

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇÖLYAK HASTALIĞINDA ENDOPLAZMİK RETİKULUM
STRESİNİN İNCELENMESİ**

Nilüfer ALPASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV

KONYA- 2025

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇÖLYAK HASTALIĞINDA ENDOPLAZMİK RETİKULUM
STRESİNİN İNCELENMESİ**

Nilüfer ALPASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 24202004 Proje numarası ile desteklenmiştir.

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Nilüfer ALPASLAN tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Bahadır ÖZTÜRK İmza
Selçuk Üniversitesi

Danışman: Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV İmza
Selçuk Üniversitesi

Üye: Ünvanı Adı SOYADI İmza
Adıyaman Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma Hümeysra YERLİKA AYDEMİR
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleriyle akademik gelişimime katkı sağlayan, rehberliği ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan değerli danışmanım Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV'e,

Eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalanma fırsatı bulduğum Sayın hocalarım Prof. Dr. Ali ÜNLÜ, Prof. Dr. Abdullah SİVRİKAYA, Prof. Dr. Bahadır ÖZTÜRK, Prof. Dr. Esmâ MENEVŞE, Prof. Dr. Fatma Hümeýra YERLİKAYA AYDEMİR, Prof. Dr. Sedat ABUŞOĞLU ve Doç. Dr. Ramazan KOCABAŞ'a,

Tez çalışmam kapsamında birlikte çalışmaya karar verdiğimiz andan itibaren destek ve yardımlarıyla yanımda olan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenterolojisi Bilim Dalı'ndaki hocalarım Sayın Prof. Dr. Halil Haldun EMİROĞLU ve Sayın Doç. Dr. Meltem GÜMÜŞ'e,

Numune toplama sürecim boyunca sorularıma içtenlikle yanıt verip bana yardımcı olan bölüm yan dal uzman doktorlarına ve özverili desteğiyle katkı sunan hemşire Asiye Hanım'a,

Numune toplama sürecinde zorluk yaşadığımız anlarda desteğini esirgemeyerek çalışmamıza önemli katkıları olan ve gerekli vaka sayısına ulaşmamızı sağlayan Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Gastroenteroloji Bölümü'nden Sayın Doç. Dr. Aylin YÜCEL'e,

Bilgi ve tecrübeleriyle tezime büyük katkıları olan Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Muslu Kazım KÖREZ'e,

Tez sürecim boyunca her zaman yanımda olarak zaman ve emeklerini benimle paylaşan kıdemlilerim, başta Dr. Fatma AKAT olmak üzere Dr. Fadime OVALI, Dr. Eissa ALMAGHREBİ, Dr. Firdevs SAK ve Dr. Mohammed BİK'e,

Bu süreçte bana destek olan dönem arkadaşım Dyt. Beyza Nur ÖZKAN'a,

Laboratuvarda bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Muhammed KOYUNCU'ya, Oğuzhan TOK'a, her zaman yardımımıza koşan

kıymetli bölüm sekreterimiz Handan ÇOBANOĞLU'na ve desteklerini gördüğüm tüm tıbbi biyokimya çalışanlarına,

Eğitim hayatımın ilk gününden bu yana, bugün yüksek lisans eğitimimde de maddi ve manevi destekleriyle daima yanımda olan; sevgilerini, dualarını ve desteklerini üzerimden hiç eksik etmeyen, bana her zaman en güzel hayatı sunmak için ellerinden geleni yapan kıymetli babam Mehmet Fikri ALPASLAN'a ve annem Glnur ALPASLAN'a; hayatım boyunca en büyük destekilerimden biri olan canım ablam Beyza ALPASLAN TUNA'ya, değerli eşi Tunahan TUNA'ya ve neşe kaynağımız yeğerim Elif Alya TUNA'ya gönülden teşekkürlerimi sunuyorum.

Nilüfer ALPASLAN
Haziran/2025

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ÖZET	x
SUMMARY	xi
1.GİRİŞ	1
1.1. Çölyak Hastalığı	4
1.1.1. Epidemiyoloji.....	4
1.1.2. Patogenez	5
1.1.3. Sınıflama ve Klinik Bulgular	11
1.1.4. Tanı Kriterleri	14
1.1.5. Tedavi	20
1.2. Endoplazmik Retikulum	21
1.2.1. ER Fonksiyonları	24
1.2.2. Endoplazmik Retikulum Stresi	25
1.2.3. Protein Kalite Kontrol Mekanizması	26
2.GEREÇ VE YÖNTEM	37
2.1. Gereçler	37
2.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri.....	37
2.1.2. Kullanılan Kitler	37
Çalışmada kullanılan ELISA kitlerine ait bilgiler Tablo 5’te listelenmiştir.	37
2.2. Örneklem Seçimi, Veri Toplanması ve Çalışmanın Süresi	37
2.3. Yöntem	39
2.3.1. Serum PERK, IRE1, ATF6 ve Kalneksin Düzeylerinin ELISA yöntemi ile Ölçümü	39
2.4. İstatistiksel Analiz	40
3.BULGULAR	42
3.1. Demografik Özellikler ve Biyokimya Parametreleri.....	42
3.2. Hemogram Parametreleri.....	43

3.3. Plazma Kan Hücrelerinin Oranları	45
3.4. Serum PERK, IRE1, ATF6 ve Kalneksin Düzeyleri.....	45
4.TARTIŞMA	54
4.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları ile Endoplazmik Retikulum Stresi .	55
4.2. Çölyak Hastalığı ve Endoplazmik Retikulum Stresi	63
5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
6.KAYNAKLAR.....	70
7. EKLER.....	78
7.1. EK-A: Etik Kurul Kararı	78
7.2. EK-B: Turnitin Raporu.....	79
8.ÖZGEÇMİŞ.....	82

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT:	Alanin Aminotransferaz
AST:	Aspartat Aminotransferaz
ATF4:	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4
ATF6:	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6
ATF6(N):	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 Aktif Formu
BA:	Bazofil
BiP:	Bağlayıcı İmmüoglobülin
bZip:	Temel Bölge-Lösün fermuarı
CD71:	Transferrin Reseptörü 1
CFTR:	Kistik Fibroz Transmembran İletkenlik Düzenleyicisi
CHOP:	C/EBP-homolog Protein
COPII:	Kaplama Protein Kompleksi II
CXCR3:	C-X-C Motif Kemokin Reseptörü 3
ÇH:	Çölyak Hastalığı
cypB:	Siklofilin B
DER:	Düz Endoplazmik Retikulum
DGP:	Deamine Gliadin Peptid
EGFR:	Epitelyal Büyüme Faktörü Reseptörü
eIF2α:	Ökaryotik Başlatıcı Faktör 2 alfa
EMA:	Anti Endomisyal Antikor
EO:	Eozinofil
ER:	Endoplazmik Retikulum
ERAD:	ER ile İlişkili Yıkım

GADD153:	C/EBP-homolog Protein
GER:	Granüllü Endoplazmik Retikulum
Glc₃Man₉GlcNAc₂:	Glukoz-Mannoz-N-asetil Glukoz
GRP78:	Glukozla Düzenlenen Protein 78
HCT:	Hematokrit
HGB:	Hemoglobin
HERP:	Homosistein Kaynaklı ER Proteini
HLA:	İnsan Lökosit Antijeni
HSP70:	Isı Şok Proteini
İBH:	İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları
IEC:	Bağırsak Epitel Hücreleri
IFN:	İnterferon
IgA:	İmmünoglobülin A
IgG:	İmmünoglobülin G
IEL:	İntraepitelyal Lenfositler
IL:	İnterlökin
IRE1 α:	İnozitol Gerektiren Enzim 1 alfa
KGF:	Keratinosit Büyüme Faktörü
LY:	Lenfosit
MCH:	Ortalama korpüsküler hemoglobin
MCHC:	Ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu
MCV:	Ortalama korpüsküler hacmi
MO:	Monosit
MPV:	Ortalama platelet hacmi

MUC2:	Mucin 2
NE:	Nötrofil
NF-κB:	Nükleer Faktör Kappa B
NK:	Doğal Öldürücü
NRF2:	Nükleer Faktör Eritroit 2-ilişkili faktör 2
OD:	Optik Yoğunluk
PCT:	Prokalsitonin
PDW:	Platelet dağılım genişliği
PERK:	Protein Kinaz RNA Benzeri ER Kinaz
PLC/IP3/IP3R:	Fosfolipaz C/İnozitol trifosfat/İnozitol Trifosfat Reseptörleri
PLT:	Platelet
RBC:	Kırmızı kan hücresi (eritrosit)
RDW:	Kırmızı hücre dağılım genişliği
S1P:	Site 1 Proteaz Enzimi
S2P:	Site 2 Proteaz Enzimi
T2DM:	Tip 2 Diyabet
TCR:	T hücre reseptörü
TH1:	Tip 1 T yardımcı Hücre
TH2:	Tip 2 T yardımcı Hücre
TNF:	Tümör Nekroz Faktörü
TNFR1:	Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü 1
tTG2:	Doku Transglutaminaz 2
UGGT:	UDP-glukoz:glkoprotein Glukoziltransferaz Enzimi
UPR:	Katlanmamış Protein Yanıtı

WBC:	Beyaz kan hücreleri (Lökosit)
XPB1:	X-box Bağlanma Proteini 1
XPB1(s):	X-box Bağlanma Proteini 1 splicing



ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Çölyak Hastalığında Endoplazmik Retikulum Stresinin İncelenmesi

Nilüfer Alpaslan

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ / KONYA-YILI

Çölyak hastalığı (ÇH) genetik yatkınlığı olan bireylerde buğday, arpa ve çavdarda bulunan gluten proteininin alınmasıyla tetiklenen kronik ve sistemik özelliğe sahip yaşam boyu süren bir otoimmün bağırsak enteropatimidir. ÇH yaygın görülen hastalıklardan biridir ve son 40 yılda dünya çapında artmaktadır. Çoğu toplumda ÇH'nin prevalansı %1 civarındadır. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde ÇH prevalansının %0,03-1 olduğu düşünülmektedir. Endoplazmik Retikulum (ER), ökaryotik hücredeki en büyük organel olmakla beraber uzun tübüller ve düzleşmiş disklerden oluşan membranöz bir ağ olarak görünür ve sitoplazma boyunca geniş bir alanı kaplar. ER, protein sentezi ve taşınması, protein katlanması ve işlenmesi, lipid ve steroid sentezi, karbonhidrat metabolizması, kalsiyum depolanması ve detoksifikasyon gibi birçok önemli işlevin gerçekleştirildiği başlıca organeldir. ER sadece düzgün katlanmış proteinlerin diğer hücre zarlarına veya hücresel bölmelere taşınmasını sağlamaktadır. Bu süreç hassas bir şekilde düzenlenmiş olmasına rağmen stres koşulları altında yanlış katlanmış proteinler meydana gelebilir. Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin birikimi ER stresine (ERS) yol açmaktadır. Bu araştırma projesinin amacı, moleküller ve hücresel yaklaşımlar kullanarak, ERS'nin ÇH gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğu spesifik mekanizmaları ortaya çıkarmak, potansiyel terapötik hedeflere ışık tutmak ve bu otoimmün hastalığın altında yatan moleküler yollar hakkında anlayışımızı geliştirerek ERS'nin ÇH patogeneziindeki rolünü araştırmaktır. Çalışmaya 1-17 yaş aralığındaki ÇH teşhisi konmuş 43 çocuk hasta grubu olarak çalışmaya dâhil edilmiştir. Kontrol grubu olarak ise 45 sağlıklı çocuk çalışmaya dâhil edilmiştir. Çölyak hastalarının serum IRE1 ve PERK düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0.001$, $p=0.018$). Serum ATF6 ve kalneksin düzeyleri her iki grup içinde benzerlik göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Çölyak Hastalığı, ER Stresi, Kalneksin, PERK, IRE1, ATF6

SUMMARY

**REPUBLIC OF TÜRKİYE
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE**

**Investigation of Endoplasmic Reticulum Stress in Celiac Disease
Department of Medical Biochemistry**

Nilüfer Alpaslan

MASTER THESIS / KONYA-2025

Celiac disease (CD) is a chronic and systemic lifelong autoimmune intestinal enteropathy triggered by the ingestion of gluten protein found in wheat, barley and rye in genetically predisposed individuals. CD is one of the most common diseases and has been increasing worldwide in the last 40 years. The prevalence of CD is around 1% in most societies. According to the data of the Ministry of Health of the Republic of Türkiye, the prevalence of CD in our country is thought to be 0.03-1%. The Endoplasmic Reticulum (ER) is the largest organelle in the eukaryotic cell and appears as a membranous network consisting of long tubules and flattened discs and covers a large area throughout the cytoplasm. The ER is the main organelle where many important functions such as protein synthesis and transport, protein folding and processing, lipid and steroid synthesis, carbohydrate metabolism, calcium storage and detoxification are carried out. The ER ensures that only properly folded proteins are transported to other cell membranes or cellular compartments. Although this process is precisely regulated, misfolded proteins can occur under stress conditions. The accumulation of unfolded or misfolded proteins leads to ER stress (ERS). The aim of this research project is to elucidate the specific mechanisms by which ERS contributes to the development and progression of CD using molecular and cellular approaches, to shed light on potential therapeutic targets, and to investigate the role of ERS in the pathogenesis of CD by advancing our understanding of the molecular pathways underlying this autoimmune disease. The study included 43 children diagnosed with CD, aged 1–17 years, as the patient group. The control group consisted of 45 healthy children. Serum IRE1 and PERK levels in celiac patients were found to be significantly higher than in healthy controls ($p=.001$, $p=.018$). Serum ATF6 and calnexin levels were similar in both groups.

Key Words: Celiac Disease, ER Stress, Calnexin, PERK, IRE1, ATF6

1. GİRİŞ

Çölyak hastalığı (ÇH) genetik yatkınlığı olan bireylerde buğday, arpa ve çavdarda bulunan gluten proteininin alınmasıyla tetiklenen kronik ve sistemik özelliğe sahip yaşam boyu süren bir otoimmün bağırsak enteropatisidir (Schuppan ve ark 2009).

ÇH yaygın görülen hastalıklardan biridir ve son 40 yılda dünya çapında artmaktadır (King ve ark 2020). Bebeklikte, ergenlikte ve yetişkinlikte olmak üzere her yaşta ÇH gelişebilir. Özellikle yaşlılar arasında daha yaygın hâle gelmektedir. Neredeyse hastaların %20'si 60 yaşın üzerinde tanı almaktadır. Fakat yine de 18 yaş altında olan ve 5 yaşın altında tanı konulan hastalar tüm vakaların yarısından fazlasını oluşturmaktadır (James ve Scott 2001).

Çoğu toplumda ÇH'nin prevalansı %1 civarındadır (Lebwohl ve Rubio-Tapia 2021). Son yıllarda görülen ÇH tanısındaki artışın sebebi (King ve ark 2020) hem artan farkındalık ve testlere (Murray ve ark 2003) hem de otoimmüitedeki artışa bağlanmıştır (Rubio-Tapia ve ark 2009). Besinsel nedenlerin yanı sıra yeni tahıl çeşitlerinin üretilmesinden sorumlu olan teknolojik nedenler de ÇH teşhisinin sayısındaki artışı etkilemiş olabilir (de Lorgeril ve Salen 2014). Ancak bu hipotezler henüz doğrulanmamıştır ve ÇH tanılarındaki riskin gerçek nedeni hâlâ bilinmemektedir.

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı verilerine göre ülkemizde toplumun yaklaşık %0,03-1'inin ÇH'den etkilendiği düşünülmektedir.

Diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi ÇH'de de ailede tekrarlamaya (%10-15) yüksektir ve homozigot ikizler arasında yüksek oranla (%75-80) uyumludur (Lundin ve Wijmenga 2015). Bu durum ÇH'nin kalıtsal bileşenlere sahip olduğunu göstermektedir. Diğer otoimmün hastalıklarla ortak olan bir diğer özelliği ise insan lökosit antijeni (HLA) sınıf II heterodimerlerinin, özellikle de DQ2 ve DQ8'in, ÇH kalıtımında önemli bir rol oynamasıdır. HLA-DQ2 homozigotu, hastalıktan etkilenmiş birinci derece aile üyesi olan bebeklerde erken başlangıçlı ÇH gelişme riskini (%25-30) çok daha yüksek oranda artırmaktadır (Vriezinga ve ark 2014).

Çölyak enteropatisi, adaptif ve doğuştan mekanizmalar da dâhil olmak üzere gluten proteinine karşı karmaşık bir bağışıklık tepkisine bağlıdır. Genetik olarak yatkın kişilerde ince bağırsakta immün aracılı hasara neden olan bu durum, tüketilen glutene karşı uygunsuz bir T hücresi aracılı immün yanıtta kaynaklanmaktadır (Kagnoff 2007). Gluten peptitleri, çölyak olup olmamasına bakılmaksızın, insan bağırsağında zayıf bir şekilde sindirilip, sağlam bir şekilde ince bağırsağın submukozasına geçmektedir. Gluten peptitleri, ince bağırsağın submukozasında, doku transglutaminaz 2 (tTG2) enzimi tarafından deamine edilir. Bu işlem, gluten peptitlerinin HLA DQ2 ve DQ8 moleküllerine yüksek afinite ile bağlanmasını sağlar. Ardından ÇH'ye sahip bireylerde inflamatuvar bir reaksiyonu tetikler (Molberg ve ark 1998).

İnce bağırsağın proksimal mukozasının hasar görmesi besinlerin emiliminin bozulmasına yol açmaktadır. İnce bağırsak mukozası ve submukozasında meydana gelen kronik iltihaplanma ve farklı sistemik semptomların varlığı ÇH ile karakterizedir. Bunlar arasında karın ağrısı, diyare, konstipasyon, malabsorbsiyon ve kilo kaybı yer alabilir. Ancak bazı hastalarda bağırsak dışı semptomlar hatta yalnızca demir eksikliği anemisi gibi spesifik olmayan belirtiler görülebilir (Al-Bawardy ve ark 2017).

