

Geleneksel Derleme: Enterokolitlerde Bağırsak Biyobelirteçlerinin Teşhisteki Önemi

Traditional Review: The Importance of Intestinal Biomarkers in Diagnosis in Enterocolitis

 Murat Kaan DURGUT^a,  Mahmut OK^a

^aKonya Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Konya, Türkiye

ÖZET Bağırsaklar, besinlerin sindirimi ve emilimi ile birlikte canlıları çevresel tehditlere karşı koruyan bir immünolojik organ özelliğine sahiptir. Enterokolitis, ince bağırsakların yangısı olan enteritis ve kolonun yangısı olan kolitisi içeren sindirim kanalının yangısı olarak tanımlanmaktadır. Bakteriyel, viral, protozoal, fungal, paraziter etkenlere ve diğer nedenlere bağlı oluşan bu durum önemli derecede su, besin ve mineral kayıpları ile seyredilmektedir. Enterokolitlerin seyri sırasında bağırsaklarda gelişen villus hasarı, epitel yüzeyinde azalma, sindirim ve emilim kapasitesinin önemli derecede azalmasına neden olmakta ve bu hasarın şiddetinin belirlenmesi gerektiğinde sıklıkla geleneksel invaziv metotlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu pratik olmayan metotlar, günümüzde yerini hastalığın şiddetini, varlığını ve seyrini gösterebilen kanda bulunan proteinlerin ölçülmesi olarak tanımlanabilen biyobelirteçlere bırakmaya başlamış, son yıllarda hem beşeri hem veteriner hekimlikte çalışma konusu olmuştur. Yapılan çalışmalar, biyobelirteçlerin kan ve idrardaki salınım miktarının, çeşitli bağırsak hastalıklarının seyri esnasında değişiklik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte bazı biyobelirteçlerin, bağırsaklar üzerinde koruyucu etkilerinin de olduğu bildirilmektedir. Bu derlemede, bağırsak ile ilgili biyobelirteçler arasından seçilen yağ asidi bağlayıcı proteinler, trefoil faktör 3, intestinal alkalın fosfat, klauidinler, bağırsak düz kas aktini, platelet aktive edici faktör, leptin ve interlökin 8 ve bu biyobelirteçlerin; enterokolitlerde değerlendirilmesi, teşhisteki kullanımları, veteriner hekimlik için önemi hakkında yeni ve güncel bilgiler sunulması amaçlanmıştır.

ABSTRACT As commonly known, the intestines are immunological organ that protects living beings against environmental threats as well as with the properties of digestion and absorption of nutrients. Enterocolitis is defined as the inflammation of the digestive tract, including enteritis that is the inflammation of the small intestines and also colitis that is the inflammation of the colon. This condition, which occurs due to bacterial, viral, protozoal, fungal, parasitic factors and other causes, may progress with significant water, nutrient and mineral losses. During the progress of enterocolitis, the villus damage that develops in the intestines and the reduction in the epithelial surface cause a prominent decrease in the digestion and absorption capacity, and to determine the severity of the damage conventional invasive methods are often required. These impractical methods have begun to be replaced by biomarkers which have been the subject of both human and veterinary medicine in recent years that can be defined as the measurement of proteins in blood that can indicate the severity, presence and progress of the disease. Studies show that the amount of released biomarkers into blood and urine varies during the course of diverse bowel diseases. However, some biomarkers are reported to have protective effects on the intestines. In this review, it was aimed to present new and updated information about selected intestinal-related biomarkers such as fatty acid binding proteins, trefoil factor 3, intestinal alkaline phosphatase, claudins, intestinal smooth muscle actin, platelet activating factor, leptin and interleukin 8 and the evaluation of these biomarkers in enterocolitis, their use in diagnosis, and their importance for veterinary medicine.

Anahtar Kelimeler: Enterokolitis; teşhis; bağırsak biyobelirteç

Keywords: Enterocolitis; diagnosis; intestinal biomarker

Bağırsaklar, besinlerin sindirimi ve absorpsiyonunun yanı sıra canlıyı çevresel tehditlere karşı koruyan vücuttaki en büyük ve en kompleks immünolojik organ özelliğine sahiptir. Enterokolitis veya koloenteritis, ince bağırsakların yangısı olan

enteritis ve kolonun yangısı olan kolitisi içeren; bakteri, virüs, mantar, protozoa, parazit ve diğer nedenlerden kaynaklanan sindirim kanalının yangısıdır.¹ Enterokolitisin yaygın klinik belirtileri, kusma, ağrı, ateş, titreme, genel durum bozukluğu ile

Correspondence: Murat Kaan DURGUT

Konya Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Konya, Türkiye

E-mail: mkaan.durgut@selcuk.edu.tr

Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences.

Received: 23 Sep 2020

Received in revised form: 02 Nov 2020

Accepted: 04 Nov 2020

Available online: 23 Mar 2021

2146-8850 / Copyright © 2022 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



ishal şeklindeki defekasyonlardır. Klinik bulgular, enfeksiyöz etkenin kendisi ya da toksinlerinin vücutta yayılmasının yanında ishal ve kusmanın sonucu olarak önemli derecede su, besin ve mineral kayıpları ile ortaya çıkmaktadır.¹ Bağırsaklar, su ve elektrolitlerin emilimi için oldukça geniş yüzey alanına sahiptir. Mukoza kıvrımları ve mikrovilluslar bu yüzeyi artırır. Normalde hayvanlarda, luminal sıvının %98'i ekstraselüler sıvıya geri dönmektedir. Sıvı emilimindeki küçük miktardaki bir azalma, dışkıının sıvı içeriğinde artışa yol açıp, diyare ile sonuçlanmaktadır. Karbonhidrat ve protein sindiriminin son basamağı, gıdaların ve sıvıların absorpsiyonu, villus ucundaki epitelyal hücrelerin luminal yüzeylerinde gerçekleşmektedir. Enterokolitislerde görülen villus hasarı, epitel yüzeyinde azalma, sindirim ve absorpsiyon kapasitesinin önemli derecede azalmasına neden olmaktadır.¹ Enterokolitislerde, bağırsak hasarının lokalizasyonunun belirlenmesi, etiyolojik ve destekleyici tedavinin yanında spesifik tedaviye yol gösterici olabilmektedir. Ancak çoğu zaman invaziv histopatolojik yöntemler gerektirmesi nedeniyle pratik bulunmamaktadır. İntestinal trefoil faktör (TFF), intestinal alkalın fosfatase [intestinal alkaline phosphatase (IAP)] ve klaudinler gibi doğal olarak sentezlenen proteinler, bağırsaklar üzerinde koruyucu etkiye sahip olmakla birlikte çeşitli bağırsak hastalıklarının seyri esnasında salınım miktarları değişiklik göstermektedir.²

