wistar sıçan (200-250 g, 8-10 haftalık) Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilmiştir. Etik kurul onayı 03.07.2023 tarihinde Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun B.30.2.AKD.0.05.07.00/43 sayılı belgesinde (Karar No: 62) kabul edilmiştir.

Tüm denekler 20-22 °C sıcaklıkta, 12 saatlik ışık-karanlık döngüsünde ve %50  $\pm$  10 nemde tel kafeslerde tutulmuş, standart laboratuvar yemi ve musluk suyu ile ad libitum

olarak beslenmiştir. 7 günlük adaptasyondan sonra sıçanlar deneysel prosedürlere maruz bırakılmışlardır.

### 3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Uygulanan İşlemler

Hayvanlar rastgele her grupta 8 adet denek olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır: kontrol, APJ antagonisti (F13A), kolit (TNBS) ve kolit+F13A (TNBS+F13A). Denekler tartıldıktan sonra, 24 saat (sıfırıncı gün) aç bırakılmıştır. Ertesi gün, deneysel prosedüre tabi tutulmuşlardır (birinci gün). Kontrol grubundaki denekler herhangi bir deneysel işleme tabi tutulmazken, kolit modeli TNBS ile oluşturulmuştur. Uygun dozda TNBS (100 mg/kg), 1:1 oranında %50'lik etanol ile karıştırılmış ve elde edilen solüsyon, dış çapı 2 mm olan silikon bir tüpe bağlı 1 ml'lik bir şırınga kullanılarak kolonun distal 8 cm'lik bölümüne uygulanmıştır (Banerjee vd. 2019). TNBS solüsyonunun kolona iyi yayılmasını sağlamak için hayvanlar 1-2 dakika baş aşağı pozisyonunda tutulmuştur. F13A ve TNBS+F13A gruplarına sırasıyla serum fizyolojik ve TNBS solüsyonunun intrarektal uygulanmasından sonra, F13A (30 µg/kg/gün, 1., 2. ve 3. günler, iv.) ilk günden başlayarak 3 ardışık gün şeklinde uygulanmıştır (Lee vd. 2005).

### 3.4. Kolit Bulgularının Değerlendirilmesi

Tüm deneklerde dışkı kıvamı, vücut ağırlığındaki değişim ve rektal kanama günlük olarak takip edilmiştir. Kolit şiddetinin değerlendirilmesi amacıyla deneysel sürecin sonunda (dördüncü gün) hastalık aktivite indeksi (DAI) hesaplanmıştır. DAI, standart klinik semptom skorlamasına göre, vücut ağırlığı kaybı yüzdesi, dışkı kıvamı ve rektal kanama özellikleri temel alınarak belirlenmiştir ve bu üç parametreden elde edilen skorların toplamı ile hesaplanmıştır (Hidalgo-Cantabrana vd. 2016).

Ağırlık kaybı şu skorlama sistemine göre değerlendirilmiştir:

- Ağırlık kaybı yok = 0
- %1–5 kayıp = 1
- %5–10 kayıp = 2
- %10–20 kayıp = 3
- %20 üzeri kayıp = 4

Dışkı kıvamı aşağıdaki kriterlere göre puanlanmıştır:

- Normal şekillenmiş dışkı = 0
- Anüs bölgesine yapışmayan yumuşak dışkı = 1
- Anüs bölgesine yapışan yumuşak dışkı = 2
- Kan içeren ve anüse yapışan dışkı = 3
- Kanlı, yoğun diyare = 4

Rektal kanama ise şu şekilde değerlendirilmiştir:

- Kanama yok = 0
- Açık kırmızı, çok hafif kanama = 2
- Şiddetli kanama = 4

Ayrıca, kolitin klinik şiddeti kolon dokusunun makroskopik olarak morfolojik yapısı değerlendirilerek de belirlenmiştir. Bu amaçla, rektal yolla serum fizyolojik veya TNBS solüsyonu uygulanmasından üç gün sonra (dördüncü gün), tüm hayvanlar ksilazin (10 mg/kg) ve ketamin (90 mg/kg) ile anestezi altına alınmıştır. Ardından karın boşlukları açılmış ve abdominal aorttan kan alınarak hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

Kolon dokusu izole edilerek, ileoçekal bileşkeden rektuma kadar olan uzunluğu ölçülmüştür. Ardından dokular longitudinal olarak açılmış, lüminal yüzey soğuk fizyolojik salin ile yıkanarak dışkı artıklarından arındırılmış ve kolon dokusu tartılmıştır. Mukozadaki makroskopik olarak hasarlı alanlar şu kriterlere göre değerlendirilmiştir (Tu vd. 2020):

- Hasar yok = 0
- Ülser olmaksızın lokalize hiperemi = 1
- Doku duvarına uzanmayan lineer ülserasyon = 2
- Tek bölgede doku duvarına kadar uzanan inflamasyonla birlikte ülserasyon = 3
- İki veya daha fazla bölgede ülserasyon ve inflamasyon = 4
- 1 cm'den büyük doku alanını kapsayan ülserasyon ve inflamasyon = 5
- 2 cm'den büyük alana uzanan hasar = 6
- Hasarın her 1 cm'lik artışı için 1 puan eklenerek 7–10 arası skor verilmiştir.

Ayrıca, kolon doku ağırlığının uzunluğa oranı (mg/cm) da inflamasyonun dolaylı bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

### 3.5. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması

DeneySEL protokolün sonunda, hayvanlardan abdominal aort yoluyla alınan kanlar heparinli tüplere aktarılmış ve +4 °C'de, 5 000 g'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen plazmalar aliquatlanarak çeşitli parametrelerin analizi yapılana kadar -80 °C'de saklanmıştır.

Kolon dokusundaki makroskopik hasarın değerlendirmesinin ardından, anüs bölgesine yakın distal kolona ait 10 cm'lik doku parçası alınmış ve bu parçanın ilk üçte birlik kısmı, histolojik incelemeler için %10'luk formalin içine koyulmuştur. Diğer üçte ikilik kısmı ise biyokimyasal analizler için -80 °C'de saklanmıştır.

Ayrıca, toplanan karaciğer dokuları uygun boyutlarda parçalara ayrılmış, histopatolojik değerlendirmeler için %10'luk formalin fiksatifine alınmış ve geri kalan doku parçaları ise biyokimyasal analizler için -80 °C'de saklanmıştır.

### **3.6. Kolon ve Karaciğer Dokularındaki Hasar Düzeylerinin Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi**

Kolon ve karaciğer doku örnekleri, %10'luk formalin fiksatifinde tespit edilmiştir. Ardından, dokular sırasıyla %70 ve %80'lik etanol serilerinde 24'er saat, %90'luk etanolde 14'er saat, %100'lük etanolde ise 4 saat bekletilmiştir. Bu işlemleri takiben dokular, üç kez ksilol ile muamele edilerek şeffaflaştırılmış ve parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınmış ve hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelenmiştir.

Kolon dokularına ait kesitlerde; inflamatuvar hücre infiltrasyonu, epitelyal hiperplazi, mukozal nekroz ve mukozal ülserasyon, belirli bir skorlama sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Skorlama kriterleri şu şekildedir:

#### **İnflamatuvar hücre infiltrasyonu**

- 0 = yok
- 1 = hafif
- 2 = orta
- 3 = şiddetli

#### **Hiperplazi**

- 0 = yok
- 1 = hafif
- 2 = orta
- 3 = şiddetli

#### **Ülserasyon**

- 0 = yok
- 1 = fokal yüzeysel inflamasyon
- 2 = yaygın yüzeysel ülserasyon
- 3 = glandüler bozulma veya fokal derin ülserasyon
- 4 = yaygın glandüler inflamasyon veya yaygın derin ülserasyon

Bu alt başlıklar için verilen puanların toplamı mikroskopik hasar skorunu oluşturmuştur. Değerlendirme, her gruba ait doku bloklarından rastgele seçilen altı kesit üzerinden, birbirinden bağımsız iki gözlemci tarafından gerçekleştirilmiştir.

H&E ile boyanmış karaciğer dokusu kesitlerinde ise; nekroz, hemoraji, sinüzoid yapısı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu değerlendirilmiştir. Skorlama sistemi şu şekilde uygulanmıştır (Dkhil vd. 2015).

- Histolojik değişiklik yok = 0
- Hafif değişiklik = (+)
- Orta derecede değişiklik = (++)
- Şiddetli değişiklik = (+++)

### 3.7. İmmünohistokimyasal Analizler

Kolon dokusundaki geçirgenliğin değerlendirilmesi için sıkı bağlantı proteinlerinden biri olan ZO-1 immünohistokimyasal analizler ile değerlendirilmiştir.

Kolon ve karaciğer doku örnekleri %10'luk formalin içerisinde fikse edilmiştir. Dokular daha sonra %70'lik, %80'lik etanol serilerinde 24'er saat %90'lık etanolde 14'er saat ve %100 lük alkolde 4 saat bekletilmiştir. Dokular son olarak ksilol ile üçer defa muamele edilerek şeffaflaştırılmış ve parafinlere gömülmüştür. Proteinlerin analizi için ilk olarak parafin bloklardan süperfrost lamalar üzerine 5 µm kalınlığında kesitler alınacaktır. Kesitler oda sıcaklığında kurutulduktan sonra 56 °C'de etüvde 1 gece bekletilmiştir. Kesitler 10'ar dk ksilolde tutuldu ve deparafinize olmaları sağlanmıştır. Daha sonra 5'er dk azalan alkol serilerinden geçirilmiştir (%100, %90, %80, %70) ve rehidrate edilmiştir ve 5 dakika boyunca çeşme suyu içinde tutulmuştur. Sitrat tamponunda (pH:6) 10 dk kaynatılarak antijenik epitopların açığa çıkması sağlanmıştır. Daha sonra dokulardaki peroksidaz aktivitesini gidermek için kesitler %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda oda sıcaklığında 15 dakika tutulmuştur. Üç kere beş dakika PBS ile yıkanan kesitlerin etrafı damlatılacak antikörlerin birbirine karışmaması amacıyla hidrofobik kalem ile çizilmiştir ve kesitler UV blok ile 7 dk inkübe edilerek spesifik olmayan bağlanmalar engellenmiştir. Kesitlerin üzerine PBS içerisinde uygun dilisyonunda hazırlanan ZO-1 primer antikoru damlatılmıştır ve bir gece boyunca 4 °C'de nemli ortamda inkübe edilmiştir. Üç defa beşer dk'lık PBS ile yıkama işlemi sonunda PBS içerisinde uygun dilisyonunda hazırlanan primer antikora özgü sekonder antikörler (biyotin ile işaretli) ile oda sıcaklığında bir saat boyunca inkübe edilmiştir. PBS ile yıkanan kesitlere peroksidaz konjuge streptavidin damlatıldı ve 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Yıkamayı takiben kesitlere di amino benzidin tetraklorür solüsyonu damlatılmıştır ve mikroskop altında antijen antikör kompleksleri reaksiyon verene kadar bekletilmiştir. Uygun zaman aralığında kesitler suya alınmış ve reaksiyon sonlandırılmıştır. Sonrasında Mayer'in hematoksileni ile boyanan kesitler çeşme suyunda yıkanmıştır ve Kaiser jelatin kapatma solüsyonu ile kapatılmıştır. Ortaya çıkan kromojenik reaksiyon ışık mikroskobu altında incelenerek değerlendirilmiştir. İmmünoboyama yoğunlukları IMAGE J analiz programı ile bilgisayar ortamında

kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler, her bir belirteç için, farklı iki kişi tarafından her bir denekte, beş ayrı kesit üzerinde beş ayrı bölgede yapılmıştır.

### 3.8. Kolon Dokusunda Mukus Miktarının Belirlenmesi

Kolon dokusundaki mukus miktarı alsiyan mavisi bağlama kapasitesi miktarına göre belirlenmiştir (Popov vd. 2006).

Dokular tartılarak soğuk salin ile yıkanmıştır. Daha sonra dokular 10'ar ml 0,16 M sodyum asetat tamponlu 0,16 M süktroz içeren %0,1'lik alsiyan mavisi çözeltisinde (pH:5.8) iki saat çalkalayıcı içerisinde inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra dokular 10'ar ml 0,25 M lık süktroz çözeltisinde iki defa 15'er dakika yıkanmıştır. Daha sonra dokular 10'ar ml 0,5 M magnezyum klorür çözeltisinde kolon duvarında bulunan alsiyan mavisini elüe etmek için iki saat boyunca inkübe edilmiştir. Elüsyonlardaki alsiyan mavisi miktarını belirlemek için alsiyan mavisi stoğu hazırlanmıştır. Alsiyan mavisi stoğunu hazırlamak için 0,05 gram alsiyan mavisi 20 ml distile su içerisinde 0,5 M olacak şekilde magnezyum klörür eklenmiş ve çözündürülmüştür. Bu stok çözeltisinden 1,5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 30 µg/ml, 50 µg/ml, 80 µg/ml olacak şekilde yedi farklı alsiyan mavisi standartları hazırlanmıştır.

Alsiyan mavisi standartlarının 650 nm'de spektrofotometrede absorbansları ölçülerek Microsoft Excel'de konsantrasyona karşı absorbans standart grafiği çizilmiştir. Daha sonra dokuların elüsyonlarının absorbansları spektrofotometrede okunmuş ve standart grafiğinden yola çıkılarak dokuların yüzeyine tutunmuş olan alsiyan mavisi miktarı tayin edilmiştir.

### 3.9. Miyeloperoksidaz (MPO) Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

Karaciğer dokularını homojenize etmek için homojenizasyon tamponu hazırlanmıştır. 50 mM fosfat tamponu içerisinde HETAB %0,5 olacak şekilde eklenerek çözölmüştür ve son olarak pH:6 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Enzim aktivitesinin ölçümü için gerekli reaksiyon tamponu hazırlanmıştır. 50 mM fosfat tamponu hazırlanmış ve pH:6 olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu fosfat tamponunun içersine O-dianisidin dihidroklorür %0,000167 ve hidrojen peroksit %0,0005 olacak şekilde fosfat tamponuna eklenmiştir.

Dokuların homojenizasyonu için 200 mg doku başına 2 ml homojenizasyon tamponu eklenerek dokular homojenize edilmiştir. Daha sonra dokuların homojenizatları 4000 rpm de 15 dk santrifüjlenmiş ve süpernatantlar toplanmıştır.

MPO aktivitesi 460 nm'de spektrofotometrede ölçölmüştür (Bradley vd. 1982). MPO aktivitesinin tayininde 460 nm de O-dianisidin'in molar absorpsiyon kat sayısından yararlanılmıştır ( $11300 \times 1/(\text{Molarite} \times \text{santimetre})$ ). MPO aktivitesini hesaplamak için kör olarak 1 ml reaksiyon tamponu kullanılmıştır. 900 µl reaksiyon tamponu ile 100 µl doku homojenizatu karıştırılmış ve hiç bekletilmeden spektrofotometrik olarak ölçölmüştür. Bir dakikalık ölçüm süresi sırasında birinci dakikanın sonundaki absorbans ile sıfıncı saniyedeki absorbans değeri kaydedilmiştir. Absorbans farkı ve molar absorplama katsayılarından yola çıkılarak numunelerdeki okside olmuş o-dianisidin

miktarı molarite cinsinden bulunmuş ve her bir  $\mu\text{M}$ 'lık okside olmuş o–dianisidin miktarı bir ünite (U) enzim olarak ifade edilmiştir.

Son olarak doku homojenatlarındaki protein miktarı Bradford yöntemiyle belirlenmiştir ve ünite (U) cinsinden belirlenen miktarlar protein miktarına bölünerek her bir numunedeki MPO aktivitesi belirlenmiştir.

### 3.10. Enzim Bağlantılı İmmünosorbent (ELİSA) Analizleri

Karaciğer ve/veya kolon dokusunda apelin, IL-10, MDA (lipit peroksidasyonu), total antioksidan kapasite (TAC),  $\text{PGE}_2$ , NO, LPS ve  $\text{TNF-}\alpha$  seviyeleri ELİSA yöntemiyle tayin edilmiştir.

Karaciğer ya da kolon dokusundaki apelin,  $\text{TNF-}\alpha$ , IL-10, LPS ve MDA analizleri için, doku örnekleri toplam hacmin %10'u olacak şekilde, 10 mM PBS (pH 7.4) içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar,  $+4^\circ\text{C}$ 'de 5000 g hızında 15 dakika santrifüj edilerek temiz süpernatant elde edilmiştir. Süpernatanttaki protein miktarları, Bradford yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar, kit protokollerine uygun olarak mikropalakalara yüklenmiş ve sonuçlar protein miktarına oranlanarak değerlendirilmiştir.

Karaciğer dokusundaki TAC seviyesinin belirlenmesi için ise doku örnekleri, hacim olarak %10 olacak şekilde %60'luk etanolde homojenize edilmiştir. Homojenat,  $+4^\circ\text{C}$ 'de 10 000 g hızında santrifüj edilerek temiz süpernatant alınmıştır. TAC seviyeleri, kit talimatlarına göre elde edilen sonuçlar doku miktarına oranlanarak hesaplanmıştır.

### 3.11. Dokularda Protein Miktarı Ölçümü

Doku homojenatlarında bulunan toplam protein miktarı, Bradford yöntemiyle belirlenmiştir (Bradford 1976).

Protein miktarı ölçümünde standart olarak sığır serum albümini (BSA) kullanılmıştır. 0  $\mu\text{g/ml}$ , 4  $\mu\text{g/ml}$ , 8  $\mu\text{g/ml}$ , 12  $\mu\text{g/ml}$ , 16  $\mu\text{g/ml}$ , 20  $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında BSA standartları hazırlanmıştır. Bu standartlardan 125  $\mu\text{l}$  alınmış ve üzerine eşit hacimde coomassie brilliant blue (CBB) eklenmiştir. Doku örneklerinin 1/1000 oranında seyreltilmiş homojenizatlarından ise 125  $\mu\text{l}$  alınarak üzerine eşit hacimde CBB eklenmiştir. BSA standartları ve doku örneklerindeki proteinlerin absorbans değerlerinin ölçümü 595 nm'de gerçekleştirilmiştir.

BSA standartlarının konsantrasyonlarına karşı absorbans grafiği Microsoft Excel'de çizilmiştir. BSA standart grafiğinden yola çıkılarak kolon ya da karaciğer doku örneklerinin protein miktarları tayin edilmiştir.

### 3.12. Plazmada ALT ve AST Miktarlarının Ölçümü

Her bir gruptaki deneklerden alınan kanlar santrifüjlenerek plazma örnekleri elde edilmiştir. Elde edilem plazma örneklerindeki ALT ve AST seviyeleri Fuji Dri-Chem NX500i cihazı (Fujifilm, Tokyo, Japonya) kullanılarak kolorimetrik slaytlarla (GOT/AST-PIII ve GPT/ALT-PIII) ölçülmüştür (Fukawa vd. 2017). Sonuçlar U/L olacak şekilde elde edilmiştir.