Şu ana kadar, glutenin diyetten katı bir şekilde çıkarılması ÇH için mevcut tek tedavidir (Singh ve ark 2018).

Endoplazmik retikulum (ER), tüm ökaryotik hücrelerde bulunan dallanmış tübüller ve tabakalardan (cisterna) oluşan ağ yapıda bir organeldir. Üzerinde ribozomların bulunup bulunmamasına göre Düz ER ve Granüllü ER (ribozomlu) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Düz ER, lipogeneze görevli; granüllü ER proteinlerin sentezi ve olgunlaşmasında görevlidir (Zhang ve ark 2024).

Hücrel proteinlerin yaklaşık üçte biri, translasyon sonrası modifikasyon, katlanma ve oligomerizasyon için ER lümenine taşınmaktadır (Kaufman 1999). ER sadece düzgün katlanmış proteinlerin diğer hücre zarlarına veya hücrel bölmelere taşınmasını sağlamaktadır. Bu süreç son derece düzenlenmiş olmasına rağmen stres koşulları altında yanlış katlanmış proteinler meydana gelebilir. Bu yanlış katlanmış proteinler katlanma sisteminden çıkarılır, ER'den sitozole taşınır, burada ubiquitinlenerek işaretlenir ve ER ile ilişkili yıkım (ERAD) mekanizması aracılığıyla

ubiquitin-proteazom denilen bir süreçle yıkıma uğratılır (Meusser ve ark 2005). Ancak hatalı katlanmış veya katlanmamış proteinler, hipoksi, aminoasit eksikliği, oksidatif stres, ER lümeninde bulunan kalsiyum (Ca^{2+}) depolarında meydana gelen değişiklikler gibi durumlarda ER'nin fonksiyon kapasitesini aşacak kadar birikmesine neden olabilir. Bu durum organizma için toksik olabilecek ER stresi (ERS) durumunu tetiklemektedir (Ron ve Walter 2007, Smith ve ark 2011).

Hücreler, ER'de protein katlanmasının dengesizleşmesi durumunda bu sorunu çözebilmek için "Katlanmamış Protein Yanıtı (UPR)" olarak adlandırılan özel bir sinyal iletim sistemi geliştirmiştir. UPR, temel olarak ER'de stres oluştuğunda devreye giren ve hücrenin dengesini yeniden sağlamak amacıyla çeşitli tepkileri başlatan bir sinyal yoludur. UPR sinyal yolu, temel olarak ER membranına bağlı üç farklı sensör protein tarafından düzenlenmektedir. Bunlar sırasıyla İnozitol Gerektiren Enzim 1 alfa ($IRE1\alpha$), Protein kinaz RNA benzeri ER kinaz (PERK) ve Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6 (ATF6)'dır. ER'de bulunan şaperon protein BiP (Bağlayıcı İmmüoglobülin Protein, GRP78), bu üç sensör ile katlanmamış ya da katlanmayı bekleyen proteinler arasında hassas bir denge kurar. Ancak ER'de katlanmamış proteinlerin birikmesi, bu dengeyi bozar ve BiP'in sensör proteinlerden ayrılmasına yol açar. Bu ayrılma, ER stresine karşı başlatılan yanıt mekanizmalarının yani UPR'nin devreye girmesine neden olur (Bhattacharjee ve ark 2021). Aynı zamanda ER membran proteinlerinden olan kalretikulin, kalneksin ve ERp57 gibi şaperon proteinler yeni sentezlenen proteinlerin üç boyutlu yapılarına doğru şekilde ulaşmalarını ara formları stabilize ederek, katlanma sürecini yavaşlatarak ve hatalı katlanma ile agregasyonları önleyerek destekler (Bedard ve ark 2005).

Hücrelerin ERS'ye yanıt verme yeteneği, hücrenin hayatta kalabilmesi için oldukça önemlidir. Ancak kronik veya çözülmemiş ERS apoptozis ile sonuçlanmaktadır (Tabas ve Ron 2011).

Bu araştırma projesinin amacı, moleküller ve hücrenin yaklaşımlar kullanarak, ERS'nin ÇH gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğu spesifik mekanizmaları ortaya çıkarmak, potansiyel terapötik hedeflere ışık tutmak ve bu otoimmün durumdaki altta yatan moleküler yolaklar hakkında anlayışımızı geliştirerek ERS'nin ÇH patogeneziindeki rolünü araştırmaktır.

1.1. Çölyak Hastalığı

Çölyak Hastalığı (ÇH)'nin bilinen ilk tanımı Antik Yunan'a kadar dayanmaktadır. Çölyak ismi Yunanca karın anlamına gelen koiliakós kelimesinden türetilmiştir. Fakat Çölyak ismi 1940'lı yıllara kadar buğday ile ilişkilendirilmemiştir (Iversen ve Sollid 2023). Gluten alımı ile ÇH'nin ortaya çıkması arasındaki ilk ilişki ise 1950'lerde başlamıştır (Valitutti ve ark 2019).

ÇH genetik olarak yatkın bireylerde gliadin ve diğer ilgili prolaminlerin alımıyla tetiklenen bir bağırsak enteropatidir (Chibbar ve Dieleman 2019). Başlangıçta gluten içeren besinlere karşı aşırı duyarlılık olarak tanımlansa da günümüzde artık romatoid artirit ve tip 1 diyabet (T1DM) gibi dokuya özgü otoimmün hastalıklarla birçok benzerlik gösterdiği bilinmektedir. Bu otoimmün özellikler arasında güçlü bir HLA ilişkisi, spesifik otoantikorların üretimi ve enterositlerin immün aracılı öldürülmesi yer almaktadır. Ama ÇH yalnızca dışarıdan alınan bir faktöre maruz kalındığında ortaya çıktığı için diğer otoimmün hastalıklar arasında benzersizdir. Bu yabancı patojenik uyaran ise gluten olarak bilinen ve buğday, çavdar, arpa gibi tahıllarda bulunan bir tür proteindir (Iversen ve Sollid 2023).

1.1.1. Epidemiyoloji

Geçmiş birkaç on yıl öncesine kadar ÇH'nin çoğunlukla çocukları etkileyen ve Avrupa kökenli bireylerle sınırlı nadir bir hastalık olduğu düşünülmekteydi. Fakat Afrika, Orta Doğu, Asya ve Güney Amerika gibi ÇH'nin görülmediği varsayılan bölgelerde yapılan epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın daha önce eksik teşhis edilmiş olduğunu göstermektedir (Gujral ve ark 2012). Bu durum, ÇH'nin hem çevresel (gluten) hem de genetik (HLA ve HLA dışı genler) faktörlerden kaynaklanan en yaygın genetik hastalıklardan biri olduğuna dair kanıt sağlamaktadır. Son 20 yılda ise ÇH önemli bir halk sağlığı sorunu hâline gelmiştir (Singh ve ark 2018).

Epidemiyolojik çalışmalar, gelişmekte olan ülkeler de dâhil olmak üzere son yıllarda ÇH insidansının arttığını öne sürmektedir (Aziz ve ark 2015). Ancak, Finlandiya gibi bazı Kuzey Avrupa ülkelerinde, ÇH insidansında bir artış döneminden sonra 21. yüzyılda sabitlendiği görülmektedir (Virta ve ark 2017).

ÇH prevalansı cinsiyet, yaş ve yerleşim yerine göre değişiklik göstermektedir. Sistematik bir inceleme ve meta-analizde, ÇH'nin dünya çapında görüldüğü ve serolojik test sonuçlarına göre ÇH prevalansının %1,4, biyopsi sonuçlarına göre ise %0,7 olduğu bildirilmiştir. ÇH için prevalans değerleri Güney Amerika'da %0,4, Afrika ve Kuzey Amerika'da %0,5, Asya'da %0,6, Avrupa'da %0,8 olduğu görülmüştür. Ayrıca kadınlarda erkeklere göre (%0,6'ya %0,4) çocuklarda ise yetişkinlere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu (%0,9'a %0,4) bildirilmiştir (Singh ve ark 2018). ÇH'ye yatkınlık sağlayan genlerin düşük sıklıkta görüldüğü ve gluten tüketiminin az olduğu Sahra altı Afrika ve Japonya hariç genel popülasyonda ÇH görülme oranının %0,5-1 olduğu bildirilmiştir (Singh ve ark 2016). Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde ÇH'nin yaygınlığı yaklaşık olarak %1'dir. Kuzey Afrika ve Orta Doğu'da da gittikçe yaygınlaşmaktadır (Di Sabatino ve ark 2012).

ÇH prevalansının, ÇH olan birinci derece akrabalarda (%10-15), down sendromlu bireylerde, T1DM'li bireylerde ve IgA eksikliği olan hastalarda daha yüksek olduğu görülmüştür (Fasano ve Catassi 2012). Yakın zamanda yapılan retrospektif bir çalışma da, taranan birinci derece akrabalarda ÇH prevalansının yüksek olduğu (%44) ve pozitif sonuçları olan kişilerin %90'ından fazlasında ise genel semptomların veya hiçbir semptomun olmadığı görülmüştür (Nellikal ve ark 2019).

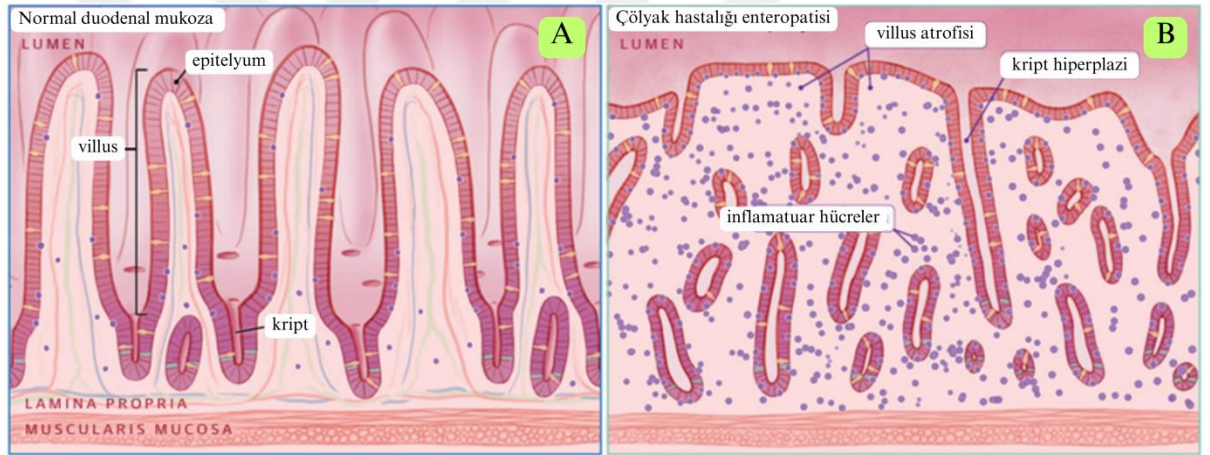
Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı 2024 verilerine göre Türkiye'de toplumun %0,03 ila 1'inin ÇH'den etkilendiği düşünülmektedir. Bu da ülkemizde 250 bin ila 850 bin arasında çölyak hastası olduğunu göstermektedir. Fakat ÇH'nin klinik belirtilerinin çok geniş bir yelpazeye sahip olması ve herhangi bir bulgu olmaksızın da (atipik) gelişebilmesinden dolayı Türkiye'de Kasım 2023 yılına kadar yalnızca 166.614 kişiye ÇH tanısı konulmuştur.

ÇH insidansındaki artışın, "Diyetin Batılılaşması" olarak adlandırılan beslenme geçişiyle paralel olarak meydana geldiği gözlemlenmiştir (Caballero 2002). Bunun sonucunda ise bağırsak membranı geçirgenliğinin değişmesiyle bağışıklık sisteminin aşırı uyarılmasına yol açabileceği düşünülmektedir (Pes ve ark 2019).

1.1.2. Patogenez

- **Çevresel Faktörler**

ÇH'nin tam nedeni bilinmemekle birlikte bazı tahıllarda bulunan glutene maruz kalma en önemli çevresel faktördür. Hastalığın patogeneğinde glutenin bağırsak mukozasıyla temasında aşırı bir bağışıklık reaksiyonuyla tetiklenmesi ve bağırsak ve/veya bağırsak dışı semptomlarla karakterize olması durumu vardır. ÇH'ye yatkın bireylerin üst ince bağırsak mukozasının glutene maruz kalması, bağırsak geçirgenliğinde bir artışa neden olmakta ve ardından doğuştan gelen adaptif bağışıklık yanıtını içeren immün aracılı bir reaksiyon gelişmektedir (Valitutti ve Fasano 2019). Glutenin ince bağırsağı etkilemesiyle bağırsak mukozası kısmi ile tam atrofiye, kript hiperplazisine ve sürekli lenfosit infiltrasyonuna neden olmaktadır (**Şekil 1.1.**) (Abadie ve ark 2020).



Şekil 1.1. A. Normal duodenal mukoza, B. Çölyak Hastalığında görülen duodenal mukoza. Normal 3:1 villus-kript oranına sahip mukoz (A) ve ÇH'nin yapısal özelliklerini gösteren mukoz (B). Leonard ve ark'dan modifiye edilmiştir (Leonard ve ark 2017).

Çölyak hastalarında gluten toksisitesi, gliadin peptidlerindeki prolin ve glutamin seviyelerinin yüksek olması ve proteolitik enzimlere karşı inhibitör işlevi olan tTG2'ye olan bağlanma afinitesinin yüksek olması ile açıklanabilir (Galipeau ve Verdu 2014).

Hastalık başlangıç yaşı, mukozal hasarın derecesi, beslenme alışkanlıkları ve cinsiyet gibi özellikler hastalığın klinik görünümünü etkilemektedir (Bai ve ark

2005). Yüksek düzeyde gluten tüketimi (günlük 20 gram), yaşam tarzı ve beslenme, doğum şekli, yenidoğan enfeksiyonları, antibiyotikler, bağırsak mikrobiyomu disbiyozu gibi faktörlerin de ÇH gelişimine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Caio ve ark 2019).

- **Genetik Faktörler**

ÇH'nin patogeneğinde genetik bir katkı olduğunu destekleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Hastalığa duyarlılığı belirleyen genetik faktörler henüz tam olarak anlaşılacakla beraber tanımlanan en önemli genetik faktör, HLA lokusudur. HLA-DQ2 haplotipi, etkilenen hastaların çoğunluğunda (%90) ekspresyon gösterirken, DQ8 haplotipi %5'inde ve %5'lik bir grup ise en az bir DQ2 allelini taşımaktadır (Greco ve ark 2002, Abadie ve ark 2011). Bu haplotipler, gluten proteinlerine karşı inflamatuvar CD4+ tip 1 T yardımcı hücre (Th1) bağışıklık yanıtını tetiklemektedir. Ayrıca, Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları, ÇH ile ilişkili 100'den fazla HLA ile ilişkili olmayan gen tanımlanmıştır (Lundin ve Wijmenga 2015). Bu da ÇH'yi çok genli (poligenik) bir özelliğe sahip hastalık haline getirmektedir.

HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 genleri hastalık kalıtımının yaklaşık %40'ını oluşturmaktadır. Bu heterodimerler ÇH gelişimi için gereklidir ancak yeterli değildir (Aboulaghras ve ark 2022). Her iki genin de yokluğu yüksek negatif bir prediktif değere sahiptir ve hastalığı dışlamaktadır (Pietzak ve ark 2009). HLA-DQ2/DQ8 genleri genel popülasyonda sık (%25-35) görülmektedir. Fakat bu bireylerin sadece %3'ü ÇH geliştirmektedir (Withoff ve ark 2016). Bu durum HLA-DQ2/DQ8 genlerinin sağlıklı bireylerde de yaygın olarak görüldüğünü ve ÇH gelişiminde başka faktörlerin de rolü olması gerektiğini göstermektedir. ÇH'ye karşı genetik kırılganlığın geri kalan %60'lık kısmı her birinin küçük bir rolü olduğu düşünülen bilinmeyen sayıda HLA dışı gen arasında dağılmıştır (Dubois ve Van Heel 2008).

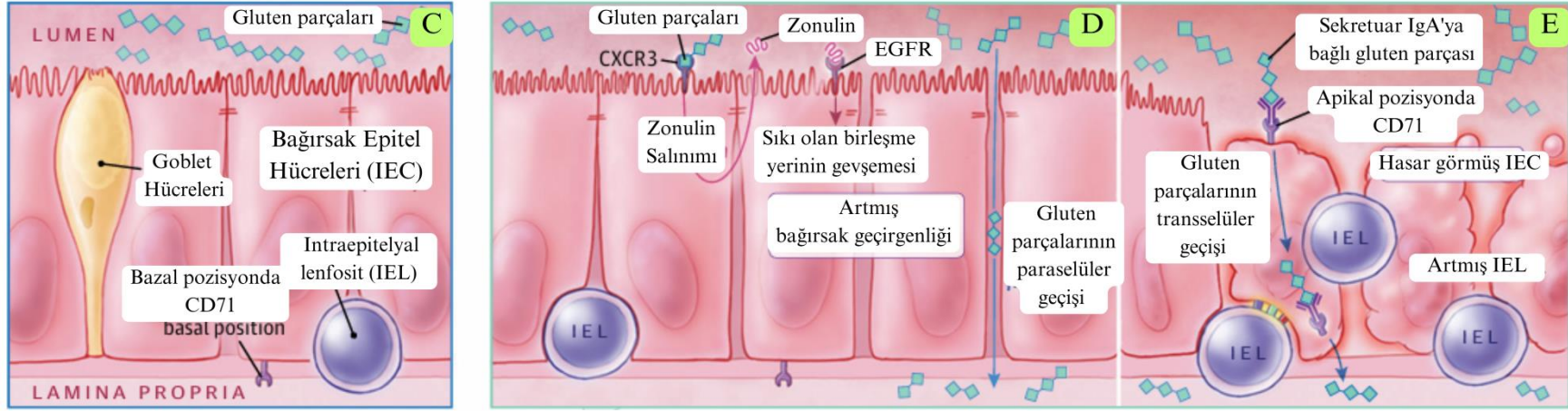
- **İmmünolojik faktörler**

Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları, ÇH'de adaptif bağışıklık sisteminin önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur.

