

Sağlıklı Erkek Ratlarda Buğday Gluteni ve Mısır Gluteninin Bağırsak Histopatolojisi ve Otoimmün Parametrelerine Etkisi

Aybüke İmİK

Lisansüstü Eğitim, Öğretim ve Araştırma Enstitüsüne Beslenme ve
Diyetetik Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Doğu Akdeniz Üniversitesi
Ağustos 2021
Gazimağusa, Kuzey Kıbrıs

Lisansüstü Eğitim, Öğretim ve Araştırma Enstitüsü onayı

Prof. Dr. Ali Hakan Ulusoy
L.E.Ö.A. Enstitüsü Müdürü

Bu tezin Beslenme ve Diyetetik Yüksek Lisans derecesinin gerekleri doğrultusunda hazırlandığını onaylarım.

Doç. Dr. Ceren Gezer
Beslenme ve Diyetetik Bölüm Başkanı

Bu tezi okuyup değerlendirdiğimizi, tezin nitelik bakımından Beslenme ve Diyetetik Yüksek Lisans derecesinin gerekleri doğrultusunda hazırlandığını onaylarız.

Doç. Dr. Ceren Gezer
Tez Danışmanı

Değerlendirme Komitesi

1. Doç. Dr. Ceren Gezer

2. Yrd. Doç. Dr. Kamil Dağcılar

3. Yrd. Doç. Dr. Gözde Okburan

ÖZ

Bu çalışma mısır ve buğday gluteninin sağlıklı erkek ratlarda ince bağırsak histopatolojisi ve otoimmün parametreler üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde ratların bakım ve beslenmeleri, laboratuvar analizleri ise Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır. Araştırma da 3 grup olup; buğday, mısır ve soya grubu olarak belirlenmiştir. Her grupta 7 rat olacak şekilde toplamda 21 sağlıklı yeni doğmuş Sprague Dawley cinsi erkek rat ile yürütülmüştür. Araştırmada kullanılan ratlar bir günlük yaştan 30 günlük yaşa kadar anneleri ile birlikte, 30 günlük yaştan 60 günlük yaşa kadar annelerinden ayrı olmak üzere toplam 60 gün süreyle yer aldıkları deney grubuna göre soya, mısır veya buğday yemleri ile beslenmişlerdir. Böylelikle yavru ratlar denemenin ilk 30 günlük süresinde hem yemlere alışmaları sağlanmış, hem de aynı deneme yemi ile beslenen annelerinin sütünü almaları sağlanmıştır. Hayvanlar 60 günlük yaşa geldiklerinde anestezi altında sakrifiye edilerek, histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler için gerekli doku örnekleri alınmıştır.

Elde edilen bulgulara göre buğday gluteni verilen grubun incebağırsak villus uzunluklarının diğer gruplardan daha uzun olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Villus atrofsinin en fazla mısır gluteni verilen grupta olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). Lenfosit plazma nötrofil değeri en fazla soya grubunda belirlenmiştir. Kript hiperplazisi en fazla soya grubunda, en düşük buğday grubunda tespit edilmiştir ($p<0,05$). Grupların transglutaminaz ve IgA antikor seviyeleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Grupların gliadin antikor seviyesi en yüksek soya grubunda belirlenirken, en düşük buğday gluteni verilen grupta tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Sonuç olarak HLA-DQ2 ve DQ8 geni taşımayan sağlıklı ratların ince bağırsak dokularının histopatolojik ve otoimmun parametreleri üzerine buğday ve mısır gluteninin olumsuz etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Daha net sonuçlar alınabilmesi için ratların daha uzun dönemli beslenmesi ve hayvan çalışmaları glutenin bağırsak histopatoloji ve otoimmun parametreler üzerine etkilerinin gösterilmesi için önemli olmakla birlikte glutenin insanlardaki bu parametrelere olan etkisini araştırmaya yönelik çalışmaların yapılması önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Rat, Buğday Gluteni, Mısır Gluteni, Bağırsak Dokusu, Villus Uzunlukları, Histopatolojik Parametreler, Otoimmun Parametreler

ABSTRACT

This study was carried out to determine the effects of corn and wheat gluten on small intestine histopathology and autoimmune parameters in healthy male rats. The care and feeding of rats at Atatürk University Medical Experimental Application and Research Center, and laboratory analyzes were carried out in Atatürk University Veterinary Faculty, Pathology Department. There are 3 groups in the research; wheat, corn and soybean groups were determined. The study was conducted with 21 healthy newborn Sprague Dawley male rats, 7 rats in each group. The rats used in the study were fed with soy, corn or wheat feeds according to the experimental group they were in for a total of 60 days, from one day old to 30 days old with their mothers, from 30 days old to 60 days except for their mothers. Hereby, during the first 30 days of the experiment, the baby rats were ensure both accustomed to the feed and also provided the milk of their mothers fed the same trial feed. When the animals reached the age of 60 days, they were sacrificed under anesthesia and tissue samples were taken for histopathological and immunohistochemical examinations.

According to the estimation obtained, it was determined that the wheat gluten group was longer than the other groups in which small intestinal villi were used ($p<0.05$). It was determined that villus atrophy was most prevalent in the corn gluten group ($p>0.05$). Lymphocyte plasma neutrophil value was determined most in soy group. Crypt hyperplasia was detected the most in the soy group and the lowest in the wheat group ($p<0.05$). It was determined that the difference between the transglutaminase and IgA antibody levels of the groups was not statistically significant. While the gliadin antibody level of the groups was determined the highest in the soy group, it was determined the lowest in the wheat gluten group ($p<0.05$).

As a result, it was determined that wheat and corn gluten did not have a negative effect on the histopathological and autoimmune parameters of the small intestine tissues of healthy rats without HLA-DQ2 and DQ8 genes. In order to obtain clearer results, longer-term feeding of rats and animal studies are important to show the effects of gluten on intestinal histopathology and autoimmune parameters, but it is important to conduct studies to investigate the effect of gluten on these parameters in humans.

Keywords: Rat, Wheat Gluten, Corn Gluten, Intestinal Tissue, Villus Lengths, Histopathological Parameters, Autoimmune Parameters

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan, bana yol gösteren ve desteğini hiç esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. Ceren GEZER'e, laboratuvar çalışmalarının elde edilmesinde katkıları bulunan Prof. Dr. Kübra Asena Terim KAPAKİN'e, Arş. Gör. Safa İNANÇ, Arş. Gör. İsmail BOLAT ve Arş. Gör. Esra MANAVOĞLU KİRMAN'a, hayvanların temin edilemsi, bakım ve beslenmesinde gerekli kolaylığı gösteren Atatürk Üniversitesi Tıbbi ve Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) görevlilerine ve her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vii
KISALTMALAR	x
TABLO LİSTESİ.....	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
1 GİRİŞ	1
1.1 Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam.....	1
1.2 Amaç ve Hipotez.....	1
2 GENEL BİLGİLER	3
2.1 Gluten Yapısı ve Metabolizması.....	3
2.2 Gluten Metabolizması Bozukluğu ile İlişkili Hastalıklar	4
2.3 Çölyak Hastalığının Tanımı ve Etiyolojisi.....	5
2.4 Çölyak Hastalığı Patolojik Mekanizması.....	7
2.5 Çölyak Hastalığı Tipleri.....	7
2.6 Çölyak Hastalığında Tanı.....	8
2.6.1 Serolojik Testler	9
2.6.2 İnce Bağırsak Biyopsisi.....	9
2.6.3 Genetik Analizler	10
2.7 Çölyak Hastalığı Histopatolojisi	10
2.8 Çölyak Hastalığı Beslenme.....	12
3 MATERYAL VE METOT	14
3.1 Araştırma Genel Planı	14

3.1.1 Hayvanların Temin Edilmesi, Bakım, Beslenme	14
3.1.2 Araştırma Gruplarının Oluşturulması	14
3.1.3 Hayvanların Beslenmesinde Kullanılan Yem	15
3.2 Patolojik Analizler	16
3.2.1 Histopatolojik Analizleri	17
3.2.2 Villus Uzunluklarının Belirlenmesi	17
3.2.3 İmmunohistokimyasal Analizler	17
3.3 İstatistiksel Analizler	18
4 BULGULAR	20
4.1 Villus Uzunlukları	20
4.2 Histopatolojik Bulgular	20
4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular	25
5 TARTIŞMA	34
6 SONUÇ	43
7 ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR	45
EKLER	57
Ek 1: Etik Kurulu İzni	59
Ek 2: İzin Onayı	60
Ek 3: İzin Onayı	61

KISALTMALAR

µm	Mikrometre
ABK	Avidin- Biotin Peroksidaz Kompleks
AGA	Amerikan Gastroenteroloji Derneği Enstitüsü
CD4	Yüzey Farklılaşma Antijeni
CD8	Yüzey Farklılaşma Antijeni
ÇH	Çölyak Hastalığı
DAP	3,3-Diaminobenzidine
HE	Hematoksilen-Eozin
HLA	İnsan Lökosit Antijeni
HP	Ham protein
Ig A	İmmunglobulin A
Ig G	İmmunglobulin G
kcal/kg	Kilokalori/kilogram
mm	Milimetre
TG	Transglutaminaz

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Ratlara Verilen Yemler.....	16
Tablo 2: Bağırsak Dokusunun Histopatolojik Sonuçları	22
Tablo 3: Bağırsak Dokusunun Histopatolojik Değerleri.....	23
Tablo 4: Grupların Bağırsak Dokusunun İmmunohistokimyasal Sonuçları	26
Tablo 5: Bağırsak Dokusunun İmmunohistokimyasal Değerleri	27

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Gluten İle İlişkili Hastalıklar (Sapone ve Diğerleri, 2012).....	5
Şekil 2: Çölyak hastalığında Tanı Algoritması (Bai Jc ve diğerleri, 2013, Lebowhl B ve diğerleri, 2012)	9
Şekil 3: Marsh Evrelemesine Göre Çölyak Hastalığı Histopatolojik Bulguları (Marsh MN, 1992).....	11
Şekil 4: Bağırsak Dokusunun Villus Uzunlukları Değerleri (μ M)	20
Şekil 5: Soya Grubu Bağırsak Dokusunda Kriptlerde Hiperplazi (Ok), Lenfosit Plazma Nötrofil İnfiltrasyonu (Ok Başı), Ve Villuslarda Atrofi, H&E, Bar: 100 μ m.....	24
Şekil 6: Mısır Grubu Bağırsak Dokusunda Kriptlerde Hiperplazi (Ok), Lenfosit Plazma Nötrofil İnfiltrasyonu (Ok Başı) ve Villuslarda Atrofi, H&E, Bar: 100 μ m. 24	
Şekil 7: Buğday Grubu Bağırsak Dokusunda Kriptlerde Hiperplazi (Ok), Lenfosit Plazma Nötrofil İnfiltrasyonu (Ok Başı) ve Villuslarda Atrofi, H&E, Bar: 100 μ m. 25	
Şekil 8: Soya Grubu Ait Bağırsaklarda Oluşan Transglutaminaz İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50 μ m.....	28
Şekil 9: Mısır Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Transglutaminaz İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50 μ m	28
Şekil 10: Buğday Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Transglutaminaz İmmunpozitiflikler Tespit Edilememiştir, IHC, Bar: 50 μ m	29
Şekil 11: Soya Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Gliadin İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50 μ m	30
Şekil 12: Mısır Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Gliadin İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50 μ m	30

Şekil 13:Buğday Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Gliadin İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µm	31
Şekil 14:Soya Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Iga İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µM	32
Şekil 15:Mısır Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Iga İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µM	32
Şekil 16:Buğday Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Iga İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µM.....	33

Bölüm 1

GİRİŞ

1.1 Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

İnsanların sağlıklı bir şekilde yaşamlarını devam ettirebilmek için yeterli ve dengeli beslenmeleri gerekir. Bu nedenle bitkisel ve hayvansal kökenli besinleri yeterli miktarda tüketmek zorundadırlar. Bitkisel kökenli besinlerin başında buğday, yulaf, mısır ve arpa gibi tahıllar gelmektedir. Bu tahılların proteinlerinin önemli bir kısmını gluten proteini oluşturmaktadır. Beslenmede gluten içeren besinler önemli yer tutmaktadır. Glutenler hamurun kalitesini artırdığı için yüzyıllar boyunca kıvam artırıcı olarak kullanılmaktadır(Fellstone, 2011; Laflandra ve diğerleri, 2004).

Gluten içeren besinler, insan lökosit antijenleri (HLA-DQ2 ve HLA-DQ8)olarak adlandırılan genlere sahip kişilerde bağırsak dokusu başta olmak üzere otoimmün sistemde birçok hastalıklara neden olabilmektedir.(Soya ve Ün, 2014). Dokularda histopatolojik yapılarında değişiklik olmakla birlikte dokulara göre değişiklik meydana gelebilir. Otoimmün sistemdeki değişiklikler ise transglutaminaz, gliadin, IgA, IgG, CD4 ve CD8 gibi parametrelerden en az birinin veya birkaçının incelenmesi ile tespit edilebilir.

1.2 Amaç ve Hipotez

Amaç: Bu çalışmanın amacı sağlıklı erkek ratlarda buğday gluteni ve mısır gluteninin bağırsak histopatolojisi ve otoimmün parametrelerine etkisinin belirlenmesidir.

Hipotez: HLA-DQ2 ve DQ8 genlerine sahip olmayan sağlıklı erkek ratlarda buğday gluteni ve mısır gluteni bağırsağın histopatolojik parametreleri (villöz atrofi, lenfosit plazma nötrofil ve kript hiperplazi) ve otoimmün parametrelerini (transglutaminaz ve gliadin antikorları) etkilemektedir.

Bölüm 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Gluten Yapısı ve Metabolizması

İnsanlar günlük yaşamlarını devam ettirebilmek için beslenmek zorundadırlar. Besin kaynaklarının önemli bir bölümünü en başta buğday, pirinç ve mısır gibi tahıllar oluşturmaktadır. Tahıllar nişasta, protein, selüloz, vitamin ve mineralleri içermektedir. Tahıllar gluten oluşturan proteinler bulunmaktadır (Emiroğlu, 2017). Gluten tahıl tanelerinin, nişasta ve diğer kısımları ayrılmasıyla oluşan protein yapılı alkolde çözünen bir yapıdır. Prolamin ve polimerik glüteninler olarak adlandırılmaktadır. Prolaminler; buğdayda gliadin, mısırdaki zein, arpada hordein, yulaf da avenin ve çavdarda sekalin olarak adlandırılmaktadır. (Aziz I ve diğerleri, 2015; Rubio Tapia A ve diğerleri, 2013) Tahılların kuru maddesinde %75-85 protein, %5-10 yağ ve geriye kalan kısmı nişasta ve nişasta yapıda olmayan besin ögeleri içerir. Mısır proteini albümin, globulin, zein, glutelin olmak üzere dört yapıdan oluşur. Mısır gluteni mısır tanesinin nişasta kısmı ayrılarak oluşan yapıdır.

Soya yüksek vitamin ve mineral içeriğine sahip bir kurubaklagil familyasına ait besindir. Soya proteini, çok miktarda tekil proteinden ve çok farklı moleküler boyutlara sahip protein agregatlarından oluşmaktadır. Soya proteininin en önemli bileşeni globüliniştir. (Vynias, 2006; Barac ve diğerleri 2004)

Buğday tanesinin yaklaşık olarak %5,4'ünü proteinler oluşturmakta bununda yaklaşık olarak %80-85'ini gluten oluşturmaktadır (Hudacko ve diğerleri, 2013, Türksoy ve Özkaya, 2006). Buğdayın önemli bir kısmı un eldesi ve dolayısıyla ekmek

yapımında kullanılmaktadır. Gluten oluşturan proteinlerin ekmeğin içyapısını, görünümü ve dokusunu önemli derecede etkilediği bilinmektedir. Glutenler bu tür ürünlerin yapımı sırasında ürün kalitesini artırarak, raf ömrünü uzatarak ve besleyici değerlerini artırarak katkıda bulunmaktadır (Kaushik ve diğerleri, 2015; Kulp, 2000).