Bağırsak hasarının belirlenmesinde, son yıllarda noninvaziv bir metot olan bağırsak ile ilişkili bu proteinlerin biyobelirteç olarak kullanılabilceği ortaya konulmaya başlamıştır.³⁻⁶

ENTEROKOLİTİS İLE SEYREDEN HASTALIKLAR

İnce bağırsakların yangısı olan enteritis ve kolonun yangısı olan kolitisi içeren sindirim kanalının yangısı olan enterokolitis, çeşitli nedenlerle ortaya çıkabilmektedir. Enterokolitise yaygın olarak sebep olan bakteriyel etkenler *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *Shigella*; viral etkenler *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Bredavirus*, *Togavirus*; protozoal etkenler ise *Eimeria*, *Cryptosporidium* ve *Giardia* sayılabilir.^{1,7} Bunun yanı sıra kompleks bir

etiyojolojiye sahip olan insan, kedi ve köpeklerde sıklıkla karşılaşılabilen yangısal bağırsak hastalığı [inflammatory bowel disease (IBD)] ve neonatal nekrotizan enterokolitisler (NEK), şiddetli bağırsak hasarına sebep olmaktadır. Son yıllarda bağırsaklarda gelişen hasarın ortaya konulması ve hastalıkların patogenezinin aydınlatılması, tedavideki başarının izlenmesi noktasında bu hastalıklar, bağırsak ile ilişkili biyobelirteç çalışmalarına araştırma konusu olmuştur.^{6,8-11}

BAĞIRSAKLA İLİŞKİLİ BİYOBELİRTEÇLER

YAĞ ASİDİ BAĞLAYICI PROTEİNLER

Hücrelerde yağ asidi trafiği, hücresel fonksiyonun birçok yönünü etkileyen karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Yağ asitleri, hem bir enerji kaynağı olarak hem de metabolik regülasyon için sinyal işlevi görürler. Gen ekspresyonunu, büyümesini ve hayatta kalma yollarını, yangısal ve metabolik tepkileri modüle etmek için enzimatik ve transkripsiyonel ağlar aracılığıyla hareket ederler.^{12,13} Ayrıca yağ asitleri ve özellikle linoleik ve araşidonik asitler, pro-ve antiinflamatuvar mediyatörler olarak işlev görebilen, eikozanoidler adı verilen çeşitli ve büyük biyoaktif lipid mediyatörlerine metabolize edilebilirler. Yağ asidi bağlayıcı proteinler [fatty acid-binding proteins (FABPs)], doymuş ve doymamış uzun zincirli yağ asitleri, eikozanoidler ve diğer lipidler gibi hidrofobik ligandlara geri dönüşümlü şekilde bağlanan, yüksek afiniteye sahip olan büyük oranda 14-15 kDa ağırlığındaki proteinlerdir. İlk keşfedildikleri 1972 yılından bu yana 9 farklı FABP tanımlanmıştır.¹⁴ Karaciğer (L-), intestinal (I-), kalp (H-), adiposit (A-), epidermal (E-), ileal (IL-), beyin (B-), miyelin (M-) ve testis (T-); FABP ailesini oluşturur. Bununla birlikte FABP'lerin, çoğu dokuda birkaç farklı izoformunun bir arada bulunması ve tam olarak bir doku veya hücre tipi için spesifik olmaması sebebiyle bu sınıflandırmanın biraz yanıltıcı olduğuna dikkat edilmelidir.³ Doku spesifik ekspresyon ve çeşitli FABP'lerin fonksiyonunun düzenlenmesi çok iyi anlaşılammıştır. FABP'lerin ekspresyonunun, o dokunun lipid metabolizması kapasitesini yansıttığı düşünülmektedir. Birçok hücre tipinde yağ asidi üretimindeki artış, FABP

ekspresyonunda belirgin bir artışa sebep olmaktadır.¹⁵ İnce bağırsakta 3 çeşit FABP tipi bulunur. Bunlar L-FABP, I-FABP ve IL-FABP'dir. L-FABP, çoğunlukla proksimal segmentlerde eksprese edilirken, I-FABP ve IL-FABP ince bağırsağın distal bölgesi ile sınırlıdır. Bu proteinlerin lipid emilimine bireysel katkısını değerlendirmek ve buldukları bölgelerdeki mekanizmaları belirlemek zordur.¹⁶ Bağırsak mukoza hasarını göstermede klinik önemi olan proteinlerden I-FABP, sadece enterositler tarafından sentezlenirken; L-FABP, enterositlerin yanında hepatositlerden de salınmaktadır.³ Yapılan bir çalışmada mide, ince bağırsak ve kalın bağırsaklardan salınan I-FABP'lerin, akut iskemik bağırsak hasarı tanımlanmasında kullanılabilir bir biyobelirteç olduğu bulunmuştur.¹⁷ Bir başka çalışmada, bağırsak ile ilişkili hastalıklarda I-FABP ve L-FABP plazma seviyelerinin birlikte artış gösterdiği, hepatoselüler hasar bulunan hastalarda ise sadece L-FABP'nin arttığı belirlenmiştir.¹⁸ NEK'li bebeklerde yapılan çalışmalarda, I-FABP'nin, L-FABP ve TFF3 gibi bağırsak bariyer proteinlerinin mukoza hasarına bağlı olarak fazla miktarlarda kan dolaşımına salındığı belirlenmiştir.^{8,9} Ayrıca bu biyobelirteçlerin, plazmanın yanında idrardaki konsantrasyonlarının da tanıda kullanılabilir olduğu, bu 3 biyobelirteç kombinasyonunun birlikte değerlendirilmesinin, NEK'in belirlenmesinde tutarlılığı artırdığı ortaya konulmuştur.¹⁹ Atresia coli olan buzağılarda, serum I-FABP ve L-FABP kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir.⁸ Respiratuar distress sendromu (RDS) olan ve olmayan prematüre buzağılarda, I-FABP ve L-FABP seviyesi her 2 grupta da kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.⁶ Farklı enfeksiyöz etkenlerin neden olduğu neonatal diyareli buzağılarda yapılan çalışmada, I-FABP ve L-FABP'nin bağırsak epitel hasarının belirlenmesinde kullanılabilir biyobelirteçler olduğu ortaya konulmuştur.⁴