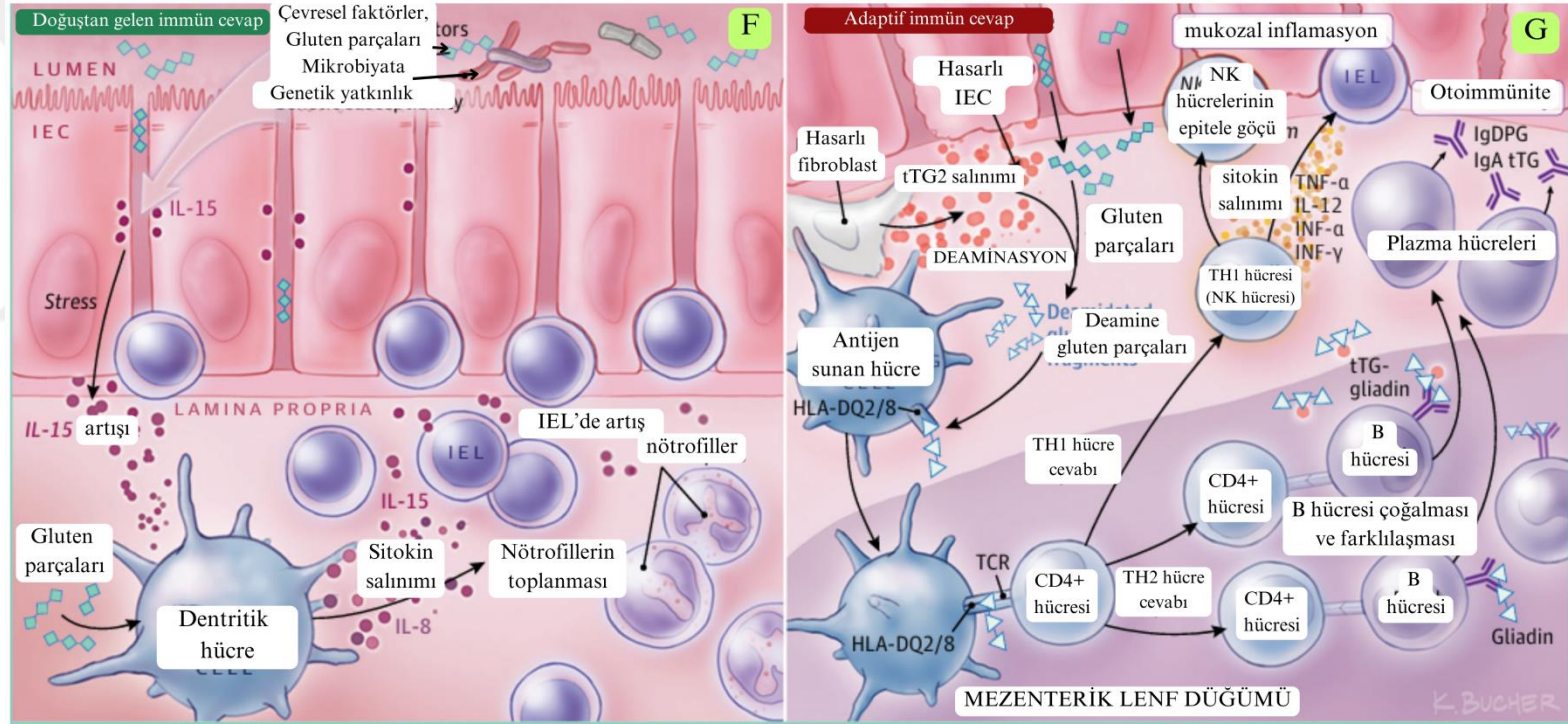
Gluten yüksek oranda glutamin (%30) ve prolin (%15) aminoasitlerini içermektedir. Yüksek prolin içeriği, gluteni gastrointestinal enzimler tarafından

parçalanmaya karşı oldukça dirençli hale getirir. Bağırsaklarda gerçekleşen kısmi sindirim sonucunda, sindirimi hasarsız atlatan α -gliadin kalıntısı 33 aminoasitlik bir peptit dizisidir. Bu 33 aminoasitlik immünojenik gluten peptitleri epitel bariyerinden geçer ve lamina propriada bulunan antijen sunan hücelere ulaşır (Shan ve ark 2002, Shan ve ark 2005). Interlökin-15 (IL-15) ve interferon-alfa (IFN- α) gibi sitokinler dendritik hücrelerin ve intraepitelyal lenfositlerin doğuştan bağışıklık yanıtını harekete geçirebilir. Gliadin peptitlerinin epitelial büyüme faktörünü ve IL-15'e bağlı enterosit çoğalmasını tetikleyebileceği, böylece bağırsak hücrelerinde yapısal değişiklikler, veziküler taşımada bozulmalar, sinyal iletimi ve hücre çoğalması ile birlikte stres ve doğuştan bağışıklık aktivasyonuna yol açabildiği gösterilmiştir (Kim ve ark 2015). Bu mukozal olaylar, gliadin aracılı zonulin salınımına bağlı olarak epitel bariyer fonksiyonunun bozulmasıyla birlikte, bağırsak lümeninden lamina propriaya kadar sindirilmemiş peptitlerin geçişine neden olmaktadır. Epitel bariyeri geçen gliadin IL-8 üretimi yoluyla nötrofil çekilimini teşvik ederek veya doğrudan nötrofil kemotaktik etki göstererek, çölyak hastası bireylerde glutene karşı tolerans kaybına yol açmaktadır (**Şekil 1.2.**) (Leonard ve ark 2017).

Aynı zamanda CD4+ T hücrelerinin lamina propriada glutenle temas etmesi, bu hücrelerin aktivasyonuna ve proliferasyonuna yol açmaktadır. Bunun sonucunda stromal hücreler tarafından proinflamatuvar sitokinler, keratinosit büyüme faktörü (KGF) ve metalloproteinazlar üretilir. Bu durum, intraepitelyal lenfositler (IEL) tarafından bağırsak epitel hücrelerinin (IEC) ölümüne neden olarak kript hiperplazisi ve villusların yassılaşması ile sonuçlanır (Pagliari ve ark 2015). Ek olarak, aktif çölyak hastalarının enterositlerinde IL-15'in aşırı ekspresyonu, CD3+ IEL'lerde doğal öldürücü (NK) hücre reseptörleri olan CD94 ve NKG2D'nin aşırı ekspresyonuna neden olmaktadır (**Şekil 1.3.**) (Hue ve ark 2004).



Şekil 1.2. (C) Sıkı bağlantıları sağlam olan ve CD71(Transferrin Reseptörü 1) reseptörünü intestinal epitel hücrelerinin bazal membranında ifade eden yapılar. (D)Sindirilmemiş gluten parçacıkları CXCR3 (C-X-C motif kemokin reseptörü 3) reseptörüne bağlanır, ardından zonulin salınımı gerçekleşir ve gluten parçacıklarının parasellüler geçişi artar. EGFR: epitelyal büyüme faktörü reseptörü. Bu şekil Leonard ve ark'dan modifiye edilmiştir (Leonard ve ark 2017).



Şekil 1.3. Çölyak hastalığında meydana gelen immün cevap. Genetik olarak yatkın bireylerde, lamina propria'da gluten parçacıklarının bulunması doğuştan gelen bir bağışıklık tepkisini tetikler (F) ve hasar görmüş hücrelerden doku transglutaminazının (tTG) salınmasıyla sonuçlanır. Deamidasyona uğramış gluten parçacıkları CD4+ T hücrelerine sunulur (G); bunun sonucunda, B hücresi proliferasyonuna yol açan TH2 yanıtı ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımına, doğal öldürücü (NK) hücrelerin bağırsak epiteline göçüne, intraepitelyal lenfosit (IEL) artışına neden olan TH1 yanıtı aktive olur. Sonuç olarak, bağırsak epitel hücrelerinin (IEC) zarar görmesi ve IEC'nin apikal yüzeyinde CD71 ekspresyonu ile birlikte gluten parçacıklarının transsellüler yolla ek geçişi meydana gelir. EGFR: epitelyal büyüme faktörü reseptörü; IL: interlökin; IFN: interferon; KGF: keratinosit büyüme faktörü; TCR: T hücre reseptörü. Bu şekil Leonard ve ark'dan modifiye edilmiştir (Leonard ve ark 2017).

1.1.3. Sınıflama ve Klinik Bulgular

Oslo'nun 2011'de yaptığı tanıma göre, ÇH klasik (tipik), atipik, asemptomatik, latent, potansiyel ve refrakter olarak sınıflandırılmaktadır (Ludvigsson ve ark 2013).

- **Klasik (Tipik) Çölyak Hastalığı**

Klasik ÇH bebek ve çocuklarda sık görülmekle beraber klinik belirtileri arasında büyüme geriliği, yaşa göre düşük ağırlık ve boy, steatore, karın şişliği, kalça erimesi ve hipoalbuminemi (obezite, ÇH tanısını dışlamamaktadır) yer almaktadır. Biyopsi ile elde edilen histopatolojik inceleme sonucunda villus atrofi ve kript hiperplazisi gözlemlenmektedir (Tully 2008, Ludvigsson ve ark 2013).

- **Atipik Çölyak**

Atipik tip ÇH'de az veya hiç sindirim sistemi semptomu görülmeksizin, dışa bağımlı semptomların baskın olduğu bir klinik tablo ile karakterizedir. Genellikle, atipik formlar daha büyük çocuklar ve yetişkinlerde meydana gelmektedir (Parzanese ve ark 2017).

- **Asemptomatik (Sessiz) Çölyak**

Asemptomatik ÇH'de serolojik ve histolojik anormallikler görülmektedir. Genellikle ailede ÇH öyküsü bulunan, T1DM, romatoid artirit gibi otoimmün hastalıklar ve down, williams ve turner sendromları gibi genetik bozukluklar ile birlikte gözlemlenmektedir (Parzanese ve ark 2017).

- **Latent Çölyak**

Latent ÇH, gluten içeren diyetle beslenmelerine rağmen asemptomatik ÇH olan bireylerde gözlemlenmektedir. Bu ÇH'de serolojik testler pozitif ancak villöz atrofi veya diğer doku anormallikleri tespit edilmemektedir. Bu hastalarda yükselmiş endomisyal antikor varlığının, hastalığın ilerlemesinin en önemli prediktörlerinden biri olabileceği öne sürülmektedir (Troncone ve ark 1996).

- **Potansiyel Çölyak**

Potansiyel ÇH, hiçbir çölyak tanısı almamış, ÇH için uygun genetik yatkınlığa (HLA-DQ2/DQ8) ve pozitif serolojiye sahip ama histolojisi normal veya hafif anormal olan bireyleri kapsamaktadır (Parzanese ve ark 2017).

- **Refrakter Çölyak**

12 aydan uzun süre sıkı bir glutensiz diyet uygulandığı hâlde malabsorpsiyonun sebep olduğu semptom ve bulguların (karın ağrısı, diyare, kilo kaybı, düşük hemoglobin ve hipooalbüminemi) devam etmesi, dirençli veya tekrarlayan villus atrofisi, villus atrofisine neden olacak malignite gibi başka komplikasyonların bulunmadığı ve başlangıçtaki ÇH tanısı doğrulanan hastaları kapsamaktadır. Bu durum, uygulanan glutensiz diyetin süresine bakılmaksızın şiddetli ve dirençli semptomları içermektedir (Ludvigsson ve ark 2013). Genelde refrakter çölyakta EMA (anti endomisyal antikor) ve tTG2 antikorları negatiftir. Ancak dolaşımdaki EMA ve/veya tTG2 antikorlarının yüksek titrelerinin devam etmesi refrakter ÇH'yi kesin olarak dışlamamaktadır (Vahedi ve ark 2003).

- **Klinik Bulgular**

ÇH kendini gastrointestinal ve ekstraintestinal semptomlar ile gösterebilir veya hiçbir semptom belirtisi göstermeyebilir. Sık görülen semptomlar arasında diyare, steatore ve malabsorpsiyona bağlı kilo kaybı gibi gastrointestinal sistemle ilgili semptomlar yer almaktadır. Çölyak hastalarının yaklaşık %50'sinde anemi, osteoporoz, dermatitis herpetiformis, nörolojik sorunlar ve diş minesini hipoplazisi gibi ekstraintestinal veya atipik semptomlar görülebilir (Rampertab ve ark 2006). ÇH'de hemen hemen her vücut sistemi etkilenebilir, ancak en sık dermatolojik, hematolojik, nörolojik, kas-iskelet, endokrin, üreme ve sindirim sistemleri tutulmaktadır. Hastaların çoğu glutensiz diyet ile tedaviye iyi yanıt verse de, teşhis edilmeyen veya tedavi edilmeyen ÇH artmış mortalite ve intestinal lenfoma riski ile ilişkilidir (Catassi ve ark 2005).

Çocuklarda görülen ÇH'nin üç ana belirtisi, abdominal distansiyon, diyare ve büyüyüp gelişememe durumudur (Al-Bawardy ve ark 2017). Çocukların %90'ının karın ağrısı ile başvurması ve %50'den fazlasının kilo kaybı, diyare, halsizlik, bulantı veya kusma ile başvurması beklenmektedir (Rashid ve ark 2005). Gastrointestinal semptomlar üç yaşın altındaki çocuklarda baskınken, demir eksikliği anemisi, boy kısalığı, duyu durum bozuklukları ve alopesi areata gibi ekstraintestinal belirtiler daha büyük çocukların tipik şikayetlerindedir (Telega ve ark 2008).

Yetişkinler de çeşitli semptomatoloji ile hastaneye başvurabilir. Yemek sonrası karın ağrısı, şişkinlik, kronik ishal ve steatore gibi tipik gastrointestinal

şikâyetleri yaygın olsa da, ÇH'nin ilk belirtileri genellikle gastrointestinal bulguların olmadığı veya subklinik olduğu ekstraintestinaldır (Guandalini ve Assiri 2014). Bu semptomlar sıklıkla bir veya daha fazla mikro besin ögesinin kronik malabsorpsiyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Yorgunluk, kişide anemi olmasa bile ÇH'nin yaygın bir semptomudur (Skowera ve ark 2001).

Kronik malabsorpsiyon nedeniyle hastalar demir, folat, B12 veya diğer besin eksikliği anemileriyle veya bunların kombinasyonu ile hastaneye başvurabilir (Halfdanarson ve ark 2007). ÇH'nin diğer olası klinik tabloları arasında tekrarlayan akut pankreatit ve intussusepsiyon (invajinasyon) yer almaktadır (Sadr–Azodi ve ark 2012). ÇH'nin tipik dermatolojik bulgusu dermatitis herpetiformistir ve çoğunlukla ekstansör yüzeylerde görülen kaşıntılı veziküler bir döküntüdür (Jakes ve ark 2014). Daha az sıklıkla görülen diğer deri bulguları arasında psoriasis, alopesi areata ve kronik ürtiker yer almaktadır (Caproni ve ark 2012).

Endokrin bulgular arasında boy kısalığı, osteoporoz ve infertilite bulunmaktadır (Fisher ve ark 2008). Çölyak hastalarında psikiyatrik olarak yüksek depresyon, anksiyete ve halüsinasyon oranları belirtilmiştir (Guandalini ve Assiri 2014). Nörolojik belirtiler ise periferik nöropati, serebellar gluten ataksisi, çocuklarda konvülsiyon ve bilişsel bozukluk olarak literatürde yer almaktadır (Freeman 2008). ÇH'de görülen klinik bulgular genel olarak **Tablo 1.1.**'de gösterilmiştir (Al-Bawardy ve ark 2017).

Tablo 1.1. Çölyak Hastalığında Görülen Klinik Bulgular (Al-Bawardy ve ark 2017).