Sağlıklı insanlarda gluten proteinleri diğer proteinler gibi sindirim sisteminde salgılanan pepsin, tripsin ve kimotripsi vb. enzimler tarafından sindirilmektedir. Ancak, özellikle HLA-Q2 ve DQ8 diye adlandırılan genlere sahip bireyler bu proteinlere karşı duyarlı oldukları için bağışıklık sistemi ve sindirim sistemini etkileyerek birçok organ ve dokularda problemlerin oluşmasına neden olmaktadır. Bu problemlerin gluten proteinlerinin büyük moleküler yapıya sahip olup sindiriminin zor olmasından kaynaklandığı ifade edilmektedir (Sümer ve diğerleri, 2015; Soya ve Ün, 2014). Gluten ile ilgili problemler HLA-D02 ve DQ8 geni taşımayanlarda da görülebilmekte ve birçok faktöre bağlı olduğu bildirilmektedir (Ertem, 2014).

2.2 Gluten Metabolizması Bozukluğu ile İlişkili Hastalıklar

Gluten metabolizmasının bozuk olması en başta dokuların histopatolojik ve immunohistokimyasal yapılarının bozulmasına neden olmaktadır. Dokuların histopatolojik yapılarındaki bozulmaları belirlemek amacıyla farklı parametreler incelense de immunohistokimyasal parametreler tüm dokularda benzerdir. Dokuların immunohistokimyasal cevaplarının incelenmesinde transglutaminaz, gliadin, IgA, IgG, CD4 ve CD8 parametreleri değerlendirilebilir (Demirçeken, 2011, Karaahmet, 2018, Sümer ve diğerleri, 2015, Soya ve Ün, 2014). Bu parametrelerden bazılarının immunohistokimyasal cevabın belirlenmesinde yeterli olabileceği belirtilmiştir. Glutenlerin dokuların histopatolojik yapısına etkisini belirlemek için dokularına göre belirlenen parametreler üzerinde yapılan analizlerle belirlenmektedir. Bunlara örnek vermek gerekirse;

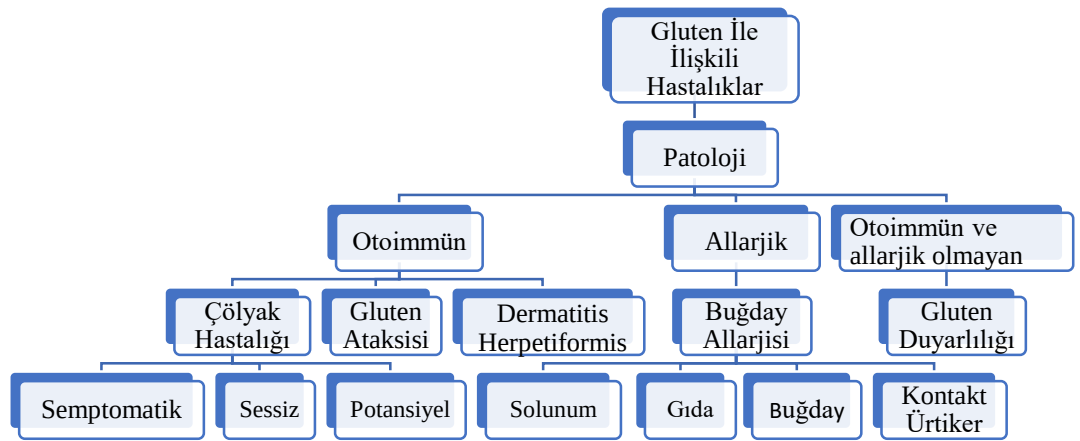
Bağırsak dokusunda: Villöz Atrofi, Lenfosit Plazma Nötrofil ve Kript Hiperplazi parametreleri,

Karaciğer dokusunda: Dejenerasyon, inflamasyon, bilierhiperplazi ve fat drop parametreleri,

Uterus dokusunda: Hiperemi, epitel dejenerasyonu, bezlerde azalma ve inflamasyon parametreleri,

Ovaryum dokusunda: Primordial Follikül, Primer Follikül, Sekunder Follikül, Graf Follikül, Corpus Luteum ve Atrofik Follikül parametreleri incelenenir.

Gluten metabolizması ile ilişkili hastalıklar ve semptomları şekil 1’de gösterilmiştir (Sapone ve diğerleri, 2012).



Şekil 1: Gluten İle İlişkili Hastalıklar (Sapone ve Diğerleri, 2012)

Bağırsak dokusu histopatolojik (villöz atrofi, lenfosit plazma nötrofil ve kript hiperplazi) immünohistokimyasal (transgutaminaz, IgA, gliadin) ve villuslar ilgilidir. Villus uzunluğu, ince bağırsak besinlerin sindiriminin tamamlandığı ve emilim olayının gerçekleştiği yerdir. Villus, ince bağırsağın lumene bakan kısmında parmaklı çıkıntılar şeklinde olup emilim sırasında 0.5-1 mm arasında villöz yapılar halindedirler. Villus yapıları besin bileşenlerinin emiliminde önemli bir yere sahiptir. Villus uzunluğu ne kadar fazlaysa emilim yüzey alanı o kadar artmakta ve besin

bileşenlerinin emilimi o kadar olumlu etkilenmektedir (Özer A, 2010; Yakan ve Bayram G, 2000).Bağırsak mukozası vücudumuza giren yabancı molekküllere karşı savunma halindedir. Lenfositler mukoza içinde dağınık halde bulunup lenfoid doku bölmelerini oluştururlar. Epitelin alt kısmında yerleşmiş olan lenfosit, vücudumuza giren yabancı maddelerle birlikte stimule olup bir süre sonra bağırsak mukozasına immunoglobulin üreten plazma hücreleri olarak geri dönüşüm sağlarlar. Villöz atrofisi villus yapılarının kısalması olarak adlandırılır. Bağırsak dokusunda villöz atrofisi ne kadar yoğunsa besin emilimi o kadar zorlaşır. Kript bağırsak dokusunda sekresyonu sağlayan bir yapı olup kript hiperplazi ise bağırsakta emilim için gerekli olan salgı durumunu engellemektedir (Kim SM, Mayassi T, Jabri B ve diğerleri, 2015; Brusca I, 2015). Bağırsakta salgılanan ana immunoglobulin monomerik IgA'dır. İki IgA molekülü bir glikoprotein ile birleşerek bağırsak lümeninde IgA salgılanması gerçekleşir. IgA zararlı mikroorganizmaların bağırsak lümenine yapışmasını önler.Gliadin, çölyak hastalığı ve kronik hastalığı olan kişilerde yapılan testlerde yüksek çıkmaktadır. Transglutaminaz buğday tanesinin yapısında bulunan gluten antijen olarak görev üstlenirken bu duruma karşılık T hücreleri tarafından antikor üretimi sağlanmaktadır. Bu durum sonucunda transglutaminaz antikorunun artmasına neden olur.Yapılan immünohistokimyasal analizler çölyak hastalığı veya gluten maruziyeti durumunda doğruluk payı oldukça yüksektir (Brusca I, 2015).

2.3 Çölyak Hastalığının Tanımı ve Etiyolojisi

Çölyak hastalığı (ÇH), buğday, arpa, yulaf ve çavdarda bulunan gluten ve ilgili prolamine karşı aşırı duyarlılık sonucu gelişen, emilim bozukluğu ile karakterize, ince bağırsak villuslarında total veya kısmi atrofi yapan, HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 hallotip genine sahip ve enteropatinin değişken bir kombinasyonunun varlığı ile karakterize immünolojik faktörlerin rol oynadığı bir hastalıktır (Göral V ve diğerleri, 2007; Husby

ve diğeri, 2012). Çölyak hastalığı tüm dünyada (%0.05-0.1) her yaş grubunda görülebilen bir hastalıktır (Lionetti ve Catassi, 2011; Trancone ve Jabri, 2011). Hastalığın görülme sıklığı dünyada coğrafik bölgelere göre değişiklik gösterir. Buğday ve ürünlerinin sıklıkla tüketildiği ülkelerde özellikle buğday ve ürünlerinin tüketildiği yerlerde daha sık görülür. Yapılan çalışmalarda özellikle son yıllarda Kuzey Afrika ve Ortadoğu gibi gelişmekte olan ülkelerde daha sık gözlemlenmektedir(Alarida K ve diğeri, 2011).

2.4 Çölyak Hastalığı Patolojik Mekanizması

Hastalığın patogeneğinde oluşan etkiler başta bağırsak dokusu olmak üzere diğeri dokularda görülmektedir. Bu değişiklikleri bağırsak dokusunda histopatolojik parametrelerindeki (villöz atrofi, lenfosit plazma nötrofil ve kript hiperplazi) değişiklikleri en başta görülen değişikliklerdir (Oberhuber ve diğeri, 1999). Diğeri taraftan bu değişikliklerin yanında immünolojik mekanizmalarda oluşturduğu değişimler ise transglutaminaz, IgA, IgG, CD4 ve CD8 parametrelerinden bir veya birkaçının analizi ile belirlenebilmektedir (Karaahmet, 2018; Maiuri ve diğeri, 2003; Soya ve Ün, 2014). Çölyak hastalığı gastrointestinal sistemde oluşan semptomlar genellikle abdominal ağrı, diyare, steatore, şişkinlik, nonspesifik gastrointestinal semptomlar halindedir. Gastrointestinal sistem dışında oluşan semptomlar ise genellikle kilo kaybı, halsizlik, yorgunluk, artralji, artrit, myalji, deri döküntüleri, aftöz ülserler, depresyon ve nörolojik semptomlar görülebilir.(Gren PHR ve diğeri, 2001;Chand N ve Mihas AA, 2006; Hopper AD ve diğeri, 2007)

2.5 Çölyak Hastalığı Tipleri

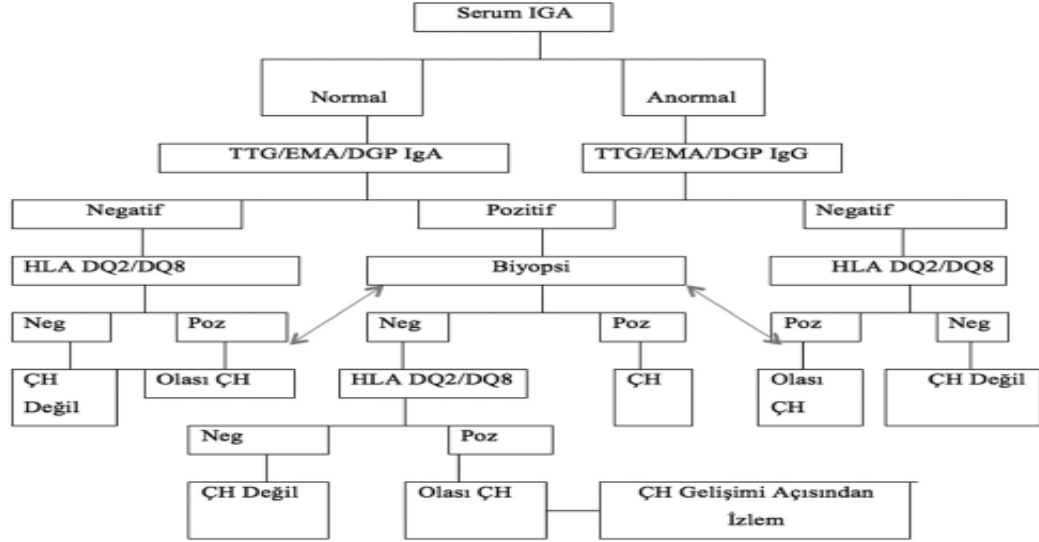
Klinik tipleri; tipik ÇH, atipik ÇH, sessiz ÇH, potansiyel ÇH ve latent ÇH olarak sınıflandırılır (Farrell ve Kelly 2011):

1. Tipik (Klasik) ÇH: Genellikle 6-24 aylık çocuklarda görülmektedir. Bu çocuklarda hastalığın semptomları gluten içeren mamaların verilmesi ile ortaya çıkmaktadır. Hastalarda kronik ishal, karın şişliği, karın ağrısı, kusma, iştahsızlık, büyüme ve gelişmede gerileme gibi belirtiler ile karakterizedir (Ravikumara ve diğerleri, 2006; Husby 2012).
2. Atipik ÇH: Büyük çocuklarda ve erişkinlerde görülür. Genel bulguları gastrointestinal sisteme ait bulguların dışında özellikle karaciğer enzimlerinin de yüksekliği ile belirginleşen bir tipidir (Yanar ve diğerleri, 2013). Bunun dışında boy kısalığı, kansızlık ve nörolojik bozukluklar gibi semptomlar ile karakterize bir hastalıktır (Ravikumara ve diğerleri 2006; Husby ve diğerleri, 2012).
3. Sessiz ÇH; Çölyak hastalığına ilişkin herhangi bir semptom görülmeden, bu hastalığın şekillenmesinden sonra oluşan doku antikorların oluşması ile ilgili görülen hastalık tipidir (Ravikumara ve diğerleri, 2006).
4. Potansiyel ÇH; Barsak dokularında histopatolojik değişiklikler görülmemesine rağmen antikor IgA, IgG ve Transglutaminaz antikor testlerinin pozitif çıkması durumudur. Bu parametrelerin analizinde bulgulara dalgalanmalar görülebildiği belirtilebilmiştir (Tasco ve diğerleri, 2011).
5. Latent ÇH: Genetik duyarlılığı bulunan, enteropatisi olmayan ancak hayatlarının herhangi bir döneminde potansiyel olarak görülebilir (Husby ve diğerleri, 2012).

2.6 Çölyak Hastalığında Tanı

Çölyak hastalığının belirlenmesinde hastalığa özgü olan ince bağırsak biyopsisi ve serolojik testler ile histopatolojik bulgular saptanır. (Bai Jc ve diğerleri,

2013, Lebowhl B ve diğerleri, 2012). Çölyak hastalığının tanı algoritması şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2: Çölyak hastalığında Tanı Algoritması (Bai Jc ve diğerleri, 2013, Lebowhl B ve diğerleri, 2012)

2.6.1 Serolojik Testler

Çölyak hastalığının tanısında kullanılan en duyarlı ve spesifik olan serolojik testler doku transglutaminaz (tTG) IgA ve antiendomisyum IgA (EMA)’dır (Bürgin-Wolff A ve diğerleri, 1991, Sulkanen S ve diğerleri, 1998).Tüm serolojik testlerde IgA ve IgG otoantikor seviyeleri kontrol edilmelidir. Çölyak hastalarında IgA sekresyonu bağırsakta oluşan maruziyete bağlı olarak eksikliği çok fazla gözlemlendiğinden dolayı hastalığa özgü serolojik testler istenirken serum IgA düzeyi mutlaka kontrol edilip, serum IgA seviyesi düşük olanlarda IgG tipi antikor seviyesi dikkate alınmalıdır(Lebowhl B ve diğerleri, 2012).

2.6.2 İnce Bağırsak Biyopsisi

Çölyak hastalığının klinik özelliklerini gösteren veya serolojik testleri pozitif olan bireylerde tanının kesinleştirilmesi için endoskopik biyopsi gereklidir. Çölyak hastalığında endoskopik olarak distal duodenum bölgesinde yapılan biyopsilerde

gözlenen karakteristik bulgular: intraepitelial lenfositlerde artış ($> 20/100$ enterosit), kript hiperplazisi, villuslarda basıklaşma veya silinmedir (Marsh MN, 1992). American Gastroenterological Association (AGA) tanı için ideal biyopsi sayısının 6 olduğunu bildirmiştir (AGA Institute, 2006).

2.6.3 Genetik Analizler

Human lökosit antijeni (HLA) tip 2 haplotipleri olan DQ2 ve DQ8 pozitif antijen sunan hücreler, gliadin epitoplarını tanıyıp bunları T hücrelerine sunmasıyla başlayan immün yanıtta anahtar rol oynarlar. Çölyak hastaları genellikle HLA DQ2 veya DQ8 doku gruplarından birini taşırlar. Hastalığın tanısının belirlenmesinde güçlük çekilen durumlarda serolojisi negatif olan, histopatolojik bulguların tanısı koyulamayamayan olgularda genetik analizler (HLA DQ2/HLA DQ8) testlerinin yapılması önemle tavsiye edilir (Rubio-Tapia A ve diğerleri, 2013).