TREFOİL FAKTÖR

TFF, çoğunlukla bağırsakta mukus hücreleri tarafından salgılanan polipeptidlerdir. Memelilerde 3 tip olarak bildirilmiştir. Gastrik peptidlerden olan TFF1 (önceki ismi ile pS2), yüzey ve mukus hücreleri tarafından salınırken, TFF2 (önceki ismi ile

spazmolitik polipeptid) Brunner'in proksimal duodenum bezleri gibi glandüler mukus hücreleri tarafından salınır. TFF3 (önceki ismi ile intestinal TFF), ince bağırsaklar ve kolondaki goblet hücrelerinden salınmaktadır.²⁰

TFF'nin önemli fonksiyonları, yara onarımı sırasında normal epitelyal hücrelerin aşırı üremesinin engellenmesi, mukus stabilizasyonu ve stimülasyonudur. Bununla beraber trefoil peptidlerin sitoprotektif olduğu ve gastrointestinal hasarlara karşı iyileşmeyi desteklediği bilinmektedir. Yara iyileşme deneylerinde TFF peptidleri, bağırsak ve solunum epitel hücrelerinde hücre göçünü indüklemektedir.²¹ TFF2'nin luminal uygulamasının, ratlarda IBD'nin iyileşmesinde ve yangının azaltılmasında etkili olduğu bildirilmiştir.²² İmmatür ratlarda TFF3'ün yetersiz salınımının, NEK gelişiminde rol oynadığı ortaya konmuştur.²³ Başka bir çalışmada, anti-TFF3 antikoru verdikten sonra hipoksi ile intestinal epitel hücrelerde hasar oluştuğu, rekombinant TFF3 verilmesi ile vasküler endotelial hücrelerin hipoksi sonucu oluşan bariyer yıkımından kısmen korunduğu bildirilmiştir.²⁴ NEK'li hastalarda, intestinal mukozal hasar sonucu oluşan yangısal cevap sonrası TFF3 konsantrasyonunun L-FABP, I-FABP ile birlikte artış gösterdiği bildirilmiştir.⁸

Ülseratif kolitis ve Crohn hastalığı gibi bağırsak hasarı oluşturan hastalıkların seyri esnasında ince ve kalın bağırsaklarda mukozal bütünlük bozulmakta, bağırsaklarda ve midede metaplazik süreç başlamaktadır. Bu süreçte TFF peptidlerinin seviyesi, hasarlı doku ve çevresinde fazla miktarda artmaktadır.²¹ Atresia colili buzağılarda yapılan bir çalışmada, TFF3 düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.⁵ Yapılan başka bir çalışmada, prematüre buzağılarda TFF3 seviyesinin RDS olan grupta, RDS olmayan gruba göre daha yüksek olduğu, her 2 deneme grubunda da kontrol grubuna göre TFF3 seviyesinin yüksek olduğu bildirilmiştir.⁶ Neonatal ishelli buzağılarda, TFF3'ün kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunduğu bildirilmiştir.⁴

İNTESTİNAL ALKALİN FOSFATAZ

AP, çeşitli moleküllerdeki fosfatın hidrolitik olarak uzaklaştırılmasını katalize ettiği bilinen bir

metalloenzim ailesidir. Memeli AP ailesi, kemik, karaciğer, böbrek, bağırsak, plasental ve germ hücre tipi olarak eksprese edilen dokulara özgü AP'ler olarak sınıflandırılabilen çeşitli izoenzimlerden oluşur.²⁵ Enterositlerin fırça kenarlarının apikal mikrovillusunda bulunan ve hem bağırsak lümenine hem de kan dolaşımına salgılanan IAP, bağırsak mikrobiyota homeostazını korumak için gerekli olan mukozal savunma faktörlerinden biri olarak düşünülmekte ve bağırsaklarda kommensal bakteri üremesine katkı sağladığı bildirilmektedir.²⁶ IAP, gastrointestinal kanalda, duodenumda ve jejunumda yüksek miktarda, ileum ve kolonda çok daha az oranda eksprese edilmektedir.²⁷ IAP'nin gastrointestinal sistemdeki başlıca fonksiyonları arasında duodenum yüzeyinde bikarbonat sekresyonu ve pH'nin düzenlenmesi, intestinal uzun zincirli yağ asitlerinin absorpsiyonunun düzenlenmesi, lokal intestinal ve sistemik antiinflamatuvar etkisi olan endotoksin lipopolisakkaridlerin (LPS) detoksifikasyonu yer alır.²⁸ Ayrıca IAP'nin nükleer faktör kappa B aktivasyonunu ve nükleusa translokasyonunu inhibe ettiği ve böylece proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu önlediği gösterilmiştir.²⁹

LPS, gram-negatif bakterilerin dış zarının ana bileşenidir ve bu bakteriler, memeli bağırsak mikrobiyotasının önemli bir bölümünü oluşturur.²⁵ LPS, LPS-bağlanma proteinine (LBP) bağlanabilir ve LBP-LPS kompleksi, membrana bağlı veya çözünür, CD14'e aktarılır, böylelikle hücre membranları üzerindeki Toll-like reseptörler (TLR) ile etkileşimlere imkân verir. LPS aktivasyonu ile TLR4 proinflamatuvar sitokinler olan tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, ve IL-12 salınımına yol açan sinyal sürecini başlatır.³⁰ Kan dolaşımındaki LPS artışından kaynaklanan endotoksemi, eğer immün cevap yeterli ise septik şoka yol açabilir. Düşük immün cevap, kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkili hafif kronik inflamasyon cevabı uyarabilir.³¹ LPS'deki toksik özelliği olan lipid A, biyolojik aktivitesi için gerekli olan 2 fosfat grubunu içerir.³² IAP, bağırsak bakterilerinin mukozal toleransının desteklenmesinde lipid A fosfatının, defosforilasyon ile uzaklaştırılması yönüyle hayati rol oynar.³³⁻³⁵

IAP ile LPS etkileşimi, ekzojen IAP uygulamasının LPS aracılı toksisiteyi azalttığı gerçeği ile desteklenmiştir.³⁶ IAP salınımı, beslenme ile de ilişkili bulunmuştur. Enteral beslenen farelerde yapılan bir çalışmada, 2 gün aç bırakılan farelerde IAP ekspresyonunun ve LPS defosforilasyon aktivitesinin anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiş, IAP salınımindaki bu azalmanın yoğun bakımdaki hastalarda oluşan bağırsak mukoza savunmasındaki bozulmaya sebep olabileceği ileri sürülmüştür.³⁷