### 3.13. İstatistiksel Analizler

Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (mean  $\pm$  SEM) olarak sunulmuştur. Öncelikle verilerin normal dağılıma uygunluğu ve varyansların homojenliği test edilmiştir. Normal dağılıma uygun ve varyanslar homojen ise, çoklu grup karşılaştırmaları için Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanmış, anlamlı sonuçlarda Tukey post hoc testi ile ikili karşılaştırmalar yapılmıştır.

Verilerin normal dağılıma uymadığı parametrelerde, çoklu grup karşılaştırmaları Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiş ve anlamlılık durumunda ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır. Mann-Whitney U testinden sonra, Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi,  $p < 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

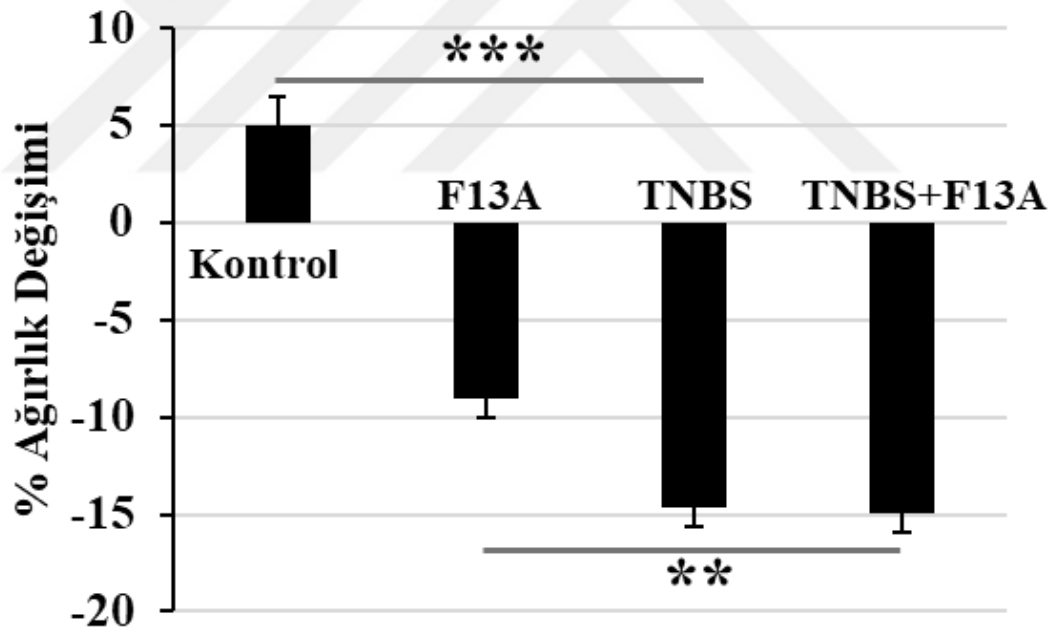


#### 4. BULGULAR

##### 4.1. APJ İnhibisyonunun Kolit Gelişimi Üzerindeki Makroskopik ve Klinik Etkileri

Deneyssel prosedür sürecinde deneklerde vücut ağırlığı değişimi, rektal kanama ve diyare gibi klinik gözlemler ile kolon dokusundaki makroskopik hasar bulguları kolitin değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, TNBS ile indüklenen kolit modelinde APJ reseptörünün farmakolojik olarak F13A ile inhibe edilmesinin bu parametreler üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Deneklerin 0. ve 4. gün arasındaki vücut ağırlık değişimleri yüzde olarak değerlendirildiğinde, TNBS grubunda ortalama  $-14,6 \pm 0,8$  % ağırlık kaybı gözlenmiştir (Şekil 4.1). Buna karşılık kontrol grubunda  $5,0 \pm 1,4$  % ağırlık artışı kaydedilmiş ve TNBS grubu ile arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). F13A grubunda  $-9,0 \pm 2,0$  % ağırlık kaybı tespit edilmiş olup, bu değer kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermemiştir. TNBS+F13A grubunda ise  $-14,9 \pm 0,9$  % ağırlık kaybı gözlenmiş; bu değer TNBS grubuna göre anlamlı bir değişikliğe neden olmamış, ancak F13A grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek ağırlık kaybı görülmüştür ( $p < 0,01$ ).



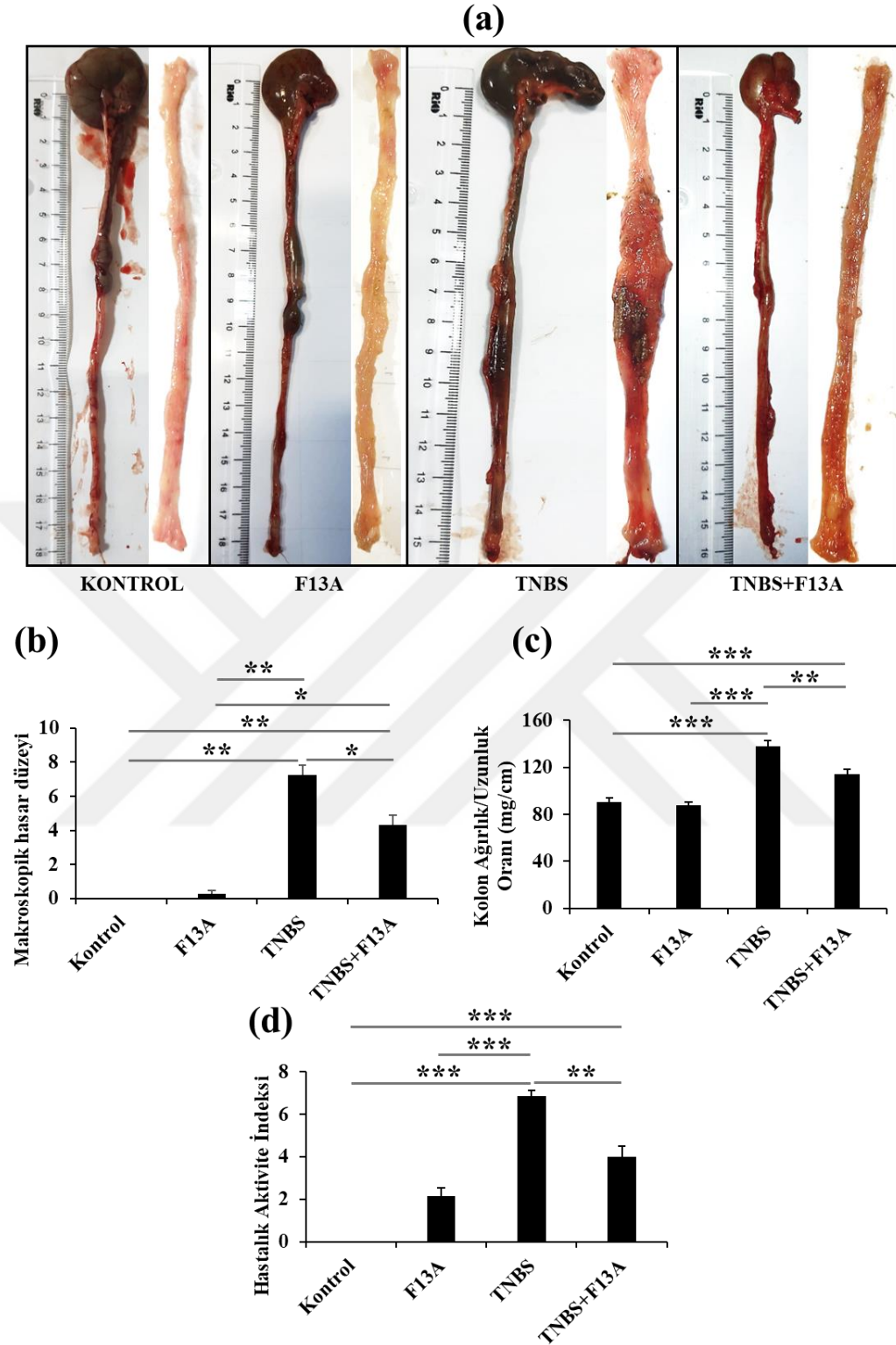
**Şekil 4.1.** Deneklerin 0. ve 4. günler arasındaki yüzdesel kilo değişimleri. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunulmuştur (n=8). \*\*  $p < 0,01$  ve \*\*\*  $p < 0,001$ .

Kontrol grubunda kolon dokuları makroskopik olarak incelendiğinde herhangi bir hasar izlenmemiştir ve skor  $0,00 \pm 0,00$  olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2.a ve b). F13A grubunda ise minimal düzeyde hasar tespit edilerek skor  $0,29 \pm 0,18$  olarak bulunmuştur. Bu değer, kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan farklılık göstermemiştir. TNBS grubunun kolon dokuları makroskopik olarak incelendiğinde ise belirgin bir ödem ve

hasar düzeyinde artış gözlenmiş ve skor  $7,25 \pm 0,56$  olarak hesaplanmıştır. Bu artış hem kontrol ( $p < 0,01$ ) hem de F13A grubuna ( $p < 0,01$ ) göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. TNBS+F13A grubunda ise makroskopik hasar skoru  $4,33 \pm 0,56$  olarak bulunmuş, bu değer TNBS grubuna göre anlamlı derecede düşük ( $p < 0,05$ ), ancak kontrol grubuna kıyasla hâlâ anlamlı derecede yüksektir ( $p < 0,01$ ).

Kolonlardaki inflamasyonun dolaylı bir göstergesi olarak kolonun ağırlık/uzunluk oranı değerlendirilmiştir (Şekil 4.2.c). Kontrol grubunda bu oran  $90,5 \pm 3,2$  mg/cm olarak ölçülmüştür. F13A uygulanan grupta ise  $87,7 \pm 2,8$  mg/cm olarak belirlenmiş ve kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermemiştir. TNBS ile indüklenen kolit grubunda kolon dokusunda gelişen ödem nedeniyle doku ağırlığında artış, doku uzunluğunda ise azalma gözlenmiş; bu durum ağırlık/uzunluk oranının  $138,0 \pm 4,8$  mg/cm'ye yükselmesine neden olmuştur. Bu artış, hem kontrol ( $p < 0,001$ ) hem de F13A ( $p < 0,001$ ) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlıdır. TNBS+F13A grubunda ise oran  $114,2 \pm 4,5$  mg/cm olarak bulunmuş, bu değer TNBS grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşük ( $p < 0,01$ ), ancak kontrol grubuna göre hâlâ anlamlı şekilde yüksektir ( $p < 0,001$ ). Bu bulgular, TNBS ile indüklenen kolit modelinde kolon ağırlık/uzunluk oranının belirgin şekilde arttığını ve APJ reseptörünün F13A ile inhibisyonunun bu artışı kısmen azaltarak inflamasyon şiddetini hafiflettiğini göstermektedir.

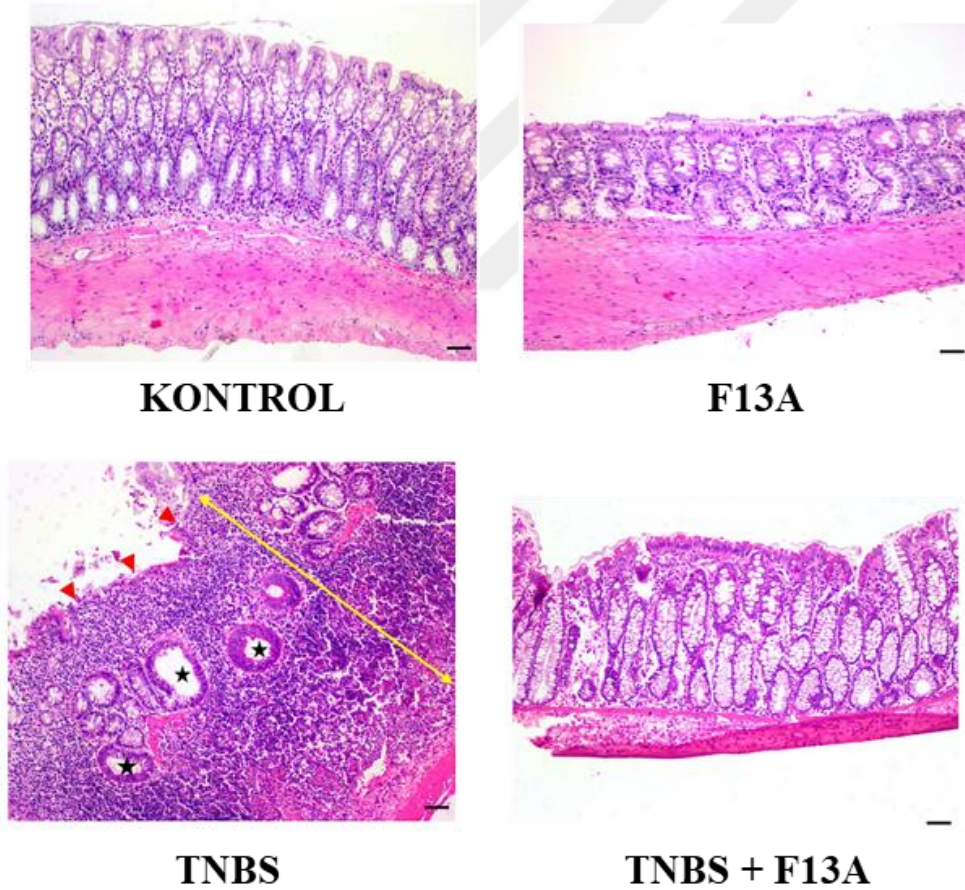
Kolitin klinik aktivitesi, kilo kaybı, rektal kanama ve dışkı kıvamı gibi parametreler kullanılarak hesaplanan DAI skoru ile değerlendirilmiştir (Şekil 4.2.d). Kontrol grubunda herhangi bir hastalık belirtisi gözlenmemiş ve DAI skoru  $0,00 \pm 0,00$  olarak belirlenmiştir. F13A grubunda DAI skoru  $2,14 \pm 0,40$  olarak hesaplanmış; bu değer kontrol grubuna göre hafif bir artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. TNBS uygulanan grupta DAI skoru  $6,86 \pm 0,26$  olup, kontrol ( $p < 0,001$ ) ve F13A ( $p < 0,001$ ) gruplarına göre anlamlı düzeyde artmıştır. TNBS+F13A grubunda ise DAI skoru  $4,00 \pm 0,52$  olarak belirlenmiş; bu değer TNBS grubuna göre anlamlı bir azalma göstermiştir ( $p < 0,01$ ), ancak kontrol grubuna kıyasla hâlâ istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ( $p < 0,001$ ). Bu sonuçlar, APJ reseptörünün F13A ile inhibisyonunun, TNBS ile indüklenen kolitte klinik semptomların şiddetini kısmen azalttığını göstermektedir.



**Şekil 4.2.** APJ inhibisyonunun TNBS ile İndüklenen Kolonik Hasar Bulgularına Etkisi. a) Kolon dokularının temsili görüntüleri b) Kolon dokusunda makroskopik hasar düzeyleri c) Kolon ağırlık/uzunluk oranı d) Hastalık aktivite indeksi \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  ve \*\*\*  $p < 0,001$ .

#### 4.2. Kolon Dokularının Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

Kolon dokularındaki morfolojik değişiklikler ve inflamasyon histopatolojik olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.3 ve Çizelge 4.1). Kolon dokusuna ait mikroskopik incelemelerde, kontrol grubuna ait kesitlerde doku morfolojisinin normal olduğu ve belirgin bir patolojik bulguya rastlanmadığı gözlenmiştir. Buna karşılık, TNBS uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla belirgin morfolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Bu grupta mukozal ülserasyon ( $p < 0,001$ ), hiperplazi ( $p < 0,001$ ) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda ( $p < 0,01$ ) anlamlı bir artış izlenmiştir. Bu bulgular, TNBS'nin epitel bariyer bütünlüğünü bozarak inflamatuvar yanıtı tetiklediğini göstermektedir. F13A, TNBS+F13A ve gruplarına ait kesitler, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir morfolojik bozulma saptanmamıştır. TNBS+F13A grubunda TNBS'nin neden olduğu doku hasarının büyük ölçüde azaldığı ve histolojik yapıların bütünlüğünün korunduğu tespit edilmiştir. Sadece F13A uygulanan grupta, TNBS grubuna kıyasla anlamlı bir histopatolojik bozulma görülmemiştir. Elde edilen bulgular, F13A'nın kolon dokusunda TNBS'nin yol açtığı histopatolojik değişikliklere karşı koruyucu potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır.



**Şekil 4.3.** Hematoksilin-Eozin (H&E) Boyası ile Boyanmış Kolon Dokusuna Ait Temsili Mikrograflar. Mukozal ülserasyonlar, kırmızı ok başları; epitel hiperplazisi, siyah yıldız işaretleri ve derin inflamatuvar hücre infiltrasyonu, sarı çift ok ile gösterilmiştir. Görüntüler  $\times 100$  büyütmede çekilmiştir. Ölçek çubukları  $100 \mu\text{m}$ 'yi göstermektedir.