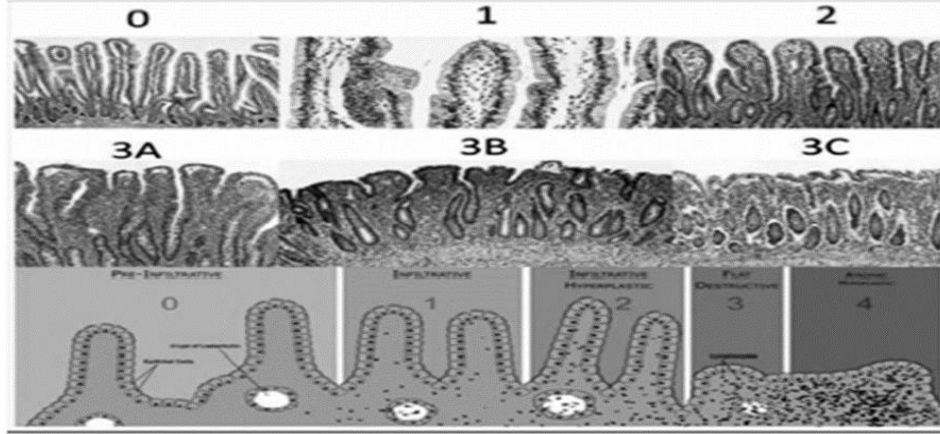
2.7 Çölyak Hastalığı Histopatolojisi

Çölyak hastalığında gluten maruziyetine bağlı olarak zamanla histopatolojik bulgular artarak daha ciddi intestinal bozukluk meydana gelir, intestinal mukozal lezyonları derecelendiren Marsh-Oberhuber histopatolojik sınıflaması kullanılmaktadır.

Marsh kriterlerine göre evre 0'da normal mukoza evre 1'de sadece %30'un üzerinde intraepitelyal lenfosit artışı mevcut iken evre 2'de buna ilave lamina propriyad inflamatuvar infiltrat ve kript hiperplazisi mevcuttur. Evre 3'de ise villus atrofisi gelişirken nadir de görülse evre 4'te total mukoza hipoplazisi gelişir (Rodrigo L, 2006)

Marsh-Oberhuer sınıflaması (Marsh MN, 1992) sınıflamasında evre 0 normal mukoza, evre 1 intraepitelial lenfosit artışı (>20 lenfosit/100 enterosit), evre 2 kriptlerde proliferasyon/hipertrofi, evre 3 değişik derecelerde villus atrofisi, evre 3a

parsiyel villus atrofisi, evre 3b subtotal villus atrofisi, evre 3c total villus atrofisi olarak derecelendirilir.



Şekil 3: Marsh Evrelemesine Göre Çölyak Hastalığı Histopatolojik Bulguları (Marsh MN, 1992)

2.8 Çölyak Hastalığı ve Beslenme

Çölyak hastalığı (ÇH), buğday, arpa, yulaf ve çavdarda bulunan gluten ve ilgili prolamine karşı aşırı duyarlılık sonucu gelişen, emilim bozukluğu ile karakterize, ince bağırsak villuslarında total veya kısmi atrofi yapan, HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 hallotip genine sahip ve enteropatinin değişken bir kombinasyonunun varlığı ile karakterize immünolojik faktörlerin rol oynadığı bir hastalıktır (Göral V ve diğerleri, 2007; Husby ve diğerleri, 2012). Çölyak hastalığı beslenme tedavisi ise ömür boyu glutensiz beslenmedir. Bireylerin beslenmelerinde buğday, arpa ve çavdar içeren besinleri tamamıyla çıkarmaları gerekmektedir (Rubio-Tapia A ve diğerleri, 2013; Theethira TG ve Dennis M, 2015; Makharia GK, 2014). Yulaf içeren besinler ise glutenle kontamine olması, kişilerde oluşan duyarlılığa göre yasaklanır. Mısır, pirinç, baklagiller, et, balık, yumurta, tüm sebze ve meyveler gluten içermemektedir ve bu besinleri ÇH olan kişiler tüketebilir. Hazır ürünlerde elastikiyet bağlayıcısı, kıvam artırıcı özelliğinden dolayı gluten içerebilir bu sebeple hastaların bilgilendirilmesi ve

etiket okumaları gerekmektedir (Theethira TG ve Dennis M, 2015).İki bin oniki yılında;1 kilogram besin içerisinde 20 miligramdan az glutenin bulunması gluten içermeyen gıda olarak belirlenmiştir (Murch S ve diğerleri, 2013).

Hastalarda tanı alındıktan sonra glütensiz diyet uyumlarında ilk 2 hafta içerisinde hastalık ile ilgili şikayetlerde %70 oranında azalma, 6 ay süre içerisinde serolojik testlerde düzelme ve 6-24 ay sürede ise histolojik testlerde düzelmeler olması beklenmektedir.(Hill D ve diğerleri, 2005; Makharia GK, 2014).

Hastalara uygun diyet verilirken kişiye özel olarak yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite, başka sağlık durumu olup olmadığı, ilaç kullanılıp/kullanılmadığı, vitamin mineral düzeyleri hesaba katılarak yapılmalıdır. Hastalarda malabsorbsiyondan kaynaklanan sorundan dolayı besin ögesi yetersizliği ve kilo kaybı durumu gözlemlenir bu sebeple protein miktarı ve enerji açısından bu hastalarda başlangıç seviyesinde fazla verilebilir(Garcia-Manzanares A ve Lucendo AJ, 2011)

Protein kaynakları olarak yumurta, kırmızı et, kümes hayvanları, balık, süt ve ürünleri, kurubaklagiller başlıca kaynakları arasında yer almaktadır. Diyetle alınan doymuş alımları sınırlandırılmalıdır(tekli ve çoklu doymamış yağ ürünleri tercih edilmelidir(Penagini F ve diğerleri, 2013; Gorcia-Manzanares A ve Lucenda AJ, 2011;Theethira TG ve Dennis M, 2015).Hastaların beslenmesinde yer alan glütensiz ürünler gluten içeren ürünlere göre daha fazla karbonhidrat ve yağ içeriğine ve daha az miktarda diyet lif oranına sahiptirler. Glutensiz ekmeklerin besin ögesi içeriği incelendiğinde düşük protein, yüksek yağ ve glisemik indeksi yüksek besinlerdir. Glutensiz bisküvilerin gluten içeren ürünlere göre doymuş yağ asit oranı daha yüksektir bu nedenle ÇH olan bireyler doğal karbonhidrat kaynağı olarak patates, fasülye, nişastalı sebzeler, bakliyat tüketmeleri sağlık açısından daha faydalıdır(Theetria TG ve Dennis M, 2015; Caponio F ve diğerleri, 2008). ÇH

kullanmış oldukları ürünler daha çok nişasta veya un bazlıdır, bu sebeple bu hastaların lif alım miktarları düşüktür. Lif açısından zengin olan sebze-meyve, kahverengi pirinç, kinoa, yulaf gibi besinleri tüketebilirler. RDA(Önerilen besin miktarı) referans alınarak lif tüketimi sağlanmalıdır(1-3 yaş 19 g/gün, 4-8 yaş 25 g/gün, 9-18 yaş 26-38g/gün) (Theethira TG ve Dennis M, 2015)

ÇH villöz atrofisine bağlı malabsorbsiyonlar ve diyetle yeteri kadar besin alınamadığı için mikrobesein öğeleri yetersizliği görülür.(Theethira TG ve Dennis M, 2015) Yetersizliği en çok görülen mikrobesein öğeleri A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, folat, demir, kalsiyum ve çinkodur.

Öğün sayısı hastanın alışkanlıkları ve yaşam tarzına göre 3-6 öğün olacak şekilde planlanmalıdır (Garcia-Manzanares A ve Lucenda AJ, 2011).

Bölüm 3

MATERYAL VE METOT

3.1 Araştırma Genel Planı

Bu çalışma “Doğu Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Sağlık Etik Alt Kurulu”nun 03.11.2020 tarih ve 2020/07 sayılı kararı ile etik olarak onaylanmıştır (**Ek 1**).

Bu çalışmada kullanılan hayvan temini, hayvanların deneme süresince bakım ve beslenmesi Atatürk Üniversitesi Tıbbi ve Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde (ATADEM) yapılmıştır (**Ek 2**).

3.1.1 Hayvanların Temin Edilmesi, Bakım, Beslenme

Çalışmada toplam 21 adet sağlıklı Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanılmıştır. Bu ratlar ortalama 45 günlük yaşta puberteye ulaşırken, cinsel olgunluk yaşına 60 günlük yaşta ulaşırlar (National Research Council, 2011). Araştırmada kullanılan ratlar bir günlük yaştan 30 günlük yaşa kadar anneleri ile birlikte, 30 günlük yaştan 60 günlük yaşa kadar annelerinden ayrı olmak üzere toplam 60 gün süreyle yer aldıkları deney grubuna göre soya, mısır veya buğday yemleri ile beslenmişlerdir. Böylelikle yavru ratlar denemenin ilk 30 günlük süresinde hem yemlere alışmaları sağlanmış, hem de aynı deneme yemi ile beslenen annelerinin sütünü almaları sağlanmıştır.

3.1.2 Araştırma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmanın dizaynı Soya grubu (soya küspesi), Mısır grubu (mısır unu) ve Buğday grubu (buğday yem) şeklinde olmak üzere toplam 3 grup şeklinde yapılmıştır.

Hayvanların yemine ayçiçeği küspesi protein oranlarını dengelemek amacıyla katılmıştır:

Soya Grubu: Grupta protein kaynağı soya küspesi ve ayçiçeği küspesi

Mısır Grubu: Grupta protein kaynağı mısır gluteni ve ayçiçeği küspesi

Buğday Grubu: Grupta protein kaynağı buğday gluteni ve ayçiçeği küspesi kullanılmıştır.

T.C kanunlarına göre 15 şubat 2014-28914 sayılı resmi gazetede yayınlanan 3R kuralına göre her grupta 7 hayvan ve toplamda 21 hayvan olacak şekilde kabul edilmiş olup resmi gazetenin onbirinci sayfasında açıklanmıştır. Bu çalışmada her grupta 7 adet olacak şekilde planlanmıştır.

3.1.3 Hayvanların Beslenmesinde Kullanılan Yem

Çalışmada hayvanların yemlerinin eşit oranda besin maddesi içermeleri (izonitrojenik ve izokalorik) sağlanmıştır. Ticari pelet (çapı 12-16 mm) yem en çok kullanılan yemlerdendir. Ratların beslenmesinde kullanılan yemlerin %22 ham protein ve 2600-2650 kkal/kg enerji içerecek şekilde hazırlanmış ve verilmiştir (Tablo 1) Hayvanların beslenmelerinde ihtiyaç duydukları besin maddelerin karşılanması için National Research Council (NRC 1995) önerileri dikkate alınmıştır.

Tablo 1: Ratlara Verilen Yemler

Yem Ham Maddeleri, %	Gruplar		
	Mısır gluteni	Buğday gluteni	Soya proteini
Buğday Kepeği	3,50	1,8	3,24
Yulaf, %11 HP	64,00	68	62,11
Ayçiçeği Küspesi, %28 HP	13	13	6
Mısır Gluteni, %62 HP	17	-	-
Buğday Gluteni, %75 HP	-	24,85	-
Soya Küspesi, %51 HP	-	-	24,85
Hayvansal Yağ	1,5	2,2	2,8
Vitamin-Mineral Karması	1,00	1,00	1,00
Yemin Besin Değerleri			
Ham Protein,%	22,0	22,0	22,0
Metabolik Enerji, kkal/kg	2657	2599	2598
Kalsiyum%	0,11	0,15	0,14
Metionin+Sistein,%	0,83	0,66	0,68
Lizin,%	0,63	1,17	1,15

HP:Ham protein

3.2 Patolojik Analizler

Denemenin sonunda bakım ve beslemesi tamamlanan ratlar anestezi altında sakrifiye edilerek, histopatolojik ve immunohistokimyasal incelemeler için ince bağırsak doku örnekleri alınmış ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında analiz edilmiştir (**Ek 3**). Deneme gruplarında yapılan histopatolojik ve immunohistokimyasal analizlerin puanlanmasında yarıkantitatif olarak 40X magnification mikroskop altında 10 farklı alan incelenerek değerlendirilmiş ve puanlama - (yok), + (hafif), ++ (orta) ve +++ (şiddetli) şeklinde yapılmıştır (Taylor ve Cote, 1994).

3.2.1 Histopatolojik Analizleri

Çalışmada histopatolojik analiz olarak villöz atrofi, lenfosit plazma nötrofil, kript hiperplazi parametreleri incelenmiştir. Hayvanlardan alınan doku örnekleri histopatolojik incelemeler için %10'luk tamponlu formalin içerisinde 48-72 saat tespit edildikten sonra, akan çeşme suyunda 6-8 saat temizlendi. Rutin doku takibinde alkol (70°, 80°, 90°, 96° ve 100°) ve ksilol serilerinden geçtikten sonra parafinde bloklanarak her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alınıp lam üzerinde preparatlar hazırlanmıştır. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanarak (Taylor ve Cote, 1994) ve ışık mikroskobu altında incelenerek gerekli alanlar resimlendirilmiştir (Olympus BX52 with DP72 camera system).

3.2.2 Villus Uzunluklarının Belirlenmesi

Ratların ince bağırsak dokuları başlık 3.2.1'de belirtilen metod ile boyandıktan sonra villus uzunlukları (yükseklikleri) görüntü analiz sistemi (Leica Q Win Standart) kullanılarak villusun uç kısmından villus kript birleşim yerine kadar ölçülerek belirlenmiştir (Uni ve diğerleri, 2001). Sindirim sisteminde sindirilen besin bileşenlerinin emilimi villus uzunluklarıyla doğru orantılı olarak ilişkilidir (Uni ve diğerleri, 2001).

3.2.3 İmmunohistokimyasal Analizler

Çalışmada immunohistokimyasal analizlerde transglutaminaz, gliadin, Ig A parametreleri incelenmiştir. Doku örnekleri %10'luk tamponlu formalinde tespit edildikten sonra parafinde bloklanarak her bir bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler immunohistokimyasal inceleme için Avidin-Biotin Peroksidaz Kompleks (ABK) yöntemiyle boyanmış olup ve ışık mikroskobunda incelenmiştir. İmmunperoksidazı incelemek üzere adhezivli (poly-L-Lysin) lamlara

alınan tüm kesitler, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek, deparafinize ve dehidre edildikten sonra distile suda 5 dakika yıkanmıştır. Fosfat tampon solüsyonu (pH 7.2) ile 5 dakika yıkayıp, % 3'lük H_2O_2 'de 10 dakika tutularak endojen peroksidaz inaktive edilmiştir. Fosfat tampon solüsyonunda 5-10 dakika yıkandıktan sonra nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için tüm primer ve sekonder antikörlerle uyumlu olan protein blok ile 5 dakika inkubasyona bırakılmıştır. Inkubasyon sonunda doku kesitleri üzerinde kalan blok solüsyonunun fazlası döküldükten sonra yıkama yapılmadan primer antikörler, IgA, transglutaminaz, gliadin ve kontrol grubunda fosfat tampon solüsyonu damlatılarak, primer antikora uygun olarak 1 saat oda sıcaklığında + 4 °C'de bekletilmiştir. Fosfat tampon solüsyonu ile 2 kez 5'er dakika yıkayıp, biotinize sekonder antikör ile oda sıcaklığında 10-30 dakika inkube edilmiştir. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz da 10-30 dakika bekletildikten sonra fosfat tampon solüsyonu ile aynı şekilde yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra kesitlere DAB (3, 3'-diaminobenzidin) kromojen, damlatılarak kromojeni alma durumuna göre 5-10 dakika bekletilmiştir. Zemin boyanması için Mayer's hematoksilende 1-2 dakika tutulduktan sonra musluk suyunda yıkanmıştır. Su bazlı yapıştırıcı kullanılarak lamelle kapatılmıştır (Dokumacıoğlu ve diğerleri, 2021).