Çeşitli çalışmalarda, deneysel olarak oluşturulan kolitiste IAP'nin rolü incelenmiş, işemi kaynaklı bağırsak bariyer disfonksiyonu olan IAP-knockout farelerde intestinal inflamasyonun artmasının, bu tip hayvanlarda normal farelere kıyasla bağırsak bariyeri yoluyla bakteriyel translokasyonun daha fazla olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir.³⁷ Başka bir çalışmada, farelerde oral yolla uygulanan aside dirençli IAP tabletlerin dekstran sodyum sülfat-(DSS-) ile indüklenen deneysel kolit üzerindeki etkilerini incelemişler ve IAP tedavisinin, DSS kaynaklı inflamasyonu önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuşlardır.³⁴ Crohn hastalığı ve ülseratif kolitis bulunan bağırsak hasarına sahip çocuklarda, IAP protein seviyesi kontrol grubundaki çocuklara oranla anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Bu durum, IBD gibi bağırsak hasarı oluşan durumlarda IAP'nin bağırsak hasarı oluşumunda rolü olduğunu işaret etmektedir.¹¹ Atresia coli bulunan buzağılarda, serum IAP seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur.⁵ Neonatal enteritli buzağılarda yapılan çalışmada, IAP serum konsantrasyonunun kontrol grubuna göre yüksek olduğu tespit edilmiştir.⁴ Ekzojen IAP'nin çeşitli hastalıklarda bağırsak ve sistemik inflamasyona karşı koruyucu etki gösterdiği belirlenmiş, intrarektal IAP uygulamasının farklı kolit modellerinde bakteriyel translokasyonu önlediğini bildirmişlerdir.²⁷ NEK durumlarında, enteral IAP uygulamasının koruyucu rol oynadığı bildirilmiştir.³⁵ İnsan ve hayvanlarda yapılan son çalışmalarda ise sepsisli hastalara, parenteral IAP uygulamasının organ hasarını azalttığı bildirilmiştir.³⁴⁻³⁶ IAP salınımının azalması, bağırsak geçirgenliğinin artmasına zemin hazırlayarak, enterit oluşum riskini arttırabilmektedir. İnsan rekombinant IAP formunun geliştirilmesi, IAP'nin biyobelirteç olarak kullanımı

dışında terapötik bir potansiyelinin de olabileceğini göstermektedir.

KLAUDİNLER

İntestinal epitel, iç ve dış çevre arasındaki en büyük ve en önemli bariyeri oluşturmaktadır. Bu bariyer, komşu hücreleri bir araya getiren ve sitoskeletal desteği sağlayan, kaderinler, klaudinler, okludin ve bağlantı adezyon moleküllü proteinleri de dâhil olmak üzere birleşme kavşağı ve sıkı bağlantı yerlerin varlığı ile korunmaktadır.³⁸ Klaudinler, 4 hidrofobik transmembran alanına, 2 hücre dışı döngüye ve N ve C terminal sitoplazmik bölgelere sahip 20-27 kDa'lık integral membran proteinlerdir.³⁹ Hücre dışı döngüler, homofilik ve/veya heterofilik, sıkı bağlantı yeri, protein etkileşimleri ve iyon seçici kanalların oluşumu için kritik öneme sahiptir.⁴⁰ Bağırsak sıkı bağlantı yerleri geçirgenlik açısından oldukça önemli olup, farklı fizyolojik ve patolojik koşullar altında bu durum değişmektedir.^{38,41}

Klaudin-2, ince bağırsağın hem villus hem de kript hücrelerinde tespit edilmekte, ancak kolonda kript hücreleri ile sınırlıdır. Klaudin-3, -4, -7 ve -8, baskın olarak gastrointestinal kanalın distal kısımlarında (kolon, sigmoid ve rektum), klaudin-12 ise tüm gastrointestinal kanal boyunca yaygın bir şekilde salınım göstermektedir. Klaudin-4 ve -7, hem hücre yüzeyinin hem de "Tight junction"ların lateral membranında tespit edilir.⁴²

Klaudin ekspresyonu postnatal gelişim sırasında değişmektedir. Gelişim sırasında bağırsak bariyer fonksiyonu, bağırsak florasının oluşumuna bağlı olarak yaşamın ilk 3 haftasında olgunlaşır. Kommensal bakteriyel kolonizasyonun, farelerde klaudin-3 ekspresyonunu uyarak intestinal bariyer fonksiyon olgunlaşmasını indüklediği saptanmıştır.⁴³ Farelerde en yüksek epitel direnç kolonda iken, bunu duodenum, jejunum ve ileum izlemektedir.⁴⁴ Köpeklerde, duodenumda klaudin-3 ve -5'in yüksek miktarda ekspresyonu ile daha zayıf olmakla beraber klaudin-7 ekspresyonu bulunmaktadır. Kolonda, klaudin-2 ve -3 yüksek miktarda ekspre edilirken, klaudin-5 ve -7 proteinlerinin zayıf ekspresyonu mevcuttur. İmmünfloresan mikroskopu ile yapılan görüntüleme, duodenum ve kolonun en apikal bölgesinde klaudin-3 ve -5 ve bazolateral bölgede

klaudin-7 için boyanma özelliği görüldüğü gösterilmiştir.⁴⁵

"Klaudin-deficient" farelerde yapılan çalışmalarda, bariyer fonksiyonunun düzenlenmesinde klaudinin önemli rolü olduğunu gösteren destekleyici veriler bulunmaktadır.⁴⁶ Klaudin-7, fare bağırsaklarında bazolateral yüzeyde klaudin-1 ve integrin $\alpha 2$ ile bir protein kompleksi oluşturur. Farelerde klaudin-7'nin eksikliği (Cl 7 knockout), farelerin ölümüne yol açan mukozal ülserasyonlar, epitelyal hücre sıyrılma ve yangı içeren IBD'yi andıran şiddetli intestinal hasarlar oluşturmaktadır.⁴⁶ Klaudin-15 knockout farelerinin normal olarak doğduğu ve büyümüş olduğu, ancak ince bağırsağın üst bölümünün, uzunluk ve çap olarak normalden yaklaşık 2 kat daha büyük olduğu tespit edilmiştir.⁴⁷ Yapılan başka bir çalışmada, klaudin-2 ve -15'in birlikte eksikliğinin ise sodyumun paraselüler akışını azaltması, glukoz, amino asit ve yağların emiliminin azalması sonucu farelerde ölüme yol açtığı görülmüştür.⁴⁸ Klaudinlerin fonksiyonlarının, henüz geçtiğimiz yıllarda keşfedilmeye başlanmış olması ve yakın gelecekte klaudin spesifik genlerin silinmesiyle oluşan modellerle beraber yeni özelliklerin keşfedilebileceği düşünülmektedir.²