**Çizelge 4.1.** Kolon histopatolojik değişikliklerinin yarı kantitatif analizi

| GRUPLAR                                    | KONTROL                    | F13A                       | TNBS                         | TNBS+F13A                   |
|--------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| <b>İnflamatuvar hücre infiltrasyonu</b>    | 0,42; 0,25±1 <sup>##</sup> | 0,58; 0,75±1 <sup>##</sup> | 2; 2±2 <sup>**</sup>         | 0,75; 0,75±1,5 <sup>#</sup> |
| <b>Hiperplazi</b>                          | 0,33; 0±1 <sup>###</sup>   | 0,33; 0±1 <sup>###</sup>   | 2,33; 2,5±1,5 <sup>***</sup> | 1; 1±2 <sup>##</sup>        |
| <b>Mukozal ülserasyon</b>                  | 0,17; 0±0,5 <sup>###</sup> | 0; 0±0 <sup>###</sup>      | 2,67; 2,5±2,5 <sup>***</sup> | 0,17; 0±1 <sup>###</sup>    |
| <b>Total mikroskopik skor (skala: 0–9)</b> | 1; 1±2 <sup>###</sup>      | 0,92; 1±0,5 <sup>###</sup> | 7; 7±5 <sup>***</sup>        | 0,45; 1,75±4 <sup>###</sup> |

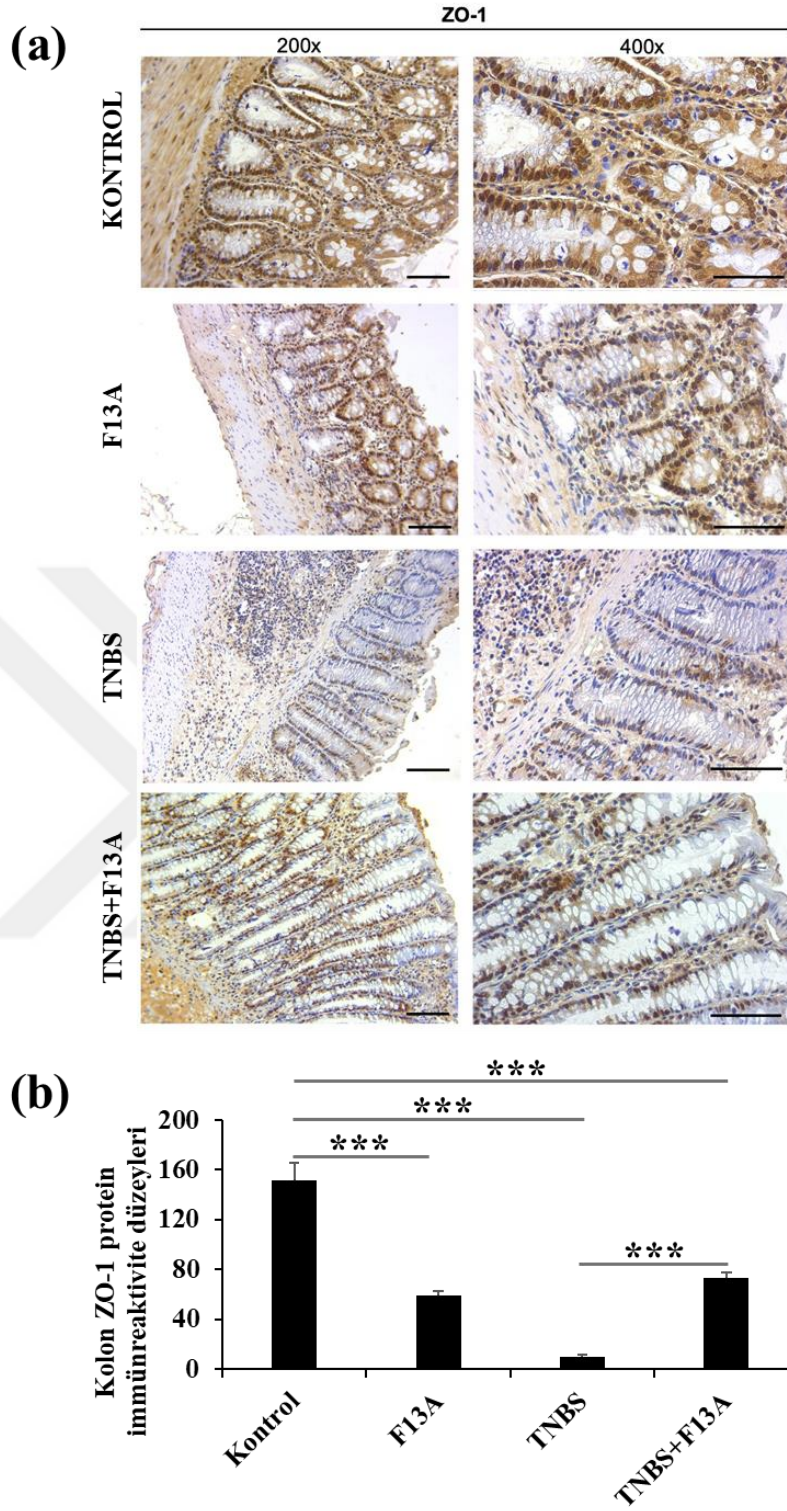
Veriler ortalama; medyan  $\pm$  aralık olarak ifade edilmiştir (\*\* p < 0,01 ve \*\*\* p < 0,001 kontrol grubuna karşı, # p < 0,05, ## p < 0,01, ### p < 0,001 TNBS grubuna karşı)

### 4.3. APJ İnhibisyonunun Kolonik Mukozal Bariyer Fonksiyonlarına Etkisi

Kolonik mukozal bariyer, bağırsak epitel bütünlüğünün korunmasında ve luminal içerikle sistemik dolaşım arasındaki geçişin engellenmesinde kritik bir rol oynar. Bu bariyerin bozulması, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının patogeneğinde önemli bir basamak olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, TNBS ile indüklenen kolit modelinde APJ reseptörünün farmakolojik inhibisyonunun, kolonik mukozal bariyerin yapısal ve fonksiyonel bileşenleri üzerindeki etkileri, ZO-1 immünreaktivitesi, mukus miktarı ve PGE<sub>2</sub> düzeyleri üzerinden değerlendirilmiştir.

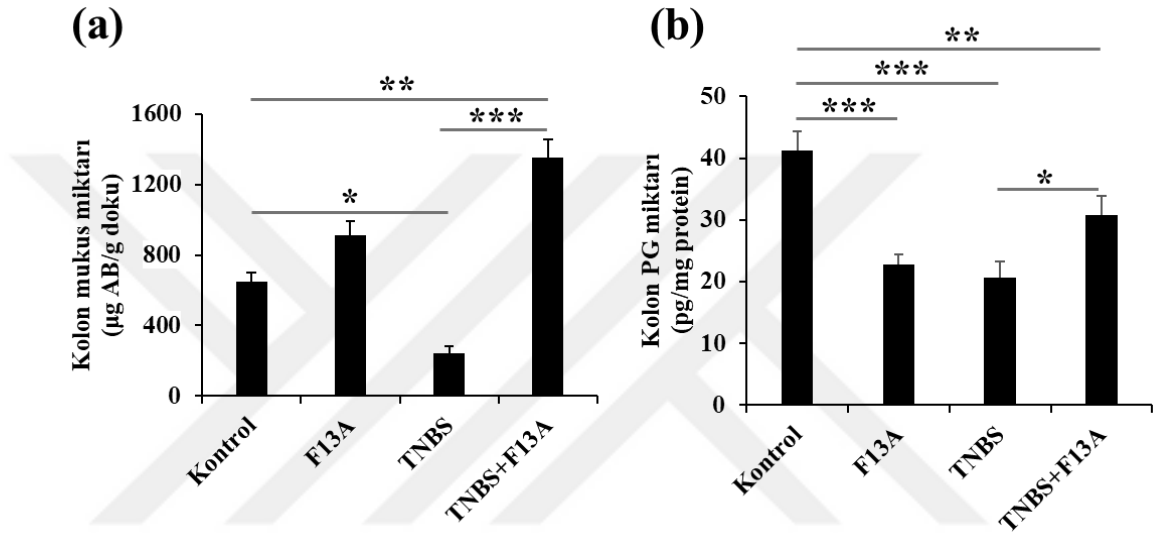
İlk olarak kolon dokusunda ZO-1 proteininin immünreaktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubunda bu değer  $152 \pm 14$  olarak ölçülmüştür (Şekil 4.4.a ve 4.4.b). TNBS uygulaması, ZO-1 ekspresyonunu anlamlı şekilde azaltarak  $10 \pm 2$  düzeyine düşürmüştür (p < 0,001). F13A grubunda ZO-1 ekspresyonu  $59 \pm 4$  olarak belirlenmiş ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p < 0,001). TNBS+F13A grubunda ise ZO-1 ekspresyonu  $73 \pm 4$  olarak saptanmıştır. Bu değer TNBS grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek olmakla birlikte (p < 0,001), kontrol grubuna göre hâlen anlamlı olarak düşüktür (p < 0,001). Bu bulgular, TNBS ile indüklenen kolitte epitel bariyer proteinlerinden ZO-1'in baskılandığını ve F13A'nın bu baskılanmayı kısmen hafifletse de tam anlamıyla geri döndüremediğini göstermektedir.

Mukozal bariyerin önemli bir bileşenlerinden olan dokuda bağlı bulunan mukus miktarı değerlendirildiğinde ise, kontrol grubunda mukus düzeyi  $649 \pm 53$   $\mu$ g Alcian Blue/g doku olarak ölçülmüştür (Şekil 4.5.a). F13A grubunda bu değer  $910 \pm 80$   $\mu$ g/g, TNBS grubunda  $241 \pm 41$   $\mu$ g/g, TNBS+F13A grubunda ise  $1355 \pm 104$   $\mu$ g/g olarak belirlenmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırmalarda, TNBS+F13A grubunun mukus miktarının hem kontrol grubuna (p < 0,01) hem de TNBS grubuna (p < 0,001) göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. F13A grubunun mukus düzeyinde kontrol grubuna kıyasla artış eğilimi gözlenmiş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p > 0,05). TNBS grubunun mukus miktarı ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşmüştür (p < 0,05).



**Şekil 4.4.** Distal kolonda ZO-1 ekspresyonunun immünohistokimyasal analizi. a) Deney gruplarına ait kolonik epitel dokuda ZO-1 lokalizasyonunun (kahverengi boyanma) 200× ve 400× büyütmede temsili görüntüleri. b) Distal kolon dokularında ZO-1 proteininin bağıl ekspresyon düzeyleri. Ölçek çizgileri 100 µm'yi temsil etmektedir. \*\*\* p < 0,001.

Kolon dokusundaki PGE<sub>2</sub> düzeyleri değerlendirildiğinde, kontrol grubunda ortalama  $41,21 \pm 3,16$  µg/g olarak saptanmıştır (Şekil 4.5.b). TNBS grubunda bu değer anlamlı düzeyde azalarak  $20,63 \pm 2,64$  µg/g düzeyine düşmüştür ( $p < 0,001$ ). F13A grubunda PG düzeyi  $22,81 \pm 1,61$  µg/g olarak ölçülmüş olup, kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). TNBS + F13A grubunda ise PGE<sub>2</sub> düzeyi artarak  $30,74 \pm 3,18$  µg/g seviyesine gelmiş ve TNBS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Ayrıca, TNBS+F13A grubundaki düzeylerin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Bu bulgular, TNBS ile indüklenen kolitte PGE<sub>2</sub> düzeylerinin azaldığını ve F13A'nın kolitin neden olduğu sözkonusu azalmayı önlediğini göstermektedir.

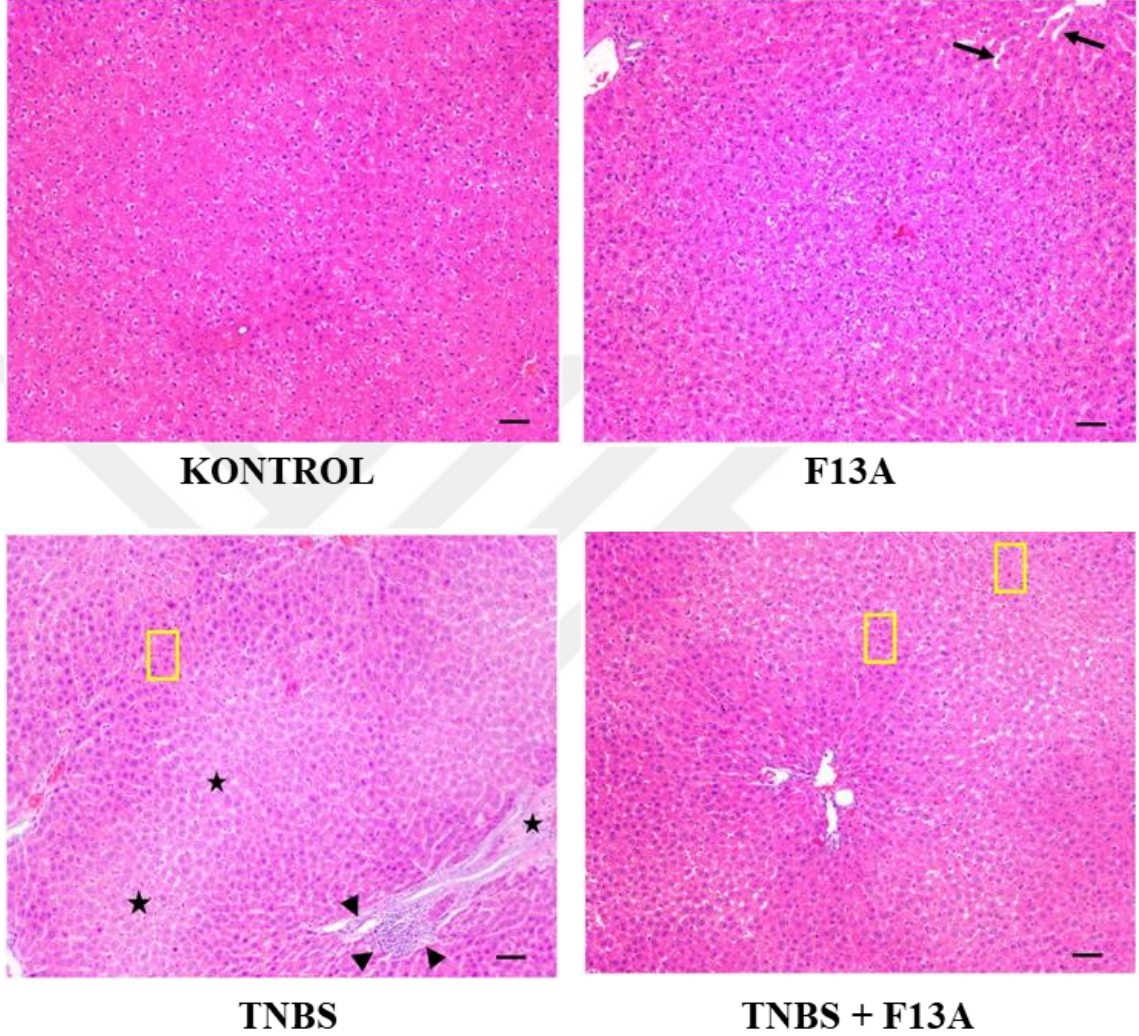


**Şekil 4.5.** a) Kolon dokusunda mukus miktarı. b) Kolon dokusunda PGE<sub>2</sub> miktarı. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak sunulmuştur (grup başına n = 8). \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  ve \*\*\*  $p < 0,001$ .

#### 4.4. Karaciğer Dokularının Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

Karaciğer dokularına ait mikroskopik incelemelerde, kontrol grubuna ait kesitlerde hepatositlerin karakteristik poligonal morfolojilerini koruduğu ve genel doku yapısının normal olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.6). Ayrıca, nekroz, hemoraji, sinüzoid yapılar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu açısından yapılan değerlendirmelerde, karaciğerin sağlıklı histolojik özelliklerini muhafaza ettiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). Buna karşılık, TNBS uygulanan gruba ait karaciğer kesitlerinde, kontrol grubuna kıyasla sinüzoid alanların belirgin şekilde genişlediği ( $p < 0,05$ ), inflamatuvar hücre infiltrasyonunun arttığı ve yaygın hemorajik odakların olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle detoksifikasyonun yoğun olarak gerçekleştiği Zone 3 bölgelerinde anlamlı düzeyde nekroz tespit edilmiş, bu morfolojik değişikliklerin karaciğerin yapısal bütünlüğünü bozacak nitelikte olduğu değerlendirilmiştir ( $p < 0,01$ ). Ayrıca, bu grupta vena porta çevresinde belirgin bir bağ dokusu artışı da dikkat çekmiştir. TNBS+F13A grubunda ise sinüzoidal değişiklikler, hemorajik alanlar, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve nekroz kısmen devam etmekle birlikte, yalnızca TNBS uygulanan grupla kıyaslandığında doku morfolojisinin daha iyi korunduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte,

yalnızca F13A uygulanan gruplarda da kontrol grubuna kıyasla belirgin histopatolojik değişiklikler izlenmiş; özellikle nekrotik odaklarda anlamlı bir artış gözlemlenmiştir ( $p < 0,01$ ). Bu bulgular, F13A'nın tek başına uygulandığında karaciğer dokusunun histolojik bütünlüğünde değişikliklere neden olduğu, ancak TNBS'den sonra uygulandığında hasarı azaltıcı etkiler oluşturabildiğini ortaya koymaktadır.



**Şekil 4.6.** Hematoksilin-Eozin (H&E) Boyası ile Boyanmış Karaciğer Dokusuna Ait Temsili Mikrograflar. Sinüzoidal dilatasyonlar, siyah oklar ile; yaygın hemorajik alanlar, sarı dikdörtgenler ile; nekroz, siyah yıldızlar ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ok başları ile gösterilmiştir. Görüntüler  $\times 100$  büyütmede elde edilmiştir. Ölçek çizgileri  $100 \mu\text{m}$ 'yi temsil etmektedir.

**Çizelge 4.2.** Karaciğer histopatolojik değişikliklerinin yarı kantitatif analizi

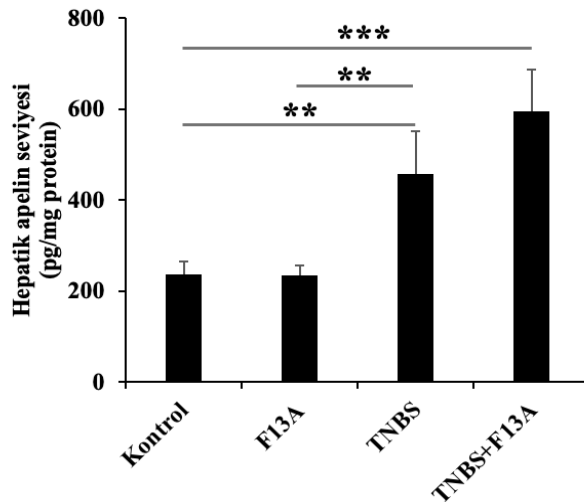
| GRUPLAR                                | KONTROL       | F13A         | TNBS           | TNBS+F13A    |
|----------------------------------------|---------------|--------------|----------------|--------------|
| <b>Nekroz</b>                          | 0,33; 0±2 ### | 2,08; 2±1 ** | 2,25; 2,5±2 ** | 1,25; 1,25±2 |
| <b>Kanama</b>                          | 0,5; 0±2 ##   | 1,67; 2±2    | 2,17; 2±2      | 1,5; 1,5±1   |
| <b>Sinüzoidlerin yapısı</b>            | 0,75; 0,75±2# | 1,67; 1±0,5  | 2,08; 2±2 *    | 1; 1±2       |
| <b>İnflamatuar hücre infiltrasyonu</b> | 0,92; 1±1,5   | 1,5; 1,5±1   | 1,75; 1,5±2    | 1,33; 1,25±1 |

Veriler ortalama; medyan ± aralık olarak ifade edilmiştir (\*  $p < 0,05$  ve \*\*  $p < 0,01$  kontrol grubuna karşı, #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$  ve ###  $p < 0,001$  TNBS grubuna karşı)

#### 4.5. Karaciğerde APJ İnhibisyonuna Yanıt Olarak Gözlenen Biyokimyasal Değişiklikler

##### 4.5.1. Apelin düzeyi

İnflamasyon durumlarında dokuda üretiminin arttığı bilinen apelin düzeyleri değerlendirildiğinde, karaciğerde kontrolde ortalama  $237 \pm 28$  pg/mg protein olarak ölçülmüştür (Şekil 4.7). F13A grubunda benzer şekilde  $233 \pm 23$  pg/mg protein düzeyinde bulunmuş ve kontrole kıyasla anlamlı bir fark göstermemiştir. TNBS grubunda apelin düzeyi belirgin şekilde artarak  $457 \pm 94$  pg/mg proteine ulaşmış; bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). TNBS + F13A grubunda ise apelin düzeyi daha da yükselmiş ve  $594 \pm 92$  pg/mg protein olarak hesaplanmıştır ( $p < 0,001$ , kontrole göre fark). TNBS grubuna kıyasla sayısal bir artış gözlenirse de aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ayrıca kontrolle karşılaştırıldığında TNBS + F13A grubundaki apelin düzeylerindeki artış anlamlıdır ( $p < 0,001$ ) Bu bulgular, TNBS ile indüklenen kolitte apelin düzeylerinin anlamlı şekilde arttığını ve TNBS sonrası F13A uygulamasının ise bu artışı etkilemediğini göstermektedir.