Endokrin	Gastrointestinal	Hematolojik
-İnfertilite -Kısa Boy -Osteoporoz	-Diyare -Karın ağrısı -Steatore -Konstipasyon -Şişkinlik -Transaminitler -Oral aftöz ülser -Diş minesini kusurları	-Anemi -Tromboembolizm -Trombositoz -Lökopeni
Kas-iskelet Sistemi		
-Artrit/artraljiler		
Cilt	Nörolojik	Psikiyatrik
-Dermatitis herpetiformis -Ürtiker -Sedef -Atopik dermatitis -Alopesi areata	-Konvülsiyon -Periferik nöropati -Demans/bilişsel bozukluk -Serebellar (gluten) ataksi	-Depresyon -Anksiyete -Artan intihar riski

1.1.4. Tam Kriterleri

Çölyak hastalığı teşhisinde genellikle ilk önce serolojik testler yapılmaktadır (Reif ve Lerner 2004). Serolojik testin duyarlılığını en üst düzeye çıkarmak için hastalar, gluten içeren normal bir diyet uygulamaktadır. Uygulanan serolojik testler:

- tTG2 immünoglobülin A (IgA), tTG2 immünoglobülin G (IgG),
- EMA-IgA testi,
- Deamine gliadin peptid (DGP) -IgA ve DGP-IgG testleri

1997 yılında tTG2, ÇH'nin otoimmün yanıtının ve endomizyal spesifik antikorların hedefi olan otoantijen olarak tanımlanmıştır (Dieterich ve ark 1997,

MÄKI 1997). tTG2, ÇH için tanısal bir biyobelirteç olmakla birlikte hastalığın etiolojisinde de rol oynamaktadır (Reif ve Lerner 2004). tTG2, translasyon sonrası protein modifikasyonunu katalize eden kalsiyum bağımlı indüklenebilir bir enzimdir ve inflamasyon sırasında hücreler tarafından üretilmektedir (Fesus ve Piacentini 2002). tTG2'nin ÇH'de glutenin immünostimülatör etkisini artıran bir deamidasyon enzimi ve bağışıklık tepkisinde hedef antijen olarak görev alması gibi en az iki önemli işlevi olduğu düşünülmektedir (Di Sabatino ve ark 2012). tTG2, 686 amino asit içerir (76 kD) ve birçok fizyolojik işlevi vardır. tTG2 neredeyse tüm hücre tiplerinde bulunur ve genellikle hücrede enzimatik olarak inaktif bir durumda depolanır (Martinez ve ark 1994). Aktif ÇH vakalarının çoğunda tTG2 enzimine karşı IgA antikorları artmaktadır. Bu antikor için test yapılması büyük çocuklarda ve yetişkinlerde önerilen tarama prosedürüdür (Rostom ve ark 2005). Bunun istisnası IgA eksikliği olan hastalardır. Eğer IgA eksikliği varsa IgG ile test edilmelidir (Rubin ve Crowe 2020).

Yıllarca EMA-IgA tedavi edilmemiş hastalarda neredeyse %100 özgüllük ile en iyi serolojik belirteç olarak kabul edilmektedir (Aboulaghras ve ark 2022).

Toplam 60 çalışma ve 13 sistematik çalışmayı inceleyen büyük sistematik bir incelemede, tTG2-IgA serum antikor işaretleyicisinin yüksek hassasiyete (%92,5) ve özgüllüğe (%97,9) sahip olduğu bildirilmiştir (Maglione ve ark 2016). tTG2 antikorunu ile homolog olan proteini tespit eden (Dieterich ve ark 1997) EMA-IgA antikorunun duyarlılığı ise (%90) daha düşük ancak özgüllüğünün (%99) yüksek olduğu bildirilmiştir (Maglione ve ark 2016). Yüksek bir özgüllüğe sahip olmasına rağmen, EMA-IgA testi pahalı ve zaman alıcıdır. Ancak ona eşdeğer tTG2-IgA daha ucuz ve uygulaması daha kolaydır (Lebwohl ve ark 2012). DGP-IgA antikorları %80-98 arasında değişen hassasiyete ve %86-96 arasında değişen özgüllüğe sahip olduğu bulunmuştur (Giersiepen ve ark 2012). Serolojik testler hakkındaki genel bilgiler **Tablo 1.2.**'de verilmiştir (Leonard ve ark 2017).

tTG2, gluten türevi gliadin peptitlerinin enzimatik modifikasyonunu yapabilen, hastalığındaki en önemli patojenik faktörlerden biridir. Birkaç çalışma, tTG2'nin gliadindeki spesifik glutaminlerin deamidasyonunu indükleyerek negatif bir yük taşımasını sağladığını, böylece hastalığa duyarlı HLA DQ2 ve DQ8 molekülleriyle bağlanma afinitesini geliştirerek gliadini daha immünojenik hâle

getirdiğini göstermiştir (Sollid ve Jabri 2011).

tTG2'nin deamidasyon etkisi pH'daki artış ile inhibe olabildiğinden, tTG2'nin deamidasyon etkisinin zayıf asidik bir ortamda ortaya çıkma olasılığının daha yüksek olabileceği belirtilmiştir (Fleckenstein ve ark 2002). İnflamasyon varlığında bağırsak mukozasında tTG2 miktarı artar ve ince bağırsağın zayıf asidik ekstraselüler ortamı, gliadinin tTG2 katalizli deamidasyonunu uyarabilir (Villanacci ve ark 2009). Bununla birlikte, gluten düşük pH'lı endolizozomal kompartmanlarda hücre içinde deamine olabilir (Yao ve ark 2024).

Lizin aminoasiti bir glutamin alıcısıdır ve lizin eksikliğinde yada bağırsakta meydana gelen ve pH düşüklüğüne sebep olan inflamasyon durumlarında tTG2 substrat proteinde yalnızca hedef glutamini deamidasyona uğratarak nötral glutamini negatif yüklü glutamine dönüştürür (Aboulaghras ve ark 2022).

Tablo 1.2. Çölyak Hastalığı İçin Güncel Serolojik Testlerin Duyarlılığı, Özgüllük Aralığı ve Kullanımı (Leonard ve ark 2017).

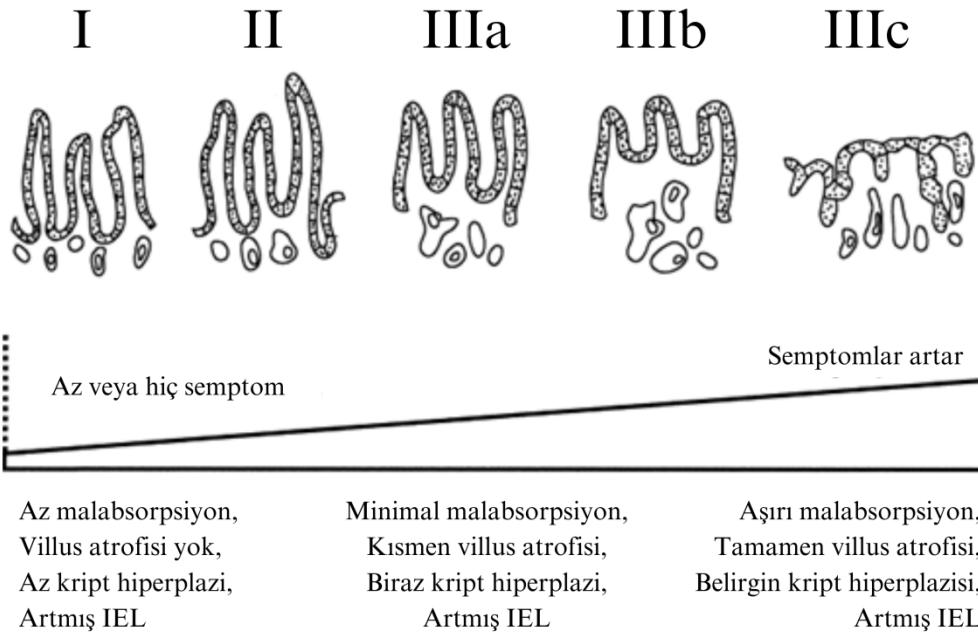
Serolojik test	Hassasiyet (Duyarlılık)	Özgüllük	Klinikte uygulama
tTG-IgA	% 73.9-100	% 77.8-100	Çölyak hastalığını taramak için birinci basamak test (Başlangıçta IgA eksikliği olmadığından emin olmak için bazal IgA düzeyi ile gönderilmelidir).
DGP-IgG	% 80.1-96.9	% 86.0-96.9	IgA eksikliği olan hastalarda çölyak hastalığı için birinci basamak test.
EMA-IgA	% 82.6-100	% 94.7-100	Çölyak hastalığını taramak için ikinci basamak doğrulayıcı test.
tTG-IgG	% 12.6-99.3	% 86.3-100	IgG DGP ile karşılaştırıldığında düşük duyarlılığından dolayı rutin kullanım için önerilmez.
DGP-IgA	% 80.7-95.1	% 86.3-93.1	IgA tTG ve IgA EMA ile karşılaştırıldığında düşük duyarlılık ve özgüllük nedeniyle rutin kullanım için önerilmez.

ÇH'de meydana gelen bağırsak lezyonları hastalığın ayırt edici bir özelliğidir. Bu yüzden bağırsak biyopsisinin incelenmesi tanı için önemlidir. Meydana gelen bağırsak lezyonu villus yapılarının küntleşmesi ve kriptlerin hiperplazisi ile karakterizedir (**Şekil 1.4.** ve **Şekil 1.5.**) (Marsh ve Crowe 1995).

Güncel kılavuzlar pozitif çölyak spesifik serolojik test ve villöz anormallikler gösteren ince bağırsak biyopsi örneklerinin kombinasyonu ile tanının konulmasını önermektedir (Husby ve ark 2012). Amerikan Gastroenteroloji Koleji'nin klinik kılavuzlarına göre birinci derece aile üyesinde biyopsi ile doğrulanmış ÇH varsa testin düşünülmesi gerektiğini belirtmektedir (Rubio-Tapia ve ark 2013). ÇH histolojik olarak Marsh tarafından sınıflandırılmış ve 1999 yılında Marsh-Oberhuber tarafından değiştirilmiştir (**Tablo 1.3.**) (Oberhuber ve ark 1999).

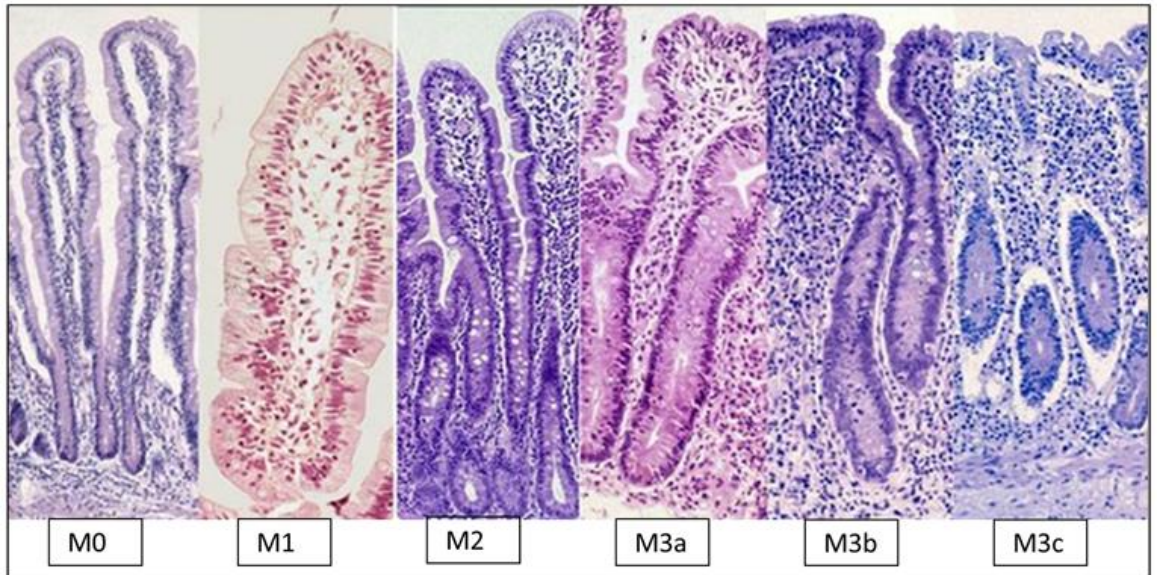
Tablo 1.3. Çölyak Hastalığının Histolojik Sınıflaması

Tip	İntraepitelyal lenfositler/100 enterosit	Kript hiperplazisi	Villus
0	<40	Normal	Normal
I	>40	Normal	Normal
II	>40	Artmış	Normal
IIIa	>40	Artmış	Hafif atrofi
IIIb	>40	Artmış	Orta derecede atrofi
IIIc	>40	Artmış	Tam atrofi



IEL: İntraepitelyal lenfositler

Şekil 1.4. Çölyak hastalarında gözlenen malabsorpsiyonun derecesi ve klinik semptomların şiddeti, sıklıkla ince bağırsak mukozasında oluşan histopatolojik hasarın düzeyiyle orantılıdır. Bu mukozal hasar, Marsh histolojik hasar skorlamasına göre evre I'den evre IIIc'ye kadar sınıflandırılmaktadır. Bu şekil Rostom ve ark'dan modifiye edilmiştir (Rostom ve ark 2006).



Şekil 1.5. Marsh modifiye sınıflandırması. M0: normal villöz, M1: artmış IEL'ler, M2: artmış IEL'ler ve kript hiperplazisi, M3a: kısmi villöz atrofi, M3b: önemli villöz atrofi, M3c: toplam villöz atrofi (Monzani 2022).

1.1.5. Tedavi

Tahıllarda bulunan başlıca proteinler prolaminlerdir. Prolaminler olgun tahıl tanelerinin içindeki proteinlerin yaklaşık yarısını oluşturan, alkolde çözünebilen ve polipeptitlerden oluşan karmaşık bir gruptur. Monomerik bir protein olan gluten, buğdayda bulunan geniş bir prolamin grubunu (gliadinler ve gluteninler) ifade etmektedir. Benzer immünojenik özellikler gösteren diğer prolaminler ise çavdar (sekalinler), arpa (hordeinler) ve diğer yakın akraba tahıllarda bulunmaktadır (Platt ve Kasarda 1971, Rostom ve ark 2006). Yulaflar ise çölyak hastalarında herhangi bir immünojenik etki oluşturmamaktadır (Koskinen ve ark 2009).

ÇH için etkili tek müdahale gluten içermeyen bir diyetdir. Glutensiz diyet, genellikle buğday, çavdar, arpa, tritikale, horasan buğdayı (kamut) ve kavuzlu buğday (spelt) gibi tahıllardan tamamen kaçınılan bir diyeti ifade etmektedir (Ludvigsson ve ark 2013).

Çölyak hastalarının çoğunda bağırsak lezyonları, gluten diyetten çıkarıldığında tamamen düzelmektedir ve hastalar gluten tükettiklerinde semptomlar yeniden ortaya çıkmaktadır. Genelde çölyak hastaları glutensiz diyet uyguladıkları birkaç hafta veya birkaç ay sonra iyileşme olduğunu bildirmektedir (Wahab ve ark 2002). 35 çalışmanın dâhil edildiği sistematik bir derlemenin sonucuna göre, çölyak hastalarının tolere ettiği gluten miktarı değişkenlik gösterse de günlük <10 mg'lık bir gluten alımının önemli histolojik değişikliklere neden olma ihtimalinin düşük olduğu ortaya konulmaktadır (Akobeng ve Thomas 2008).

Gıdaların içerdiği gluten miktarı, Codex Alimentarius (international food standards) tarafından düzenlenmektedir. Bu kodeks gluten içermeyen gıdaların, toplamda ölçülen gluten seviyesinin ≤ 20 mg/kg olduğu veya işlenerek <100 mg/kg'a düşürülen gıdaları belirtmektedir. Mevcut kodekse göre, bu kriterlere uyan gıdalar "gluten içermeyen gıda" olarak etiketlenebilmektedir (Ludvigsson ve ark 2013).

Avrupa Birliği'nin 30 Temmuz 2014 tarihli ve 828/2014 sayılı Komisyon Uygulama Tüzüğüne göre (Commission Implementing Regulation), "çok düşük gluten" (besindeki gluten miktarının azaltılmış olması) ve "glutensiz" (besinde gluten olmaması) ifadeleri sırasıyla 100 mg/kg ve 20 mg/kg'ı aşmayan gluten içeriğini belirtmek için kullanılmaktadır.

Glutensiz yani tahıllardan kısıtlı beslenme dengesiz bir diyetle yol açabilmektedir. Ghren ve ark. yaptığı çalışmada uzun süreli (10 yıl) glutensiz diyet uygulayan bireylerde folat ve B6 vitamin düzeylerinin düştüğü, homosistein düzeylerinin ise yükseldiği gözlemlenmiştir (Grehn ve ark 2001). Hallert ve ark. yaptığı çalışmada ise en az 8 yıl glutensiz diyet uygulayan bireylerin homosistein düzeyleri sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ve 6 ay B grubu vitamin takviyesi uygulanan çölyak hastalarının homosistein düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Hallert ve ark 2009). Bu sebeple uzun süre glutensiz diyet uygulamak zorunda olan bireylerin B vitaminleri takviyesi almaları önerilebilir.

1.2. Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik Retikulum (ER), ilk kez fibroblast benzeri tavuk hücrelerinde elektron mikroskopu ile görüntülenmiş ve "sitoplazma boyunca uzanan ince dantel yapı" olarak tanımlanmıştır (Porter ve ark 1945). ER'nin mevcut adı, 1954'te Porter tarafından verilmiştir (Palade ve Porter 1954). ER, ökaryotik hücredeki en büyük organel olmakla beraber uzun tübüller ve düzleşmiş disklerden oluşan membranöz bir ağ olarak görünür ve sitoplazma boyunca geniş bir alanı kaplar. Bu membran, ER lümenini çevreler ve moleküllerin sitoplazma ile geçişini sağlar (Almanza ve ark 2019).

ER, hücrede protein sentezi, kalsiyum depolama ve lipid metabolizması gibi birçok rol üstlenen büyük, dinamik bir organeldir. ER'nin çeşitli işlevleri, tübüller, tabakalar (cisterna) ve nükleer zardan (çekirdek zarı) oluşan farklı alanlar tarafından gerçekleştirilir (Westrate ve ark 2015). ER sitoplazmasının önemli bir kısmı düzleşmiş diskler ve uzun tübüllerden oluşan membranöz bir ağ ile oluşmaktadır (**Şekil 1.6.**) (Schwarz ve Blower 2016).