3.3 İstatistiksel Analizler

Elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 2011 paket programı kullanılmıştır. İstatistik değerlendirmede histopatolojik parametreler (villöz atrofi, lenfosit plazma nötrofil, kript hiperplazi) ve immunohistokimyasal parametreler (transglutaminaz, gliadin, IgA) soya, mısır ve buğday grubunda ortanca değerler ve standart hata (SH) değerleri hesaplanmıştır. İnce bağırsak villus uzunluklarının belirlenmesinde One Way ANOVA, gruplar arasındaki önemliliği belirlemek için DUNCAN testi kullanılmıştır. İnce bağırsak dokusunun histopatolojik ve

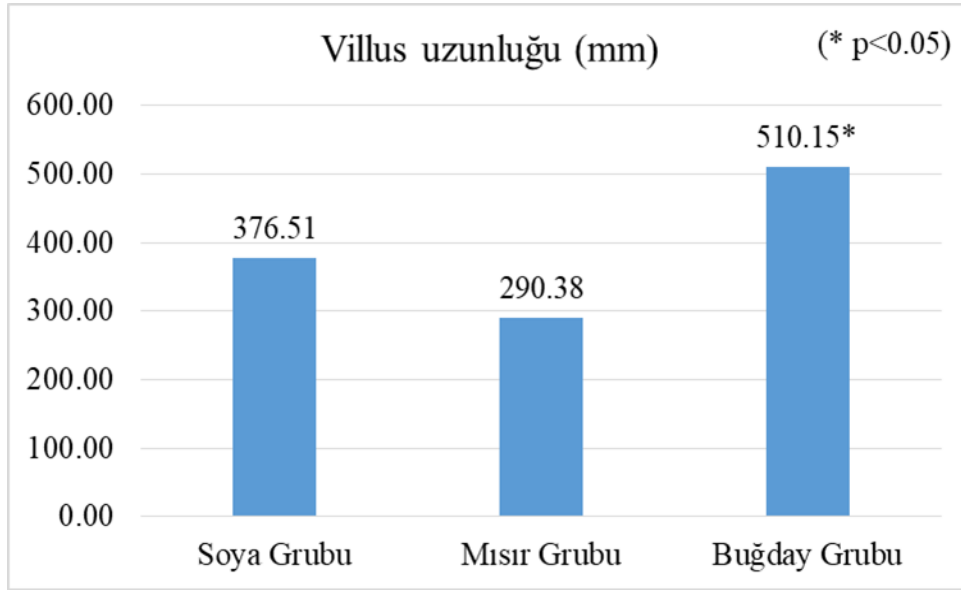
immunohistokimyasal parametrelerindeki değişimlerin hesaplanmasında ise parametrik olmayan testlerden Kruskal Wallis analizi, gruplar arasındaki önemliliği belirlemek için ise DUNCAN testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

Bölüm 4

BULGULAR

4.1 Villus Uzunlukları

Çalışmada grupların ince bağırsak dokularına ait villus uzunlukları şekil 4’de verilmiştir. Villus uzunlukları soya grubunda ortalama 376,51 mm ve mısır grubunda 290,38 mm iken buğday grubunda 510,15 mm olarak belirlenmiştir. Buğday grubunun ortalama villus uzunluğunu soya ve mısır grubunun ortalamasından yüksek bulunmuştur($p>0,01$).



Şekil 4: Bağırsak Dokusunun Villus Uzunlukları Değerleri (µM)

4.2 Histopatolojik Bulgular

Elde edilen histopatolojik bulgular Tablo 3 ve Tablo 4’de verilmiştir. Tablo 2’de histopatolojik parametreler incelendiğinde villöz atrofi soya grubunda en fazla

olarak hafif şiddetli olup 4 ratta; mısır grubunda en fazla olarak çok şiddetli olup 3 ratta; buğday grubunda en fazla etkisiz, hafif, orta olarak rat sayıları eşit olup herbirinin sayıları 2'dir. Lenfosit plazma nötrofil değerlendirilmesinde ise soya grubunda en fazla çok şiddetli grup olup 4 rat; mısır grubunda en fazla hafif şiddetli grubunda olup 4 ratta; buğday grubunda ise en fazla hafif şiddetli olup 4 ratta gözlemlenmiştir. Kript hiperplazi değerlendirilmesinde ise soya grubunda en fazla olarak orta şiddetli grupta olup 5 ratta; mısır grubunda en fazla olarak etkisiz grup ve hafif şiddetli grup olup ikisinde de rat sayıları 3'tür; buğday grubunda en fazla olarak etkisi yok olan grup olup 4 ratta gözlemlenmiştir. Çalışmada grupların villöz atrofi bulgusu en yüksek mısır grubunda 2,142 olup, soya grubunda 1,429 ve buğday grubunda 1,500 olarak saptamıştır ($p>0.05$). Lenfosit, plazma ve nötrofil hücre infiltrasyon değerleri incelendiğinde en yüksek değerler soya grubunda 2,571 olurken, buğday grubunda 1,668 ve en düşük ise mısır grubunda 1,571 şeklinde bulunmuştur. Kript hiperplazi parametreleri incelendiğinde en fazla soya grubunda 1,714 olarak belirlenirken, mısır grubunda 0,714 ve buğday grubunda ise 0,333 olarak tespit edilmiştir. ($p<0.05$) Gruplara ait histopatolojik bulgular Şekil 5, Şekil 6 ve Şekil 7 'de verilmiştir.

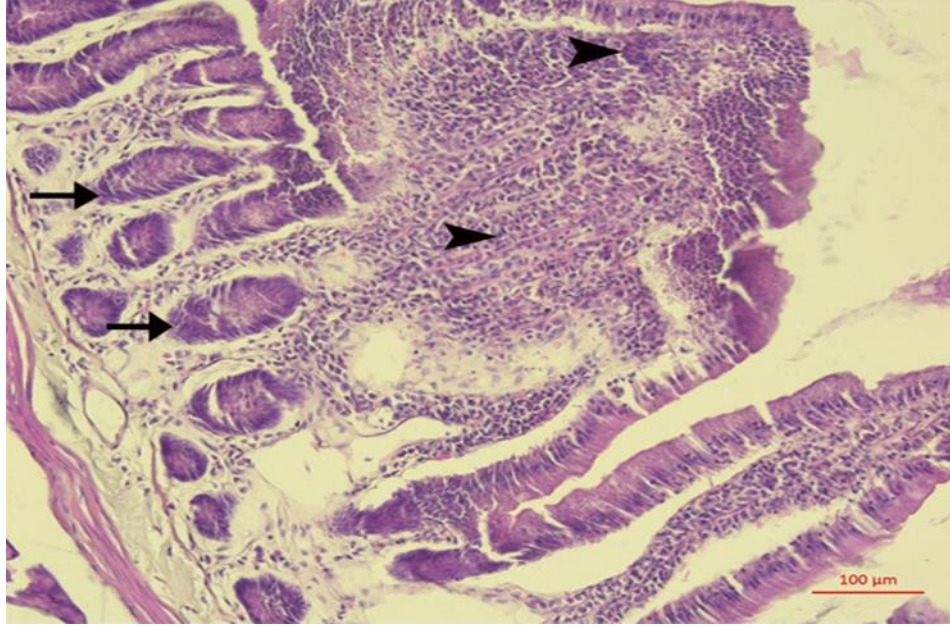
Tablo 2: Bağırsak Dokusunun Histopatolojik Sonuçları

	Histopatolojik parametreler		
	Villöz Atrofi	Lenfosit Plazma Nötrofil	Kript hiperplazi
Soya grubu			
1	++	+++	++
2	++	+++	++
3	+	++	++
4	+	+++	+
5	+	++	+
6	++	++	++
7	+	+++	++
Mısır grubu			
1	+	++	+
2	++	+++	-
3	+	+	-
4	+++	+	+
5	+++	+	++
6	+++	++	-
7	++	+	+
Buğday grubu			
1	-	+++	+
2	++	+	-
3	+++	+++	+
4	+	+	-
5	-	+++	-
6	+	+	-
7	++	+	+

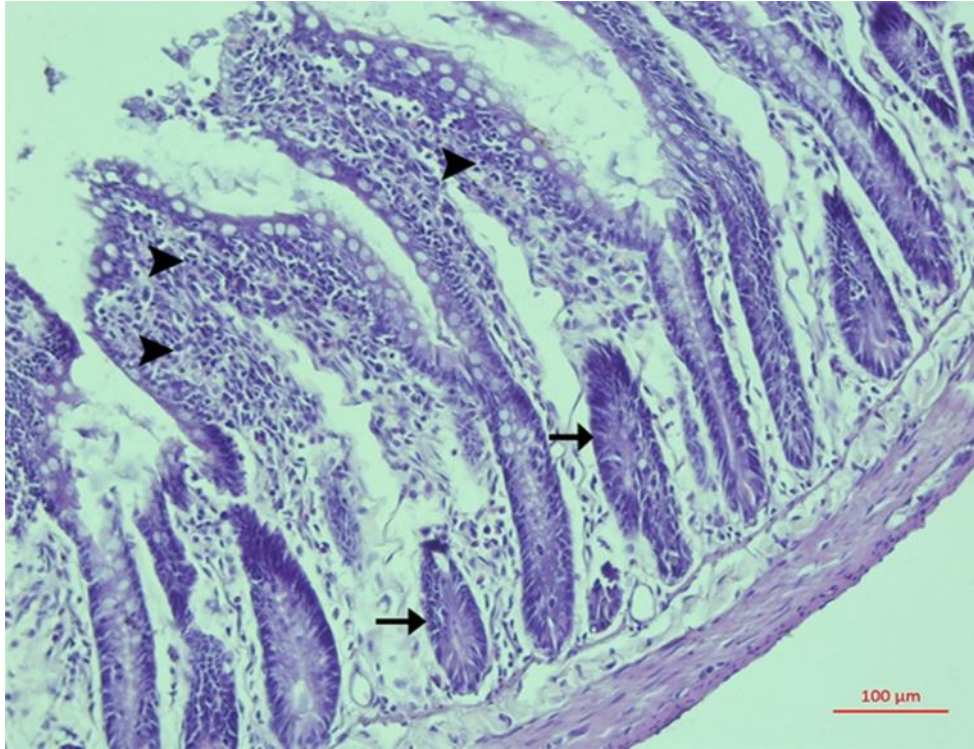
Tablo 3: Bağırsak Dokusunun Histopatolojik Değerleri

Gruplar	Histopatolojik parametreler					
	Villöz Atrofi		Lenfosit Plazma Nötrofil		Kript hiperplazi	
	$\bar{x} \pm SH$	Ortanca	$\bar{x} \pm SH$	Ortanca	$\bar{x} \pm SH$	Ortanca
Soya Grubu	$1,429 \pm 0,202$	1,000	$2,571 \pm 0,202$	3,000	$1,714 \pm 0,184^{ab}$	2,000
Mısır Grubu	$2,142 \pm 0,340$	2,000	$1,571 \pm 0,297$	1,000	$0,714 \pm 0,286^a$	1,000
Buğday Grubu	$1,500 \pm 0,428$	1,000	$1,668 \pm 0,421$	1,000	$0,333 \pm 0,202^b$	0,000
p	0,205		0,098		0,008	

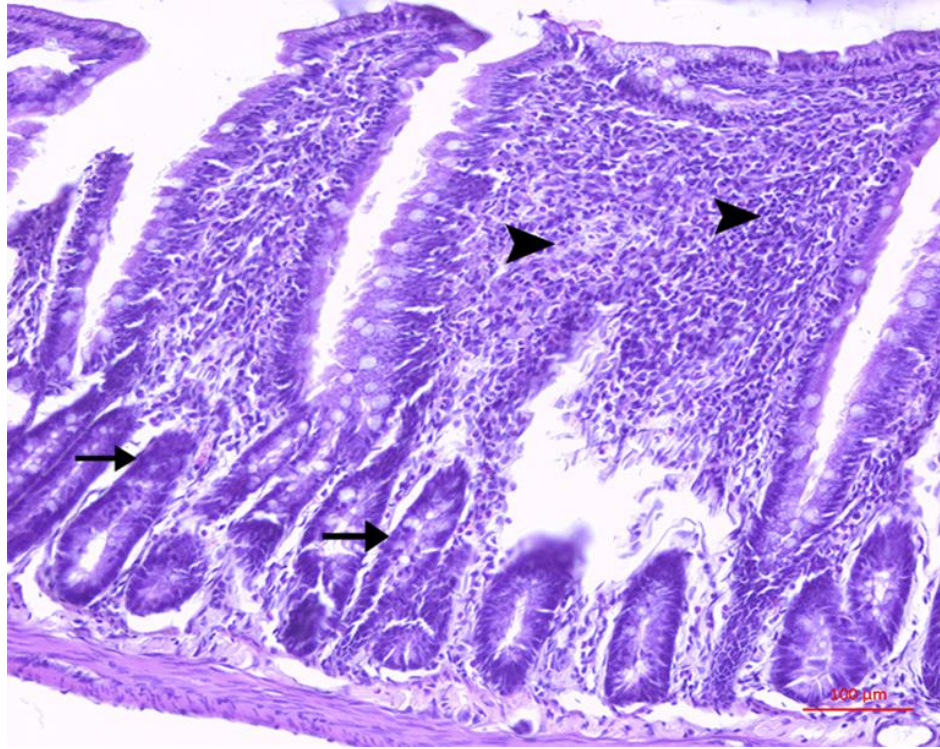
^{a,b}: p<0.05



Şekil 5: Soya Grubu Bağırsak Dokusunda Kriptlerde Hiperplazi (Ok), Lenfosit Plazma Nötrofil İnfiltrasyonu (Ok Başı), Ve Villuslarda Atrofi, H&E, Bar: 100µm



Şekil 6: Mısır Grubu Bağırsak Dokusunda Kriptlerde Hiperplazi (Ok), Lenfosit Plazma Nötrofil İnfiltrasyonu (Ok Başı) ve Villuslarda Atrofi, H&E, Bar: 100 µm



Şekil 7: Buğday Grubu Bağırsak Dokusunda Kriptlerde Hiperplazi (Ok), Lenfosit Plazma Nötrofil İnfiltrasyonu (Ok Başı) ve Villuslarda Atrofi, H&E, Bar: 100 µm

4.3 İmmunohistokimyasal Bulgular

Grupların immunohistokimyasal parametrelerine ait laboratuvar sonuçları Tablo 4 ve Tablo 5’te verilmiştir. Soya grubu, mısır grubu ve buğday grubuna ait transglutaminaz değerleri sırasıyla 0,571, 0,429 ve 0,167 olup en yüksek soya grubunda ve en düşük buğday grubunda saptanmıştır ($p>0.05$). Transglutaminaz parametreleri incelendiğinde soya grubunda en fazla olarak hafif şiddetli grubunda 4 ratta; mısır grubunda en fazla olarak etkisiz grubunda olup 4 ratta; buğday grubunda ise en fazla olarak etkisiz grup olup 6 ratta gözlemlenmiştir. Grupların transglutaminaz değerlerine ait resimler Şekil 8, Şekil 9 ve Şekil 10’da verilmiştir.