**Şekil 4.7.** Karaciğer Dokularında Apelin Düzeyleri. Veriler ortalama ± SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). \*\*  $p < 0,01$  ve \*\*\*  $p < 0,001$ .

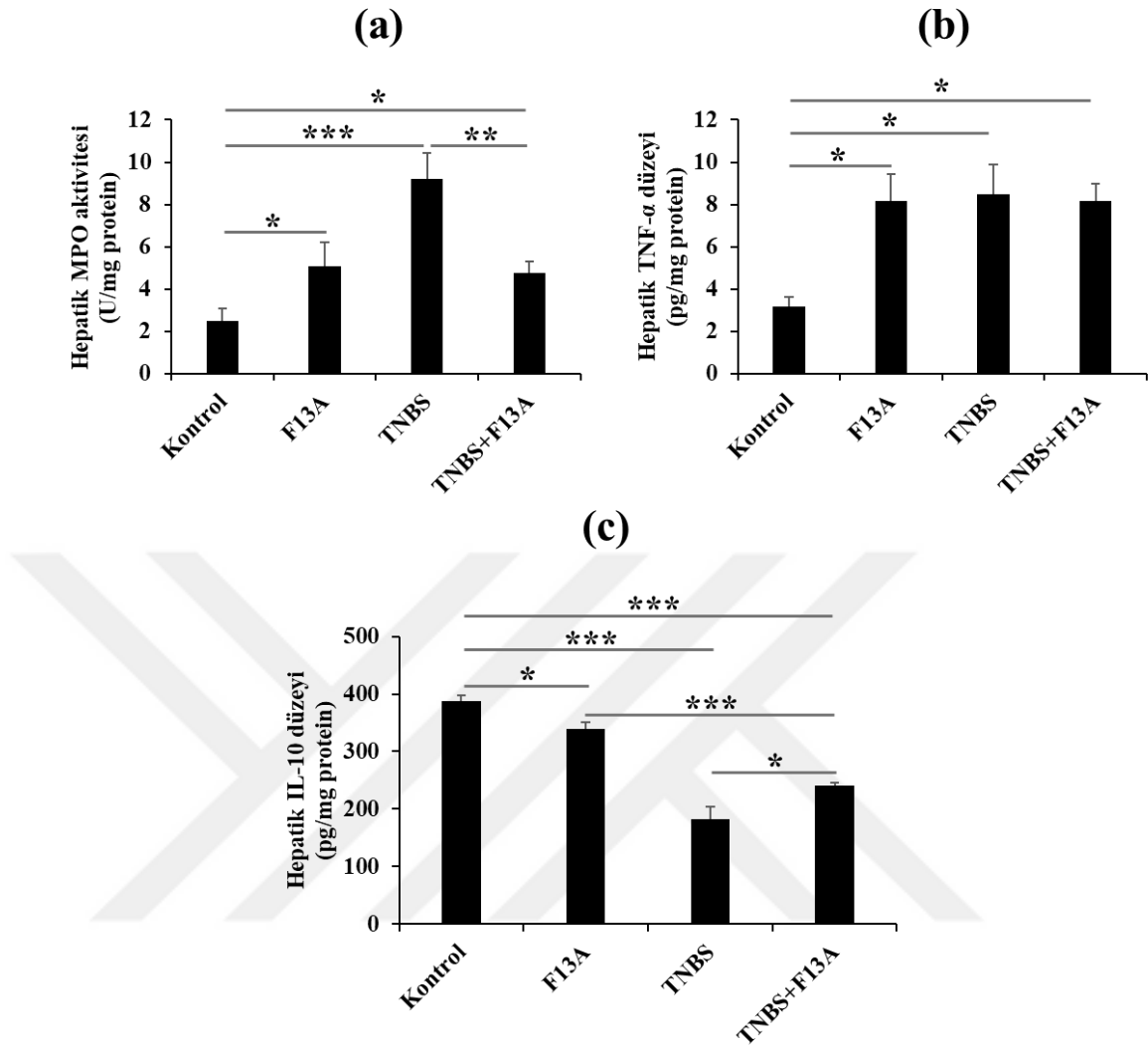
#### 4.5.2. İnflamasyonla ilişkili biyobelirteçlerin düzeyleri

İnflamasyonla ilişkili biyokimyasal belirteçlerin analizi kapsamında, karaciğer dokusunda proinflatuar yanıtı işaret eden TNF- $\alpha$  ve MPO düzeyleri ile anti-inflatuar bir sitokin olan IL-10 düzeyleri değerlendirilmiştir.

Karaciğer doku MPO aktivite düzeyleri değerlendirildiğinde, kontrol grubunda ortalama değer  $2,51 \pm 0,57$  U/mg protein olarak saptanmıştır (Şekil 4.8.a). TNBS grubunda MPO düzeyi belirgin şekilde artarak  $9,19 \pm 1,25$  U/mg proteine yükselmiş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). F13A grubunda MPO düzeyi  $5,08 \pm 1,13$  U/mg protein olarak ölçülmüş olup, kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). TNBS+F13A grubunda ise MPO düzeyi  $4,74 \pm 0,56$  U/mg protein olup, TNBS grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ( $p < 0,01$ ); ancak kontrol grubuna göre hâlâ yüksektir ( $p < 0,05$ ). Bu bulgular, TNBS ile indüklenen karaciğer inflamasyonunun MPO düzeylerinde anlamlı bir artışla ilişkili olduğunu ve F13A'nın bu artışı kısmen baskılayabildiğini göstermektedir.

Hepatik TNF- $\alpha$  düzeyleri değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,01$ ) (Şekil 4.8.b). Kontrol grubunda  $3,17 \pm 0,43$  pg/mg protein olan TNF düzeyi, F13A ( $8,14 \pm 1,30$  pg/mg protein,  $p < 0,05$ ), TNBS ( $8,47 \pm 1,44$  pg/mg protein,  $p < 0,05$ ) ve TNBS+F13A ( $8,14 \pm 0,83$  pg/mg protein,  $p < 0,05$ ) gruplarında anlamlı şekilde artmıştır. F13A uygulanan TNBS grubunda elde edilen TNF- $\alpha$  düzeyi, TNBS grubuna kıyasla anlamlı farklılık göstermemiştir. Benzer şekilde, F13A ile TNBS+F13A grupları arasında da istatistiksel açıdan fark yoktur. Bu bulgular, F13A uygulamasının TNBS'nin neden olduğu TNF- $\alpha$  artışını önleyemediğini, ayrıca tek başına uygulandığında da TNF düzeylerini kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artırdığını göstermektedir.

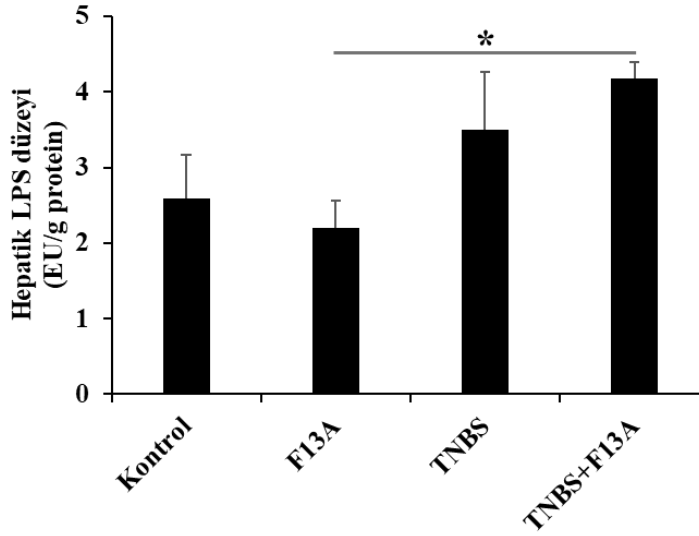
Karaciğer dokusunda IL-10 düzeyi, TNBS ile indüklenen kolit modelinde anlamlı düzeyde azalmış bulunmuştur (Şekil 4.8.c). Kontrol grubunda IL-10 düzeyi  $387 \pm 12$  pg/mg protein iken, TNBS grubunda bu değer  $183 \pm 14$  pg/mg protein olarak saptanmıştır ( $p < 0,001$ ). F13A grubundaki  $339 \pm 12$  pg/mg protein olan IL-10 düzeyi ( $p < 0,05$ , kontrole göre fark), TNBS + F13A grubunda  $240 \pm 5$  pg/mg proteine anlamlı derecede düşmüştür ( $p < 0,001$ ). TNBS + F13A grubundaki IL-10 düzeyleri, TNBS grubuna göre anlamlı derecede artış gösterse de ( $p < 0,05$ ) kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Bu bulgular, kolit sırasında karaciğerde IL-10 üretiminin azaldığını, F13A'nın ise bu azalmayı hafiflettiğini göstermektedir.



**Şekil 4.8.** İnflamasyonla ilişkili Biyobelirteçlerin Düzeyleri. a) Hepatik MPO Aktivitesi b) Hepatik TNF-α Düzeyleri c) Hepatik IL-10 Düzeyleri. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). \* p < 0,05, \*\* p < 0,01 ve \*\*\* p < 0,001.

#### 4.5.3. Toksin (LPS) yükü seviyesi

Karaciğer dokusunda LPS düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklar gözlenmiştir (Şekil 4.9). Kontrol grubunda  $2,58 \pm 0,58$  EU/g protein olan LPS düzeyi, TNBS grubunda bir miktar artış göstermekle birlikte ( $3,50 \pm 0,76$  EU/g protein), bu artış istatistiksel olarak kontrol grubuna kıyasla anlamlı bulunmamıştır. F13A grubunda, kontrol grubuna benzer LPS düzeyleri saptanmış olup ( $2,20 \pm 0,36$  EU/g protein), gruplar arası fark anlamlı değildir. Ancak, TNBS + F13A grubunun LPS düzeyi, TNBS grubuna benzerken, F13A grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ( $4,17 \pm 0,22$  EU/g protein, p < 0,05). Bu bulgu, F13A'nın TNBS kaynaklı karaciğer LPS yükünü baskılamada etkisiz kaldığını göstermektedir.



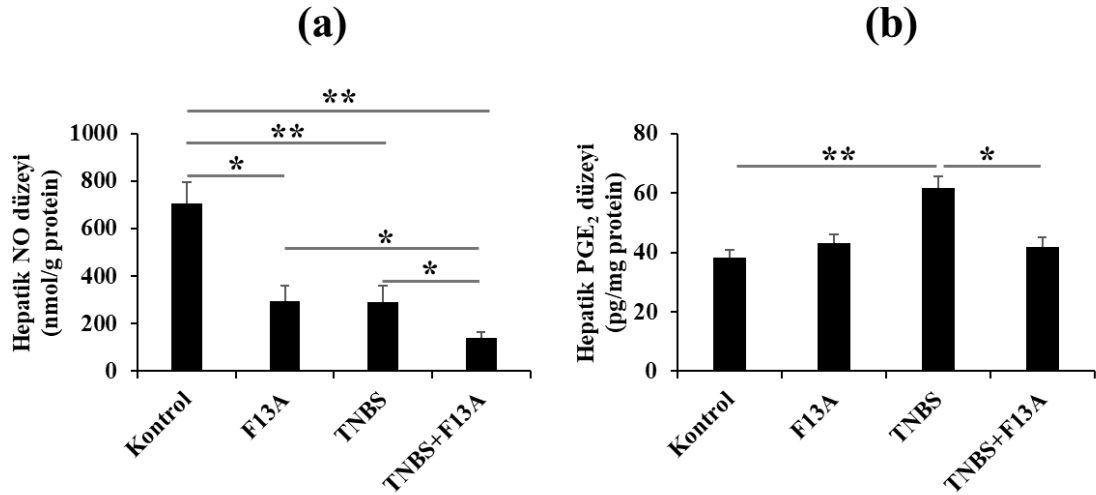
**Şekil 4.9.** Hepatik LPS Düzeyleri. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak ifade edilmiştir (n =8). \*  $p < 0,05$ .

#### 4.5.4. NO ve PGE<sub>2</sub> düzeyleri

Bulgularımıza göre, kontrol grubunda karaciğer dokusunda  $705 \pm 91$  nmol/g protein olan NO miktarı, TNBS grubunda anlamlı şekilde azalmıştır ( $292 \pm 66$  nmol/g protein,  $p < 0,01$ ) (Şekil 4.10.a). Benzer şekilde F13A uygulaması kontrole göre NO miktarını anlamlı şekilde azaltmıştır ( $294 \pm 64$  nmol/g protein,  $p < 0,05$ ). TNBS sonrası F13A uygulaması ( $141 \pm 25$  nmol/g protein), kolitin neden olduğu NO miktarındaki azalmayı daha da şiddetlendirmiştir ( $p < 0,05$ , TNBS grubuna göre fark;  $p < 0,01$ , kontrole göre fark ve  $p < 0,05$ , F13A grubuna göre fark). Bu da F13A'nın kolit kaynaklı karaciğerdeki NO azalışı üzerinde düzeltici bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Karaciğer dokusundaki PGE<sub>2</sub> düzeyleri, kontrol grubunda  $38 \pm 3$  pg/mg protein iken, TNBS uygulanan grupta bu değer anlamlı şekilde artarak  $62 \pm 4$  pg/mg protein olarak belirlenmiştir ( $p < 0,01$ ) (Şekil 4.10.b). Bu artış, TNBS'nin sadece kolonda değil, sistemik düzeyde de inflamasyona neden olduğunu ve karaciğerde prostaglandin düzeylerini yükselttiğini göstermektedir. TNBS sonrası F13A uygulaması yapılan grupta PGE<sub>2</sub> düzeyi  $42 \pm 3$  pg/mg protein olarak ölçülerek TNBS'nin neden olduğu PGE<sub>2</sub> üretimindeki artışı baskılamıştır ( $p < 0,05$ ). Bu bulgular, F13A'nın karaciğerdeki prostaglandin aracılı inflamasyonu baskılayabildiğini göstermektedir. Sadece F13A uygulanan grupta ise hepatik PGE<sub>2</sub> düzeyi  $43 \pm 3$  pg/mg protein olarak tespit edilerek kontrol grubuna benzer bulunmuştur.

Bu bulgular, TNBS uygulamasının karaciğerde inflamatuvar yanıtı artırarak PGE<sub>2</sub> düzeylerini yükselttiğini ve NO üretimini baskıladığını göstermektedir. APJ reseptörünün F13A ile inhibisyonu ise NO üretimin daha da baskılanmasına neden olurken, PGE<sub>2</sub> miktarını ise baskılayarak karaciğerdeki inflamatuvar dengenin eikozanoidler yönünden yeniden sağlanmasına katkı sağladığını göstermektedir.



**Şekil 4.10.** A) Hepatik NO Düzeyleri b) Hepatik PGE<sub>2</sub> Düzeyleri. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). \* p < 0,05 ve \*\* p < 0,01.

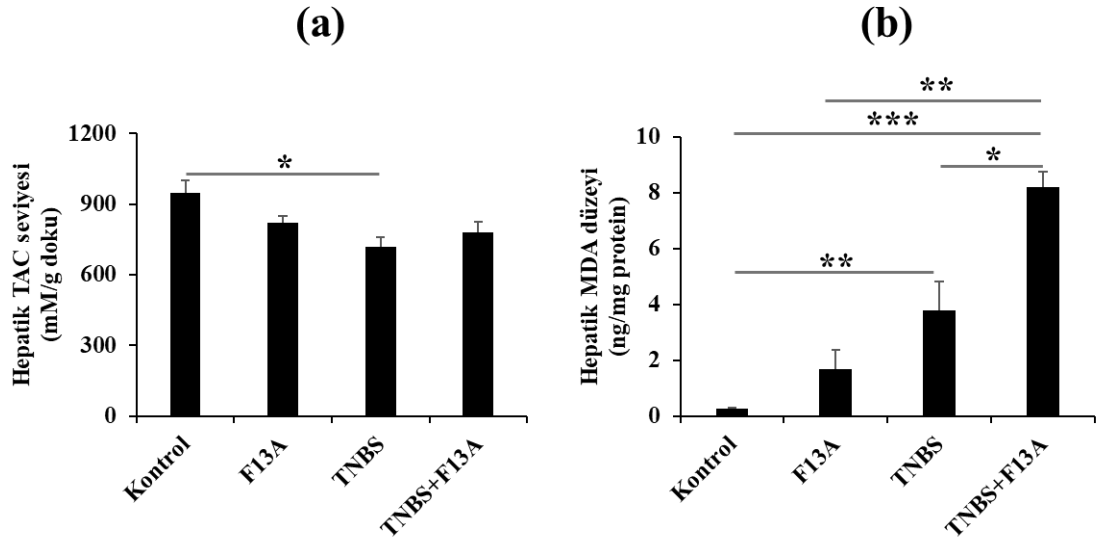
#### 4.5.5. Oksidatif stres parametreleri

Oksidatif stresin göstergeleri olan TAC ve MDA düzeyleri, TNBS ile indüklenen karaciğer hasarının değerlendirilmesinde kullanılmıştır. TAC dokunun antioksidan savunma kapasitesini yansıtırken, MDA düzeyi lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak oksidatif hasarın derecesini ortaya koymaktadır.

Kontrol grubunda hepatic TAC miktarı  $945 \pm 54$  mM/g doku olarak tespit edilirken, F13A grubunda  $822 \pm 29$  mM/g doku olarak bulunmuştur ( $p > 0,05$ ) (Şekil 4.11.a). TNBS grubunda ise TAC üretimi baskılanarak  $720 \pm 39$  mM/g doku seviyesine düşmüştür ( $p < 0,05$ , kontrole göre fark). TNBS sonrası uygulanan F13A ise kolitin neden olduğu bu düşüşü etkilememiştir ( $779 \pm 45$  mM/g doku).