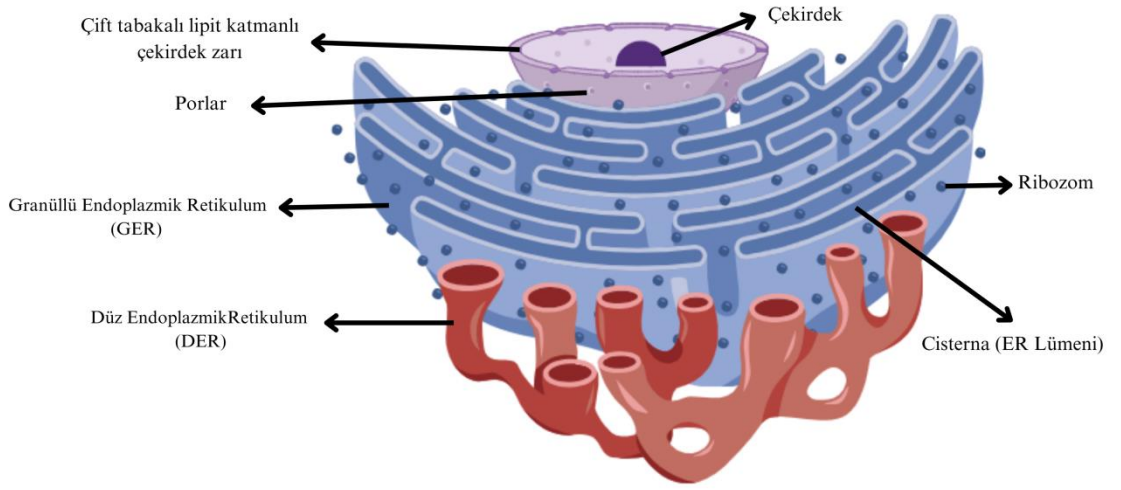
ER, protein sentezi ve taşınması, protein katlanması ve işlenmesi, lipid ve steroid sentezi, karbonhidrat metabolizması, kalsiyum depolanması ve detoksifikasyon gibi birçok önemli işlevin gerçekleştirildiği başlıca organeldir (Schwarz ve Blower 2016).

ER, membranın sitozolik yüzeyinde ribozomların bulunup bulunmamasına göre Granüllü Endoplazmik Retikulum (GER) ve Düz Endoplazmik Retikulum

(DER) olmak üzere ikiye ayrılır. GER ve DER, birbirine bağılı veya mekânsal olarak ayrılmış bölmeler olarak var olabilir (Borgese ve ark 2006). ER'in sınıflandırılması görünüşten çok membran yapısına göre yapılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre, ER; çekirdek zarı, levha şeklindeki cisterna (ER lümeni) ve üç yönlü kavşaklarla bağlanan çokgen tübüller olmak üzere üç ana morfolojiden oluşmaktadır (**Şekil 1.6.**) (Shibata ve ark 2006). ER levhaları, genellikle çekirdeğe yakın bölgelerde bulunur ve protein sentezi için ribozomlarla kaplıdır. Hücreden hücreye ER yapısında farklılıklar olabilir. Örneğin, sindirim enzimleri üreten pankreas ekzokrin asinar hücrelerinin ER'si neredeyse tamamen levhalardan oluşmaktadır (Lemmer ve ark 2021).

Çekirdek zarı, çekirdeği çevreleyen çift katmanlı bir zar olarak bulunur ve moleküllerin çekirdeğe girip çıkışını seçici bir şekilde kontrol eden bir bariyer görevi görmektedir (Hetzer 2010). ER yapılarındaki fark, membranın kıvrımına dayanmaktadır. ER tübülleri, çekirdek zarının ve cisternaların levha yapılarına kıyasla daha yüksek bir membran kıvrımına sahiptir. ER, hücre içinde geniş bir alana sahiptir ve diğer birçok hücrenel organel ile temas halindedir (Almanza ve ark 2019). ER, mitokondriiler ile "Mitokondriye Bağılı Zarlar" olarak adlandırılan fiziksel temas noktaları oluşturur. Bu yapılar, Ca^{2+} dengesinin korunmasında oldukça önemlidir (Hayashi ve ark 2009). Aynı zamanda büyümenin sürdürülmesi ve hücre zarının stabilitesi için hücre zarı ile etkileşim halindedir. Bu etkileşim, Ca^{2+} seviyeleri ve ER'de bulunan "Stromal Etkileşim Molekülü 1" ile hücre zarında bulunan "Kalsiyum Kanal Protein 1" gibi proteinler tarafından kontrol edilmektedir (Toulmay ve Prinz 2011).

Çekirdek zarı; iç ve dış olmak üzere çift katmanlı lipid tabakasından oluşur ve periferik ER (çekirdek zar tabakaları dışındaki tüm ER bölgeleri) ile ortak bir lümen paylaşır. Çekirdek zarını delip geçen yüzlerce çekirdek poru, moleküllerin (özellikle RNA ve proteinlerin) farklı difüzyon hızları veya boyutlarına bağılı olarak düzenlenmiş taşıma ile taşınmasına olanak tanır. Çekirdek zarı, periferik ER'nin bir parçası olan cisternalara bağılıdır. Cisternalar, aralarında lümen bulunan iki çift tabakalı lipid katmanından oluşan düz yapılar olup, yalnızca membran kenarlarında kavisli bölgeler bulunmaktadır (Bernales ve ark 2006).



Şekil 1.6. Endoplazmik Retikulum genel yapısı

ER, fonksiyonunu ve bütünlüğünü sürdürebilmek için sürekli olarak yenilenir ve belirli stres koşullarında daha aktif hâle gelmektedir. ER zarındaki proteinlerin ve lipidlerin yarı ömrü yaklaşık 3-5 gün olarak tahmin edilmektedir (Omura ve ark 1967). ER'nin kalite kontrolü, ubiquitin-proteazom sistemi ve otofaji (ER-faji) olmak üzere iki yolakla sağlanmaktadır. ER'nin sürekli yenilenmesi ve stres koşulları altında daha aktif hâle gelmesi ER'deki proteinlerin ve tüm organelin optimal kalitesini sağlamak için gereklidir (Chino ve Mizushima 2020).

İnsan hücreleri yaklaşık 10.000 farklı protein üretmektedir (Kulak ve ark 2017). Bu proteinlerin üçte birinden fazlasını ER membranına bağlı ribozomlar sentezlemektedir. Bu proteinler, ER'ye, plazma membranına, golgi cisimciğine, lizozomlara yerleşmek üzere ya da hücre dışına salınmak üzere hedeflenmektedir (Anelli ve Sitia 2008). Bir proteinin yapısı ve konformasyonu, asıl olarak aminoasit dizisi tarafından belirlenmiş olsa da, yeni sentezlenen proteinlerin çoğu doğru katlanabilmek için moleküler şaperonların yardımlarına ihtiyaç duymaktadır (Balchin ve ark 2016).

İnsan proteomunun üçte biri ER'ye yönlendirilmektedir. Burada proteinler önce katlanıp bir araya getirilir. Daha sonra lizozom, plazma zarı ve hücre dışı boşluk gibi aşağı akış salgı ortamlarına taşınır (Dancourt ve Barlowe 2010).

Salgılama proteinleri, hücre fizyolojisinin neredeyse tüm alanlarında yer almaktadır. Bunlar arasında protein sentezi ve yıkımı gibi ekstrasellüler işlevler de bulunur. Bu işlevleri yerine getirebilmek için, salgılama proteinlerinin düzgün katlanması, fonksiyonel bir yapı kazanması ve bu yapıyı koruması gerekmektedir. Salgı proteomunun bütünlüğü, başlıca ER kalite kontrol yolları tarafından düzenlenmektedir (Ellgaard ve Helenius 2003).

1.2.1. ER Fonksiyonları

ER'nin fizyolojik olarak dört temel görevi vardır (Schröder 2008). Bunlar;

1. Membran ve salgı proteinlerinin sentezlendiği yer,
2. Salgı ve membran proteinlerinin çoğunluğunun doğal konformasyonlarına katıldığı ve yeni sentezlenmiş proteinlerin posttranslasyonel modifikasyona uğradığı yer (Asparajin bağlı oligosakkaritlerin eklenmesi ve disülfid bağlarının oluşumu),
3. Hücre içi kalsiyumun (Ca^{2+}) depolandığı yer,
4. Lipit ve sterol biyosentezinin (ER zarında olur) gerçekleştiği yer.

ER, hücre membranlarının bakımı, lipid damlacıkları/veziküllerin üretimi ve enerji için yağ depolanmasında oldukça önemlidir. Lipid üretimi organellerin temas bölgeleri ve membran arayüzleri ile sınırlıdır. Lipid damlacıkları/vezikülleri kontrollü bir şekilde dışarı atılır ve ER kendi membranının şeklini dinamik olarak değiştirerek değişen hücrel lipid konsantrasyonlarına uyum sağlar (Merighi ve Lossi 2022).

Sekretuar yol, üretilen çoğu protein ve lipitin ER'den diğer hücrel bileşenlere transfer edilmesi için başlıca kullanılan yoldur. Bu süreç, sabit bir metabolik akışın korunmasını sağlamak için sıkı bir şekilde kontrol edilir. Sekresyonda eksikliklerin olması ER üzerinde, yapısında veya fonksiyonunda zararlı etkilere sebep olabilir. Kaplama Protein Kompleksi II (COPII) ile kaplanmış taşıma veziküllerinin oluşumu, bu sekresyon süreci için oldukça önemlidir (Merighi ve Lossi 2022). Pek çok hücre içi ve hücre dışı sinyal iletim ağında, Ca^{2+} ikinci bir haberci olarak görev yapmaktadır ve hücre ölümü de dâhil olmak üzere birçok

hücrenel süreç için hayati bir öneme sahiptir (Clapham 2007). ER, kalsiyum depolayan birincil organeldir ve kalsiyum seviyelerinin yönetiminde kritik bir rol oynar. ER fonksiyonlarının çoğu, hücrenin tüm kalsiyum dengesini etkileyen bir şekilde kalsiyum tarafından düzenlenmektedir (Meldolesi ve Pozzan 1998). ER, sitoplazmadan çok daha yüksek bir fizyolojik intraluminal kalsiyum konsantrasyonuna ve oksitleyici bir redoks potansiyeline sahiptir. Ve bu durumu koruyabilmesi için hücre zarı ve mitokondrilerle yakın koordinasyon halinde olan protein kalite kontrol mekanizmaları tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (Szymański ve ark 2017).

1.2.2. Endoplazmik Retikulum Stresi

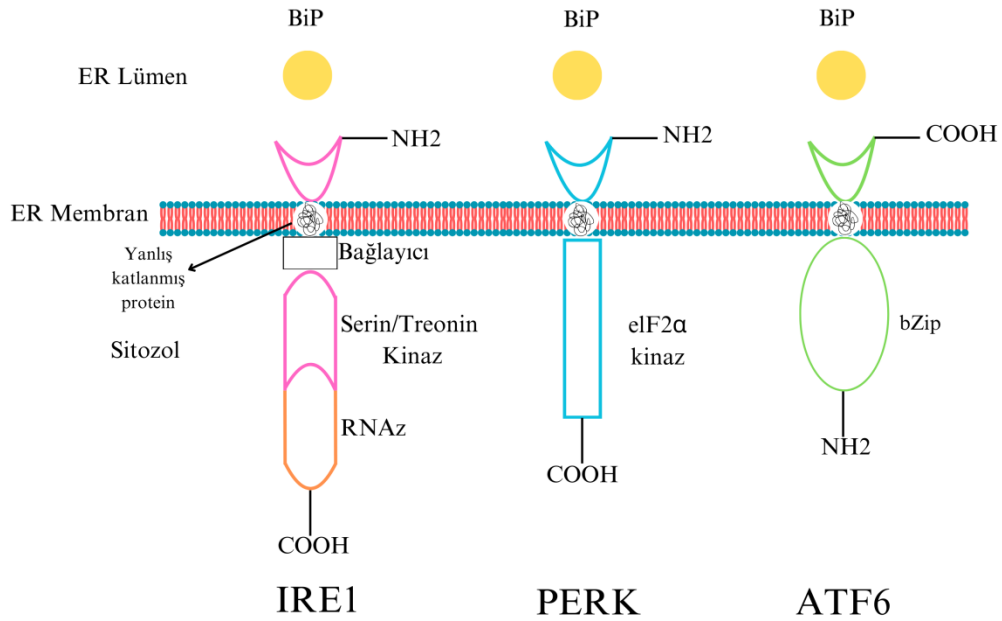
Proteostaz (protein homeostazı), hücre sağ kalımı için temel bir süreçtir ve bu dengenin bozulması, metabolik, kardiyovasküler, onkolojik ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığa yol açabilmektedir (Balch ve ark 2008). ER, ürettiği proteinler için bir kalite kontrol organeli olarak işlev görür ve yalnızca normal proteinlerin veziküllerinden çıkmasına izin verir (Hurtley ve ark 1989). Protein kalite kontrol sistemleri, proteostazı korumaktan sorumludur. ER'ye aşırı yüklenildiğinde, ER'nin protein katlama kapasitesini aşar. Bu durum, ER lümeninde yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine neden olur. Besin yetersizliği, oksidatif stres, viral enfeksiyonlar, hipoksi ve kalsiyum eksikliği gibi durumlar hücrenel bölmelerin homeostazını etkileyerek ER stresine (ERS) neden olmaktadır. Hücreler, dengesiz ER protein katlanmasını çözmek için bir sinyal iletim mekanizması olan UPR'yi geliştirmiştir (Walter ve Ron 2011).

ERS'nin meydana gelmesiyle birlikte, proteinler ER lümeninde doğru şekilde katlanamazlar. Hücreler, proteinlerin doğru katlanma kapasitesini artırmak amacıyla UPR'nin üç farklı sinyal yolunu aktive eder. Bununla birlikte, protein üretimi ve birikimi baskılanır. Katlanmamış ya da hatalı katlanmış proteinlerin yıkımı hızlandırılır. Aynı zamanda, ERS ile ilişkili genlerin transkripsiyonu uyarılır ve ER'nin kendi onarım mekanizmaları güçlendirilir (Hu ve ark 2019). Genel olarak, UPR'nin bu üç sinyal iletimi ER sensör transmembran proteinleri tarafından kontrol edilir. Bunlar:

- IRE1 α ,
- PERK,

- ATF6 (Wang ve Kaufman 2016).

ER'ye bitişik hâlde olan şaperon Bağlayıcı İmmüoglobulin Proteini (BiP) [diğer adları: Glukozla düzenlenen protein 78 (GRP78), Isı Şok Proteini (Hsp70)], katlanmamış ve intraluminal (katlanması gereken) proteinler ile üç ERS sensörü arasında karmaşık bir denge kurar. Normal şartlarda BiP, şaperonların lümeneye bakan taraflarında şaperonlara bağlı olarak durur. Biriken katlanmamış proteinler sonucunda BiP, ERS sensörlerinden ayrılır (Şekil 1.7.) (Bhattarai ve ark 2021).



Şekil 1.7. BiP/GRP78/Hsp70, normal koşullar altında IRE1 α , PERK ve ATF6'ya bağlı şekilde bulunur. Stres koşulları altında ise BiP, bu üç sensör proteinden ayrılır ve UPR aktif hâle gelir.

1.2.3. Protein Kalite Kontrol Mekanizması

Aminoasitlerin birbirlerine dönüşmeleri ve protein üretiminin düzenlenmesi çok önemlidir. Özellikle, yeni sentezlenen polipeptid zincirinin katlanması karmaşık ve nispeten hata yapmaya meyilli bir süreçtir (Hartl ve Hayer-Hartl 2009). Bu nedenle, büyük bir moleküler şaperon seti tarafından desteklenir ve hücrel kalite kontrol mekanizmaları tarafından dikkatle korunur. Protein havuzu, proteinlerin yarı ömürleri, hasar görmeleri gibi durumlardan dolayı sürekli bir dönüşüm halindedir

(Lemmer ve ark 2021).

Fizyolojik koşullarda, protein sentez ve yıkım oranı arasında hassas bir denge vardır (Liu ve Sabatini 2020). Proteinlerdeki bu hassas dengenin bozulması genel protein sentezini azaltılırken stresle başa çıkmak için yeni proteinlerin sentezini teşvik eden bir dizi sinyalin aktivasyonunu teşvik eder (Hetz ve ark 2015). UPR'nin homeostazı yeniden sağlamayı amaçladığı diğer yollar ise otofaji yoluyla protein yıkımının uyarılması ve ER ile ilişkili yıkım (ERAD) olarak adlandırılan bir süreçtir. Bunlar ile birlikte katlanmamış proteinler daha fazla temizlenir. Bu mekanizmalar, hücrel proteostazı yeniden sağlamak için çalışır (Metcalf ve ark 2020). Hafif ve orta düzeydeki ERS'ye yanıt olarak UPR, katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinleri ortadan kaldırmak ve ER homeostazını yeniden sağlamak amacıyla başlatılır (Szegezdi ve ark 2006). Bu tip UPR, "adaptif veya sitoprotektif" UPR olarak adlandırılır. Ancak, şiddetli veya kalıcı ERS durumunda, UPR aşırı şekilde aktive olur ve intrinsik apoptoz mekanizmalarının aktive olmasına yol açar. Bu tür UPR ise, "maladaptif, denetimsiz veya terminal" UPR olarak adlandırılır (Szegezdi ve ark 2006).

UPR aktivasyonunun başlıca sonuçları, protein sentezinin inhibe edilmesi ve ER'nin katlama kapasitesinin artırılmasıdır. Böylece UPR, proteotoksik strese karşı etkili olup proteostazın yeniden sağlanmasında rol oynar (Sage ve ark 2012). Ancak, ERS'nin düzeltilememesi ve homeostazın yeniden sağlanamaması durumunda, son çare UPR tarafından indüklenen hücre ölümüdür (Lemmer ve ark 2021).