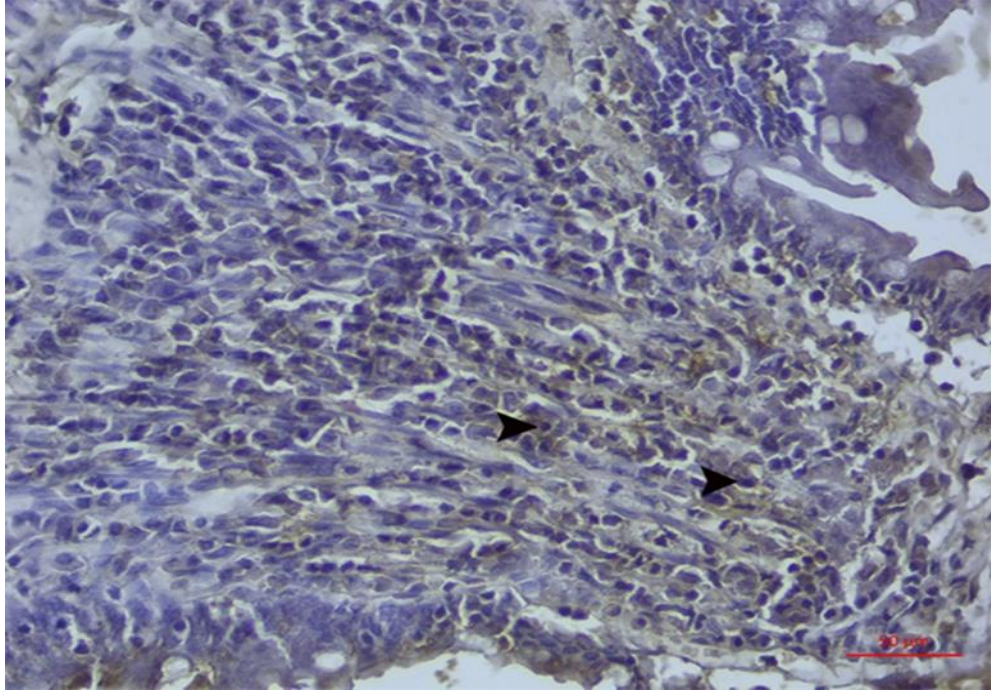
Tablo 4: Grupların Bağırsak Dokusunun İmmunohistokimyasal Sonuçları

	İmmunohistokimyasal parametreler		
	Transglutaminaz	Gliadin	IgA
Soya grubu			
1	-	++	++
2	+	++	-
3	-	++	++
4	+	++	+
5	+	+	-
6	-	+++	+
7	+	+	-
Mısır grubu			
1	-	++	++
2	-	++	++
3	-	+	+
4	-	+	+
5	+	+	+
6	+	+	++
7	+	++	++
Buğday grubu			
1	-	+	+
2	-	-	+++
3	-	+	+
4	-	+	+
5	-	-	+
6	+	++	++
7	-	-	+

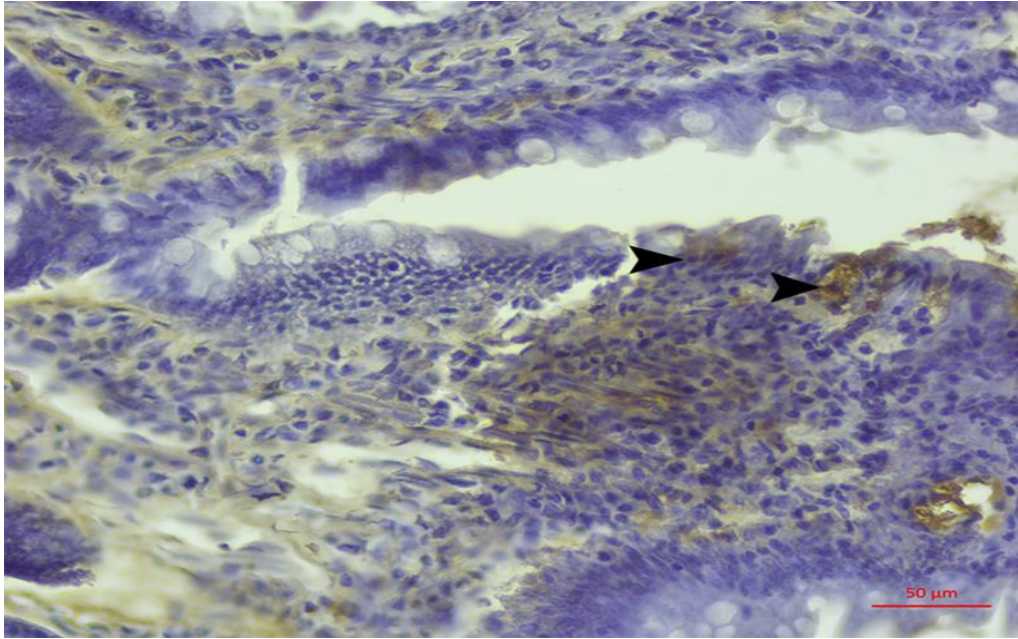
Tablo 5: Bağırak Dokusunun İmmunohistokimyasal Değerleri

Gruplar	İmmunohistokimyasal parametreler					
	Transglutaminaz		Gliadin		IgA	
	$\bar{x} \pm SH$	Ortanca	$\bar{x} \pm SH$	Ortanca	$\bar{x} \pm SH$	Ortanca
Soya Grubu	$0,571 \pm 0,202$	1,000	$1,857 \pm 0,261^a$	2,000	$0,857 \pm 0,340$	1,000
Mısır Grubu	$0,429 \pm 0,202$	0,000	$1,429 \pm 0,202^b$	1,000	$1,571 \pm 0,202$	2,000
Buğday Grubu	$0,167 \pm 0,167$	0,000	$0,833 \pm 0,307^{ab}$	1,000	$1,500 \pm 0,341$	1,000
p	0,345		0,031		0,226	

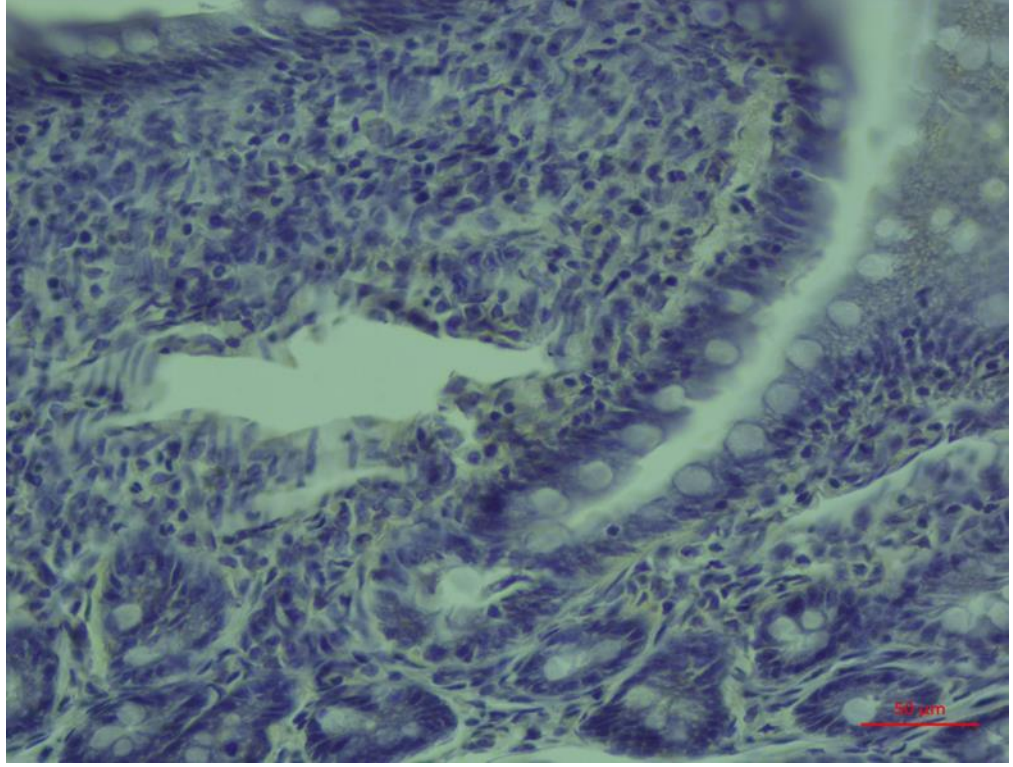
^{a,b}: p<0.05



Şekil 8: Soya Grubu Ait Bağırsaklarda Oluşan Transglutaminaz İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µm

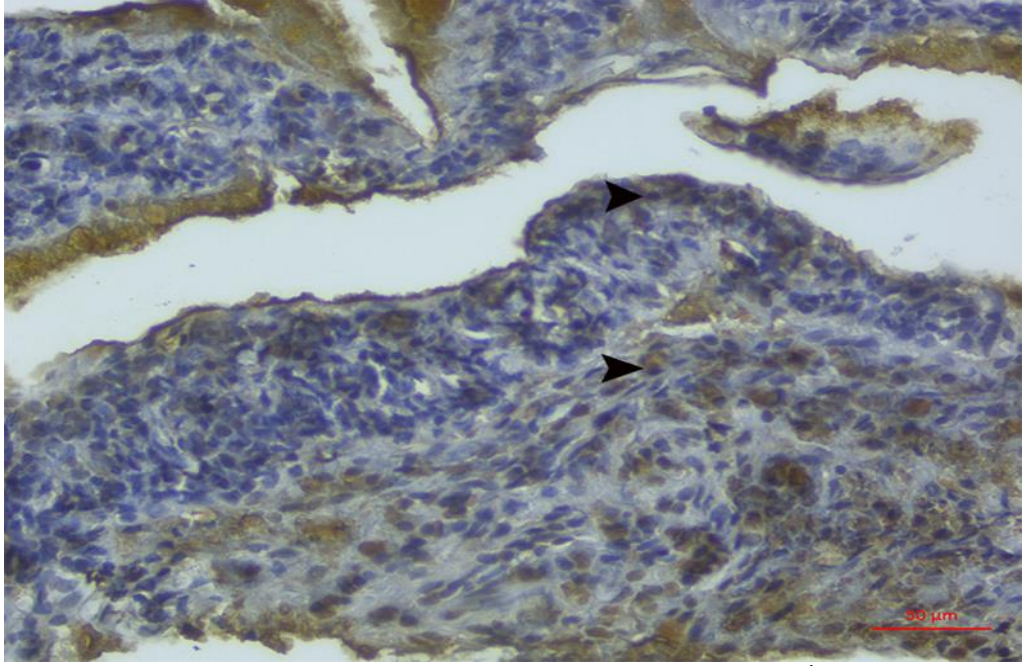


Şekil 9: Mısır Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Transglutaminaz İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µm

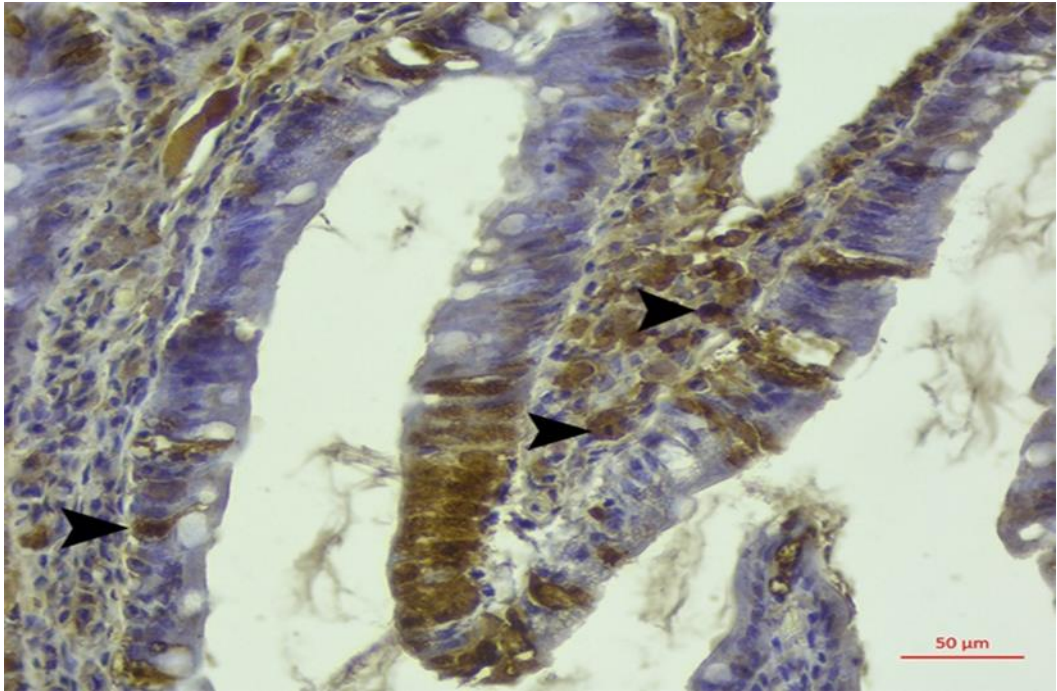


Şekil 10: Buğday Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Transglutaminaz İmmunpozitiflikler Tespit Edilememiştir, IHC, Bar: 50µm

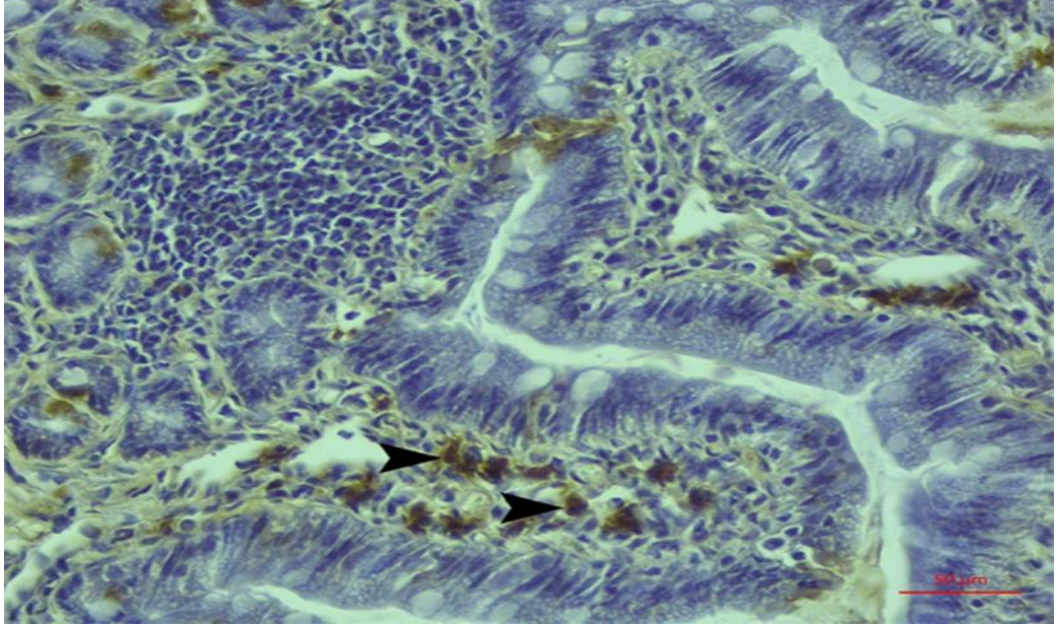
Gliadine karşı en yüksek pozitiflik soya grubunda belirlenirken, en düşük buğday grubunda belirlenmiştir ($p<0.05$) Gliadine karşı pozitiflik oranları soya grubunda 1,857, mısır grubunda 1,429 ve buğday grubunda 0,833 olarak tespit edilmiştir. Gliadin parametreleri incelendiğinde soya grubu en fazla olarak orta şiddetli grubunda olup 4 ratta; mısır grubunda en fazla olarak hafif şiddetli grubunda olup 4 ratta; buğday grubunda en fazla olarak etkisiz grup ve hafif şiddetli grubunda olup 3'er ratta gözlemlenmiştir. Grupların gliadin değerlerine ait resimler Şekil 11, Şekil 12 ve Şekil 13'te verilmiştir.