Karaciğer dokusundaki MDA düzeyleri, TNBS uygulaması sonrası anlamlı şekilde artış göstermiştir ( $3,79 \pm 1,04$  ng/mg protein;  $p < 0,01$ , kontrol ile karşılaştırıldığında) (Şekil 4.11.b). F13A'nın tek başına uygulanması MDA düzeylerini kontrole göre değiştirmemiştir ( $1,67 \pm 0,72$  ng/mg protein;  $p > 0,05$ ). TNBS ile uygulanan F13A ise MDA seviyesinde daha fazla artışa neden olmuştur ( $8,20 \pm 0,53$  ng/mg protein) ve bu artış hem TNBS grubuna ( $p < 0,05$ ), hem de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).

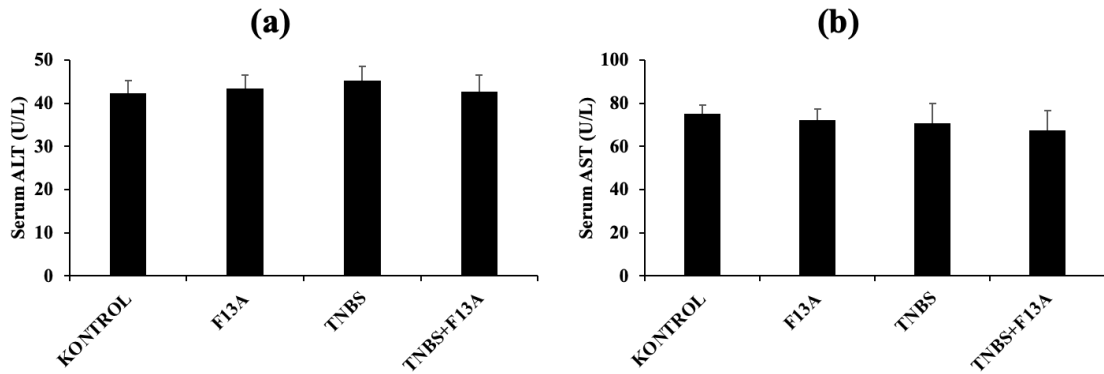
Sonuç olarak, TNBS uygulaması karaciğerde antioksidan savunmayı baskılayarak TAC düzeylerinde azalmaya, lipid peroksidasyonunu artırarak MDA düzeylerinde yükselmeye neden olmuştur. F13A ile APJ inhibisyonu ise bu oksidatif stres yanıtını baskılayamamış, hatta MDA düzeylerinde ek bir artışa yol açarak oksidatif hasarı daha da şiddetlendirmiştir.



**Şekil 4.11.** Oksidatif Stres Parametreleri a) Hepatik TAC Seviyesi b) Hepatik MDA Düzeyi. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8). \* p < 0,05, \*\* p < 0,01 ve \*\*\* p < 0,001

#### 4.5.6. Plazma Enzim (ALT VE AST) Düzeyleri

Kontrol grubunda ALT düzeyi  $42,33 \pm 2,87$  U/L, F13A grubunda  $43,4 \pm 3,12$  U/L, TNBS grubunda  $45,14 \pm 3,41$  U/L ve TNBS + F13A grubunda ise  $42,66 \pm 3,84$  U/L olarak ölçülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. AST düzeyleri ise kontrol grubunda  $75 \pm 3,99$  U/L, F13A grubunda  $72 \pm 5,4$  U/L, TNBS grubunda  $70,5 \pm 9,18$  U/L ve TNBS + F13A grubunda ise  $67,5 \pm 9,01$  U/L olarak ölçülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır.



**Şekil 4.12.** Plazma ALT ve AST Düzeyleri a) Plazma ALT Düzeyleri b) Plazma AST Düzeyleri. Veriler ortalama  $\pm$  SEM olarak ifade edilmiştir (n = 8).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modelinde, APJ reseptörünün F13A ile farmakolojik olarak inhibisyonunun kolitin klinik bulguları, mukozal bariyer bütünlüğü ve kolit ile ilişkili karaciğer hasarı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde, APJ antagonisti F13A'nın TNBS ile oluşturulan kolit modelinde, kolitin makroskopik ve klinik bulgularını iyileştirdiği gözlenmiştir. Histopatolojik analizler, F13A uygulamasının kolonik doku bütünlüğünü sağlanmasında rol oynadığını ortaya koymuştur. Ayrıca kolonik mukozal bariyer fonksiyonlarına ait parametreler olan ZO-1 ekspresyonu, immünohistokimyasal; mukus ve PGE<sub>2</sub> düzeyleri biyokimyasal olarak değerlendirildiğinde, APJ inhibisyonunun bu komponentleri artırdığı gözlenmiştir. Öte yandan, karaciğer dokusuna ait analizlerde F13A, TNBS sonrasında uygulandığında kolitin yol açtığı histolojik hasar bulgularını hafiflettiği, biyokimyasal olarak MPO aktivitesi ve PGE<sub>2</sub> seviyesini ve antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 üretimi üzerine düzeltici etkiler gösterdiği, ancak hepatik inflamasyon, oksidatif stres ve NO düzeyleri üzerinde iyileştirici bir rol oynayamadığı saptanmıştır. Bu bulgular, APJ inhibisyonunun kolonik inflamasyon üzerinde koruyucu etkiler gösterebildiğini; ancak karaciğerde sınırlı bir terapötik fayda sağladığını ortaya koymaktadır.

Apelinerjik sistem, G proteinine bağlı reseptörlerden biri olan APJ ve onun endojen ligandları apelin ve apela'dan oluşur. APJ reseptörü, kardiyovasküler sistem, merkezi sinir sistemi, gastrointestinal sistem, böbrekler, akciğerler ve karaciğer gibi birçok dokuda eksprese edilir ve özellikle vasküler tonus düzenlenmesi, kardiyak kontraktilite, sıvı dengesi, angiogenez ve metabolizma gibi fizyolojik işlevlerde rol alır. Bununla birlikte, inflamatuvar hastalık modellerinde apelinerjik sistemin karmaşık etkileri olabileceği gösterilmiştir (Wang vd. 2022). Bu geniş etki alanının nedeni, APJ'nin ifade edildiği birden fazla hücre tipi olması ve APJ sinyalinin bir dizi faktörden etkilenmesidir (Wagenaar ve Moll 2025). Deneysel ve fizyolojik koşullar, hastalıklar, spesifik ligandların özellikleri ve reseptör multimerizasyonu gibi çeşitli faktörlerin APJ sinyalini düzenleyebileceği rapor edilmiştir.

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH), Gİ sistemin kronik ve tekrarlayan inflamasyonudur. İBH yalnızca bağırsakla sınırlı bir hastalık değildir; sistemik etkiler gösterebilir ve sıklıkla karaciğer gibi ekstraintestinal organları da etkileyebilir (Rogler vd. 2021). Bağırsak mukozasında artmış geçirgenliğe bağlı olarak portal dolaşıma geçen bakteriyel ürünler ve proinflamatuvar mediyatörler, karaciğerde immün yanıtı tetikleyerek hepatik inflamasyon ve doku hasarına yol açabilmektedir (Ohtani ve Kawada 2019). Aynı zamanda karaciğerde olası gelişen inflamatuvar süreç, bağırsak fizyolojisini de etkileyebilmekte ve bu çift yönlü etkileşim hastalığı daha karmaşık bir hale getirmektedir. Bu nedenle, İBH'nin sistemik etkilerini ve özellikle karaciğerle olan ilişkisini anlamak, hastalığın bütüncül patofizyolojisini değerlendirmek açısından önem taşımaktadır. Apelinerjik sistemin, bağırsak epitel bütünlüğünün korunması ve inflamasyonun modülasyonu gibi faydalı etkileri bildirilmiş olmakla birlikte, bazı çalışmalar bu sistemin farklı koşullarda bağırsak geçirgenliğini, apoptosisi, oksidatif stresi ve proinflamatuvar yanıtları artırabileceğini de ortaya koymuştur (Huang vd. 2019). Dolayısıyla, apelinerjik sistemin etkilerinin dokuya özgü farklılıklar gösterebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada da APJ reseptörünün F13A kullanılarak farmakolojik inhibisyonunun, TNBS-indüklü kolit modelinde hem kolonik inflamasyon hem de kolit ile ilişkili hepatik hasar üzerindeki etkilerini birlikte değerlendirmek amaçlanmıştır.

Trinitrobenzen sülfonik asit ile indüklenen kolit modeli, insan İBH'nı, ve özellikle CH'nı taklit etmesi açısından yaygın olarak kullanılan bir hayvan modelidir (Antoniou vd. 2016). TNBS, rektal yoldan etanol ile uygulandığında mukozal bariyer bütünlüğünü bozarak, epitelyal geçirgenliği artırmakta ve böylece antijenlerin lamina propriaya geçişine neden olmaktadır. Bu durum, Th1 ağırlıklı bir inflammatuar yanıtla karakterize edilen transmural inflamasyona yol açar. Bizim çalışmamızda da söz konusu modelde deneklerde literatürdeki bulgulara benzer şekilde hayvanlarda ağırlık kaybı, dışkıda kan ve diyare gözlenmiştir. Kolon dokuları makroskopik olarak incelendiğinde ise dokuda hiperemi, ödem ve lezyonlar tespit edilmiştir. İnflamasyonun indirekt göstergesi olarak kullanılan kolon doku ağırlığı/uzunluğu oranı da artmış bulunmuştur. Tüm bu bulgular, seçtiğimiz modelin kolit oluşturma yönteminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini doğrulamaktadır. Ayrıca çalışmamızda kolon epitel bariyerinin çeşitli komponentleri de incelenmiştir. Kolon epitel bariyeri, bağırsak homeostazının korunmasında ve inflammatuar yanıtların düzenlenmesinde kilit rol oynar. Bu bariyerin temel yapı taşlarından biri olan ZO-1, sıkı bağlantı proteinleri arasında yer almaktadır ve epitel hücreleri arasındaki parasellüler geçişi sınırlandırarak, mukozal bütünlüğün korunmasında önemli bir rol oynar (Kuo vd. 2021). Kolon duvarındaki mukus tabakası ise, jel yapısında bir bariyer olup, patojenlerin epitel hücrelerine temasını engelleyerek ilk savunma hattını oluşturur. Kolitte ZO-1 protein ekspresyonunun ve mukus miktarının azalması hem mikrobiyal translokasyonu kolaylaştırmakta hem de inflamasyonun şiddetlenmesine katkıda bulunmaktadır. PGE<sub>2</sub> ise, araşidonik asit metabolizmasının bir ürünü olup hem proinflammatuar hem de antiinflammatuar özellik gösterebilmektedir. Normal şartlarda sindirim sisteminde epitel hücre proliferasyonunu ve mukozal bariyer komponentlerini güçlendirerek koruyucu etkiler göstermektedir (Sasaki vd. 2000). Bizim çalışmamızda da kolitli hayvanların kolon dokularında ZO-1 immünoreaktivitesinin, mukus miktarının ve PGE<sub>2</sub> üretiminin azaldığı tespit edilmiştir. Her ne kadar inflammatuar süreçlerde COX-2 enziminin ekspresyonunun artması sebebiyle PGE<sub>2</sub>'nin üretiminin güçlendiği rapor edilmiş olsa da ileri evre kolitlerde ve mukozal atrofide bu mediyatörün azalabileceği düşünülmektedir (Ancha vd. 2009). Bununla birlikte intrarektal olarak PGE<sub>2</sub>'nin kolit hayvanlarına uygulanmasının kolondaki lezyonları, nötrofil infiltrasyonunu ve aynı zamanda MPO aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Sasaki vd. 2000). Benzer şekilde PGE<sub>2</sub> reseptör alt tipi 4 (EP4) nakavt farelerin DSS-indüklü kolite karşı daha fazla hassasiyet gösterdikleri bulunmuştur (Okamoto vd. 2012). EP4 agonistlerinin ayrıca bağışıklık hücrelerinden kemokin ve sitotoksik sitokin üretimini inhibe ettiği, yardımcı T1 hücre farklılaşmasını baskıladığı ve antiapoptotik ve proliferatif hücresel sinyal yollarını aktive ederek epitel hücre sağkalımını ve büyümesini desteklediği gösterilmiştir (Jiang vd. 2010). Ayrıca, inflamasyonlu mukozadaki artan PGE<sub>2</sub> seviyelerinin İBH'nin alevlenmesinden koruyabileceği düşünülmektedir (Wallace 2001).

APJ reseptörünün antagonisti olan F13A'nın uygulandığı grupta ise kolitin neden olduğu klinik bulguların ve kolondaki makroskopik hasarın, TNBS grubuna kıyasla hafiflediği saptanmıştır. Histopatolojik incelemelerde de F13A uygulamasının kolonik mukozada epitelyal bariyer bütünlüğünü koruduğu ve inflammatuar hücre infiltrasyonunu azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca, ZO-1 immünreaktivitesi ve mukus ve PGE<sub>2</sub> düzeylerinde gözlenen artış, APJ inhibisyonunun kolonik mukozal bariyer fonksiyonu üzerinde koruyucu etkiler sağlayabileceğini göstermektedir. Literatürde APJ'nin çeşitli ligantlarından olan apelin-13'ün 4 hafta süresince IL-10<sup>-/-</sup> farelere intraperitonel olarak uygulanmasının DAI skorunu ve proinflammatuar sitokin seviyesini düşürdüğünü, Akt ve

ERK1/2 yolları üzerinden lenfatik damarlanmayı arttırdığı rapor edilmiştir (Ge vd. 2018). Başka bir çalışmada ise DSS uygulaması sonrası yapılan 3 günlük subkutan Pyr-apelin-13 uygulamasının kolon epitel hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı ve bu nedenle iyileşmenin tetiklenebileceği rapor edilmiştir (Han vd. 2007). Bu bulguların dışında, Pyr-apelin-13'ün, İBS'de visseral aşırı duyarlılığa ve kolonik geçirgenlik artışına neden olduğu ve bu etkilerin astressin (CRF reseptör antagonisti), TAK-242 (TLR4 antagonisti) veya anakinra (IL-1 reseptör antagonisti) ile tersine çevrildiği gözlenmiştir (Nozu vd. 2022). Aynı çalışmada intraperitoneal yolla uygulanan F13A'nın, LPS veya CRF ile indüklenen visseral aşırı duyarlılığı ve kolonik geçirgenlik artışını doza bağımlı bir şekilde engellediği de gösterilmiştir. İBS, kronik karın ağrısının ve bağırsak alışkanlıklarında değişikliklerin gözlemlendiği ve aynı zamanda İBH'nin patogenezi ile ortak mekanizmaların aktive edildiği bir hastalıktır (Camilleri vd. 2012). İBS sırasında anormal bir bağışıklık tepkisinin ve bozulmuş bağırsak bariyerinin bulunduğu ortaya koyulmuştur. Bazı İBS hastalarında bağırsak geçirgenliğinde artış gözlemlenmiştir. Endojen apelin stres veya CRF kaynaklı kolon hareketliliğinin uyarılmasını düzenlemektedir (Bülbül vd. 2020). Gİ hareketliliği üzerindeki etkilerine ek olarak, apelin hipotalamustan CRF salınımını uyararak HPA eksenini aktive etmektedir (Bülbül vd. 2020). Ayrıca F13A'nın, düşük doz TNBS'nin (30 mg/kg) neden olduğu kolonik proinflatuar sitokin seviyesini, MPO aktivitesini ve hasar düzeyini azalttığı gösterilmiştir (Birsan vd. 2023). Bu çalışmalar, farklı deneysel modellerde değişen koşullara göre apelinergic sistemin farklı etkilere neden olabileceğini göstermektedir.

Sistemik inflamasyonun bir yansıması olarak, çeşitli kolit modellerinde karaciğer dokusunda da çeşitli patolojik değişiklikler bildirilmiştir. Kolite bağlı olarak bağırsak-karaciğer aksında hayati bir öneme sahip olan sinüzoidal endotel hücrelerinde hasar geliştiği, hepatositlerdeki sıkı bağlantıların geçirgenliğinin arttığı ve bağırsak kaynaklı LPS'nin hepatik nötrofillerin aktivasyonuna neden olarak hepatik patolojiye katkı sağladığı bildirilmiştir (An vd. 2022). LPS, gram-negatif bakterilerden kaynaklanan bir endotoksidir ve insanlarda başlıca kaynağı bağırsak mikrobiyotasıdır. LPS normal şartlarda karaciğere ulaştığında Kupffer hücreleri ve hepatositler tarafından alınır, safra yoluyla atılır. Karaciğer hastalıklarında portal ve periferik LPS düzeyleri artar. LPS, TLR4 üzerinden sinyal ileterek MyD88, MAPK ve NF-κB yollarını aktive eder, bu da TNF-α ve IL-6 gibi inflammatuar sitokinlerin salınımına yol açar (Roh ve Seki 2013). TLR4, karaciğerdeki tüm hücrelerde bulunur ve aktivasyonu fibrozis ile ilişkilidir. Literatürdeki bulgularla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da TNBS grubunda hepatik dokuda nekroz ve sinüzoidal yapıda dilatasyon gelişmiştir. Aynı zamanda inflamasyon belirteçleri olan MPO enziminin aktivitesinde artış olduğu, proinflatuar sitokinlerden TNF-α seviyesinde yükselme ve antiinflammatuar IL-10 üretiminde ise azalma tespit edilmiştir. TAC seviyesinin düşüş eğiliminde olması ve MDA miktarındaki yükselmeye birlikte hepatik dokuda antioksidan kapasitenin bozulduğunu ve oksidan stresin arttığını da kanıtlamıştır. Karaciğerdeki NO üretimi ise düşmüş, PGE<sub>2</sub> miktarı ise artmıştır. Her ne kadar çeşitli çalışmalarda inflamasyon sürecinde dokuda iNOS enziminin ekspresyonundaki ve aktivitesindeki artış nedeniyle NO miktarının güçleneceği bilinse de ilerlemiş inflamasyon koşullarında hücresel strese ve hasar artışına bağlı olarak hem iNOS hem de eNOS aktivitesinde azalma gözlenebilmektedir (Iwakiri ve Kim 2015). Örneğin, siroz hastalığı sırasında endotelial disfonksiyon gözlenir ve eNOS aktivitesinde azalmayla birlikte NO biyoyararlanımı da azalmakta ve vazokonstriktör prostanoidlerin (PGE<sub>2</sub>) üretimi gözlenmektedir (Bosch vd. 2010).