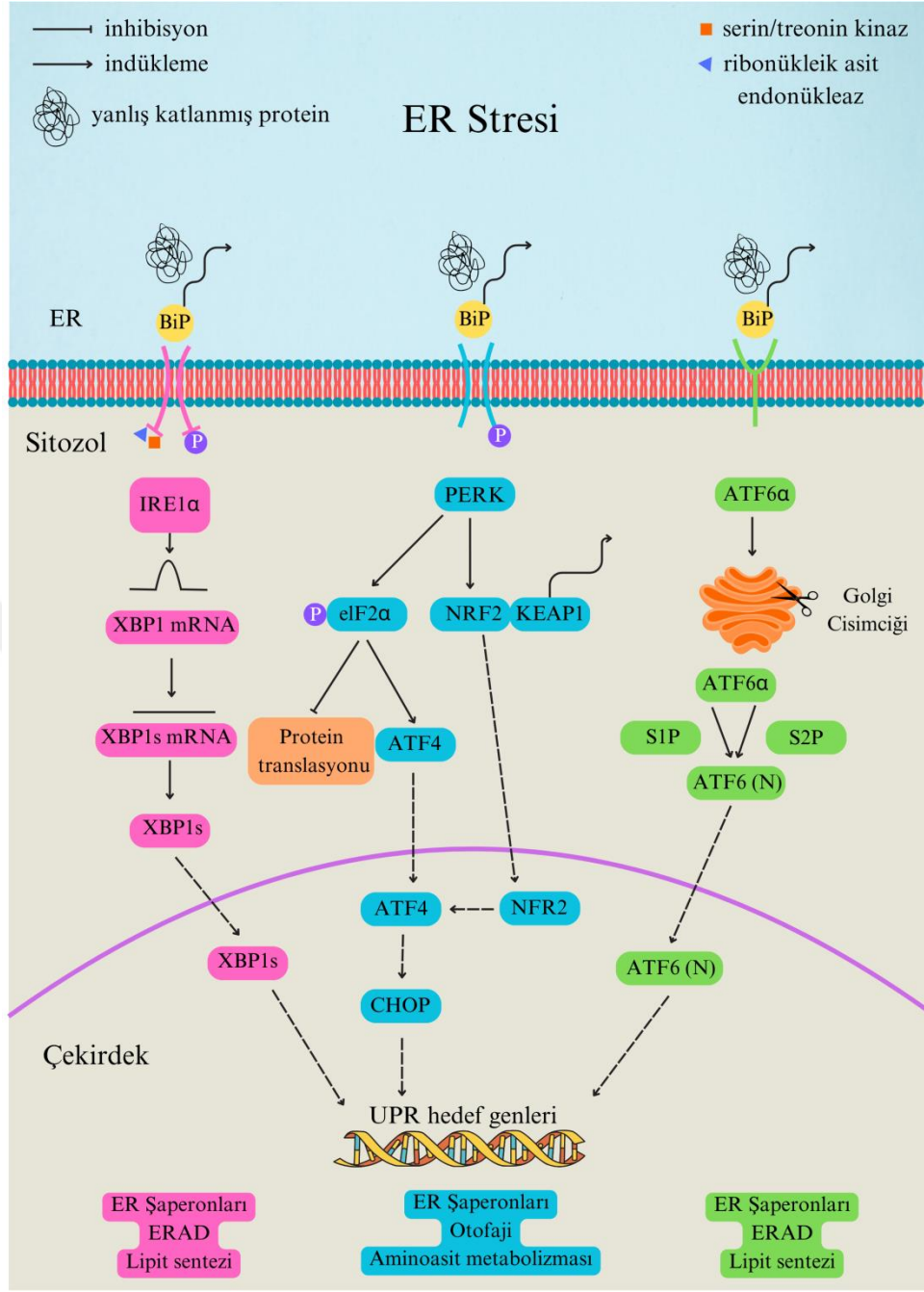
UPR, ER membranında yer alan üç ana sensör tarafından düzenlenir. Bu transmembran proteinleri, ER lümeninde bulunan şaperon GRP78/BiP/Hsp70'e bağlanır. Bu proteinin çoğu, katlanmamış proteinlerle etkileşime girdiğinde, sensörlerin sitozolik tarafları transfosforilasyonla otoaktif hâle gelir ve homeostazı yeniden sağlamak için sinyaller iletirler (Tabas ve Ron 2011). ER'de gerçekleşen proteostazdan sorumlu olan bu üç sensör yukarıda bahsedildiği gibi ATF6, PERK ve IRE1 α hücrel programlarıdır (**Şekil 1.8.**) (Hetz ve ark 2020).

UPR, katlanmamış proteinlerin şaperon proteinlerine ve UPR sensörlerinin lüminal kısımlarına bağlanmasıyla aktive edilir. ATF6, PERK ve IRE1 α yolları, katlanan şaperonların transkripsiyonunu teşvik ederek ve eIF2 α yoluyla protein translasyonunu inhibe ederek proteostatik yükü hafifletir. Ancak daha fazla kolun

varlığına dair kanıtlar bulunduğundan, sınırlı bir bakış açısı oluşturmaktadır (Lemmer ve ark 2021).

PERK, IRE1 α ve ATF6, ER zarına bağlanmış olup, katlanmamış proteinlerin varlığıyla aktive olurlar. Yapılan çalışmalar, katlanmamış proteinlerin, ya doğrudan reseptörlerin lüminal bölümleriyle temas ederek ya da BiP gibi şaperonların ayrılmasıyla dolaylı olarak algılandığını belirtmektedir (Adams ve ark 2019). Her iki durumda da, lüminal katlanmamış proteinlerin algılanması, UPR aktivasyonuna ve ERS'nin çözülmesini kolaylaştıran aşağı akış olaylarının başlatılmasını sağlamaktadır (Hetz 2012).





Şekil 1.8. Üç UPR sensörüne genel bakış. Normal koşullar altında, üç protein (IRE1α, PERK ve ATF6) moleküler şaperon protein BiP'e bağlanır. Stres koşulları altında yani ER'de düzgün katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlerin aşırı birikimi sonucunda bu üç sensör BiP'ten ayrılarak IRE1α-XBP1 (X-box bağlanma proteini 1), PERK-eIF2α, PERK-NRF2 (Nükleer Faktör Eritroit 2-ilişkili faktör 2) ve ATF6 sinyal yollarını aktive eder. Her aktivasyon yolunun farklı bir sinyal iletim mekanizması vardır. IRE1α, XBP1'in mRNA'sını keserek, protein katlanması ve ERAD süreçlerinde görevli genlerin ifadesini destekleyen XBP1 siplicing (XBP1s) adlı transkripsiyon faktörünü kodlayan formun oluşmasını sağlar. PERK ise

oligomerleşme ve otofosforilasyon yoluyla aktive olur. Ardından eIF2 α 'nın fosforilasyonunu teşvik eder; bu durum genel protein sentezinin azalmasına yol açarken, seçici olarak Aktive edici transkripsiyon faktörü 4 (ATF4)'ün translasyonunu artırır. ATF6, ER'den Golgi aygıtına taşınır ve burada S1p ve S2p (site 1 ve site 2 proteazlar) proteazları tarafından kesilerek aktif ATF6 formu serbest bırakılır. Bu üç sensörün aktivasyonu sonucu, ER ve Golgi'nin yapısal bileşenlerinin sentezi ve ERAD yolu teşvik edilerek protein katlanmasını iyileştirir ve hücrel stres kaynaklı hasar azalır. Bu şekil Canva programından Huang ve ark.'dan modifiye edilerek çizilmiştir (Huang ve ark 2023).

- **PERK**

Protein Kinaz RNA Benzeri ER Kinazı (PERK), ER'ye yerleşik tip 1 transmembran proteinidir. Ökaryotik başlatıcı faktör 2 alfa (eIF2 α) protein kinazlardan biridir (Horiuchi ve ark 2016, Gordiyenko ve ark 2019). Aynı zamanda translasyon başlatma faktörü Ser-51'de eIF2 α 'yı fosforile eden bir kinaz olup, ERS yanıtının ilk hattıdır ve hücrelerde genel protein translasyonun durdurulmasını sağlamaktadır. Ancak, adaptif UPR için gerekli proteinleri kodlayan belirli bir iç ribozomal giriş bölgelerine sahip mRNA'ların translasyonu bu koşullar altında da devam etmektedir (Schroder ve Kaufman 2006).

eIF2, α , β ve gamma (γ) olmak üzere üç alt birimden oluşan bir trimerdir ve fosforilasyon, α alt biriminin serin 51. kalıntısında gerçekleşmektedir. Bu fosforilasyon sonucunda eIF2'nin Guanin Nükleotid Değişim Faktörü eIF2 β 'yı inhibe eder. Böylece eIF'i inaktif GDP-bağlı durumda tutarak protein translasyonunu durdurur (Gordiyenko ve ark 2019).

PERK'in N-terminal bölgesi, ER lumeninde bulunur ve dimerleşme, düzenleme ve BiP ile etkileşim için kritik bir rol oynar. C-terminal bölgesi ise sitoplazmik bir serin/treonin protein kinaz domeni içerir. ER stresi meydana geldiğinde, BiP'in katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinlere bağlanması, PERK'in serbest kalmasını sağlar ve otofosforilasyon ve dimerleşme yoluyla aktivasyonunu teşvik eder. Sonuç olarak ikinci sensör olan PERK, UPR'ye başlıca protein translasyonunu zayıflatarak ve oksidatif stresi düzenleyerek katılır (Ghemrawi ve Khair 2020).

- **ATF4**

Aktive edici transkripsiyon faktör 4 (ATF4), insanlarda yaygın olarak bulunan temel bölge-lösün fermuarı (bZip) proteinleri ailesine aittir (Huang ve ark 2023). ATF4, protein katlanması, otofaji, aminoasit metabolizması, redoks homeostazi ve apoptoz gibi birçok hücrenel süreci düzenleyen genlerin ifadesini kontrol eden önemli bir transkripsiyonel düzenleyicidir. Bu sayede, hücrelerin çeşitli stres koşullarına karşı adaptif yanıtlar geliştirmesine katkıda bulunmaktadır (Zielke ve ark 2021). ATF4, eIF2 α inhibe edildiğinde daha verimli bir şekilde translasyon olan ve indüklenen bir transkripsiyon faktörüdür. ATF4, protein sentezi ve sekresyonu, amino asit sentezi ve taşınması ve antioksidan stres yanıtları gibi alanlarda görev alan genleri indükler (Han ve ark 2013). CHOP (C/EBP-homolog protein), bunlar arasında yer alır ve ATF4 ekspresyonu tarafından upregüle edilir. CHOP, X-box bağlanma proteini 1 (XBP1) ve şaperon proteinleri ve birçok düzeltici genin ekspresyonunu indükleyerek bozulmuş ER'yi dengelemeye çalışır (Oakes ve Papa 2015).

ATF4 aynı zamanda hücre apoptozisinin indüklenmesinde görevli olan CHOP/GADD153 transkripsiyon faktörünü indükler. CHOP, eIF2 α 'ya özgü bir fosfataz kompleksi olan GADD34'ün sentezini uyararak homeostazın yeniden sağlanmasına katılır (Marciniak ve ark 2004). ATF4, genellikle yalnızca ER stresörleriyle uyarıldıktan sonra geçici olarak indüklenir ve CHOP, kendi senteziyle ATF4'ün sentezini engeller (Iurlaro ve Muñoz-Pinedo 2016).

- **IRE1 α**

İnozitol Gerektiren Enzim 1 (IRE1)'in α ve β olmak üzere iki tipi vardır. IRE1 α çoğu doku ve hücrede lokalizeyken, IRE1 β yalnızca gastrointestinal epitel hücrelerinde yer almaktadır (Huang ve ark 2022). ER'ye yerleşik tip I transmembran proteini olan IRE1 α , sitoplazmik alanda serin/treonin kinaz ve ribonükleik asit endonükleaz olmak üzere iki enzimatik aktiviteye sahiptir (**Şekil 1.7.**) (Raymundo ve ark 2020). Katlanmamış veya yanlış katlanmış proteinler ER lümeninde aşırı biriktiğinde, bu proteinler BiP'e bağlanarak IRE1 α dimerizasyonuna ve otofosforilasyon ile protein kinaz ve ribonükleik asit endonükleaz enzimlerinin aktivasyonuna yol açar (Zhang ve Kaufman 2008).

IRE1, ribonükleik asit endonükleaz aktivitesi ile XBP1 mRNA'sını keserek aktif bir transkripsiyon faktörü olan XBP1 splicing (XBP1s) adı verilen bir proteini kodlar (Urano ve ark 2000). XBP1s çekirdeğe aktarıldıktan sonra, ERS'ye yanıt olarak UPR hedef genlerinin transkripsiyonunu aktive eder. Bu hedef genler arasında BiP gibi lümenal ER şaperonları, disülfür izomerazlar, glukozilazlar, ER ve Golgi'nin yapısal bileşenleri, homosistein kaynaklı ER proteini (HERP) ve DNAJB9/ERDJ4 (Hsp40 ailesi üyesi) yer almaktadır. XBP1s aracılığıyla bu genlerin ekspresyonu, ERAD yolunu destekleyerek yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Buna ek olarak XBP1s, ER lipid biyosentezini, peptit katlanmasını ve membran genişlemesini teşvik ederek ERS'nin azaltılmasına katkıda bulunmaktadır (Frakes ve Dillin 2017).

- **ATF6**

UPR'nin üçüncü sensörü olan aktivasyon transkripsiyon faktörü 6 (ATF6), aynı zamanda tip 2 transmembran proteindir. ATF6'nın alfa ve beta (β) olmak üzere iki tipi vardır. ATF6 α , güçlü bir transkripsiyonel aktivatör olarak işlev görürken, ATF6 β daha zayıf bir transkripsiyonel aktivatördür ve ATF6 α 'nın aktivasyonunu inhibe edebilmektedir (Hillary ve FitzGerald 2018). ATF6; PERK ve IRE1'den farklı olarak ER'de sürekli olarak bulunmasına rağmen, ERS durumunda ATF6 α 'nın lümenal domaini, BiP'den doğrudan ayrılır ve ardından golgi cisimciğine geçer. Golgi cisimciğinde S1p ve S2p tarafından kesilerek, sitoplazmik kuyruğunda bulunan ATF6(N) (N terminal, aktif formu) transkripsiyon faktörünü serbest bırakır ve daha sonra çekirdeğe iletilir (Shen ve ark 2002, Schröder ve Kaufman 2005). ATF6(N)'nin hedefi doğrudan şaperonlar ve UPR proteinleridir. ATF6(N) aynı zamanda CHOP, BiP ve XBP1 genlerini uyarır (Yoshida ve ark 2000).

Sonuç olarak aktive olmuş ATF6(N), ER'nin boyutunu genişletir, protein katlama kapasitesini artırır ve hücrenin hayatta kalmasını destekler (Lei ve ark 2024).

- **Kalneksin**

ER, proteinlerin katlanması için iki ana yolak içermektedir. Bunlardan ilki GRP78 ve disülfid izomeraz ailesinden olan PDIA1 (P4HB) içeren genel katlanma yoludur. Diğeri ise N-bağlantılı glikoproteinlerin katlanmasında rol oynayan kalneksin/kalretikülin döngüsü olarak adlandırılan kalneksin ve kalretikülin gibi

lektin şaperonlar tarafından yönetilen yolaktır. Kalneksin, ER’de yer alan konstitütif olarak eksprese edilen bir şaperon proteini olup, proteinlerin doğru katlanmasında ve hücrel homeostazın sürdürülmesinde temel bir rol oynar (Ellgaard ve ark 2016).

Kalretikülin ile kalneksin, lektin benzeri domenleri açısından yapısal benzerlik göstermektedir. Kalretikülin ER lümeninde bulunan bir proteindir, kalneksin ise bir transmembran heliksi ve sitozol ile temas eden C-terminal domeni olan tek bir lüminal karbonhidrat bağlama bölgesine sahip tip I integral ER membran proteini olarak ER’de bulunmaktadır (Paskevicius ve ark 2023).

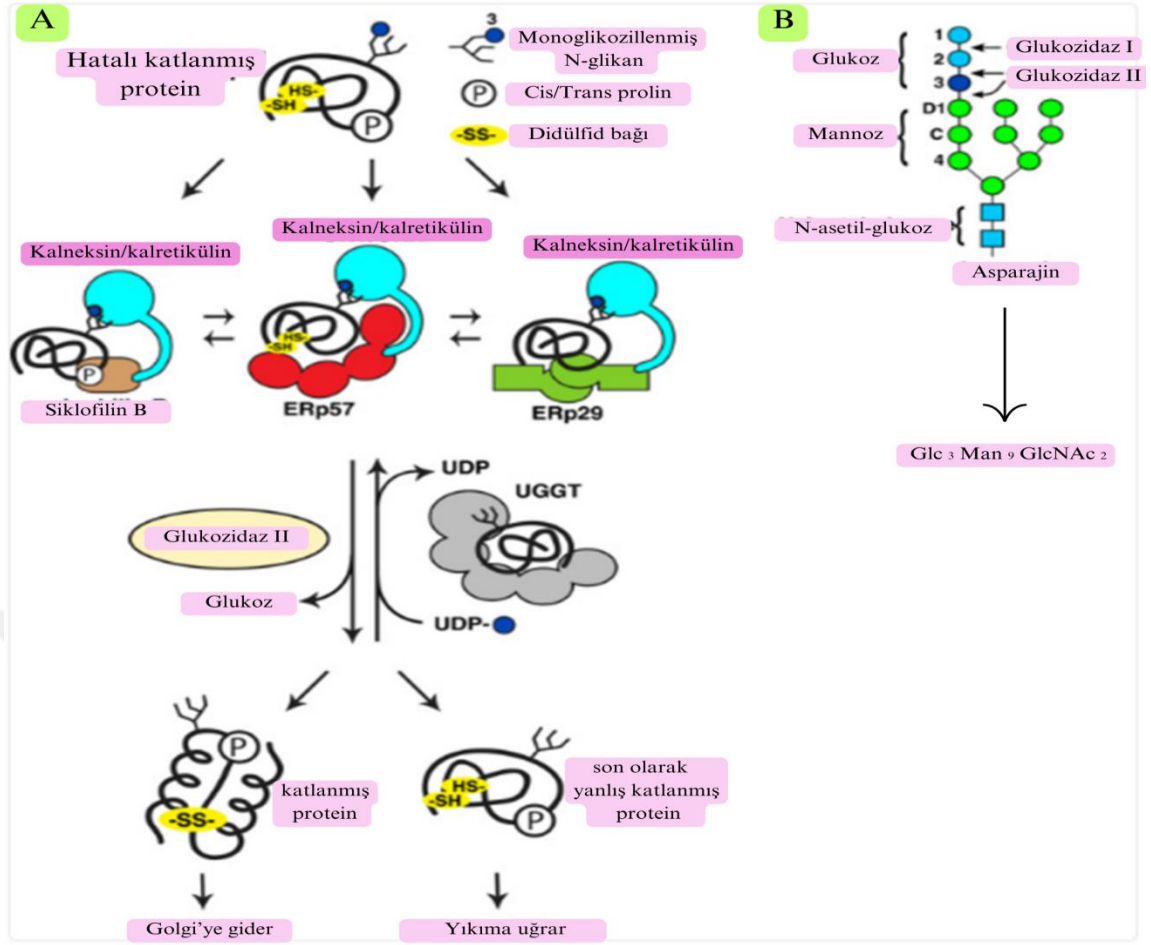
Kalneksin, çözümlü formu olan kalretikülin ile birlikte, glikanlara özgül bağlanmayı sağlayan lektin-benzeri bir bağlanma domenine ve diğer şaperon proteinleri ER lümenine yönlendirmeye katkıda bulunan esnek bir P-domenine sahiptir. Bu glikoproteinlere özgü katlanma mekanizmasında, kalneksin/kalretikülin sistemine ek olarak, UDP-glukoz:glikoprotein glukoziltransferaz (UGGT), protein disülfid izomeraz ERp57 ve ER glukozidazları I ve II gibi önemli enzimler de yer almaktadır (**Şekil 1.9. A**) (Lamriben ve ark 2016).