Şekil 11: Soya Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Gliadin İmmunopozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µm

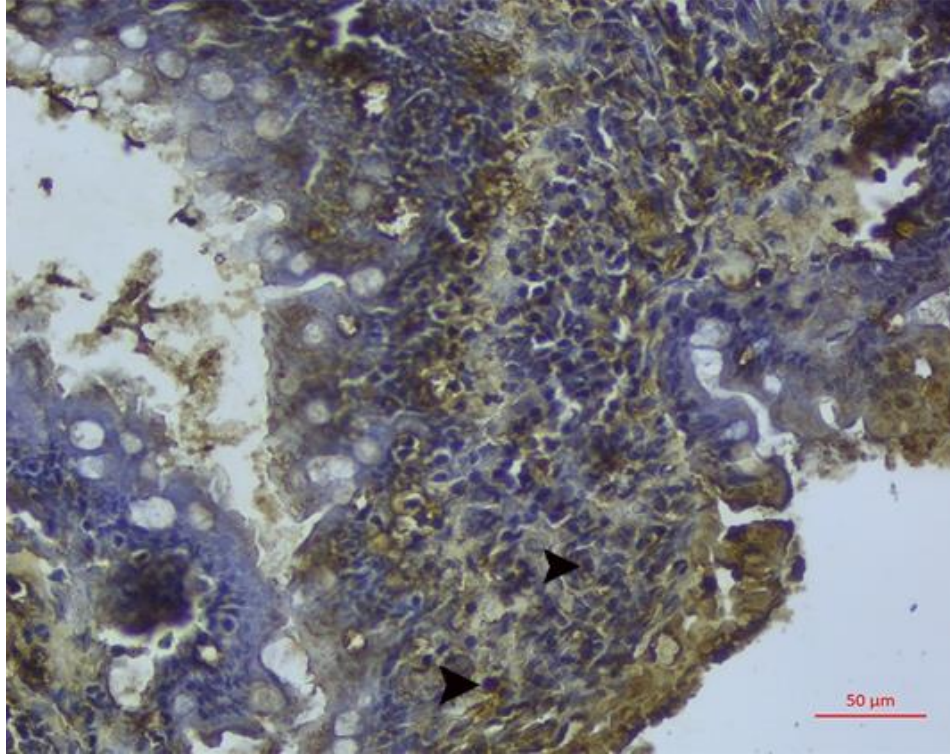


Şekil 12: Mısır Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Gliadin İmmunopozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µm

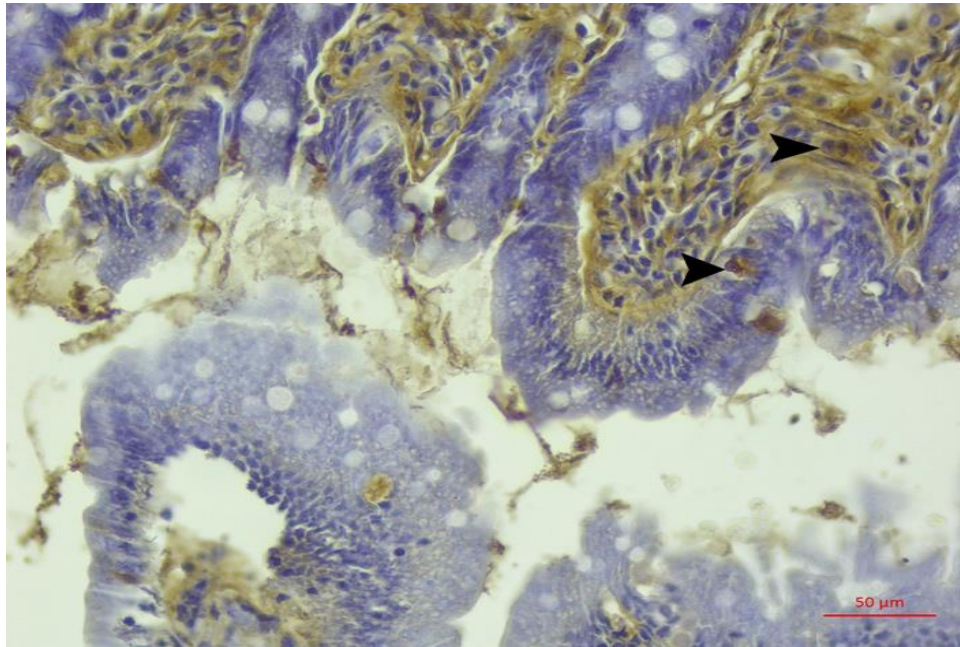


Şekil 13:Buğday Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Gliadin İmmunpozitiflikleri (Ok Başı), IHC, Bar: 50µm

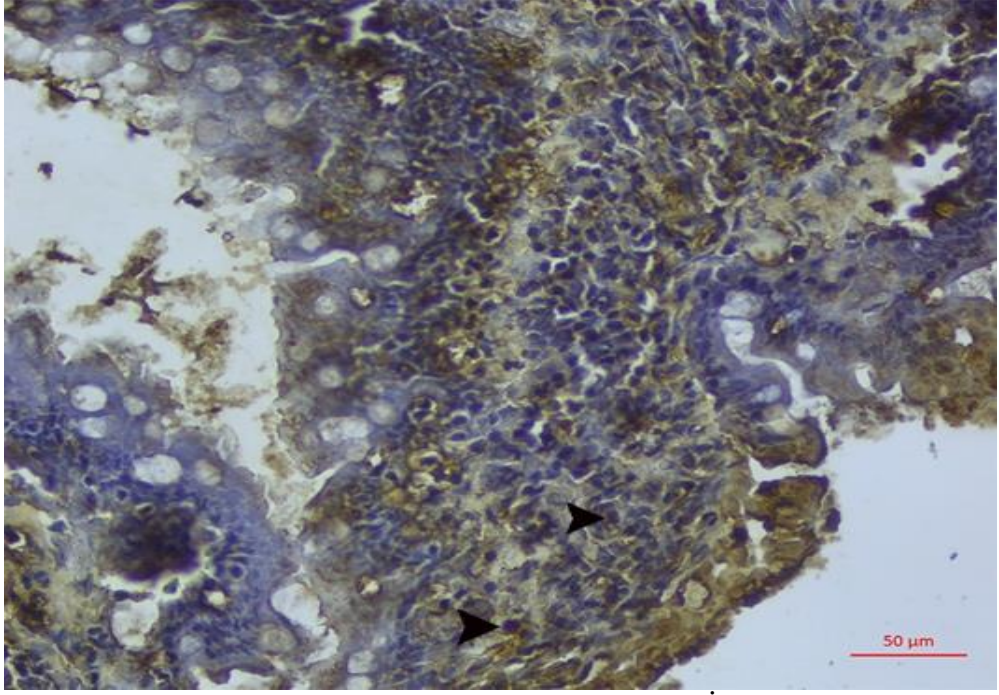
IgA boyalarına karşı pozitiflik oranları soya grubunda 0,857, mısır grubunda 1,571 ve buğday grubunda 1,500 olarak tespit edilmiştir ($p>0,05$). IgA parametresi incelendiğinde soya grubunda en fazla olarak etkisiz grup olup 3 ratta; mısır grubunda en fazla olarak orta şiddetli grup olup 4 ratta; buğday grubunda ise en fazla olarak hafif şiddetli grup olup 5 ratta gözlemlenmiştir. Grupların IgA değerlerine ait resimler Şekil 14, Şekil 15 ve Şekil 16’da verilmiştir.



Şekil 14:Soya Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Iga İmmunpozitiflikleri (Ok Başı),
IHC, Bar: 50μM



Şekil 15:Mısır Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan Iga İmmunpozitiflikleri (Ok Başı),
IHC, Bar: 50μM



Şekil 16:Buğday Grubuna Ait Bağırsaklarda Oluşan İga İmmunpozitiflikleri (Ok Baş), IHC, Bar: 50µM

Bölüm 5

TARTIŞMA

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalar, aydınlatılamayan veya açıklanmasında zorlanılan birçok probleminin çözümünde model teşkil etmektedir. İnsanların sağlığını korumak için yapılacak yeni uygulamalar öncelikle deney hayvanları üzerinde test edilmektedir. Bu deneylerden elde edilen bilgiler insanlarda da görülebilen anormalliklerin tanınması, mekanizmalarının anlaşılması, koruyucu ve tedavi edici yöntemlerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Gelişimsel mekanizmalar canlıdan canlıya değişmekle birlikte, hayvanlarda yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular insan gelişimine ışık tutarak önemli bilgiler elde edilebilir. Hayvan deneylerinde ratların kullanılmasının nedeni metabolizma olarak insanlara en yakın hayvanlar olması ve kolay temin edilmeleridir (Korneychuk ve diğerleri, 2015; Marietta ve diğerleri, 2011).

Canlıların sağlıklı bir şekilde büyüme ve gelişmesini sağlayan faktörlerin başında beslenme gelmektedir. Canlıların tüketilen besin maddesinden yararlanmaları birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bunların başında besin maddelerinin oranları, besin maddelerinin (yem maddelerinin) içerikleri, kimyasal bileşenleri, canlının türü, nevi, cinsi, sağlıklı olması ve özel duyarlılıklarının gibi faktörlere bağlı olması gelmektedir (Arslan M 2002). Bu çalışmada deneme düzeninin kurulmasında gruplarda aynı cins, tür, yaşta ve sağlıklı ratlar kullanılmış ve hayvan ile ilgili faktörler eşitlenmiştir. Yem haricindeki faktörler elimine edilerek hayvanların bağırsaklarındaki değişikliklerin sadece yem kaynaklı homojen bir oran

oluşturulduğundan emin olunmuştur. Ayrıca gruptaki hayvanlara yedirilen yemlerin protein (izonitrojenik) ve enerjileri (izokalorik) eşit olacak şekilde hazırlanmıştır. Ayrıca grupta protein kaynağı olarak kullanılan buğday ve mısır gluteninin incebağırsak dokusu üzerine etkisi tam olarak açıklamak için enerji kaynağı olarak yulaf ve hayvansal orjinli yağ kullanılmıştır.

Gluten; buğday, arpa, çavdar ve yulaf tahıl ürünlerinin işleminden geçirilerek nişasta kısmı ayrıldıktan sonra geriye kalan suda erimeyen bir proteindir. Glutenlerin sanayide uygulama yöntemleri ile protein miktarı artar. Mısır gluteni mısır tanesinin nişasta kısmı ayrılarak oluşturulan bir yapıdır. Yapılan fabrikasyon teknikleri ve elde ile yem veya un şeklinde kullanılır. Glutenin yapısında ortalama %55-75 ham protein, %87-96 kuru madde, %1-6 ham yağ, %1-5 ham selüloz, %1-4 ham kül, %9-26 karbonhidrat, glutamik asit, B grubu vitaminleri ve E vitamininden oldukça zengindir (Hudacko R ve diğerleri, 2013; Adamidou ve diğerleri, 2009; St-Hilaire ve diğerleri, 2007). Amino asit içeriği olarak metionin ve sistein bakımından zengin olup triptofan ve lizin açısından fakirdir (Hudacko R ve diğerleri, 2013; Adamidou ve diğerleri, 2009; St-Hilaire ve diğerleri, 2007). Buğday tanesi %42 karbonhidrat, %28 protein, %10 yağ, %4 mineral ve %2 miktarda lif içerir. Buğdayda depo proteinlerinin yaklaşık olarak %80-85 gluten proteinleri oluşturmaktadır. Gluten aminoasit örüntüsünde ise glutamik asit ve prolin açısından zengindir (Pyler ve Garton 1988). Yulaf selüloz açısından iyi bir kaynak olup aynı zamanda %11 ham protein, çözünen lifler, doymamış yağ asitleri, vitamin mineral açısından zengin bir besin ürünüdür (Ergün A ve diğerleri 2002). Bu çalışmada hayvanlara verilen yem metaryelinin yapımında kullanılan protein kaynakları literatürlerle uyum içerisindedir (National Research Council, 1995; Schroeder J. W. (1997), Pyler E. J., Gorton L. A., 1988).

Yapılan birçok çalışmada özellikle HLA-DQ2 ve DQ8 geni taşıyan insanların glutenlere karşı (başta buğday gluteni başta olmak üzere) duyarlılıklarının olduğu, çölyak hastalığı başta olmak üzere birçok sağlık problemlerine neden olduğu bildirilmiştir (Aydoğdu, 2013; Briani ve diğerleri, 2008; Nijeboer ve diğerleri, 2013; Catassi ve diğerleri, 2013). Bu sağlık problemlerinin başlangıcı glutenlerin yapısını oluşturan gliadin ve gluten adlı proteinlerin gastrointestinal sistemde sindirilmesi ve metabolize edilmesi ile başladığı bilinmektedir (Matsumoto, 2017; Marsh, 1992). Bu çalışmada sağlıklı ratlara buğday ve mısır glutenini maksimum düzeyde yedirerek ince bağırsak dokusunda histopatolojik ve otoimmün parametrelere etkisi tespit edilmiştir.

İnsanların sindirim sistemi uzunluğu 4 metre olup, bunun 3 metresini incebağırsak ve 1 metresini ise kalınbağırsak oluşturmaktadır. İncebağırsaklarda sindirilen besinlerin emilimi villuslar aracılığı ile olmaktadır. Villuslar incebağırsak dokusunda lümeneye doğru çıkıntı oluşturan yapılar olup, ince bağırsağın emilim alanını 200-400 m²'ye kadar artırmaktadır. Ayrıca villusların ortalama ömürleri 5 gün olduğu için kendilerini sürekli yenilemeleri gerekir. Buradan villusların besinlerin emilmesinde ne kadar etkin rol aldığını anlayabiliriz (Nazlıkul, Acarkan, 2014; Solakoğlu ve Aytekin, 2009). Ratların ince bağırsak uzunlukları ortalama 110 cm'dir (Yakan ve Bayram, 2000). Bu çalışmada en uzun villus uzunluğunun buğday gluteni verilen grupta olması, en düşük villus uzunluğunun ise mısır gluteni verilen grupta olması çok ilgi çekicidir ($P < 0.008$). Bu sonuçlara bakıldığında sağlıklı ratların ince bağırsak villus uzunlukları üzerine buğday glutenin olumsuz etkisinin olmadığı, villus uzunluğunun fazla olmasının besin emilimi olumlu yönde etkilediğinden dolayı olumlu etki görülmüştür.

İncebağırsak dokusunda sindirilen besinlerin emilmesi bağırsak dokusunun histopatolojik yapısı ile doğrudan ilişkilidir (Arslan 2002; Engel 1995; Madara, 1999).

Bu çalışmada hayvanlara verilen buğday gluteni, mısır gluteni ve soya kúspesinin ince bağırsak dokusuna etkisini belirlemek için histopatolojik yapısının gústergesi olan villus atrofi, kript hiperplazisi ve lenfosit plazma nötrofil parametreleri tespit edilmiştir. Villus atrofi bağırsakta villus uzunluklarının kısalması olarak nitelendirilip besinlerin emilimi ile ters orantılıdır. Villus atrofi ne kadar çok olursa besinlerin sindirim ve emilimi o kadar çok zorlaşır. Tablo 3; villus atrofi parametreleri incelendiğinde mısır grubundaki 3 ratta, buğday grubundaki 1 ratta çok şiddetli görülürken soya grubunda çok şiddetli rat gözlemlenmemiştir ancak buğday grubunda bulunan 2 ratta hiç villus atrofi bulunmazken diğ r gruplarda hafif, orta ve çok şiddetli villus atrofi bulunmaktadır. Mısır gluteni verilen grubun en fazla etkilendiğı, buğday gluteni ve soya kúspesi verilen grupların ise daha az etkilendiğı belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farkın her ne kadar istatistiksel olarak  nemiz olsa da, özellikle mısır gluteninin villöz atrofi oluşumunu tetiklediğı tespit edilmiştir.

Tüm bağırsak dokusunun mukozal yapısı içerisinde dağılmış olarak bulunan lenfosit plazma nötrofiller virüsler, bakteriler ve gıda proteinleri gibi birçok antijenlerin emilimini engelleyen savunma bariyeri olarak bilinmektedir (Engel, 1995; Selsted 1992;) . Antijenik  zelliğ  sahip etkenlerin sindirim sisteminde artması lenfosit plazma nötrofil sayısının artmasına neden olur (Arslan, 2002; Nazlıkul ve Acarkan, 2014;Solakoğ lu ve Aytekin, 2009; Kagnoff, 1993) .Tablo 3 lenfosit plazma nötrofil parametreleri incelendiğinde   grupta çok şiddetli gözlenirken en fazla soya ile beslenen grupta gözlemlenmiştir. Hafif şiddetli olarak değ rlendirilen gruplar mısır ve buğday grubudur. Lenfosit plazma nötrofil sayısının en düşük mısır ve buğday grubunda olması sağılıklı ratların incebağırsak dokusunun buğday ve mısır glutenine karşı duyarlılığının soya grubuna göre daha az olduğ nu göstermektedir.