IBD'de epitelyal bariyer fonksiyonu bozulur, bu da sıvı kaçıışı ile diyareye sebep olan inflamatuvar mekanizmaları tetiklemektedir. Çalışmalar, IBD hastalarında klaudin-1 protein ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını ve ekspresyonunun IBD semptomlarının süresi ile korele olduğunu göstermektedir.⁴⁹ Yapılan bir çalışmada, IBD'de klaudin-3 ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir.⁵⁰ Neonatal enteritli buzağılarda yapılan çalışmada, klaudin-3'ün kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük olduğu bildirilmiştir.⁴ Prematüre buzağılarda yapılan bir çalışmada, klaudin-3 seviyesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu bildirilmiştir.⁶ Yapılan bir çalışmada, klaudin-1, -3, -4 ve -5 ekspresyonunun her birinin akut kolitte azaldığı bildirilmiştir.⁵¹ İdrarda bulunan klaudin-3'ün, intestinal "tight junction" kaybı için erken dönemde noninvaziv bir belirteç olarak kullanılabilirliği ortaya koyulmuştur.¹⁹ Gluten enteropatili hastalarda, bağırsaklarda oluşan permeabilite artışıyla birlikte klaudin-2 ve -3

ekspresyonunda anlamlı artış belirlenmiştir.⁵² İdrar klaudin-3 ve I-FABP seviyelerinin, IBD ve bağırsak duvarı bütünlüğünün bozulması durumlarını değerlendirmede birlikte kullanılabilceği bildirilmiştir.¹⁹

BAĞIRSAK DÜZ KAS AKTİNİ

Bağırsak düz kas aktini (Actin, gamma-enteric smooth muscle), insanlarda ACTG2 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Aktinler, çeşitli hücrelerde motilite tiplerinde ve hücre iskeletinin onarımında yer alan proteinlerdir. Omurgalılarda alfa, beta ve gama grubu olmak üzere 3 ana aktin izoformu tanımlanmıştır. Alfa aktinler, kas dokularında bulunur ve kontraktıl aparatının önemli bir bileşenidir. Beta ve gama aktinleri, hücre tiplerinin çoğunda hücre iskeleti bileşenleri olarak ve hücre içinde hareketliliğin araçları olarak birlikte bulunurlar.⁵³

Erken teşhis ve tedavinin önemli olduğu yüksek mortaliteye sahip akut mezenterik işemi ve NEK gibi hastalıkların belirlenmesinde, yüksek sensitiviteye ve spesifiteye sahip plazma ve üriner belirteçlerin kullanımı hayat kurtarıcıdır. Kullanılan belirteçlerin birçoğu, enterositlerden orijin almakta ve bu biyobelirteçlerdeki artış, kas katmanına kadar uzanan kısımdan ziyade sadece enterositler hakkında bilgi vermektedir. Ratlarda ve neonatal bebekler üzerinde yapılan bir çalışmada, düz kas aktini proteininin, enterokolitli hastalarda şiddetli bağırsak hasarından sonra plazmada önemli düzeyde arttığı ve intestinal kas hasarının saptanmasında yararlı bir belirteç olabileceği bildirilmiştir.⁵⁴ *E. coli* ile enfekte enteritli buzağılarda benzer şekilde serum ACTG2 seviyesinin, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu bildirilmiştir.⁴ RDS'li prematüre buzağılarda ACTG2 seviyesinin, hem kontrol grubuna hem de RDS olmayan gruba göre yüksek olduğu tespit edilmiştir ve bu artışın nedenini RDS sonucu bağırsaklarda oluşan hipoksik işemiye bağlamışlardır.⁶

PLATELET AKTİVE EDİCİ FAKTÖR

Platelet aktive edici faktör (PAF), PAF-acether veya AGEPC (asetil-glisiril-eter-fosforilkolin) olarak da bilinen trombosit aktive edici faktör, birçok lökosit fonksiyonunun, trombosit agregasyonunun ve

degranülasyonun, inflamasyonun ve anafilaksinin güçlü bir fosfolipid aktivatör ve mediyatörüdür. Ayrıca vasküler geçirgenlik, oksidatif patlama, lökositlerin kemotaksisi ve fagositlerdeki araşidonik asit metabolizmasının artırılmasında rol oynamaktadır.⁵⁵

PAF, özellikle trombositler, endotelial hücreler ve nötrofiller, monositler ve makrofajlar gibi konakçı savunmasına katılan çeşitli hücreler tarafından üretilir. PAF, bu hücreler tarafından düşük miktarda sürekli olarak üretilir. Özel uyaranların sonucu olarak ise inflamatuvar hücreler tarafından daha büyük miktarlarda üretilir. Yüksek PAF seviyeleri, alerjik reaksiyonlar, sepsis, miyokard enfarktüsü, kolit, kalın bağırsak iltihabı, multipl skleroz gibi çeşitli hastalık durumları ile ilişkilidir.⁵⁶

TNF- α , tümör hücrelerinin kaşeksi, şok ve nekrozuna neden olan mononükleer fagositler tarafından üretilen bir monokindir. Endojen TNF- α üretimi için en güçlü uyaranlardan biri LPS'dir. TNF- α , fosfolipid mediyatörü PAF üretimi vasıtasıyla bağırsak nekrozuna aracılık etmektedir. TNF- α ile PAF'ın bağırsak hasarı oluşumunda sinerjik etkili olduğu ve NEK'li ratlarda plazma PAF seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir.⁵⁷ İskemi-reperfüzyon ile ilişkili intestinal hasarda rol oynayan pek çok mediyatörle beraber PAF ve serbest oksijen radikallerinin, bu süreçte önemli bir etkisinin olduğu bilinmektedir.⁵⁸