N-bağlı glikoproteinler ER’ye girdiklerinde, Glc3Man9GlcNAc2 (glukoz-mannoz-N-asetil glukoz) glikanı ile etiketlenmiş spesifik asparajinlere sahiptir. Kalneksin döngüsünde protein katlanması, proteinin ER’ye girişiyle birlikte protein sentezi ve N-glukozilasyon ile başlar. Protein üzerindeki N-glikan, sırasıyla dış ve orta glukoz kalıntılarını uzaklaştıran glukozidaz I ve glukozidaz II tarafından kesilerek, kalneksin veya kalretiküline özgü olarak bağlanabilen monoglukozillenmiş forma dönüştürülür (**Şekil 1.9. B**) Kalneksin ve kalretikülin şaperonları, bağlı oldukları glikoprotein üzerinde katlanmayı ve olgunlaşmayı teşvik eder. Glukozidaz II, kalan son glukoz kalıntısını uzaklaştırır. Böylece, glikoprotein artık kalneksin veya kalretiküline bağlanamaz ve glikoprotein katlanmasının ilk aşaması sona ermiş olur. Eğer protein hâlâ doğal (fonksiyonel) konformasyonunu kazanmamışsa, glukoziltransferaz enzimi UGGT, son glukoz kalıntısını tekrar ekler ve glikoproteinin yeniden kalneksin/kalretikülin ile bağlanmasını sağlar. Bu sayede UGGT, hatalı katlanmış Man₉GlcNAc₂ glikoproteinleri özel olarak tanıyan ve onları ek işlem için kalneksin/kalretikülin döngüsüne geri döndüren bir kalite kontrol sistemi gibi görev yapar. ER’ye özgü ve farklı fonksiyonlara sahip üç şaperonunun kalneksin/kalretiküline bağlandığı bilinmektedir. İlki disülfür izomeraz olan ERp57

proteinidir ve glikoprotein disülfür bağlarının oksidasyonunu ve izomerizasyonunu katalize eder. Diğer iki şaperon ise siklofilin B (CypB) ve ERp29'dur. Ve sırasıyla peptit bağlarının izomerizasyonunu ve genel bir şaperon fonksiyonunu gerçekleştirmektedir (**Şekil 1.9.**) (Kozlov ve Gehring 2020).

Sonuç olarak kalneksin, ER'de kalsiyumu bağlayan ve depo eden bir proteindir. Bu özelliği sayesinde kalneksin, hem protein katlanmasını düzenler hem de ER içindeki kalsiyum dengesine katkı sağlar. Kalsiyum eksikliği durumunda kalneksin fonksiyonları bozulur, bu da hücrel stresin ve hastalıkların gelişimine yol açabilir.





Şekil 1.9. (A) Yeni sentezlenmiş glikoproteinlerin monoglikozillenmiş formu, kalretikülün veya kalneksin ile bağlanır ve bu etkileşim, ERp57, CypB ve ERp29'un yardımıyla protein katlanmasını destekler. Glukozidaz II tarafından terminal glukoz kalıntısının uzaklaştırılmasının ardından, düzgün şekilde katlanmış ve doğal konformasyon kazanmış proteinler Golgi cisimciğine taşınır. Yeterli şekilde katlanmamış proteinler ise UGGT enzimi tarafından yeniden glukozilasyona uğrar ve ek katlanma döngüleri için tekrar kalretikülün/kalneksin ile bağlanır. Eğer birden fazla katlanma döngüsünden sonra da protein doğru şekilde katlanamazsa, bu proteinler terminal olarak hatalı kabul edilir ve ERAD aracılığıyla sitoplazmaya taşınarak burada yıkıma uğratılır. (B) N-bağlantılı glikanın yapısı. Ön glikan yapısı, üç glukoz kalıntısı içerecek şekilde proteine bağlanır. Bu glukozlardan ilk ikisi, glukozidaz I ve II enzimlerinin etkisiyle uzaklaştırılarak kalneksin ve kalretikülün ile bağlanma için gerekli olan monoglikozillenmiş form elde edilir. UGGT, yanlış katlanmış glikoproteinleri tanıyarak glikan yapısına tekrar glukoz ekler ve böylece şaperon aracılı katlanma döngüsünün devam etmesini sağlar. Bu şekil Kozlov ve ark.'dan modifiye edilmiştir (Kozlov ve Gehring 2020).

Bağırsak epitel hücreleri, sürekli olarak mikrobiyota, antijenler, diyetle alınan metabolitler ve bakteriyel toksinlerden oluşan karmaşık bir çevresel etkileşime maruz kalmaktadır. Bu hücreler arasında yer alan enterositler, kısa ömürlü yapıları nedeniyle hızla yenilenir ve bu da onların yoğun metabolik faaliyet göstermesini, ayrıca yüksek miktarda protein, sitokin ve küçük peptit üretmelerini zorunlu kılmaktadır. IEC'lerde ortaya çıkan ERS, hem konak bağışıklık sisteminin uyarılmasıyla hem de bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişiklikler (disbiyozis) ile ilişkilidir. Bu iki unsur, inflamatuvar bağırsak hastalıkları (İBH) ve diğer mukozal hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle, UPR sürecine dâhil olan genlerdeki eksiklikler, ER'de biriken yanlış katlanmış proteinlerin uzaklaştırılmasında azalmış kapasiteye ve epitel hücrelerinde bağışıklık tepkisinin aşırı düzeyde artmasına neden olarak İBH gelişme riskini yükseltmektedir (Ma ve ark 2017).

UPR, otofaji, sekresyon, bağışıklık yanıtı ve inflamasyonla ilişkili genlerdeki genetik eksiklikler, protein katlama kapasitesini azaltarak ve bağışıklık yanıtını artırarak İBH'ye olan yatkınlığı artırabilir. Bu genlerin eksik olduğu fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, İBH ile ilişkili mekanizmaların anlaşılmasına yardımcı olmuştur. Bu çalışmalar tezin tartışma bölümünde detaylıca ele alınmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereçler

2.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri

Tablo 4'te çalışmada kullanılan cihazlar ve laboratuvar malzemeleri yer almaktadır.

Tablo 4. Kullanılan Cihazlar ve Laboratuvar Malzemeleri
Santrifüj (Beckman Coulter Allegra™ X-2212)
Santrifüj: Sigma 3K30
-80°C buzdolabı: SANYO MDF-U5186S
Buzdolabı: (+4°C ve -20°C): ALTUS AL 302
96 kuyucuklu steril plaka: Corning® Costar® 96-well plate
ELISA Reader: CLARIOstar
Mikropipet (1000, 200, 10µl)
Serolojik pipet: (5 ve 10 ml)
Sıcak su banyosu: Wise Bath fuzzy systems
Otomatik Elisa okuyucusu ve yıkayıcısı (Rayto Microplate Washer RT-2600, Rayto Microplate Reader RT-2100C)
Vortex (Heidolph, Almanya)
Ayarlanabilir otomatik pipetler (Brand, Almanya)

2.1.2. Kullanılan Kitler

Çalışmada kullanılan ELISA kitlerine ait bilgiler **Tablo 5**'te listelenmiştir.

Tablo 5. Kullanılan ELISA Kitleri
Human Phospho Extracellular Signal Regulated Kinase ELISA Kit: Bioassay Cat.No: E7165Hu
Human Inositol Requiring Enzyme 1 ELISA Kit: Bioassay Cat.No: E6871Hu
Human Activating Transcription Factor 6 ELISA Kit: Bioassay Cat.No: E7169Hu
Human Calnexin ELISA Kit: Bioassay Cat.No: E1243Hu

2.2. Örneklem Seçimi, Veri Toplanması ve Çalışmanın Süresi

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalları Polikliniklerine başvuran 1-17 yaş aralığındaki ÇH teşhisi konmuş 43 çocuk hasta grubu olarak çalışmaya dâhil edilmiştir. Sağlıklı kontrol grubu olarak ise herhangi bir rahatsızlığı ve enteropati belirtisi olmayan, klinik olarak normal ve sistemik hastalık varlığı açısından da negatif sonuç öyküsüne sahip olan toplam 45 çocuk çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışmaya dâhil edilme kriterlerine uygun olan katılımcıların ebeveynlerinden imzalı onam formu alınmıştır. BAP destekli araştırma projesi Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Ocak 2024 ile Nisan 2025 tarihleri arasında yapılmıştır.

Sağlıklı kontrol ve hasta grubundaki bireylerden kan örnekleri endoskopinin planlandığı gün en az 8 saatlik açlık sonrası, endoskopi işlemi öncesi açılan damar yolundan alınmıştır. Dispeptik yakınma şikâyeti ile gelip endoskopi sonucunda herhangi bir bulgu saptanmayan (varsa patoloji sonucu temiz çıkan) bireyler çalışmaya kontrol grubu olarak dâhil edilmiştir. Serolojik testleri pozitif çıkan ve patoloji sonucunda çölyak tanısı kesinleşen bireyler çalışmaya hasta grubu olarak dâhil edilmiştir.

Alınan kan örnekleri, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'na getirilmiş, 4000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek serum halinde ayrılmış ve porsiyonlanarak -80 derecede analiz gününe kadar saklanmıştır. Hedeflenen sayıda örneğe ulaşıldığında örnekler çözdürülerek, çalışma için belirlediğimiz IRE1, PERK, ATF6 ve kalneksin serum düzeyleri kitin prosedürüne uygun ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Çalışmaya dâhil edilen bireylerin demografik verileri, biyokimya, hormon, tam kan sayımı parametreleri Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi otomasyon sistemlerinden (HBSY) ayrı ayrı alınmıştır.

Katılımcıların (hasta grubu) dâhil edilme kriterleri;

- 1-17 yaş arasında olmak,
- HLA DQ2 ve DQ8 gen pozitifliği,
- tTG2 enzim düzeyinin normalin üst sınırınının 10 katı kadar artması,

- Anti endomisyum antikor pozitifliği,
- Histopatolojik inceleme sonucu ince bağırsaklarda villus atrofisi.

Katılımcıların (hasta grubu) dışlama kriterleri;

- Daha önce H tanısı almış olmak,
- Glutensiz diyet uygulamak,
- ERS ile ilişkili olabilecek farklı ek bir hastalığa sahip olmak,
- Diğer inflamatuvar bağırsak hastalıklarına sahip olmak.

2.3. Yöntem

2.3.1. Serum PERK, IRE1, ATF6 ve Kalneksin Düzeylerinin ELISA yöntemi ile Ölçümü

Serum örnekleri, antikoagülan içermeyen vacutainer tüpleri kullanılarak periferik kandan toplandı. Örnekler, toplandıktan sonra oda sıcaklığında 20 ila 30 dakika pıhtılaşmaya bırakıldı ve ardından serumun ayrılması amacıyla 4000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant, pıhtı fazına temas ettirilmeden dikkatlice steril 0,5 mL'lik Eppendorf tüplerine aktarıldı. Analit stabilitesinin korunması ve tekrarlayan dondurma-çözme döngülerinin önlenmesi amacıyla tüm serum örnekleri alikotlanarak analiz gününe kadar -80°C 'de saklandı.

Tüm donmuş serum alikotları ve reaktifler, analiz öncesinde oda sıcaklığına getirildi. Serumdaki kalneksin düzeylerinin kantitatif analizi, ticari olarak temin edilen Human Calnexin ELISA Kit (BT LAB, Kat. No: E1243Hu) kullanılarak, sandviç ELISA formatında gerçekleştirildi. ELISA plakası, anti-human calnexin antikorları ile önceden kaplanmış olarak sağlandı. Üretici talimatlarına uygun şekilde, 240 ng/mL'lik standart stok çözeltisi, sağlanan seyreltici ile seri olarak seyreltilerek 120, 60, 30, 15 ve 7,5 ng/mL konsantrasyonlarında standartlar elde edildi. Seyreltici çözeltisi sıfır standart olarak kullanıldı.

Benzer şekilde, Human Phospho-Extracellular Signal-Regulated Kinase (PERK) düzeyleri, PERK ELISA Kiti (BT LAB, Kat. No: E7165Hu) kullanılarak

ölçüldü. 24 ng/mL'lik standart stok çözeltisi hazırlanarak, sırasıyla 12, 6, 3, 1,5, 0,75 ve 0 ng/mL konsantrasyonlarında standartlar elde edildi. Inositol-Requiring Enzyme 1 (IRE1) düzeyleri, Human IRE1 ELISA Kiti (BT LAB, Kat. No: E6871Hu) ile analiz edildi. 2400 ng/mL'lik stok standart çözeltisi, 1200, 600, 300, 150, 75 ve 0 ng/mL olacak şekilde seri dilüsyonla hazırlandı. Activating Transcription Factor 6 (ATF6) düzeylerinin belirlenmesinde ise Human ATF6 ELISA Kiti (BT LAB, Kat. No: E7169Hu) kullanıldı ve 64 ng/mL'lik standart stok çözeltisinden 32, 16, 8, 4, 2 ve 0 ng/mL standartlar elde edildi.

Her bir standarttan 50 µL ve her bir serum örneğinden 40 µL olmak üzere, 96 kuyucuklu mikropolanın uygun kuyucuklarına pipetlenerek eklendi. Ardından her numune kuyucuğuna 10 µL biyotinle işaretlenmiş tespit antikoru ve hem standart hem de numune kuyucuklarına 50 µL streptavidin-HRP konjugatı ilave edildi. Plaka kapatılarak 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, bağlanmamış bileşenlerin uzaklaştırılması amacıyla her kuyucuk 300 µL yıkama tamponu ile beş kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa sırasıyla 50 µL Substrat Çözeltisi A ve 50 µL Substrat Çözeltisi B eklendi ve plakalar karanlık ortamda 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Enzimatik reaksiyon, 50 µL durdurucu çözeltinin eklenmesiyle sonlandırıldı ve renk maviden sarıya dönüştü. Optik yoğunluk (OD) değerleri, reaksiyonun durdurulmasının ardından 10 dakika içinde mikropolaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Her bir parametreye ait standartların ortalama OD değerleri bilinen konsantrasyonlarına karşı grafiğe geçirilerek standart kalibrasyon eğrileri oluşturuldu. Örnek konsantrasyonları, dört parametrelili lojistik regresyon modeli kullanılarak oluşturulan standart eğri referans alınarak elde edildi.

2.4. İstatistiksel Analiz

Çölyak hastaları ile sağlıklı kontrollerin ERS parametreleri (Kalneksin, PERK, IRE1, ATF6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla %5 anlam düzeyi, %95 istatistiksel güç ve 0.8 etki büyüklüğünde (Cohen d=0.8) yapılacak çift-yönlü (two-sided) bağımsız örneklem t-testi için çalışmaya her bir grupta en az 42 olmak üzere toplamda en az 84 hastanın dâhil edilmesine karar verildi. Tüm istatistiksel analizler ve grafikler istatistiksel olarak SPSS programı ile analiz edildi ve grafikler sanal ortamda gerçekleştirildi. Sayısal veriler ortalama ± standart sapma veya medyan ile çeyreklikler (1. çeyrek ile

3. çeyrek) olarak sunuldu. Çölyak hastası ve kontrol grupları arasındaki parametlerdeki farklılıklar Student t test ve Mann-Whitney U testi ile uygun şekilde karşılaştırıldı. Sürekli değişkenlerin normalliği Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirildi ve varyans homojenliği Student t-testleri uygulanmadan önce Leven's testi kullanılarak değerlendirildi. Sayısal parametreler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Spearman's rho korelasyon analizi yapıldı. IRE-1 ve PERK düzeyleri için ROC analizi yapıldı. Sonuçlar $p<0.05$ 'te anlamlı kabul edildi.



3. BULGULAR

Çalışmaya 1-17 yaş aralığında 43'ü çölyak hastası, 45'i sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 88 birey dâhil edilmiştir.