APJ reseptörünün antagonisti olan F13A'nın uygulandığı grupta ise kolitin neden karaciğer hasarının hafiflediği histopatolojik olarak gözlenmiştir. Sinüzoidal yapının kontrol grubuna yaklaştığı, inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ve nekrozun azaldığı görülmüştür. Bunların dışında, hepatik dokuda çeşitli parametreler değerlendirildiğinde, TNBS sonrası F13A uygulaması, MPO aktivitesinin baskılanmasına ve IL-10 üretiminde artmaya neden olurken, kolitin neden olduğu TNF- $\alpha$  ve TAC seviyelerindeki değişiklikleri etkilememiştir. Kolit nedeniyle düşen NO üretiminin ise daha da azalmasına sebep olmuştur. Apelinin eNOS aktivitesini arttırarak damarlarda vazodilatasyona neden olduğu bilinmektedir (Jia vd. 2007). Kolit sırasında muhtemel sinüzoidal endotel hücrelerinin hasara uğraması nedeniyle kanlanma bozukluğunun gelişmiş olacağı düşünülmektedir. Sadece F13A uygulanan grupta da kontrole göre anlamlı düzeyde NO miktarı düşük bulunmuştur. TNBS sonrasında uygulanan F13A, hepatik dokuda muhtemel COX-2 aracılı PGE<sub>2</sub> üretimini azaltarak kontrol seviyesine indirmiştir. Ancak kolitte karşı F13A uygulaması her ne kadar hepatik MPO aktivitesi, IL-10 ve PGE<sub>2</sub> miktarlarında düzeltici etki gösterse de bu grupta aynı zamanda LPS yükünde ve MDA seviyesinde artış geliştiği gözlenmiştir ve bu durum inflamasyon sürecinin devam ettiğine işaret etmektedir. Bu bulgular, inflamasyon koşullarında üretimi arttığı bilinen apelin miktarı ile de doğrulanmıştır. Apelin üretimi TNBS grubunda karaciğerde artmış ve bu artış, F13A uygulaması ile daha da güçlenmiştir. LPS'nin, hipoksi koşullarının ve proinflamatuvar sitokinlerin çeşitli yollar aracılığı ile apelin ekspresyonunu bağırsakta arttırdığı bilinmektedir (Han vd. 2008). Karaciğerde de muhtemelen aynı yollar üzerinden apelin üretimi uyarılmış olabilir. F13A her ne kadar TNBS'nin neden olduğu kolonik hasarı azaltsa da doku bütünlüğünü kontrol seviyesine indirememiştir. Bu nedenle bağırsak-karaciğer aksındaki bozulmayı yeterince düzeltmemiş ve karaciğerdeki proinflamatuvar sitokin, oksidatif stres, toksin yükü, antioksidan kapasite gibi kolitin neden olduğu bulguların iyileştirilmesinde güçlü bir etkinlik sağlayamamıştır. Apelinerjik sistemin karaciğer patofizyolojisindeki rolünde karmaşık mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir (Lv vd. 2017). Çünkü APJ reseptörü karaciğerde hepatositler, Kupffer hücreleri, stellat hücreleri ve sinüzoidal endotel hücrelerinde eksprese edilmektedir. Bu nedenle karaciğerin hücre tipi bakımından çeşitlilik göstermesi ve APJ'nin farklı koşullarda ekspresyonunun, ligantlarının ve sinyal yollarının çeşitlilik gösterebilmesi apelinerjik sistemin karaciğerdeki etkilerini karmaşık hale getirmektedir. Örneğin, apelin/APJ sinyali, JNK aktivasyonu yoluyla Fas-aracılı karaciğer hasarını artırdığı gösterilmiştir (Yasuzaki vd. 2013). Fosforile JNK ve c-jun ekspresyonu, yabancı tip farelerin karaciğerinde anlamlı şekilde artarken; APJ eksikliği olan farelerde hepatosit apoptozu ve karaciğer hasarı azalmış, JNK aktivasyonu belirgin biçimde baskılanmıştır. Başka bir çalışmada karaciğerdeki stellat hücreler tarafından salgılanan endojen apelin, sirotik sıçan karaciğerinde belirgin ve seçici şekilde aktive olmuş; proinflamatuvar ve anjiyogenezle ilişkili sinyal yollarını tetiklemiştir (Principe vd. 2008). APJ antagonisti F13A ise AGTRL-1'i bloke ederek sirotik sıçanlarda kardiyovasküler fonksiyonları iyileştirmiş ve sirotik karaciğeri düzeltmiştir. Benzer şekilde başka bir çalışmada F13A uygulaması, STAT3 ve ERK1/2 fosforilasyonunu arttırmış, Kupffer hücrelerini/makrofajları doğrudan aktive etmiş ve TNF- $\alpha$  ile IL-6 salgısını artırarak, parsiyel hepatektomi sonrası karaciğer rejenerasyonunu hızlandırmıştır (Yoshiya vd. 2015). Apelinerjik sistemin karaciğerde koruyucu etkilerinin olduğunu ortaya koyan çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin Fc-apelinin (yarı ömrü daha uzun), LPS ile indüklenen karaciğer hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği; hepatositlerde apoptoz ve ROS üretimini azalttığı, hepatik makrofaj infiltrasyonunu

sınırladığı ve TNF- $\alpha$  ile IL-6 gen ekspresyonunu baskıladığı gösterilmiştir (Zhou vd. 2018).

Sonuç olarak bu çalışmada, APJ reseptör antagonisti F13A'nın, TNBS ile indüklenen kolit modelinde klinik bulgulara düzeltici ve kolonik inflamasyon ve mukozal bariyer bütünlüğü üzerinde koruyucu etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. F13A, kolite karşı, ZO-1 ekspresyonunu ve mukus ve PGE<sub>2</sub> retimini artırarak bağırsak bariyer fonksiyonunu güçlendirmiştir. Ayrıca F13A, kolit ile ilişkili karaciğer hasarında doku bütünlüğünün yeniden sağlanmasında rol oynamış, MPO enzim aktivitesinde ve PGE<sub>2</sub> ve IL-10 üretimlerinde düzeltici etki göstermiştir. Ancak, karaciğerde apelin miktarı, LPS yükü ve inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkili diğer parametrelerde düzelme sağlayamamıştır. Bu bulgular, apelinergic sistemin bağırsak ve karaciğer arasındaki karmaşık etkileşimlerde farklı roller üstlenebileceğini ve bu yolakların hedef alındığı terapötik stratejilerin doz ve süre bağlamında dokuya ve koşullara göre optimize edilmesi gerektiğini göstermektedir.

## 6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, apelinergic sistemin önemli bir bileşeni olan APJ reseptörünün farmakolojik inhibisyonunun, TNBS ile oluşturulan deneysel kolit modelinde kolonik ve hepatik etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular özetle şu şekildedir:

1. TNBS ile oluşturulan kolit modelinde, mukozal bariyer bütünlüğü bozulmuş ve belirgin inflamatuvar yanıt gelişmiştir.
2. APJ reseptör antagonisti F13A uygulandığında (i.v.), kolonik inflamasyon ve mukozal hasarda iyileşmeler gözlenmiştir:
  - Histopatolojik skorlar azalmıştır.
  - ZO-1 ekspresyonu artmıştır.
  - Mukus üretimi desteklenmiştir.
  - PGE<sub>2</sub> düzeylerinde toparlanma izlenmiştir.
3. Bu bulgular, APJ sinyal yolunun kolonik bariyerin korunmasında önemli bir rol oynadığını ve inflamasyonun baskılanmasına katkı sağladığını göstermektedir.
4. Karaciğer dokusunda TNBS-indüklü kolit ile ilişkili olarak, histopatolojik değişiklikler ve biyokimyasal olarak apelin seviyesinde, MPO enzim aktivitesinde, proinflamatuvar sitokin TNF- $\alpha$  miktarında, PGE<sub>2</sub> üretiminde ve MDA seviyesinde artış gözlenmiş; antiinflamatuvar IL-10, NO üretimi ve TAC seviyesinde ise azalma tespit edilmiştir.
5. F13A uygulamasının ardından karaciğerde:
  - Histopatolojik düzeyde kısmi bir iyileşme ve biyokimyasal parametrelerden MPO aktivitesinde ve PGE<sub>2</sub> ve IL-10 üretimlerinde düzelme görülmüştür.
  - Ancak, apelin miktarı, LPS yükü ve inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkili diğer parametrelerde anlamlı bir düzelme sağlanamamıştır.
6. Karaciğerle ilişkili bu bulgular, APJ sinyalinin karaciğer dokusunda kolondan farklı bir etki profiline sahip olabileceğini ve dokuya özgü etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir.
7. Sonuç olarak, APJ reseptörünün F13A ile inhibisyonu kolonda koruyucu etki gösterirken, kolit ile ilişkili hepatik hasar üzerinde sınırlı bir terapötik etki sağlamıştır.
8. Değişen doz, süre ve uygulama yoluna göre farklı ligandlar veya inhibitörlerle tasarlanacak çalışmaların, APJ sinyal yolunun dokuya özgü etkilerini daha net ortaya koyacağı ve apelinergic sistemin inflamatuvar hastalıklardaki rolünü aydınlatacağı düşünülmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- Adegbola, S. O., Sahnan, K., Warusavitarne, J., Hart, A., & Tozer, P. 2018. Anti-TNF Therapy in Crohn's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8): 2244.
- Al-Rejaie, S. S., Abuohashish, H. M., Al-Enazi, M. M., Al-Assaf, A. H., Parmar, M. Y., & Ahmed, M. M. 2013. Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *World Journal of Gastroenterology*, 19(34): 5633-5644.
- An, L., Wirth, U., Koch, D., Schirren, M., Drefs, M., Koliogiannis, D., Nieß, H., Andrassy, J., Guba, M., Bazhin, A. V., Werner, J., & Kühn, F. 2022. The Role of Gut-Derived Lipopolysaccharides and the Intestinal Barrier in Fatty Liver Diseases. *Journal of Gastrointestinal Surgery: Official Journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*, 26(3): 671-683.
- Ancha, H. R., Kurella, R. R., McKimmey, C. C., Lightfoot, S., & Harty, R. F. 2009. Effects of N-acetylcysteine plus mesalamine on prostaglandin synthesis and nitric oxide generation in TNBS-induced colitis in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 54(4): 758-766.
- Antoniou, E., Margonis, G. A., Angelou, A., Pikouli, A., Argiri, P., Karavokyros, I., Papalois, A., & Pikoulis, E. 2016. The TNBS-induced colitis animal model: An overview. *Annals of Medicine and Surgery*, 11, 9-15.
- Aratani, Y. 2018. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 640, 47-52.
- Arnhold, J. 2020. The Dual Role of Myeloperoxidase in Immune Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21): 8057.
- Azzouz, L. L., & Sharma, S. 2023. Physiology, Large Intestine. İçinde *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Banerjee, S., Ghosh, S., Sinha, K., Chowdhury, S., & Sil, P. C. 2019. Sulphur dioxide ameliorates colitis related pathophysiology and inflammation. *Toxicology*, 412, 63-78.
- Berenbaum, F. 2000. Proinflammatory cytokines, prostaglandins, and the chondrocyte: Mechanisms of intracellular activation. *Joint Bone Spine*, 67(6): 561-564.
- Birsen, İ., Sinen, O., Akkan, S. S., Üstünel, İ., & İzgüt-Uysal, V. N. (t.y.). Blocking the Apelin Receptor (APJ) Attenuates TNBS-Induced Colitis in Rats. *European Journal of Therapeutics*.
- Bosch, J., Abraldes, J. G., Fernández, M., & García-Pagán, J. C. 2010. Hepatic endothelial dysfunction and abnormal angiogenesis: New targets in the treatment of portal hypertension. *Journal of Hepatology*, 53(3): 558-567.
- Boughton-Smith, N. K. 1994. Pathological and therapeutic implications for nitric oxide in inflammatory bowel disease. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 87(6): 312-314.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

- Bradley, P. P., Priebe, D. A., Christensen, R. D., & Rothstein, G. 1982. Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *The Journal of Investigative Dermatology*, 78(3): 206-209.
- Brown, S. J., & Mayer, L. 2007. The immune response in inflammatory bowel disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 102(9): 2058-2069.
- Buchanan, F. G., Gorden, D. L., Matta, P., Shi, Q., Matrisian, L. M., & DuBois, R. N. 2006. Role of  $\beta$ -arrestin 1 in the metastatic progression of colorectal cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(5): 1492-1497.
- Bucki, R., Namiot, D. B., Namiot, Z., Savage, P. B., & Janmey, P. A. 2008. Salivary mucins inhibit antibacterial activity of the cathelicidin-derived LL-37 peptide but not the cationic steroid CSA-13. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(2): 329-335.
- Bülbül, M., Sinen, O., Bayramoğlu, O., & Akkoyunlu, G. 2020. Enteric apelin enhances the stress-induced stimulation of colonic motor functions. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 23(2): 201-212.
- Calcerrada, P., Peluffo, G., & Radi, R. 2011. Nitric oxide-derived oxidants with a focus on peroxynitrite: Molecular targets, cellular responses and therapeutic implications. *Current Pharmaceutical Design*, 17(35): 3905-3932.
- Camilleri, M., Lasch, K., & Zhou, W. 2012. Irritable bowel syndrome: Methods, mechanisms, and pathophysiology. The confluence of increased permeability, inflammation, and pain in irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(7): G775-785.
- Chang, J. T. 2020. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. *The New England Journal of Medicine*, 383(27): 2652-2664.
- Cheah, K. Y., Bastian, S. E. P., Acott, T. M. V., Abimosleh, S. M., Lymn, K. A., & Howarth, G. S. 2013. Grape seed extract reduces the severity of selected disease markers in the proximal colon of dextran sulphate sodium-induced colitis in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 58(4): 970-977.
- Chen, X., Bai, B., Tian, Y., Du, H., & Chen, J. 2014. Identification of serine 348 on the apelin receptor as a novel regulatory phosphorylation site in apelin-13-induced G protein-independent biased signaling. *The Journal of Biological Chemistry*, 289(45): 31173-31187.
- Cheng, H., Huang, H., Guo, Z., Chang, Y., & Li, Z. 2021. Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration. *Theranostics*, 11(18): 8836-8854.
- Chng, S. C., Ho, L., Tian, J., & Reversade, B. 2013. ELABELA: A hormone essential for heart development signals via the apelin receptor. *Developmental Cell*, 27(6): 672-680.
- Chotikatum, S., Naim, H. Y., & El-Najjar, N. 2018. Inflammation induced ER stress affects absorptive intestinal epithelial cells function and integrity. *International Immunopharmacology*, 55, 336-344.

- Chu, J., Zhang, H., Huang, X., Lin, Y., Shen, T., Chen, B., Man, Y., Wang, S., & Li, J. 2013. Apelin ameliorates TNF- $\alpha$ -induced reduction of glycogen synthesis in the hepatocytes through G protein-coupled receptor APJ. *PloS One*, 8(2): e57231.
- Chun, H. J., Ali, Z. A., Kojima, Y., Kundu, R. K., Sheikh, A. Y., Agrawal, R., Zheng, L., Leeper, N. J., Pearl, N. E., Patterson, A. J., Anderson, J. P., Tsao, P. S., Lenardo, M. J., Ashley, E. A., & Quertermous, T. 2008. Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(10): 3343-3354
- Coccia, M., Harrison, O. J., Schiering, C., Asquith, M. J., Becher, B., Powrie, F., & Maloy, K. J. 2012. IL-1 $\beta$  mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4(+) Th17 cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 209(9): 1595-1609.
- Collins, J. T., Nguyen, A., Omole, A. E., & Badireddy, M. 2025. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Small Intestine. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Cortez, V. S., Robinette, M. L., & Colonna, M. 2015. Innate lymphoid cells: New insights into function and development. *Current Opinion in Immunology*, 32, 71-77.
- da Silva, M. S., Sánchez-Fidalgo, S., Talero, E., Cárdeno, A., da Silva, M. A., Villegas, W., Souza Brito, A. R. M., & de La Lastra, C. A. 2010. Anti-inflammatory intestinal activity of *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & Grimes in TNBS colitis model. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(2): 467-475.
- D'Aniello, C., Lonardo, E., Iaconis, S., Guardiola, O., Liguoro, A. M., Liguori, G. L., Autiero, M., Carmeliet, P., & Minchiotti, G. 2009. G protein-coupled receptor APJ and its ligand apelin act downstream of Cripto to specify embryonic stem cells toward the cardiac lineage through extracellular signal-regulated kinase/p70S6 kinase signaling pathway. *Circulation Research*, 105(3): 231-238.
- de Almeida, A. B. A., Sánchez-Hidalgo, M., Martín, A. R., Luiz-Ferreira, A., Trigo, J. R., Vilegas, W., dos Santos, L. C., Souza-Brito, A. R. M., & de la Lastra, C. A. 2013. Anti-inflammatory intestinal activity of *Arctium lappa* L. (Asteraceae) in TNBS colitis model. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1): 300-310.
- de Souza, H. S. P., & Fiocchi, C. 2016. Immunopathogenesis of IBD: Current state of the art. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 13(1): 13-27.
- Dean, G., Hanauer, S., & Levitsky, J. 2020. The Role of the Intestine in the Pathogenesis of Primary Sclerosing Cholangitis: Evidence and Therapeutic Implications. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 72(3): 1127-1138.
- Dias, C. C., Santiago, M., Correia, L., Portela, F., Ministro, P., Lago, P., Trindade, E., Freitas, A., Magro, F., & GEDII. 2019. Hospitalization trends of the Inflammatory Bowel Disease landscape: A nationwide overview of 16 years. *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 51(7): 952-960.
- Dinarello, C. A. 2009. Interleukin-1 $\beta$  and the Autoinflammatory Diseases. *New England Journal of Medicine*, 360(23): 2467-2470.
- Dkhil, M. A., Al-Quraishy, S., Al-Shamrany, A., Alazzouni, A. S., Lubbad, M. Y., Al-Shaebi, E. M., & Taib, N. T. 2015. Protective effect of berberine chloride on

- Plasmodium chabaudi-induced hepatic tissue injury in mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(5): 551-555.
- Dohi, T., Fujihashi, K., Kiyono, H., Elson, C. O., & McGhee, J. R. 2000. Mice deficient in Th1- and Th2-type cytokines develop distinct forms of hapten-induced colitis. *Gastroenterology*, 119(3): 724-733.
- El Messari, S., Iturrioz, X., Fassot, C., De Mota, N., Roesch, D., & Llorens-Cortes, C. 2004. Functional dissociation of apelin receptor signaling and endocytosis: Implications for the effects of apelin on arterial blood pressure. *Journal of Neurochemistry*, 90(6): 1290-1301.
- El-Mesallamy, H. O., Hamdy, N. M., Rizk, H. H., & El-Zayadi, A.-R. 2011. Apelin serum level in Egyptian patients with chronic hepatitis C. *Mediators of Inflammation*, 2011, 703031.
- Emam, M. N., & Gheit, R. E. A. E. 2016. Promoting effect of adipocytokine, apelin, on hepatic injury in caerulein-induced acute pancreatitis in rats Apelin on AP-induced hepatic injury. *Alexandria Journal of Medicine*, 52(4): Article 4.
- Fan, X., Zhou, N., Zhang, X., Mukhtar, M., Lu, Z., Fang, J., DuBois, G. C., & Pomerantz, R. J. 2003. Structural and functional study of the apelin-13 peptide, an endogenous ligand of the HIV-1 coreceptor, APJ. *Biochemistry*, 42(34): 10163-10168.
- Fausto, N., Campbell, J. S., & Riehle, K. J. 2012. Liver regeneration. *Journal of Hepatology*, 57(3): 692-694.
- Feverly, J., Verslype, C., Lai, G., Aerts, R., & Van Steenberghe, W. 2007. Incidence, diagnosis, and therapy of cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 52(11): 3123-3135.
- Flynn, S., and Eisenstein, S. 2019. Inflammatory Bowel Disease Presentation and Diagnosis. *The Surgical Clinics of North America*, 99(6): 1051-1062.
- Fort, M. M., Cheung, J., Yen, D., Li, J., Zurawski, S. M., Lo, S., Menon, S., Clifford, T., Hunte, B., Lesley, R., Muchamuel, T., Hurst, S. D., Zurawski, G., Leach, M. W., Gorman, D. M., & Rennick, D. M. 2001. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity*, 15(6): 985-995.
- Fraga, M., Fournier, N., Safroneeva, E., Pittet, V., Godat, S., Straumann, A., Nydegger, A., Vavricka, S. R., Moradpour, D., Schoepfer, A. M., & Swiss IBD Cohort Study Group. 2017. Primary sclerosing cholangitis in the Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort Study: Prevalence, risk factors, and long-term follow-up. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 29(1): 91-97.
- Fukawa, A., Kobayashi, O., Yamaguchi, M., Uchida, M., & Hosono, A. 2017. Bovine milk-derived  $\alpha$ -lactalbumin prevents hepatic fibrosis induced by dimethylnitrosamine via nitric oxide pathway in rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(10), 1941-1947.
- Garber, A., & Regueiro, M. 2019. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Epidemiology, Etiopathogenesis, and Management. *Current Gastroenterology Reports*, 21(7): 31.