Bağırsak dokusunda bulunan kriptlere yerleşen hücrelerin en önemli görevi sekresyon yaparak bağırsak dokusunun daha işlevsel olarak görevini yapmasına yardımcı olmaktır. Krip hiperplazileri ise bu hücrelerin yerleşmesi ve sekresyonunu olumsuz olarak etkilemektedir(Arslan, 2002; Nazlıkul ve Acarkan, 2014;Solakoğlu ve Aytekin, 2009;Kagnoff, 1993).Tablo 3 kript hiperplazi parametreleri incelendiğinde soya grubu ve mısır grubunda orta şiddetli gözlemlenmiş olup en fazla soya grubunda görülmüştür. Etkisi olmayan buğday ve mısır grubu olup en fazla ratta gözlenen buğday grubudur. Bu çalışmada kript hiperplazisinin en fazla soya grubunda görülmesi oldukça ilgi çekici bir sonuç olarak nitelenebilir($p<0.008$).Bu durum sağlıklı ratlarda buğday ve mısır gluteni verilen gruplarda kript hiperplazisinin düşük olması bağırsak dokusunun histopatolojik yapısı olumsuz olarak etkilemediğini göstermektedir.

HLA-DQ2 ve DQ8 geni taşıyan insanlarda sindirim sisteminde glutenin parçalanmasıyla oluşan gliadin peptitleri HLA molekülleri ile birleşerek klinik belirtilerin ve immünolojik olaylar zincirinin başlamasına neden olur. Gliadin yapısını oluşturan peptitlerin dokularda hücrel, humoral ve yangısal yanıtı başlattığı bilinmektedir (Marsh 1992; Sapone ve diğerleri, 2010). Gluten duyarlılığına bağlı olarak oluşan reaksiyonlar genellikle bağırsak dokusunda gerçekleşirken, diğer doku ve organlarda da benzer reaksiyonlara neden olabileceği bildirilmiştir (Hill ve diğerleri, 2005; Fasano ve Catassi, 2001). Gliadinin yapısında bulunan peptitler, çölyak hastalarının gastrointestinal sisteminde bulunan proteazlara ve proteolize karşı dirençli oldukları için tam olarak sindirilemezler (Molberg ve diğerleri, 1998). Bu çalışmada ise sağlıklı ratları yüksek oranlarda buğday ve mısır gluteni içeren yemler ile besleyerek ince bağırsak dokusunun göstermiş olduğu etki/duyarlılık araştırılmıştır. Bu etkinin belirlenmesi için 60 günlük yaşa kadar protein kaynağı olarak buğday

gluteni, mısır gluteni ve soya küspesi ile beslenen ratların incebağırsak doku örnekleri alınarak otoimmün parametreler belirlenmiştir.

Dokularda gluten duyarlılığına bağlı olarak meydana gelen histopatolojik bulguların desteklenmesi için immünohistokimyasal parametrelerinde incelenmesi oldukça önemlidir. İmmünohistokimyasal incelemeler ile hücre veya dokuda oluşabilecek immunpozitifliğin spesifik hücresel bileşenlerin lokalizasyonunu ve dağılımını görmek mümkündür. Bu analizlerin ana prensibi antijen/ antikor reaksiyonu ile spesifik hücre ya da doku bileşenlerinin tanımlanması prosedürüne dayanmaktadır. Bu analizlerden elde edilen bulgular en başta konvansiyonel patoloji, sitoloji ve diğer bulgularla paralellik göstermesi çok önemlidir. İmmünohistokimyada güvenilir sonuçların ortaya çıkması için önemli nokta; duyarlı ve spesifik primer antikorlar kullanılmasıdır. Antikorum ilgili proteini tanıma yeteneği görüntünün kalitesini artırır. Gluten duyarlılığı tespiti için immünohistokimyasal olarak özellikle antikorlar kullanılmaktadır (Bürgin-Wolff ve diğerleri, 1991; Maiuri ve diğerleri, 2003;Matsumoto ve diğerleri 2017). Bu çalışmada ise hayvanların glutene karşı duyarlılıkların belirlenmesinde kullanılan Transglutaminaz, Gliadin ve IgA antikor testi analizi yapılmıştır.

Doku transglutaminaz antikorlarının üretimi karmaşık bir mekanizma ile şekillenmektedir. Tahıl proteinlerinin yapısında bulunan gluten (en başta gliadinler) doku tarafında antijen olarak algılanmakta ve buna karşı antikor üretimini sağlamak için T-hücrelerinin geliştirilmesini uyarmaktadır (Kalliokoski ve diğerleri 2016, Korponay-Szabo ve diğerleri 2000, Molberg ve diğerleri 1998, Sulkanen ve diğerleri 1998). Bu ise transglutaminaz antikorumun artmasına neden olmaktadır. Tablo 5 doku transglutaminaz parametreleri incelendiğinde üç grupta etkisi olmadığı gözlemlenmiş olup en fazla etkisi görülmeyen ise buğday grubudur. Bu çalışmada elde

edilen doku transglutaminaz antikor seviyeleri arasında farkın önemsiz olması grupların glutene karşı duyarlılıklarının olmadığını belirtebiliriz. Ayrıca buğday gluteni verilen grupta doku transglutaminaz antikor seviyesinin en düşük olması sağlıklı ratların buğday glutenine karşı duyarlılık göstermedikleri belirtebilir.

Gliadin antikorumun genel olarak kronik hastalıklarda yükseldiği bilinmekle birlikte, tedavi edilmeyen çölyak hastalarının %90'nın da bu antikorum olduğu belirlenmiştir. Gliadin proteini bir T hücresi reseptörü yoluyla reaktif CD4+T hücrelerine sunulur ve bu da doku hasarına neden olan sitokinlerin üretilmesine neden olur. CD4 ve T hücreleri proenflamatuvar sitokinler olan T Helper 1, T Helper 2' nin seviyesini yükseltir. Bunlar da B lenfositlerin salınmasına ve plazma hücrelerinin oluşmasına neden olur. Plazma hücreleri ise gliadin ve transglutaminaz antikorlarının açığa çıkmasına sebep olur (Bürgin-Wolff ve diğerleri 1991, Maiuri ve diğerleri 2003, Matsumoto ve diğerleri 2017). Tablo 5 gliadin parametreleri incelendiğinde soya grubu çok şiddetli rat içerirken diğer gruplarda bulunmamaktadır. Her 3 grupta orta şiddetli gliadin bulunurken en fazla soya grubunda bulunmaktadır. Etkisi olmayan rat ise tek olarak buğday grubunda bulunmaktadır. Bu çalışmada gruplar arasındaki gliadin antikoruna karşı istatistiksel açıdan önemli fark tespit edilmiştir. En duyarlı grubun soya grubu, en az duyarlı grubun ise buğday gluteni verilen grubun olması ilgi çekicidir.

IgA birçok eksternal sekresyonlarda esas olarak bulunmaktadır. Sekretuar IgA molekülleri özellikle mukozal yüzeylerdeki mikrobial ajanlara karşı etkili olup, mukozal yüzeyde bakteriyel patojenlerin veya bunların toksinlerinin epitelyal hücrelere yapışmasını önleyerek nötralize ederler (Arsalan 2002, Jaskowski ve diğerleri 2001, Matsumoto ve diğerleri 2017). Tablo 5 IgA antikoru parametreleri incelendiğinde buğday grubunda çok şiddetli rat görülürken diğer gruplarda

gözlemlenmemiştir. Orta şiddetli olarak her üç grupta gözlemlenirken en fazla mısır grubunda gözlemlenmiştir. Etkisi olmayan grup ise soya grubundaki 3 ratta gözlemlenmiştir. Çalışmada grupların IgA antikoru seviyeleri arasında farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca buğday ve mısır gluteni verilen grupta IgA antikor seviyesin matematiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir.

Yapılan birçok çalışmada transglutaminaz, gliadin, IgA parametreleri kullanılmıştır. İnsanlar üzerine yapılan çalışmalar; Güleç ve diğerleri (2011) endoskopi yöntemi ile çölyak hastalığı tespit edilmiş 33'ü kız, 18'i erkek olan hastalar üzerinde çalışma yapmışlardır. Yapmış oldukları bu çalışmada çölyak hastalığını daha hızlı tespit etmek için doku transglutaminaz (tTG), IgA antikor testlerini uygulamışlar. Test sonuçlarını çok hızlı almışlar ve sonuçların çölyak hastalığının belirlenmesinde yüksek güvenilirlik oranının olduğunu bildirmişlerdir. Korponay-Szabo' ve diğerleri (2003) klinik olarak tespit edilen 78 çölyak hastasını kullanarak çalışma yürütmüşlerdir. Bu hastaların barsak dokularında yaptıkları transglutaminaz, IgA ve IgG antikor testlerinin yüksek güvenilirlik oranının yüksek olduğunu ve pratikte kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada çölyak hastalığı tespit edilen hastaların 12 'sinde (%9.8) HLA-DQ geni tespit edilmişlerdir. Demirçeken ve diğerleri (2008) Türk çocuklarında çölyak hastalığının görülme sıklığını araştırmak için çalışma yürütmüştür. Araştırmada yaşları 2-18 arasında olan 1000 olgu klinik vakanın 10'unda (%1) çölyak hastalığı belirlemişlerdir. Yarıca çalışmada çocukların serum dokularında hızlı antikor tesbiti yapmak için doku transglutaminaz ve gliadin ile IgA ve IgG testlerini yapmışlardır. Ayrıca bu sonuçları barsak dokusu biyosileri ile desteklenmiştir. Bu çalışmanın sonunda antikor testlerinin güvenilirlik oranlarının yüksek olması neticesinde rahatlıkla kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Tunç ve diğerleri (2016) çölyak hastalığı şüphesi takibe aldıkları 174 hastaların %24'ünde

anemi, 118 hastanın 24'ünde (%20,3) vitamin B12 eksikliği, 110 hastanın 27'sinde (%24,5) folik asit eksikliği, D vitamini eksikliği ise 84 hastanın 63'ünde (%75) saptamışlardır. Çölyak şüpheli olanlarda sırasıyla anti-gliadin antikor immunglobulin A, anti-endomisyum, doku transglutaminaz immunglobulin A, doku transglutaminaz immunglobulin G pozitiflik oranları %22.2, %50, %54.5 ve %20 iken çölyak oranı yüksek olan hastalarda ise pozitiflik oranları sırası ile %100, %100, %81.8 ve %87 olarak belirlemişlerdir.

Hayvanlar üzerine yapılan çalışmalarda; Marietta ve Murray (2012) ile Marietta ve ark (2010) yapmış oldukları çalışmalarda çölyak hastalığının tesbit edilmesinde hayvansal modeller kullanılabileceğini bunun için rat, fare, köpek, tavşan, maymun gibi hayvanların kullanılabileceklerini bildirmişlerdir. Ayrıca bu çalışmalarda transgenik (HLA-DQ2-8) hayvanların en başta barsak dokusu olmak üzere çeşitli dokularında histopatolojik bulguların desteklenmesi için immunohistokimyasal parametrelerin analiz amaçlı olarak bildirmişlerdir. Korponay–Szabo' ve diğerleri (2000) kemirgen ve primatların barsak dokularında (Reticulin, endomysial, jejunal ve fibroblast) yapılan otoantikor test sonuçlarının, çölyak hastası insanların serumlarındaki ile aynı etki mekanizmasına sahip olduğunu ve benzer sonuçlar alındığını ifade etmişlerdir.

Bölüm 6

SONUÇ

1. Buğday gluteni verilen grubun incebağırsak villus uzunlukları diğer gruplardan daha uzun olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).
2. Villus atrofisinin en fazla mısır gluteni verilen grupta olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$).
3. Lenfosit plazma nötrofil değeri en fazla soya grubunda belirlenmiştir.
4. Kript hiperplazisi en fazla soya grubunda, en düşük buğday grubunda tespit edilmiştir ($p<0.05$).
5. Grupların transglutaminaz ve IgA antikor seviyeleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir.
6. Grupların gliadin antikor seviyesi en yüksek soya grubunda belirlenirken, en düşük buğday gluteni verilen grupta tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Bölüm 7

ÖNERİLER

1. Daha net bir sonuçlar alınabilmesi için ratların daha uzun dönemli beslenmesi gerekir.
2. Hayvan çalışmaları glutenin bağırsak histopatoloji ve otoimmün parametreler üzerine etkilerinin gösterilmesi için önemli olmakla birlikte glütenin insanlardaki bu parametrelere olan etkisini araştırmaya yönelik çalışmaların yapılması önemlidir.

KAYNAKLAR

- Adamidou S., Nengas I., Alexis M., Foundoulaki E., Nikolopoulou D., Campbell P., Karacostas I., Rigos G., Bell G. J., Jauncey K., (2009), Apparent nutrient digestibility and gastrointestinal evacuation time in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing different levels of legumes, *Aquaculture*, 289 (1-2), 106-112.
- Alarida, K., Harown, J., Ahmida, A., Marinelli, L., Venturini, C., Kodermaz, G., ... & Catassi, C. (2011). Coeliac disease in Libyan children: a screening study based on the rapid determination of anti-transglutaminase antibodies. *Digestive and Liver Disease*, 43(9), 688-691.
- Aydoğdu S (2013). Gluten ile ilgili diğer hastalıklar. *Pediatrici, uzmanlık akademisi derneği 2. Kongresi*. 1-5 Mayıs Antalya.
- Aziz, I., Branchi, F., & Sanders, D. S. (2015). The rise and fall of gluten!. *Proceedings of the nutrition society*, 74(3), 221-226.
- Bai, J. C., Fried, M., Corazza, G. R., Schuppan, D., Farthing, M., Catassi, C., ... & LeMair, A. (2013). World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease. *Journal of clinical gastroenterology*, 47(2), 121-126.
- Barać, M., Stanojević, S., Jovanović, S., & Pešić, M. (2004). Soy protein modification: A review. *Acta periodica technologica*, (35), 3-16.

- Beattie, R. M. (2006). The changing face of coeliac disease. *Archives of disease in childhood*, 91(12), 955-956.
- Briani, C., Samaroo, D., & Alaedini, A. (2008). Celiac disease: from gluten to autoimmunity. *Autoimmunity reviews*, 7(8), 644-650.
- Brusca, I. (2015). Overview of biomarkers for diagnosis and monitoring of celiac disease. *Advances in clinical chemistry*, 68, 1-55.
- Bürgin-Wolff, A., Gaze, H., Hadziselimovic, F., Huber, H., Lentze, M. J., Nussle, D., & Reymond-Berthet, C. (1991). Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Archives of disease in childhood*, 66(8), 941-947.
- Caponio, F., Summo, C., Clodoveo, M. L., & Pasqualone, A. (2008). Evaluation of the nutritional quality of the lipid fraction of gluten-free biscuits. *European Food Research and Technology*, 227(1), 135-139.
- Catassi, C., Bai, J. C., Bonaz, B., Bouma, G., Calabrò, A., Carroccio, A., ... & Fasano, A. (2013). Non-celiac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. *Nutrients*, 5(10), 3839-3853.
- Chand, N., & Mihas, A. A. (2006). Celiac disease: current concepts in diagnosis and treatment. *Journal of clinical gastroenterology*, 40(1), 3-14.

Demirceken, F. G., Kansu, A., Kuloğlu, Z., Girgin, N., Güriz, H., & Ensari, A. (2008).

Human tissue transglutaminase antibody screening by immunochromatographic line immunoassay for early diagnosis of celiac disease in Turkish children.

Demirçeken, F. G. (2011). Gluten enteropatisi (çölyak hastalığı): Klasik bir öykü ve güncel gelişmeler. *Güncel Gastroenteroloji*, 15(1), 58-72.

Dokumacioğlu, E., Iskender, H., Kapakin, K. A. T., Yenice, G., Mokthare, B., Bolat, I., & HAYIRLI, A. (2021). Effect of betulinic acid administration on TLR-9/NF- κ B/IL-18 levels in experimental liver injury. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 51(3), 1544-1553.

EMİROĞLU, M. (2017). Türkiye'nin Beslenme Problemi ve Buğday Üretimi. *Ankara Üniversitesi Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi Dergisi*, 22(1-2).

Engel, E., Guth, P. H., Nishizaki, Y., & Kaunitz, J. D. (1995). Barrier function of the gastric mucus gel. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 269(6), G994-G999.

Ergün, A., Tuncer, Ş. D., Çolpan, İ., Yalçın, S., Yıldız, G., Küçükersan, K., ... & Şehu, A. (2002). Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojisi, AÜ Veteriner Fak. *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı*, Ankara.

ERTEM, D. (2014). Çölyak Hastalığı. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*, 9(1), 1-10.