Farelerde yapılan çalışmalarda, aortaya verilen PAF sonrası hipotansiyon, nötropeni, hemokonsantrasyon ve ince bağırsak nekrozu geliştiği gözlenmiştir.⁵⁹ Benzer çalışmalarda, farelere PAF antagonisti verildiğinde intestinal nekrozun azaldığı gözlenmiştir.⁵⁶ NEK'li hastalarda plazma PAF düzeyinin önemli şekilde arttığı, NEK şiddeti arttıkça PAF düzeyinin daha da yükseldiği belirtilmiştir.⁶⁰ Yenidoğanların beslenmesi ile birlikte gelişen NEK durumlarında, plazma ve dışkıda PAF'ın düzeyinin arttığı ve NEK'in oluşumunda PAF'ın öncül olarak görev yapabileceği bildirilmiştir.^{56,60} Sepsis şüpheli ve enteritisli buzağılarda, PAF seviyesi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.^{4,61}

İNTERLÖKİN 8

IL-8, kemokin ailesinin bir üyesidir. Nötrofiller için önemli bir kemotaktik ve aktive edici peptiddir.⁶² Nötrofilleri harekete geçirir, direkt migrasyonu, yüzey adezyon moleküllerinin ekspresyonunu, enzimlerin salınmasını ve reaktif oksijen metabolitlerinin üretimini başlatmaktadır. IL'lerin, hasarlı bağırsak epitel hücrelerinden ve aktif hâle gelmiş nötrofillerden salınarak, NEK'in patogeneğinde rol oynadığı belirlenmiştir. Bu sitokinlerden bazıları, IL-1, -6, -8 ve -12 olarak tanımlanmıştır. Bu sitokinler, lokal ve sistemik olarak artarlar. Özellikle doku ve bağırsak mukozaya hasarlarında önemli düzeyde artarlar. IL-8, kuvvetli kemoatraktif mediyatör olup, nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonuna neden olur.^{57,63} IL8, fagositler, endotelial hücreler, fibroblastlar ve çeşitli epitelyal hücreler gibi farklı hücre tipleri tarafından üretilebilir. IL8 geninin ekspresyonu LPS, IL-1, TNF- α , forbol esterleri gibi hücre içi cAMP seviyesini artıran maddeler ile artmaktadır.⁶⁴ Crohn hastalığı ve ülseratif kolitisi hastalarda yapılan bir çalışmada, IL-8 konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir.⁶⁵ NEK'li insanlarda IL-8'in spesifik bir belirteç olabileceği ortaya konulmuştur.⁶⁶ Neonatal ishalleri buzağılarda yapılan bir çalışmada, IL-8 düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir.⁴

LEPTİN

Leptin, ghrelinin karşıtı görevi olan ve özellikle adipoz hücreleri tarafından sentezlenen 16 kDa ağırlığında bir proteindir, enerji metabolizmasının düzenlenmesinde etkilidir. Leptin hormonunun mukozal kütleyi artırdığı, ince bağırsak boyunu uzattığı ve aynı zamanda ince bağırsaklarda emilim fonksiyonlarını olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir.⁶⁷ Bu gibi özelliklerinden dolayı leptinin, ince bağırsak için yeni bir büyüme faktörü olabileceği belirtilmiştir. Kedilerde bağırsak motilitesi üzerine yapılan bir çalışmada, leptinin kolesistokininin varlığında bağırsak kontraksiyonlarını artırdığı gösterilmiştir.⁶⁸ Aynı zamanda leptin büyüme

hormon düzeyini artırarak, bağırsak mukozası üzerindeki bariyer koruyucu etkisine neden olduğu belirlenmiştir.⁶⁹ İrritabl bağırsak sendromlu ishalleri insanlarda, mukozal leptin düzeyinin önemli oranda arttığı bildirilmiştir.⁷⁰ Ok ve ark. tarafından yapılan çalışmada, enteritli buzağılarda leptin düzeyinin önemli derecede arttığı bildirilmiş, bu artışın muhtemel sebebinin, leptinin insanlarda olduğu gibi büyüme hormon salınımını sağlayarak hasara uğrayan bağırsak bariyerinin onarımında ve mukozal savunmasında üstlenmiş olduğu görevle ilgili olabileceğini ifade etmişlerdir.⁴

Yapılan çalışmalar ışığında, çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan enterokolitlerde, yukarıda sözü edilen biyobelirteçlerin teşhiste kullanılabileceği görülmektedir. Beşerî ve veteriner hekimlikte yapılan çalışmalar umut verici olmakla birlikte yeni çalışmalarla bağırsak biyobelirteçlerinin güvenilirliğinin ve pratik olarak kullanılabilirliğinin artırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Murat Kaan Durgut, Mahmut Ok; **Tasarım:** Murat Kaan Durgut, Mahmut Ok; **Denetleme/Danışmanlık:** Murat Kaan Durgut, Mahmut Ok; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Murat Kaan Durgut, Mahmut Ok; **Analiz ve/veya Yorum:** Murat Kaan Durgut, Mahmut Ok; **Kaynak Taraması:** Murat Kaan Durgut, Mahmut Ok; **Makalenin Yazımı:** Murat Kaan Durgut; **Eleştirel İnceleme:** Mahmut Ok.