- Garcia Garcia de Paredes, A., Rodriguez de Santiago, E., Rodriguez-Escaja, C., Iborra, M., Algaba, A., Cameo, J. I., de la Peña, L., Gomollon, F., Van Domselaar, M., Busta, R., Castaño Garcia, A., Del Val, A., Bermejo, F., Gutierrez, A., Guardiola, J., Mesonero, F., Riestra, S., Nos, P., Albillos, A., & Lopez-Sanroman, A. 2020. Idiopathic acute pancreatitis in patients with inflammatory bowel disease: A multicenter cohort study. *Pancreatology: Official Journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* ... [et Al.], 20(3): 331-337.
- Garrido-Mesa, J., Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Utrilla, M. P., Rodriguez-Cabezas, M. E., Zarzuelo, A., Ocete, M. A., Garrido-Mesa, N., & Galvez, J. 2015. A new therapeutic association to manage relapsing experimental colitis: Doxycycline plus *Saccharomyces boulardii*. *Pharmacological Research*, 97, 48-63.
- Ge, Y., Li, Y., Chen, Q., Zhu, W., Zuo, L., Guo, Z., Gong, J., Cao, L., Gu, L., & Li, J. 2018. Adipokine apelin ameliorates chronic colitis in Il-10<sup>-/-</sup> mice by promoting intestinal lymphatic functions. *Biochemical Pharmacology*, 148: 202-212.
- Geem, D., Harusato, A., Flannigan, K., & Denning, T. L. 2015. Harnessing regulatory T cells for the treatment of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(6): 1409-1418.
- Gelley, F., Miheller, P., Péter, A., Telkes, G., & Nemes, B. 2012. Activity of ulcerative colitis before and after liver transplantation in primary sclerosing cholangitis: The Hungarian experience. *Transplantation Proceedings*, 44(7): 2164-2165.
- Gelley, F., Zádori, G., Görög, D., Kóbori, L., Fehérvári, I., Gámán, G., Gerlei, Z., Nagy, P., Sárváry, E., & Nemes, B. 2014. Recurrence of primary sclerosing cholangitis after liver transplantation—The Hungarian experience. *Interventional Medicine & Applied Science*, 6(1): 16-18.
- Giorgio, V., Miele, L., Principessa, L., Ferretti, F., Villa, M. P., Negro, V., Grieco, A., Alisi, A., & Nobili, V. 2014. Intestinal permeability is increased in children with non-alcoholic fatty liver disease, and correlates with liver disease severity. *Digestive and Liver Disease: Official Journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 46(6): 556-560
- Giuffrè, M., Campigotto, M., Campisciano, G., Comar, M., & Crocè, L. S. 2020. A story of liver and gut microbes: How does the intestinal flora affect liver disease? A review of the literature. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 318(5): G889-G906.
- Gizard, E., Ford, A. C., Bronowicki, J.-P., & Peyrin-Biroulet, L. 2014. Systematic review: The epidemiology of the hepatobiliary manifestations in patients with inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 40(1) 3-15.
- Groschwitz, K. R., & Hogan, S. P. 2009. Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 124(1): 3-20.
- Han, S., Wang, G., Qi, X., Englander, E. W., & Greeley, G. H. 2008. Involvement of a Stat3 binding site in inflammation-induced enteric apelin expression. *American*

- Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 295(5): G1068-1078.
- Han, S., Wang, G., Qiu, S., de la Motte, C., Wang, H.-Q., Gomez, G., Englander, E. W., & Greeley, G. H. 2007. Increased colonic apelin production in rodents with experimental colitis and in humans with IBD. *Regulatory Peptides*, 142(3): 131-137.
- Hanauer, S. B. 2006. Inflammatory bowel disease: Epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflammatory Bowel Diseases*, 12 Suppl 1, S3-9.
- Harford-Wright, E., Andre-Gregoire, G., Jacobs, K. A., Treps, L., Le Gonidec, S., Leclair, H. M., Gonzalez-Diest, S., Roux, Q., Guillonnet, F., Loussouarn, D., Oliver, L., Vallette, F. M., Foulle, F., Valet, P., Davenport, A. P., Glen, R. C., Bidere, N., & Gavard, J. 2017. Pharmacological targeting of apelin impairs glioblastoma growth. *Brain: A Journal of Neurology*, 140(11): 2939-2954.
- He, L., Liu, T., Shi, Y., Tian, F., Hu, H., Deb, D. K., Chen, Y., Bissonnette, M., & Li, Y. C. 2018. Gut Epithelial Vitamin D Receptor Regulates Microbiota-Dependent Mucosal Inflammation by Suppressing Intestinal Epithelial Cell Apoptosis. *Endocrinology*, 159(2): 967-979. 00748
- He, W.-Q., Wang, J., Sheng, J.-Y., Zha, J.-M., Graham, W. V., & Turner, J. R. 2020. Contributions of Myosin Light Chain Kinase to Regulation of Epithelial Paracellular Permeability and Mucosal Homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3): 993.
- He, X., Wei, Z., Wang, J., Kou, J., Liu, W., Fu, Y., & Yang, Z. 2016. Alpinetin attenuates inflammatory responses by suppressing TLR4 and NLRP3 signaling pathways in DSS-induced acute colitis. *Scientific Reports*, 6(1): 28370.
- Hedin, C. R. H., Vavricka, S. R., Stagg, A. J., Schoepfer, A., Raine, T., Puig, L., Pleyer, U., Navarini, A., van der Meulen-de Jong, A. E., Maul, J., Katsanos, K., Kagramanova, A., Greuter, T., González-Lama, Y., van Gaalen, F., Ellul, P., Burisch, J., Bettenworth, D., Becker, M. D., ... Rieder, F. 2019. The Pathogenesis of Extraintestinal Manifestations: Implications for IBD Research, Diagnosis, and Therapy. *Journal of Crohn's & Colitis*, 13(5): 541-554.
- Hidalgo-Cantabrana, C., Algieri, F., Rodriguez-Nogales, A., Vezza, T., Martínez-Cambor, P., Margolles, A., Ruas-Madiedo, P., & Gálvez, J. 2016. Effect of a Ropy Exopolysaccharide-Producing *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Strain Orally Administered on DSS-Induced Colitis Mice Model. *Frontiers in Microbiology*, 7.
- Hu, G., Wang, Z., Zhang, R., Sun, W., & Chen, X. 2021. The Role of Apelin/Apelin Receptor in Energy Metabolism and Water Homeostasis: A Comprehensive Narrative Review. *Frontiers in Physiology*, 12.
- Huang, J., Kang, S., Park, S.-J., & Im, D.-S. 2017. Apelin protects against liver X receptor-mediated steatosis through AMPK and PPAR $\alpha$  in human and mouse hepatocytes. *Cellular Signalling*, 39, 84-94.

- Huang, S. K., Shin, K., Sarker, M., & Rainey, J. K. 2017. Apela exhibits isoform- and headgroup-dependent modulation of micelle binding, peptide conformation and dynamics. *Biochimica Et Biophysica Acta. Biomembranes*, 1859(5): 767-778.
- Huang, Z., Luo, X., Liu, M., & Chen, L. 2019. Function and regulation of apelin/APJ system in digestive physiology and pathology. *Journal of Cellular Physiology*, 234(6): 7796-7810.
- Ilsley, J. N. M., Nakanishi, M., Flynn, C., Belinsky, G. S., De Guise, S., Adib, J. N., Dobrowsky, R. T., Bonventre, J. V., & Rosenberg, D. W. 2005. Cytoplasmic phospholipase A2 deletion enhances colon tumorigenesis. *Cancer Research*, 65(7): 2636-2643.
- Isik, F., Tunalı Akbay, T., Yarat, A., Genc, Z., Pisiriciler, R., Caliskan-Ak, E., Cetinel, S., Altıntaş, A., & Sener, G. 2011. Protective effects of black cumin (*Nigella sativa*) oil on TNBS-induced experimental colitis in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, 56(3): 721-730.
- Iwakiri, Y., & Groszmann, R. J. 2006. The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: From the patient to the molecule. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 43(2 Suppl 1): S121-131.
- Iwakiri, Y., & Kim, M. Y. 2015. NITRIC OXIDE IN LIVER DISEASES. *Trends in pharmacological sciences*, 36(8): 524-536.
- Jia, Y. X., Lu, Z. F., Zhang, J., Pan, C. S., Yang, J. H., Zhao, J., Yu, F., Duan, X. H., Tang, C. S., & Qi, Y. F. 2007. Apelin activates L-arginine/nitric oxide synthase/nitric oxide pathway in rat aortas. *Peptides*, 28(10): 2023-2029.
- Jiang, G.-L., Im, W. B., Donde, Y., & Wheeler, L. A. 2010. Comparison of prostaglandin E2 receptor subtype 4 agonist and sulfasalazine in mouse colitis prevention and treatment. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 335(3): 546-552.
- Kalinski, P. 2012. Regulation of Immune Responses by Prostaglandin E2. *The Journal of Immunology*, 188(1): 21-28.
- Kalra, A., Yetiskul, E., Wehrle, C. J., & Tuma, F. 2025. Physiology, Liver. *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Kang, Y., Kim, J., Anderson, J. P., Wu, J., Gleim, S. R., Kundu, R. K., McLean, D. L., Kim, J., Park, H., Jin, S., Hwa, J., Quertermous, T., & Chun, H. J. 2013. Apelin-APJ signaling is a critical regulator of endothelial MEF2 activation in cardiovascular development. *Circulation Research*, 113(1): 22-31.
- Kaplan, G. G., Laupland, K. B., Butzner, D., Urbanski, S. J., & Lee, S. S. 2007. The burden of large and small duct primary sclerosing cholangitis in adults and children: A population-based analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, 102(5): 1042-1049.
- Keita, A. V., & Söderholm, J. D. 2010. The intestinal barrier and its regulation by neuroimmune factors. *Neurogastroenterology and Motility*, 22(7): 718-733.
- Kesar, V., & Odin, J. A. 2014. Toll-like receptors and liver disease. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 34(2): 184-196.

- Kim, J. J., Shajib, M. S., Manocha, M. M., & Khan, W. I. 2012. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 60, 3678.
- Klebl, F. H., Bataille, F., Huy, C., Hofstädter, F., Schölmerich, J., & Rogler, G. 2005. Association of antibodies to exocrine pancreas with subtypes of Crohn's disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 17(1): 73-77.
- Kleinz, M. J., & Davenport, A. P. 2005. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & Therapeutics*, 107(2): 198-211.
- Kojima, F., Hioki, Y., Sekiya, H., Kashiwagi, H., Iizuka, Y., Eto, K., Maehana, S., Kawakami, F., Kubo, M., Ishibashi, H., & Ichikawa, T. 2024. Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 Controls Colonic Prostaglandin E2 Production and Exerts a Protective Effect on Colitis Induced by Trinitrobenzene Sulfonic Acid in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(22): Article 22.
- Kuo, W.-T., Zuo, L., Odenwald, M. A., Madha, S., Singh, G., Gurniak, C. B., Abraham, C., & Turner, J. R. 2021. The Tight Junction Protein ZO-1 Is Dispensable for Barrier Function but Critical for Effective Mucosal Repair. *Gastroenterology*, 161(6): 1924-1939.
- Kühn, R., Löhler, J., Rennick, D., Rajewsky, K., & Müller, W. 1993. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*, 75(2): 263-274. -p
- Larsson, J. M. H., Karlsson, H., Crespo, J. G., Johansson, M. E. V., Eklund, L., Sjövall, H., & Hansson, G. C. 2011. Altered O-glycosylation profile of MUC2 mucin occurs in active ulcerative colitis and is associated with increased inflammation. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(11): 2299-2307.
- Le Gonidec, S., Chaves-Almagro, C., Bai, Y., Kang, H. J., Smith, A., Wanecq, E., Huang, X.-P., Prats, H., Knibiehler, B., Roth, B. L., Barak, L. S., Caron, M. G., Valet, P., Audigier, Y., & Masri, B. 2017. Protamine is an antagonist of apelin receptor, and its activity is reversed by heparin. *The FASEB Journal*, 31(6): 2507-2519.
- Lee, D. K., Saldivia, V. R., Nguyen, T., Cheng, R., George, S. R., & O'Dowd, B. F. 2005. Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology*, 146(1): 231-236.
- Lee, H., Rotolo, J. A., Mesicek, J., Penate-Medina, T., Rimmer, A., Liao, W.-C., Yin, X., Ragupathi, G., Ehleiter, D., Gulbins, E., Zhai, D., Reed, J. C., Haimovitz-Friedman, A., Fuks, Z., & Kolesnick, R. 2015. Correction: Mitochondrial Ceramide-Rich Macrod domains Functionalize Bax upon Irradiation. *PloS One*, 10(12): e0146210.
- Lee, J., Yamamoto, T., Kuramoto, H., & Kadowaki, M. 2012. TRPV1 expressing extrinsic primary sensory neurons play a protective role in mouse oxazolone-induced colitis. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 166(1-2): 72-76.
- Lee, S. H., Kwon, J. E., & Cho, M.-L. 2018. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intestinal Research*, 16(1): 26-42.
- Leslie, C. C. 2004. Regulation of arachidonic acid availability for eicosanoid production. *Biochemistry and Cell Biology = Biochimie Et Biologie Cellulaire*, 82(1): 1-17.

- Li, Q., Rempel, J. D., Yang, J., & Minuk, G. Y. 2022. The Effects of Pathogen-Associated Molecular Patterns on Peripheral Blood Monocytes in Patients with Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 12(3): 808-817.
- Li, Y., Chen, J., Bai, B., Du, H., Liu, Y., & Liu, H. 2012. Heterodimerization of human apelin and kappa opioid receptors: Roles in signal transduction. *Cellular Signalling*, 24(5): 991-1001.
- Lin, Y., Li, B., Yang, X., Liu, T., Shi, T., Deng, B., Zhang, Y., Jia, L., Jiang, Z., & He, R. 2019. Non-hematopoietic STAT6 induces epithelial tight junction dysfunction and promotes intestinal inflammation and tumorigenesis. *Mucosal Immunology*, 12(6): 1304-1315.
- Luchetti, M. M., Benfaremo, D., Bendia, E., Bolognini, L., Fava, G., Marini, F., Di Sario, A., Ciferri, M., Di Nicola, F., Marconi, V., Perini, L., Manfredi, L., Pomponio, G., Mosca, P., Benedetti, A., & Gabrielli, A. 2019. Clinical and patient reported outcomes of the multidisciplinary management in patients with inflammatory bowel disease-associated spondyloarthritis. *European Journal of Internal Medicine*, 64, 76-84.
- Lv, X., Kong, J., Chen, W.-D., & Wang, Y.-D. 2017. The Role of the Apelin/APJ System in the Regulation of Liver Disease. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 221.
- Ma, H.-D., Zhao, Z.-B., Ma, W.-T., Liu, Q.-Z., Gao, C.-Y., Li, L., Wang, J., Tsuneyama, K., Liu, B., Zhang, W., Zhou, Y., Gershwin, M. E., & Lian, Z.-X. 2018. Gut microbiota translocation promotes autoimmune cholangitis. *Journal of Autoimmunity*, 95, 47-57.
- Ma, T. Y., Boivin, M. A., Ye, D., Pedram, A., & Said, H. M. 2005. Mechanism of TNF- $\alpha$  modulation of Caco-2 intestinal epithelial tight junction barrier: Role of myosin light-chain kinase protein expression. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 288(3): G422-430.
- Maloney, P. R., Khan, P., Hedrick, M., Gosalia, P., Milewski, M., Li, L., Roth, G. P., Sergienko, E., Suyama, E., Sugarman, E., Nguyen, K., Mehta, A., Vasile, S., Su, Y., Stonich, D., Nguyen, H., Zeng, F.-Y., Novo, A. M., Vicchiarelli, M., ... Pinkerton, A. B. 2012. Discovery of 4-oxo-6-((pyrimidin-2-ylthio)methyl)-4H-pyran-3-yl 4-nitrobenzoate (ML221) as a functional antagonist of the apelin (APJ) receptor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(21): 6656-6660.
- Masri, B., Morin, N., Pedebornade, L., Knibiehler, B., & Audigier, Y. 2006. The apelin receptor is coupled to Gi1 or Gi2 protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(27): 18317-18326.
- Mayer, L. 2010. Evolving paradigms in the pathogenesis of IBD. *Journal of Gastroenterology*, 45(1): 9-16.
- Medhurst, A. D., Jennings, C. A., Robbins, M. J., Davis, R. P., Ellis, C., Winborn, K. Y., Lawrie, K. W. M., Hervieu, G., Riley, G., Bolaky, J. E., Herrity, N. C., Murdock, P., & Darker, J. G. 2003. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *Journal of Neurochemistry*, 84(5): 1162-1172.