Farrell, R. J., & Kelly, C. P. (2001). Diagnosis of celiac sprue. *Am J Gastroenterol*, 96, 3237-46.

Fasano, A., & Catassi, C. (2001). Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology*, 120(3), 636-651.

García-Manzanares, Á., & Lucendo, A. J. (2011). Nutritional and dietary aspects of celiac disease. *Nutrition in Clinical Practice*, 26(2), 163-173.

Göral, V., Yıldırım, N., Kaplan, A., Şit, D., & Çelik, M. (2007). The frequency of gluten enteropathy disease. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 6(3), 144-148.

Green, P. H., Stavropoulos, S. N., Panagi, S. G., Goldstein, S. L., McMahon, D. J., Absan, H., & Neugut, A. I. (2001). Characteristics of adult celiac disease in the USA: results of a national survey. *The American journal of gastroenterology*, 96(1), 126-131.

Güleç, S. G., Urgancı, N., Gül, F., Emecen, M., & Erdem, E. (2011). Çocuklarda çölyak hastalığının tanı ve takibinde doku transglutaminaz-IgA antikorunun yeri. *Ş. EEAH Tıp Bülteni*, 45, 119-23.

Hill, I. D., Dirks, M. H., Liptak, G. S., Colletti, R. B., Fasano, A., Guandalini, S., ... & Seidman, E. G. (2005). Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for

Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 40(1), 1-19.

Hopper, A. D., Hadjivassiliou, M., Butt, S., & Sanders, D. S. (2007). Adult coeliac disease. *Bmj*, 335(7619), 558-562.

Hudacko, R., Zhou, X. K., & Yantiss, R. K. (2013). Immunohistochemical stains for CD3 and CD8 do not improve detection of gluten-sensitive enteropathy in duodenal biopsies. *Modern Pathology*, 26(9), 1241-1245.

Husby, S., Koletzko, S., Korponay-Szabó, I. R., Mearin, M. L., Phillips, A., Shamir, R., ... & ESPGHAN Gastroenterology Committee. (2012). European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 54(1), 136-160.

Jaskowski, T. D., Schroder, C., Martins, T. B., Litwin, C. M., & Hill, H. R. (2001). IgA antibodies against endomysium and transglutaminase: a comparison of methods. *Journal of clinical laboratory analysis*, 15(3), 108-111.

Kagnoff, M. F. (1998). Immunology and inflammation of the gastrointestinal tract. *Gastrointestinal and liver disease. Sixth ed. Philadelphia: WB Saunders Company*, 19-48.

Kagnoff, M. F. (2006). AGA institute medical position statement on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*, 131(6), 1977-1980.

- Kalliokoski, S., Piqueras, V. O., Frías, R., Sulic, A. M., Määttä, J. A., Kähkönen, N., ... & Lindfors, K. (2017). Transglutaminase 2-specific coeliac disease autoantibodies induce morphological changes and signs of inflammation in the small-bowel mucosa of mice. *Amino Acids*, 49(3), 529-540.
- Karaahmet, F. (2018). Çölyak hastalığı'nda teşhis süresi. *Ege Tıp Dergisi*, 57(4), 228-231.
- Kaushik, R., Kumar, N., Sihag, M. K., & Ray, A. (2015). Isolation, characterization of wheat gluten and its regeneration properties. *Journal of food science and technology*, 52(9), 5930-5937.
- Kim, S. M., Mayassi, T., & Jabri, B. (2015). Innate immunity: actuating the gears of celiac disease pathogenesis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 29(3), 425-435.
- Korneychuk, N., Meresse, B., & Cerf-Bensussan, N. (2015). Lessons from rodent models in celiac disease. *Mucosal immunology*, 8(1), 18-28.
- Korponay-Szabó, I. R., Dahlbom, I., Laurila, K., Koskinen, S., Woolley, N., Partanen, J., ... & Hansson, T. (2003). Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. *Gut*, 52(11), 1567-1571.
- Korponay-Szabó, I. R., Sulkanen, S., Halttunen, T., Maurano, F., Rossi, M., Mazzarella, G., ... & Mäki, M. (2000). Tissue transglutaminase is the target in

both rodent and primate tissues for celiac disease-specific autoantibodies.
Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, 31(5), 520-527.

Kulp, K. (Ed.). (2000). *Handbook of Cereal Science and Technology, revised and expanded*. Crc Press.

Lafiandra, D., Masci, S., D'Ovidio, R., & D'Ovidio, R. (Eds.). (2004). *The gluten proteins* (Vol. 295). Royal Society of Chemistry.

Lionetti, E., & Catassi, C. (2011). New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment. *International reviews of immunology*, 30(4), 219-231.

Madara, J. L. (1995). Epithelia: biologic principles of organization. *Textbook of gastroenterology*, 141-157.

Maiuri, L., Ciacci, C., Ricciardelli, I., Vacca, L., Raia, V., Auricchio, S., ... & Londei, M. (2003). Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in coeliac disease. *The Lancet*, 362(9377), 30-37.

Makharia, G. K. D. (2014). Current and emerging therapy for celiac disease. *Frontiers in medicine*, 1, 6.

Marietta, E. V., & Murray, J. A. (2012, July). Animal models to study gluten sensitivity. In *Seminars in immunopathology* (Vol. 34, No. 4, pp. 497-511). Springer-Verlag.

- Marietta, E. V., David, C. S., & Murray, J. A. (2011). Important lessons derived from animal models of celiac disease. *International reviews of immunology*, 30(4), 197-206.
- Marsh, M. N. (1992). Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: a molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten sensitivity ('celiac sprue'). *Gastroenterology*, 102(1), 330-354.
- Matsumoto, I., Uchida, K., Nakashima, K., Hiyoshi, S., Chambers, J. K., Tsujimoto, H., & Nakayama, H. (2018). IgA antibodies against gliadin and tissue transglutaminase in dogs with chronic enteritis and intestinal T-cell lymphoma. *Veterinary pathology*, 55(1), 98-107.
- Molberg, Ø., Mcadam, S. N., Körner, R., Quarsten, H., Kristiansen, C., Madsen, L., ... & Sollid, L. M. (1998). Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nature medicine*, 4(6), 713-717.
- Murch, S., Jenkins, H., Auth, M., Bremner, R., Butt, A., France, S., ... & Thorpe, M. (2013). Joint BSPGHAN and Coeliac UK guidelines for the diagnosis and management of coeliac disease in children. *Archives of disease in childhood*, 98(10), 806-811.
- National Research Council. (1995). Nutrient requirements of laboratory animals: 1995.

National Research Council. (2010). Guide for the care and use of laboratory animals.

Nazlıkul H, Acarkan T (2014). The Importance of Intestinal and Enteric Nervous System in Regulation. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp, Regülasyon ve Nöralterapi Dergisi*; Cilt 8, Sayı 1, sayfa:1-7.

Nijeboer, P., Bontkes, H. J., Mulder, C. J., & Bouma, G. (2013). Non-celiac gluten sensitivity. Is it in the gluten or the grain?. *Journal of Gastrointestinal & Liver Diseases*, 22(4).

Nurettin, T. U. N. Ç., ŞAHİN, A., ORHAN, S., YALNIZ, M., DEMİREL, U., POYRAZOĞLU, O. K., & BAHÇECİOĞLU, İ. H. Çölyak hastalığı; 5 yıllık takip, antikor-patoloji korelasyonu. *Endoskopi Gastrointestinal*, 24(2), 43-46.

Oberhuber, G., Granditsch, G., & Vogelsang, H. (1999). The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 11(10), 1185-1194.

Özer A, (2010) Veteriner Özel Histoloji İSBN 978-605-395-143-8 Geliştirilmiş 2.Baskı

Penagini, F., Dilillo, D., Meneghin, F., Mameli, C., Fabiano, V., & Zuccotti, G. V. (2013). Gluten-free diet in children: an approach to a nutritionally adequate and balanced diet. *Nutrients*, 5(11), 4553-4565.

Pyler, E. J. (1988). Baking science and technology, Sosland Publishing Company.
Merriam Kans.

Rodrigo, L. (2006). Celiac disease. *World journal of gastroenterology: WJG*, 12(41), 6577.

Rubio-Tapia, A., Hill, I. D., Kelly, C. P., Calderwood, A. H., & Murray, J. A. (2013). American College of Gastroenterology clinical guideline: diagnosis and management of celiac disease. *The American journal of gastroenterology*, 108(5), 656

Sapone, A., Bai, J. C., Ciacci, C., Dolinsek, J., Green, P. H., Hadjivassiliou, M., ... & Fasano, A. (2012). Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC medicine*, 10(1), 1-12.

Sapone, A., Lammers, K. M., Mazzarella, G., Mikhailenko, I., Carteni, M., Casolaro, V., & Fasano, A. (2010). Differential mucosal IL-17 expression in two gliadin-induced disorders: gluten sensitivity and the autoimmune enteropathy celiac disease. *International archives of allergy and immunology*, 152(1), 75-80.

Schroeder J. W. (1997), "Corn Gluten Feed: Composition, Storage, Handling, Feeding And Value".

Selsted, M. E., Miller, S. I., Henschen, A. H., & Ouellette, A. J. (1992). Enteric defensins: antibiotic peptide components of intestinal host defense. *The Journal of cell biology*, 118(4), 929-936.

Solakoğlu S, Aytekin Y (2009) Temel Histoloji, “Junqueira LC, Carneiro J: Basic Histology, text & atlas, eleventh edition. ISBN:978 -0-07 -144091 -2”, Nobel Tip Kitabevleri, ISBN: 978-975-420-699-9. 281-317.

Soya, S., & Ün, C. (2014). Çölyak hastalığındaki moleküler ve genetik gelişmeler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 57, 274-282.

St-Hilaire, S., Sheppard, C., Tomberlin, J. K., Irving, S., Newton, L., McGuire, M. A., ... & Sealey, W. (2007). Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the world aquaculture society*, 38(1), 59-67.

Sulkanen, S., Halttunen, T., Laurila, K., Kolho, K. L., Korponay-Szabó, I. R., Sarnesto, A., ... & Mäki, M. (1998). Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology*, 115(6), 1322-1328.

Sümer, S. A. G., Harmandar, F. A., Uyar, S., & Çekin, A. H. (2015). Non-Çölyak gluten duyarlılığı. *Güncel Gastroenteroloji*, 19(2), 91-97.

Tavakkoli, A., & Lebwohl, B. (2014). Diagnosis of celiac disease. *In Celiac Disease* (pp. 107-122). Humana Press, New York, NY.

Taylor, C. R., & Cote, R. J. (1994). Standardization and quality control in immunohistochemistry. *Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 425-6

- Theethira, T. G., & Dennis, M. (2015). Celiac disease and the gluten-free diet: consequences and recommendations for improvement. *Digestive Diseases*, 33(2), 175-182.
- Tosco, A., Salvati, V. M., Auricchio, R., Maglio, M., Borrelli, M., Coruzzo, A., ... & Troncone, R. (2011). Natural history of potential celiac disease in children. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 9(4), 320-325.
- Trancone R, Jabri B(2011). Celiac disease and gluten sensitivity. *J Intern Med*;269:582-90.
- Türksoy, S., & Özkaya, B. (2006). Gluten ve Çölyak hastalığı. *Türkiye*, 9, 24-26.
- Uni, Z., Gal-Garber, O., Geyra, A., Sklan, D., & Yahav, S. (2001). Changes in growth and function of chick small intestine epithelium due to early thermal conditioning. *Poultry Science*, 80(4), 438-445.
- Vynias, D. (2006). *Investigation into the wet processing and surface analysis of soybean fabrics*. The University of Manchester (United Kingdom).
- Wagner, W. E. (2011). *Using IBM SPSS statistics for social statistics and research methods*. Sage.
- Yakan, B., & Fötüs, B. G. (2000). yeni doğmuş ve erişkin farede ince bağırsakların histolojik ve histokimyasal kıyaslı yapısı. *Erciyes Tıp Dergisi*, 22(1), 7-15.

Yanar, Ö., Durmaz, Ö., & Gökçay, G. (2013). Atipik başlangıçlı Çölyak hastalığı.
Çocuk Dergisi, 13(3), 126-30.

EKLER

Ek 1: Etik Kurulu İzni

 Doğu Akdeniz Üniversitesi "Erdem, Bilgi, Gelişim"	Eastern Mediterranean University "Virtue, Knowledge, Advancement"	99628, Gazimağusa, KUZZEY KIBRIS / Famagusta, North Cyprus, via Mersin-10 TURKEY Tel: (+90) 392 630 1995 Faks/Fax: (+90) 392 630 2919 E-mail: boyek@emu.edu.tr
Etik Kurulu / Ethics Committee		

Sayı: ETK00-2020-0247

18.11.2020

Konu: Etik Kurulu'na Başvurunuz Hk.

Sayın Aybuke İmik

Sağlık Bilimleri Fakültesi

Sağlık Etik Alt Kurulu'nun 03.11.2020 tarih ve 2020/07 sayılı toplantısında incelenerek uygun bulunan, Doç. Dr. Ceren Gezer danışmanlığında yürüttüğünüz **"Sağlıklı Erkek Ratlarda Buğday Glütene ve Mısır Glüteneinin Barsak Histopatolojisi ve Otoimmün Parametrelerine Etkisi"** adlı yüksek lisans tez çalışmanız, Doğu Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Bilgize rica ederim.

Prof. Dr. Yücel Vural

Etik Kurulu Başkanı

Ek 2: İzin Onayı



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü (ATADEM)

Sayı : 236643897-000-EBYS-1
Konu : ATADEM’de Çalışma İzni.

15.09.2020

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞINA

Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik’in 1. (1) Maddesinde belirtildiği üzere, “Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, eğitim, öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili kabul edilebilir etik standartların belirlenmesine, hayvan deneyleri merkezi etik kurulu ve hayvan deneyleri yerel etik kurullarının kuruluş ve çalışmalarına, yapılması planlanan işlemlerin sunulmasına, araştırma ve çalışma önerilerinin incelenmesi ve izin verilmesine, uygulamaların izlenmesine, deney hayvanları üzerinde yapılan bütün prosedürlerin kayıt altına alınmalarına ve bu prosedürlerin anında ya da geriye doğru izlenebilmelerine, bütün işlemlerin denetlenebilirliğinin sağlanmasına ve ilgili işlemlerin gerektiğinde sonlandırılmalarına ilişkin esasları belirlemektir.” amacıyla, sözkonusu çalışmasını Doğu Akdeniz Üniversitesi Rektörlüğü Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Ceren Gezer yürütücülüğünde yapılacak olan **“Sağlıklı erkek ratlarda buğday gluteni ve mısır gluteninin barsak histopatolojisi ve otoimmün parametrelerine etkisi”** isimli çalışmada 21 adet sıçan kullanılacak olup, adigeçen çalışmanın ATADEM Laboratuvarlarında yapılması Müdürlüğümüzce uygun görülmüştür.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Dr. Öğr. Üyesi Nergis ULAŞ
Merkez Müd. Yrd.

Ek 3: İzin Onayı



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 36643897-100-E.2000226216
Konu : Laboratuvar İzin Yazısı

17.09.2020

Sayın Doç. Dr. Ceren GEZER
Doğu Akdeniz Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Fakültesi
Beslenme ve Diyetetik Bölümü
Gazimağosa / KKTC

Doğu Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümünde Yüksek Lisans öğrencisi olan Aybuke İMİK'in "Sağlıklı Erkek Ratlarda Buğday Gluteni ve Mısır Gluteninin Barsak Histopatolojisi ve Otoimmün Parametrelerine Etkisi" adlı tez çalışmasının histopatolojik ve otoimmün parametrelerin analizlerinin Fakültemiz Patoloji Anabilim Dalında yapılması uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr. Hamza AVCIOĞLU
Dekan

Ek :

- 1 - 16.9.2020 tarihli 36643897-100-E.2000225094 sayılı belge
- 2 - 16.9.2020 tarihli 36643897-000-E.2000224669 sayılı belge
- 3 - 15.9.2020 tarihli 36643897-000-E.2000223033 sayılı belge

atürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
İ: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#birim=veteriner-fakultesi>
İp Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mevlüt ÇAKIR
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vETFak@atauni.edu.tr



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=059390A5DBA>