KAYNAKLAR

- Turgut K, Ok M. Kedi ve Köpek Gastroenterolojisi. 1. Baskı. Konya: Bahçivanlar Basımevi; 2001. p.283-421.
- Lu Z, Ding L, Lu Q, Chen YH. Claudins in intestines: Distribution and functional significance in health and diseases. *Tissue Barriers*. 2013;1(3):e24978. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Furuhashi M, Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7(6):489-503. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Ok M, Yildiz R, Hatipoğlu F, Baspınar N, Ider M, Üney K, et al. Use of intestine-related biomarkers for detecting intestinal epithelial damage in neonatal calves with diarrhea. *Am J Vet Res*. 2020;81(2):139-46. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Yildiz R, Ok M, Ider M, Aydogdu U, Naseri A, Parlak K, et al. Evaluation of intestinal damage biomarkers in calves with atresia coli. *J Vet Res*. 2018;62(3):379-84. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Yildiz R, Ok M, Ider M, Akar A, Naseri A, Koral E. The changes in biomarkers for necrotizing enterocolitis in premature calves with respiratory distress syndrome. *Vet Med (Praha)*. 2019;64(10):440-7. [[Crossref](#)]
- Ettinger SJ, Edward CF, Cote E. Textbook of Veterinary Internal Medicine. In: Hall JE, Day MJ. *Small Intestine Diseases*. 8th ed. Missouri: Elsevier; 2018. p.3643-820.
- Ng EW, Poon TC, Lam HS, Cheung HM, Ma TP, Chan KY, et al. Gut-associated biomarkers L-FABP, I-FABP, and TFF3 and LIT score for diagnosis of surgical necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Ann Surg*. 2013;258(6):1111-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Arisanti D, Wibowo S, Soemarno S. Calprotectin and intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) level in preterm neonates with necrotizing enterocolitis. *Res J Biol Sci*. 2019;6(1):1-10. [[Crossref](#)]
- Thuijls G, Derikx JP, van Wijck K, Zimmermann LJ, Degraeuwe PL, Mulder TL, et al. Non-invasive markers for early diagnosis and determination of the severity of necrotizing enterocolitis. *Ann Surg*. 2010;251(6):1174-80. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Molnár K, Vannay A, Szebeni B, Bánki NF, Sziksz E, Cseh A, et al. Intestinal alkaline phosphatase in the colonic mucosa of children with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2012;18(25):3254-9. [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799-806. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Ockner RK, Manning JA, Poppenhausen RB, Ho WK. A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa, liver, myocardium, and other tissues. *Science*. 1972;177(4043):56-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Veerkamp JH, van Moerkerk HT. Fatty acid-binding protein and its relation to fatty acid oxidation. In: Glatz JFC, van der Vusse GJ, eds. *Cellular Fatty Acid-Binding Proteins II*. 1st ed. Boston: Springer; 1993. p.101-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Tuğlu B, Uysal S. Yağ asidi bağlayıcı proteinler [Fatty acid binding proteins]. *Türk J Biochem*. 2011;9(1):31-8. [[Link](#)]
- Gollin G, Marks C, Marks WH. Intestinal fatty acid binding protein in serum and urine reflects early ischemic injury to the small bowel. *Surgery*. 1993;113(5):545-51. [[PubMed](#)]
- Pelsers MM, Namiot Z, Kisielewski W, Namiot A, Januszkiewicz M, Hermens WT, et al. Intestinal-type and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility. *Clin Biochem*. 2003;36(7):529-35. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Thuijls G, Derikx JP, de Haan JJ, Grootjans J, de Bruine A, Masclee AA, et al. Urine-based detection of intestinal tight junction loss. *J Clin Gastroenterol*. 2010;44(1):e14-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Thim L. Trefoil peptides: a new family of gastrointestinal molecules. *Digestion*. 1994;55(6):353-60. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Emami S, Rodrigues S, Rodrigue CM, Le Floch N, Rivat C, Attoub S, et al. Trefoil factor family (TFF) peptides and cancer progression. *Peptides*. 2004;25(5):885-98. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Tran CP, Cook GA, Yeomans ND, Thim L, Giraud AS. Trefoil peptide TFF2 (spasmyolytic polypeptide) potently accelerates healing and reduces inflammation in a rat model of colitis. *Gut*. 1999;44(5):636-42. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Lin J, Holzman IR, Jiang P, Babyatsky MW. Expression of intestinal trefoil factor in developing rat intestine. *Biol Neonate*. 1999;76(2):92-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Furuta GT, Turner JR, Taylor CT, Hershberg RM, Comerford K, Narravula S, et al. Hypoxia-inducible factor 1-dependent induction of intestinal trefoil factor protects barrier function during hypoxia. *J Exp Med*. 2001;193(9):1027-34. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Yang Y, Wandler AM, Postlethwait JH, Guillemin K. Dynamic evolution of the LPS-detoxifying enzyme intestinal alkaline phosphatase in zebrafish and other vertebrates. *Front Immunol*. 2012;3:314. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Malo MS, Moaven O, Muhammad N, Biswas B, Alam SN, Economopoulos KP, et al. Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014;306(10):G826-38. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Martínez-Moya P, Ortega-González M, González R, Anzola A, Ocón B, Hernández-Chirlaque C, et al. Exogenous alkaline phosphatase treatment complements endogenous enzyme protection in colonic inflammation and reduces bacterial translocation in rats. *Pharmacol Res*. 2012;66(2):144-53. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Lallès JP. Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet. *Nutr Rev*. 2010;68(6):323-32. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Fawley J, Gourlay DM. Intestinal alkaline phosphatase: a summary of its role in clinical disease. *J Surg Res*. 2016;202(1):225-34. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Janssens S, Beyaert R. Role of Toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin Microbiol Rev*. 2003;16(4):637-46. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Estaki M, DeCoffe D, Gibson DL. Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. *World J Gastroenterol*. 2014;20(42):15650-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Rietschel ET, Kirikae T, Schade FU, Mamat U, Schmidt G, Loppnow H, et al. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *FASEB J*. 1994;8(2):217-25. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Bentala H, Verweij WR, Huizinga-Van der Vlag A, van Loenen-Weemaes AM, Meijer DK, Poelstra K. Removal of phosphate from lipid A as a strategy to detoxify lipopolysaccharide. *Shock*. 2002;18(6):561-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Tuin A, Poelstra K, de Jager-Krikken A, Bok L, Raaben W, Velders MP, et al. Role of alkaline phosphatase in colitis in man and rats. *Gut*. 2009;58(3):379-87. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- Riggle KM, Rentea RM, Welak SR, Pritchard KA Jr, Oldham KT, Gourlay DM. Intestinal alkaline phosphatase prevents the systemic inflammatory response associated with necrotizing enterocolitis. *J Surg Res*. 2013;180(1):21-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
- Koyama I, Matsunaga T, Harada T, Hokari S, Komoda T. Alkaline phosphatases reduce toxicity of lipopolysaccharides in vivo and in vitro through dephosphorylation. *Clin Biochem*. 2002;35(6):455-61. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]