- Melgar-Lesmes, P., Pauta, M., Reichenbach, V., Casals, G., Ros, J., Bataller, R., Morales-Ruiz, M., & Jiménez, W. 2011. Hypoxia and proinflammatory factors upregulate apelin receptor expression in human stellate cells and hepatocytes. *Gut*, 60(10): 1404-1411.
- Melgar-Lesmes, P., Perramon, M., & Jiménez, W. 2019. Roles of the Hepatic Endocannabinoid and Apelin Systems in the Pathogenesis of Liver Fibrosis. *Cells*, 8(11): 1311.
- Middleton, S. J., Shorthouse, M., & Hunter, J. O. 1993. Increased nitric oxide synthesis in ulcerative colitis. *Lancet (London, England)*, 341(8843): 465-466.
- Mjösberg, J., & Spits, H. 2016. Human innate lymphoid cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(5): 1265-1276.
- Murza, A., Sainsily, X., Coquerel, D., Côté, J., Marx, P., Besserer-Offroy, É., Longpré, J.-M., Lainé, J., Reversade, B., Salvail, D., Leduc, R., Dumaine, R., Lesur, O., Auger-Messier, M., Sarret, P., & Marsault, É. 2016. Discovery and Structure-Activity Relationship of a Bioactive Fragment of ELABELA that Modulates Vascular and Cardiac Functions. *Journal of Medicinal Chemistry*, 59(7): 2962-2972.
- Müller, T., Kalea, A. Z., Marquez, A., Hsieh, I., Haque, S., Ye, M., Wysocki, J., Bader, M., & Batlle, D. 2018. Apelinergic system in the kidney: Implications for diabetic kidney disease. *Physiological Reports*, 6(23): e13939.
- N, D. M., Z, L., & C, L.-C. 2000. Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology*, 72(6):
- Nakamoto, N., & Kanai, T. 2014. Role of toll-like receptors in immune activation and tolerance in the liver. *Frontiers in Immunology*, 5, 221.
- Neurath, M. F. 2014. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*, 14(5): 329-342.
- Neurath, M. F., Fuss, I., Kelsall, B. L., Stüber, E., & Strober, W. 1995. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *The Journal of Experimental Medicine*, 182(5): 1281-1290.
- Ng, S. C., Benjamin, J. L., McCarthy, N. E., Hedin, C. R. H., Koutsoumpas, A., Plamondon, S., Price, C. L., Hart, A. L., Kamm, M. A., Forbes, A., Knight, S. C., Lindsay, J. O., Whelan, K., & Stagg, A. J. 2011. Relationship between human intestinal dendritic cells, gut microbiota, and disease activity in Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(10): 2027-2037.
- Nozu, T., Miyagishi, S., Ishioh, M., Takakusaki, K., & Okumura, T. 2022. Peripheral apelin mediates visceral hypersensitivity and impaired gut barrier in a rat irritable bowel syndrome model. *Neuropeptides*, 94, 102248.
- Nozu, T., & Okumura, T. 2022. Pathophysiological Commonality Between Irritable Bowel Syndrome and Metabolic Syndrome: Role of Corticotropin-releasing Factor-Toll-like Receptor 4-Proinflammatory Cytokine Signaling. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 28(2): 173-184.

- O'Carroll, A.-M., Lolait, S. J., Harris, L. E., & Pope, G. R. 2013. The apelin receptor APJ: Journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *The Journal of Endocrinology*, 219(1): R13-35.
- O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H., Tsui, L. C., Kennedy, J. L., Shi, X., Petronis, A., George, S. R., & Nguyen, T. 1993. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 136(1-2): 355-360.
- Ogobuiro, I., Gonzales, J., Shumway, K. R., & Tuma, F. 2025. Physiology, Gastrointestinal. İçinde *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Ohtani, N., & Kawada, N. 2019. Role of the Gut–Liver Axis in Liver Inflammation, Fibrosis, and Cancer: A Special Focus on the Gut Microbiota Relationship. *Hepatology Communications*, 3(4): 456-470.
- Okamoto, T., Uemoto, S., & Tabata, Y. 2012. Prevention of trinitrobenzene sulfonic acid-induced experimental colitis by oral administration of a poly(lactic-coglycolic acid) microsphere containing prostaglandin E<sub>2</sub> receptor subtype 4 agonist. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 341(2): 340-349.
- Omenetti, S., & Pizarro, T. T. 2015. The Treg/Th17 Axis: A Dynamic Balance Regulated by the Gut Microbiome. *Frontiers in Immunology*, 6.
- Ordás, I., Eckmann, L., Talamini, M., Baumgart, D. C., & Sandborn, W. J. 2012. Ulcerative colitis. *The Lancet*, 380(9853): 1606-1619.
- Overman, E. L., Rivier, J. E., & Moeser, A. J. 2012. CRF induces intestinal epithelial barrier injury via the release of mast cell proteases and TNF- $\alpha$ . *PloS One*, 7(6): e39935.
- Pahwa, R., Modi, P., & Jialal, I. 2023. Myeloperoxidase Deficiency. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470278/>
- Palatka, K., Serfozo, Z., Veréb, Z., Hargitay, Z., Lontay, B., Erdodi, F., Bánfalvi, G., Nemes, Z., Udvardy, M., & Altorjay, I. 2005. Changes in the expression and distribution of the inducible and endothelial nitric oxide synthase in mucosal biopsy specimens of inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 40(6): 670-680.
- Pauli, A., Norris, M. L., Valen, E., Chew, G.-L., Gagnon, J. A., Zimmerman, S., Mitchell, A., Ma, J., Dubrulle, J., Reyon, D., Tsai, S. Q., Joung, J. K., Saghatelian, A., & Schier, A. F. 2014. Toddler: An embryonic signal that promotes cell movement via Apelin receptors. *Science (New York, N.Y.)*, 343(6172): 1248636.
- Pawar, A. T., Anap, R. M., Ghodasara, J. V., & Kuchekar, B. S. 2011. Protective Effect of Hydroalcoholic Root Extract of *Rubia cordifolia* in Indomethacin-Induced Enterocolitis in Rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(2): 250-253.
- Peng, X., Li, J., Tan, S., Xu, M., Tao, J., Jiang, J., Liu, H., & Wu, B. 2017. COX-1/PGE2/EP4 alleviates mucosal injury by upregulating  $\beta$ -arr1-mediated Akt signaling in colitis. *Scientific Reports*, 7, 1055.
- Philip, N. H., & Artis, D. 2013. New friendships and old feuds: Relationships between innate lymphoid cells and microbial communities. *Immunology & Cell Biology*, 91(3) 225-231.

- Pope, G. R., Roberts, E. M., Lolait, S. J., & O'Carroll, A.-M. 2012. Central and peripheral apelin receptor distribution in the mouse: Species differences with rat. *Peptides*, 33(1): 139-148.
- Popov, S. V., Markov, P. A., Nikitina, I. R., Petrishev, S., Smirnov, V., & Ovodov, Y. S. 2006. Preventive effect of a pectic polysaccharide of the common cranberry *Vaccinium oxycoccos* L. on acetic acid-induced colitis in mice. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 12(41): 6646-6651.
- Poropat, G., Giljaca, V., Stimac, D., & Gluud, C. 2011. Bile acids for primary sclerosing cholangitis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2011(1): CD003626.
- Pricolo, V. E., Madhere, S. M., Finkelstein, S. D., & Reichner, J. S. 1996. Effects of lambda-carrageenan induced experimental enterocolitis on splenocyte function and nitric oxide production. *The Journal of Surgical Research*, 66(1): 6-11.
- Principe, A., Melgar-Lesmes, P., Fernández-Varo, G., del Arbol, L. R., Ros, J., Morales-Ruiz, M., Bernardi, M., Arroyo, V., & Jiménez, W. 2008. The hepatic apelin system: A new therapeutic target for liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 48(4): 1193-1201.
- 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(3): 353-359.
- Qin, H.-Y., Wu, J. C. Y., Tong, X.-D., Sung, J. J. Y., Xu, H.-X., & Bian, Z.-X. 2011. Systematic review of animal models of post-infectious/post-inflammatory irritable bowel syndrome. *Journal of Gastroenterology*, 46(2): 164-174.
- Ramos, L. R., Sachar, D. B., DiMaio, C. J., Colombel, J.-F., & Torres, J. 2016. Inflammatory Bowel Disease and Pancreatitis: A Review. *Journal of Crohn's & Colitis*, 10(1): 95-104.
- Randhawa, P. K., Singh, K., Singh, N., & Jaggi, A. S. 2014. A Review on Chemical-Induced Inflammatory Bowel Disease Models in Rodents. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology : Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 18(4): 279-288.
- Read, C., Nyimanu, D., Williams, T. L., Huggins, D. J., Sulentic, P., Macrae, R. G. C., Yang, P., Glen, R. C., Maguire, J. J., & Davenport, A. P. 2019. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CVII. Structure and Pharmacology of the Apelin Receptor with a Recommendation that Elabela/Toddler Is a Second Endogenous Peptide Ligand. *Pharmacological Reviews*, 71(4): 467-502.
- Reingold, L., Rahal, K., Schmiedlin-Ren, P., Rittershaus, A. C., Bender, D., Owens, S. R., Adler, J., & Zimmermann, E. M. 2013. Development of a peptidoglycan-polysaccharide murine model of Crohn's disease: Effect of genetic background. *Inflammatory Bowel Diseases*, 19(6): 1238-1244.
- Rogler, G., Singh, A., Kavanaugh, A., & Rubin, D. T. 2021. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: Current Concepts, Treatment, and Implications for Disease Management. *Gastroenterology*, 161(4): 1118-1132.

- Roh, Y. S., & Seki, E. 2013. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 28 Suppl 1(0 1): 38-42.
- Rohr, M., Narasimhulu, C. A., Keewan, E., Hamid, S., & Parthasarathy, S. 2020. The dietary peroxidized lipid, 13-HPODE, promotes intestinal inflammation by mediating granzyme B secretion from natural killer cells. *Food & Function*, 11(11): 9526-9534.
- Role of the Gut–Liver Axis in Liver Inflammation, Fibrosis, and Cancer: A Special Focus on the Gut Microbiota Relationship—PMC.* (t.y.)
- Romagnani, S. 1994. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annual Review of Immunology*, 12, 227-257.
- Rossi, R. E., Conte, D., & Massironi, S. 2016. Primary sclerosing cholangitis associated with inflammatory bowel disease: An update. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 28(2):123-131.
- Sagiroglu, T., Aksoy, M. B., Sagiroglu, G., Tozkir, H., Oguz, S., Yalta, T., Yagci, M. A., & Sezer, A. 2014. Effect of Leptin and Apelin Preconditioning on Hepatic Ischemia Reperfusion Injury in Rats. *The Indian Journal of Surgery*, 76(2): 111-116.
- Sanchez, F., Lopez, A., Furusho, J. 2008. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 14(27): 4280-4288.
- Sasaki, S., Hirata, I., Maemura, K., Hamamoto, N., Murano, M., Toshina, K., & Katsu, K. 2000. Prostaglandin E2 inhibits lesion formation in dextran sodium sulphate-induced colitis in rats and reduces the levels of mucosal inflammatory cytokines. *Scandinavian Journal of Immunology*, 51(1): 23-28.
- Schoultz, I., & Keita, Å. V. 2020. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. *Cells*, 9(8):1 909.
- Sewell, G. W., & Kaser, A. 2022. Interleukin-23 in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Implications for Therapeutic Intervention. *Journal of Crohn's & Colitis*, 16(Supplement\_2): ii3-ii19.
- Sheibanie, A. F., Yen, J.-H., Khayrullina, T., Emig, F., Zhang, M., Tuma, R., & Ganea, D. 2007. The proinflammatory effect of prostaglandin E2 in experimental inflammatory bowel disease is mediated through the IL-23—>IL-17 axis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 178(12): 8138-8147.
- Shin, K., Kenward, C., & Rainey, J. K. 2017. Apelinergic system structure and function. *Comprehensive Physiology*, 8(1): 407-450.
- Smith, W. L. 1989. The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochemical Journal*, 259(2): 315-324.
- Song, Q., & Zhang, X. 2022. The Role of Gut-Liver Axis in Gut Microbiome Dysbiosis Associated NAFLD and NAFLD-HCC. *Biomedicines*, 10(3): 524
- Stolfi, C., Rizzo, A., Franzè, E., Rotondi, A., Fantini, M. C., Sarra, M., Caruso, R., Monteleone, I., Sileri, P., Franceschilli, L., Caprioli, F., Ferrero, S., MacDonald, T. T., Pallone, F., & Monteleone, G. 2011. Involvement of interleukin-21 in the

- regulation of colitis-associated colon cancer. *The Journal of Experimental Medicine*, 208(11): 2279-2290.
- Strober, W., Fuss, I., & Mannon, P. 2007. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(3): 514-521.
- Sugimoto, Y., & Narumiya, S. 2007. Prostaglandin E receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(16): 11613-11617.
- Szokodi, I., Tavi, P., Földes, G., Voutilainen-Myllylä, S., Ilves, M., Tokola, H., Pikkarainen, S., Piuholta, J., Rysä, J., Tóth, M., & Ruskoaho, H. 2002. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circulation Research*, 91(5): 434-440.
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Hinuma, S., Kitada, C., Kurokawa, T., Onda, H., & Fujino, M. 1998. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251(2): 471-476.
- Tischendorf, J. J. W., Hecker, H., Krüger, M., Manns, M. P., & Meier, P. N. 2007. Characterization, outcome, and prognosis in 273 patients with primary sclerosing cholangitis: A single center study. *The American Journal of Gastroenterology*, 102(1): 107-114.
- Tomoyose, M., Mitsuyama, K., Ishida, H., Toyonaga, A., & Tanikawa, K. 1998. Role of interleukin-10 in a murine model of dextran sulfate sodium-induced colitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 33(4): 435-440.
- Treeprasertsuk, S., Björnsson, E., Sinakos, E., Weeding, E., & Lindor, K. D. 2013. Outcome of patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis undergoing colectomy. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 4(3): 61-68.
- Tu, L., Gharibani, P., Yin, J., & Chen, J. D. Z. 2020. Sacral nerve stimulation ameliorates colonic barrier functions in a rodent model of colitis. *Neurogastroenterology and Motility*, 32(10): e13916.
- Yokomori, H., Oda, M., Yoshimura, K., Machida, S., Kaneko, F., & Hibi, T. 2011. Overexpression of apelin receptor (APJ/AGTRL1) on hepatic stellate cells and sinusoidal angiogenesis in human cirrhotic liver. *Journal of Gastroenterology*, 46(2): 222-231.
- Venkataraman, G. R., & Rivas, M. A. 2019. Rare and common variant discovery in complex disease: The IBD case study. *Human Molecular Genetics*, 28(R2): R162-R169.
- Volk, N., & Lacy, B. 2017. Anatomy and Physiology of the Small Bowel. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, 27(1): 1-13.
- Wagenaar, G. T. M., & Moll, G. N. 2025. Advances in the therapeutic potentials of ligands of the apelin receptor APJ. *European Journal of Pharmacology*, 991, 177302.
- Wallace, J. L. 2001. Prostaglandin biology in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 30(4): 971-980.

- Wang, J., Wang, X., Zhuo, E., Chen, B., & Chan, S. 2024. Gut-liver axis in liver disease: From basic science to clinical treatment (Review). *Molecular Medicine Reports*, 31(1): 10.
- Wang, X., Ni, J., You, Y., Feng, G., Zhang, S., Bao, W., Hou, H., Li, H., Liu, L., Zheng, M., Wang, Y., Zhou, H., Shen, W., & Shen, X. 2021. SNX10-mediated LPS sensing causes intestinal barrier dysfunction via a caspase-5-dependent signaling cascade. *The EMBO Journal*, 40(24): e108080.
- Wang, X., Zhang, L., Li, P., Zheng, Y., Yang, Y., & Ji, S. 2022. Apelin/APJ system in inflammation. *International Immunopharmacology*, 109, 108822.
- Wang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Xu, J., & Liu, Y. 2021. Gut-Liver Axis: Liver Sinusoidal Endothelial Cells Function as the Hepatic Barrier in Colitis-Induced Liver Injury. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 702890.
- Yang, P., Read, C., Kuc, R. E., Buonincontri, G., Southwood, M., Torella, R., Upton, P. D., Crosby, A., Sawiak, S. J., Carpenter, T. A., Glen, R. C., Morrell, N. W., Maguire, J. J., & Davenport, A. P. 2017. Elabela/Toddler Is an Endogenous Agonist of the Apelin APJ Receptor in the Adult Cardiovascular System, and Exogenous Administration of the Peptide Compensates for the Downregulation of Its Expression in Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*, 135(12): 1160-1173.
- Yang, X.-L., Guo, T.-K., Wang, Y.-H., Gao, M.-T., Qin, H., & Wu, Y.-J. 2012. Therapeutic effect of ginsenoside Rd in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis. *Archives of Pharmacal Research*, 35(7): 1231-1239.
- Yasuzaki, H., Yoshida, S., Hashimoto, T., Shibata, W., Inamori, M., Toya, Y., Tamura, K., Maeda, S., & Umemura, S. 2013. Involvement of the apelin receptor APJ in Fas-induced liver injury. *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 33(1): 118-126.
- Yoshiya, S., Shirabe, K., Imai, D., Toshima, T., Yamashita, Y., Ikegami, T., Okano, S., Yoshizumi, T., Kawanaka, H., & Maehara, Y. 2015. Blockade of the apelin-APJ system promotes mouse liver regeneration by activating Kupffer cells after partial hepatectomy. *Journal of Gastroenterology*, 50(5): 573-582.
- Zhou, H., Yang, R., Wang, W., Xu, F., Xi, Y., Brown, R. A., Zhang, H., Shi, L., Zhu, D., & Gong, D.-W. 2018. Author Correction: Fc-apelin fusion protein attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury in mice. *Scientific Reports*, 8(1): 17586.
- Zhou, L., Ivanov, I. I., Spolski, R., Min, R., Shenderov, K., Egawa, T., Levy, D. E., Leonard, W. J., & Littman, D. R. 2007. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nature Immunology*, 8(9): 967-974.
- Zhou, N., Fang, J., Acheampong, E., Mukhtar, M., & Pomerantz, R. J. 2003. Binding of ALX40-4C to APJ, a CNS-based receptor, inhibits its utilization as a co-receptor by HIV-1. *Virology*, 312(1): 196-203.

## ÖZGEÇMİŞ

**Kamil ERDOĞAN**

### ÖĞRENİM BİLGİLERİ

|               |                                                       |
|---------------|-------------------------------------------------------|
| Yüksek Lisans | Akdeniz Üniversitesi                                  |
| 2022-2025     | Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Antalya |
| Lisans        | Akdeniz Üniversitesi                                  |
| 2013-2018     | Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya               |
| 2022-Devam    | Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Antalya                  |