37. Goldberg RF, Austen WG Jr, Zhang X, Munene G, Mostafa G, Biswas S, et al. Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(9):3551-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
38. Laukoetter MG, Bruewer M, Nusrat A. Regulation of the intestinal epithelial barrier by the apical junctional complex. *Curr Opin Gastroenterol*. 2006;22(2):85-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
39. Turksen K, Troy TC. Barriers built on claudins. *J Cell Sci*. 2004;117(Pt 12):2435-47. Erratum in: *J Cell Sci*. 2004;117(Pt 18):4341. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
40. Van Itallie CM, Anderson JM. Claudins and epithelial paracellular transport. *Annu Rev Physiol*. 2006;68:403-29. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
41. Lal-Nag M, Morin PJ. The claudins. *Genome Biol*. 2009;10(8):235. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
42. Lameris AL, Huybers S, Kaukinen K, Mäkelä TH, Bindels RJ, Hoenderop JG, et al. Expression profiling of claudins in the human gastrointestinal tract in health and during inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2013;48(1):58-69. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Patel RM, Myers LS, Kurundkar AR, Maheshwari A, Nusrat A, Lin PW. Probiotic bacteria induce maturation of intestinal claudin 3 expression and barrier function. *Am J Pathol*. 2012;180(2):626-35. Erratum in: *Am J Pathol*. 2012;180(3):1324. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
44. Karaki S, Kaji I, Otomo Y, Tazoe H, Kuwahara A. The tight junction component protein, claudin-4, is expressed by enteric neurons in the rat distal colon. *Neurosci Lett*. 2007;428(2-3):88-92. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Ohta H, Yamaguchi T, Rajapakshage BK, Murakami M, Sasaki N, Nakamura K, et al. Expression and subcellular localization of apical junction proteins in canine duodenal and colonic mucosa. *Am J Vet Res*. 2011;72(8):1046-51. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
46. Ding L, Lu Z, Foreman O, Tatum R, Lu Q, Renegar R, et al. Inflammation and disruption of the mucosal architecture in claudin-7-deficient mice. *Gastroenterology*. 2012;142(2):305-15. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
47. Tamura A, Kitano Y, Hata M, Katsuno T, Moriwaki K, Sasaki H, et al. Megaintestine in claudin-15-deficient mice. *Gastroenterology*. 2008;134(2):523-34. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
48. Tamura A, Hayashi H, Imasato M, Yamazaki Y, Hagiwara A, Wada M, et al. Loss of claudin-15, but not claudin-2, causes Na⁺ deficiency and glucose malabsorption in mouse small intestine. *Gastroenterology*. 2011;140(3):913-23. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
49. Ivanov AI, Nusrat A, Parkos CA. The epithelium in inflammatory bowel disease: potential role of endocytosis of junctional proteins in barrier disruption. *Novartis Found Symp*. 2004;263:115-24; discussion 124-32, 211-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
50. Zeissig S, Bürgel N, Günzel D, Richter J, Mankertz J, Wahnschaffe U, et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut*. 2007;56(1):61-72. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
51. Mennigen R, Nolte K, Rijcken E, Utech M, Loeffler B, Senninger N, et al. Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009;296(5):G1140-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
52. Szakál DN, Gyorffy H, Arató A, Cseh A, Molnár K, Papp M, et al. Mucosal expression of claudins 2, 3 and 4 in proximal and distal part of duodenum in children with coeliac disease. *Virchows Arch*. 2010;456(3):245-50. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
53. Lattanzi G, Cenni V, Marmioli S, Capanni C, Mattioli E, Merlini L, et al. Association of emerin with nuclear and cytoplasmic actin is regulated in differentiating myoblasts. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;303(3):764-70. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
54. Evennett N, Cerigioni E, Hall NJ, Pierro A, Eaton S. Smooth muscle actin as a novel serologic marker of severe intestinal damage in rat intestinal ischemia-reperfusion and human necrotizing enterocolitis. *J Surg Res*. 2014;191(2):323-30. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
55. Englberger W, Bitter-Suermann D, Hadding U. Influence of lysophospholipids and PAF on the oxidative burst of PMNL. *Int J Immunopharmacol*. 1987;9(3):275-82. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
56. MacKendrick W, Hill N, Hsueh W, Caplan M. Increase in plasma platelet-activating factor levels in enterally fed preterm infants. *Biol Neonate*. 1993;64(2-3):89-95. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
57. Caplan MS, Sun XM, Hsueh W, Hageman JR. Role of platelet activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr*. 1990;116(6):960-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
58. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am*. 1992;72(1):65-83. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
59. Caplan MS, Adler L, Kelly A, Hsueh W. Hypoxia increases stimulus-induced PAF production and release from human umbilical vein endothelial cells. *Biochim Biophys Acta*. 1992;1128(2-3):205-10. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
60. Martin CR, Walker WA. Intestinal immune defences and the inflammatory response in necrotizing enterocolitis. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006;11(5):369-77. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
61. Yıldız R, Beslek M, Beydilli Y, Özçelik MM, Biçici Ö. Evaluation of platelet activating factor in neonatal calves with sepsis. *Vet Hekim Der Derg*. 2018;89(2):66-73. [[Link](#)]
62. Baggolini M, Walz A, Kunkel SL. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest*. 1989;84(4):1045-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
63. Neu J. Neonatal necrotizing enterocolitis: an update. *Acta Paediatr Suppl*. 2005;94(449):100-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
64. Mukaida N, Shiroo M, Matsushima K. Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *J Immunol*. 1989;143(4):1366-71. [[PubMed](#)]
65. Daig R, Andus T, Aschenbrenner E, Falk W, Schölmerich J, Gross V. Increased interleukin 8 expression in the colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 1996;38(2):216-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
66. Benkoe TM, Mechtler TP, Weninger M, Pones M, Rebhandl W, Kasper DC. Serum levels of interleukin-8 and gut-associated biomarkers in diagnosing necrotizing enterocolitis in preterm infants. *J Pediatr Surg*. 2014;49(10):1446-51. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
67. Özkan KU, İnanç F, Kılınç M, Boran Ç. Leptin tedavisi yeni doğan rat incebarsağında hipoksi/reoksijenasyon hasarına karşı koruyucu mudur? [Effect of leptin treatment on small intestinal damage induced by hypoxia reoxygenation in newborn rats]. *Fırat Tıp Dergisi*. 2005;10(1):5-9. [[Link](#)]
68. Gaigé S, Alysique A, Bouvier M. Effects of leptin on cat intestinal motility. *J Physiol*. 2003;546(Pt 1):267-77. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
69. Saleri R, Giustina A, Tamanini C, Valle D, Burattin A, Wehrenberg WB, et al. Leptin stimulates growth hormone secretion via a direct pituitary effect combined with a decreased somatostatin tone in a median eminence-pituitary perfusion study. *Neuroendocrinology*. 2004;79(4):221-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
70. Liu DR, Xu XJ, Yao SK. Increased intestinal mucosal leptin levels in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol*. 2018;24(1):46-57. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]