3.1. Demografik Özellikler ve Biyokimya Parametreleri

Çalışmaya dâhil edilen bireylerin gruplara göre yaş, cinsiyet, boy, kilo ve bazı biyokimyasal parametreleri **Tablo 3.1.**'de verilmiştir. Sağlıklı kontroller ile çölyak hastası çocukların yaş dağılımları benzerdi (10.42 ± 4.27 'e karşı 9.16 ± 5.00 , $p=.206$). Cinsiyetlerine bakıldığında çölyak grubunun %55,8'i kız ve %44,2'si erkek, kontrol grubunun ise %55,6'sı kız ve %44,4'ü erkek olmak üzere benzerdi ($p>.999$). İki grup arasında ağırlık dağılımları benzerlik gösterirken ($p=.08$), boy uzunluklarına göre kıyaslandıklarında çölyak grubunun kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha kısa olduğu görülmüştür ($p=.049$).

Bireylerin biyokimya parametreleri kıyaslandığında serum alanin aminotransferaz (ALT), fosfor ve magnezyum düzeyleri çölyak grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=.002$, $p<.001$, $p=.002$). Serum kreatinin düzeyleri ise kontrol grubunda çölyak grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür ($p=.034$). Serum albümin, aspartat aminotransferaz (AST), glukoz, üre, sodyum, potasyum, kalsiyum, klor ve ürik asit düzeyleri her iki grup içinde benzerlik göstermiştir (sırasıyla $p=.087$, $p=.113$, $p=.6$, $p=.192$, $p=.492$, $p=.722$, $p=.244$, $p=.685$, $p=.883$).

Tablo 3.1. Çölyak ve kontrol gruplarının demografik ve biyokimyasal parametrelerinin istatistiksel gösterimi

	Kontrol (n=45)	Çölyak (n=43)	p-değeri
Yaş (yıl)	10.42 ± 4.27	9.16 ± 5.00	.206
Cinsiyet	20 (44.4)/25 (55.6)	19 (44.2)/24 (55.8)	>.999
Boy (cm)	140.22 ± 23.73	129.26 ± 27.93	.049
Kilo (kg)	37.50 ± 17.39	30.61 ± 19.14	.08
Albümin (g/dL)	4.7 [4.8 – 4.6]	4.6 [4.8 – 4.5]	.087
Total Protein (g/dL)	7.21 ± 0.41	7.06 ± 0.44	.114
ALT (U/L)	13 [11 – 15]	15 [13 – 19]	.002
AST (U/L)	22 [18 – 27]	24.5 [19 – 31.05]	.113
Glukoz (mg/dL)	88.93 ± 11.93	87.70 ± 9.89	.6
Üre (mg/dL)	19 [18 – 25]	19 [16 – 23.1]	.192
Kreatinin (mg/dL)	0.54 ± 0.17	0.47 ± 0.14	.034
Sodyum (mEq/L)	139 [138 – 141]	139 [138 – 141]	.492
Potasyum (mmol/L)	4.46 [4.22 – 4.66]	4.46 [4.25 – 4.71]	.722
Kalsiyum (mg/dL)	9.7 [9.5 – 9.8]	9.75 [9.51 – 9.9]	.244
Klor (mmol/L)	103 [102 – 105]	104 [102 – 105]	.685
Fosfor (mg/dL)	4.5 [4 – 4.7]	5 [4.5 – 5.5]	<.001
Magnezyum (mg/dL)	2.02 [1.94 – 2.12]	2.11 [2.02 – 2.26]	.002
Ürik asit (mg/dL)	3.9 [3.4 – 4.7]	4.1 [3.35– 4.9]	.883

3.2. Hemogram Parametreleri

Çalışmaya dâhil edilen bireylerin gruplara göre hemogram parametreleri **Tablo 3.2.**'de verilmiştir. Kontrol grubu plazma HGB, HCT, MCH ve PDW

düzeylerinin her biri çölyak hastası bireylere kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (p=.001). Kontrol grubu plazma MCV, MCHC ve BA# düzeylerinin çölyak hastası bireylere kıyasla anlamlı ölçüde yüksek olduğu görülmüştür (p=.004, p=.005, p=.049). Diğer hemogram parametreleri her iki grup içinde benzerlik göstermiştir.

Tablo 3.2. Çölyak hastaları ile sağlıklı kontrollerin hemogram parametrelerinin kıyaslanması

	Kontrol (n=45)	Çölyak (n=43)	p-değeri
WBC (K/uL)	6.85 [5.85 – 8.12]	6.8 [5.53 – 8.8]	.818
HGB (mg/dL)	13.34 ± 1.06	12.32 ± 1.31	<.001
HCT %	40.11 ± 2.78	37.8 ± 3.08	<.001
PLT (K/uL)	335.33 ± 74.54	365.98 ± 106.6	.12
RBC (10e6/uL)	4.9 [4.61 – 5.16]	4.91 [4.58 – 5.08]	.802
MCV (fL)	82 [85.2 – 79.2]	77.4 [73.15 – 81.95]	.004
MCH (pg)	27.24 ± 1.95	25.25 ± 2.98	<.001
MCHC (g/dL)	33.2 [32.6 – 33.7]	32.6 [32 – 33.35]	.005
RDW %	13.7 [13.2 – 14.6]	14.2 [13.25 – 15.95]	.079
PDW	15.9 [15.7 – 16]	11.7 [9.55 – 15.75]	<.001
MPV (fL)	9.7 [9 – 10.4]	9.8 [8.85 – 10.85]	.719
PCT %	0.33 ± 0.07	0.36 ± 0.09	.075
NE# (K/uL)	3.52 [2.53 – 4.58]	3.53 [2.51 – 5.11]	.779
LY# (K/uL)	2.73 [1.94 – 3.5]	2.58 [2.12 – 3.75]	.337
MO# (K/uL)	0.42 [0.37 – 0.48]	0.47 [0.39 – 0.65]	.156
EO# (K/uL)	0.13 [0.09 – 0.2]	0.11 [0.08 – 0.2]	.811
BA# (K/uL)	0.02 [0.01 – 0.04]	0.03 [0.02 – 0.05]	.049
NE %	51.65 ± 11.25	49.2 ± 12.06	.326
LY %	38.86 ± 10.78	39.95 ± 9.71	.62
MO %	6.2 [5.3 – 7.2]	6.6 [5.8 – 7.8]	.199
EO %	1.9 [1.1 – 3.1]	1.6 [1.1 – 3]	.63
BA %	0.3 [0.2 – 0.5]	0.4 [0.3 – 0.7]	.183
IG %	0.1 [0.1 – 0.2]	0.2 [0.1 – 0.2]	.478

3.3. Plazma Kan Hücrelerinin Oranları

Çalışmaya dâhil edilen bireylerin gruplara göre kan hücresi oranları **Tablo 3.3.**'te verilmiştir. Çölyak hastaları ile sağlıklı kontrol bireylerinin kan hücre oranlarına bakıldığında yalnızca HRR (HGB/RDW) düzeylerinde kontrol grubunda daha yüksek olmak üzere anlamlı bir fark saptandı ($p=.002$).

Tablo 3.3. Çölyak hastaları ile kontrol grubunun kan hücresi oranlarının kıyaslanması

	Kontrol (n=45)	Çölyak (n=43)	p-değeri
NLR	1.45 [0.87 – 2.02]	1.23 [0.97 – 1.9]	.867
PLR	129.14 [102.28 – 161.17]	112.13 [98.22 – 157.25]	.658
LMR	6.38 ± 2.57	6.06 ± 1.9	.504
HRR	0.96 [0.89 – 1.06]	0.88 [0.74 – 0.97]	.002
RPR	4.31 [3.7 – 4.95]	4.01 [3.41 – 5.11]	.358
NLR: Nötrofil/Lenfosit oranı, PLR: Trombosit/Lenfosit oranı, LMR: Lenfosit/Monosit oranı, HRR: Hemogloblin/RDW oranı, PRP: RDW/Trombosit oranı			

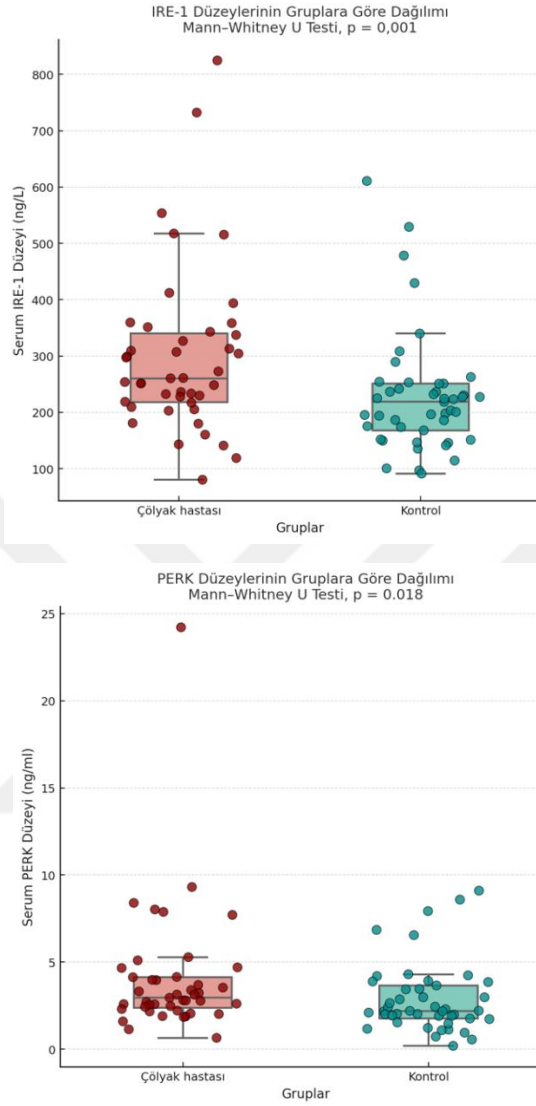
3.4. Serum PERK, IRE1, ATF6 ve Kalneksin Düzeyleri

Çalışmaya dâhil edilen bireylerin gruplara göre PERK, IRE1, ATF6 ve kalneksin düzeyleri **Tablo 3.4.**'te verilmiştir. Çölyak hastalarının serum IRE1 ve PERK düzeyleri sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=.001$, $p=.018$). Serum ATF6 ve kalneksin düzeyleri her iki grup içinde benzerlik göstermiştir (sırasıyla $p=.465$, $p=.583$).

Tablo 3.4. Çölyak hastaları ile kontrol grubunun Endoplazmik Retikulum Stresinde aktive olan UPR sinyal sensörlerinin (PERK, IRE1, ATF6) ve Kalneksin serum düzeylerinin kıyaslanması

	Kontrol (n=45)	Çölyak (n=43)	p-değeri
PERK (ng/mL)	2.2 [1.76 – 3.66]	2.95 [2.37 – 4.14]	.018
IRE1 (ng/L)	218.65 [167.89 - 250.94]	260.39 [217.84 – 340.17]	.001
ATF6 (ng/L)	10.56 [8.43 – 12.67]	9.9 [7.76 – 12.27]	.465
Kalneksin (ng/mL)	12.65 [10.06 – 17.07]	14.03 [10.41 – 17.92]	.583

Grafik 3.1. IRE1 ve PERK düzeylerinin gruplara göre dağılımı.



İstatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bulduğumuz IRE1 ve PERK düzeylerinin gruplara göre dağılımı **Grafik 3.1.**'de verilmiştir.

Grafik 3.2. Korelasyon Grafiği

n=43		tTG2 (IgA)	tTG2 (IgG)	Marsh Skoru	ATF6 (ng/L)	Kalneksin (ng/mL)	IRE1 (ng/L)	PERK (ng/mL)	NLR	PLR	LMR	HRR
tTG2 (IgA)	r
	p değeri
tTG2 (IgG)	r	,092
	p değeri	,556
Marsh Skoru	r	,290	-,395**
	p değeri	,060	,009
ATF6 (ng/L)	r	-,029	-,132	,134
	p değeri	,855	,399	,390
Kalneksin (ng/mL)	r	-,009	-,011	,094	,796**
	p değeri	,954	,943	,548	,001
IRE1 (ng/L)	r	-,075	,060	-,022	,452**	,544**
	p değeri	,633	,701	,887	,002	,001
PERK (ng/mL)	r	-,079	-,215	,107	,575**	,587**	,619**
	p değeri	,614	,167	,493	,001	,001	,001
NLR	r	-,133	,195	-,475**	-,238	-,215	-,099	-,180
	p değeri	,394	,211	,001	,124	,166	,527	,249
PLR	r	-,212	,349*	-,407**	,115	,205	,246	,069	,347*	.	.	.
	p değeri	,172	,022	,007	,463	,188	,111	,659	,023	.	.	.
LMR	r	,066	-,096	,206	-,064	,066	,273	,145	-,406**	-,435**	.	.
	p değeri	,674	,540	,185	,685	,675	,076	,355	,007	,004	.	.
HRR	r	-,245	-,009	-,045	-,142	-,054	-,065	,001	,038	-,102	,220	.
	p değeri	,114	,957	,776	,363	,731	,679	,995	,808	,513	,157	.
RPR	r	,182	-,076	,179	,074	-,062	-,274	-,287	-,114	-,414**	-,213	-,254
	p değeri	,244	,630	,251	,639	,691	,075	,062	,468	,006	,170	,100

Korelasyon katsayısı = r, Sig. (2-tailed) = p

Marsh skoru ve tTG2 enzimi ÇH patogenezinde anlamlı olduğu için yalnızca çölyak hastası bireylerin kendi aralarındaki korelasyonu inceledik (**Grafik 3.2.**). tTG2 IgG ile marsh Skoru ($r=-0.395$, $p=0.009$) arasında negatif korelasyon görülmüştür. Marsh skoru ile NLR ($r=0.475$, $p = 0.001$) ve PLR ($r=0.407$, $p=0.007$) arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Bu inflamasyonun mukozal hasarın şiddeti ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Ve çölyak hastalarının takibinde NLR ve PLR parametrelerinin kullanılabileceğini düşündürür. LMR ile PERK ($r=-0.406$, $p=0.007$) ve IRE1 ($r=-0.435$, $p=0.004$) arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bu lenfositlerin azalmasının veya monositlerin artmasının ERS yanıtı ile ilişkili olabileceğini gösterir. RPR ile kalneksin ($r=0.414$, $p=0.006$) arasında görülen pozitif korelasyon, eritrosit değişkenliğinin (RDW) ve trombositlerle olan oranının, hücrel stres ile bağlantısını gösterebilir.

ATF6, kalneksin, IRE1 ve PERK, ERS yanıtında rol oynayan önemli proteinlerdir. Bu proteinler arasında güçlü pozitif korelasyonlar gözlemlenmiştir:

ATF6 ile kalneksin arasında güçlü pozitif yönde ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($r=0.796$, $p<0.001$). Benzer şekilde, ATF6 ile PERK ($r=0.575$, $p<0.001$) ve IRE1 ($r = 0.452$, $p=0.002$) arasında da istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönde korelasyonlar gözlenmiştir.

Kalneksin ile PERK ($r = 0.587$, $p<0.001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ve pozitif yönde korelasyon gözlenmiştir.

Korelasyon katsayıları dikkate alındığında, en güçlü ilişki ATF6 ile kalneksin arasında saptanmıştır ($r=0.796$). Diğer belirteçler olan IRE1 ile PERK ($r=0.619$), kalneksin ile PERK ($r=0.587$) gibi kombinasyonlar da yüksek düzeyli pozitif ilişkiler göstermiştir. Bu sonuçlar, hücrel stres yanıtı sırasında ER'de görevli şaperon ve sensör proteinlerinin senkronize bir şekilde regüle edildiğini göstermektedir.

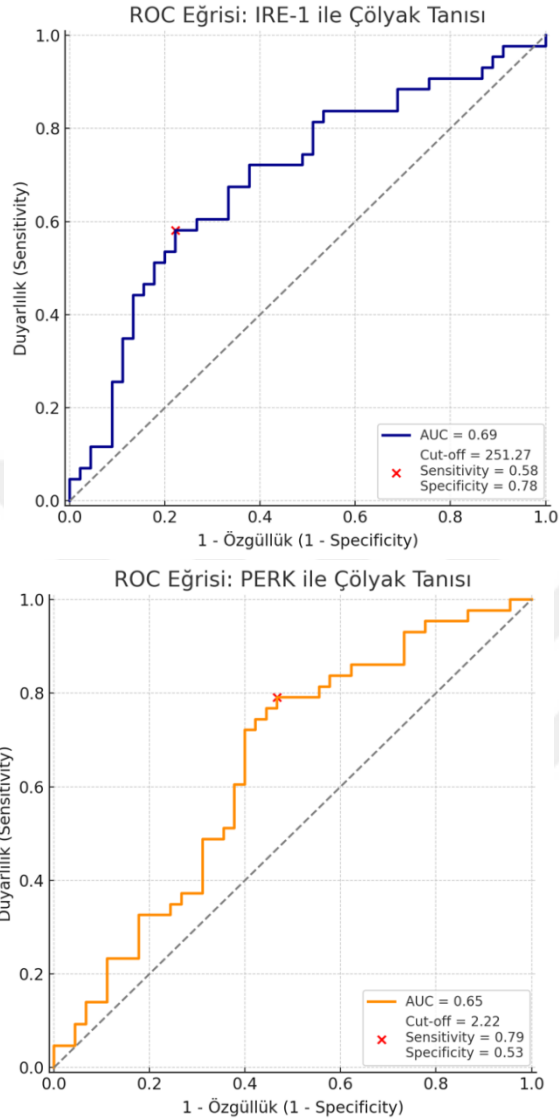
Grafik 3.3. IRE1 ve PERK ile parametreler arasındaki korelasyon grafiği.

	(n=88)	IRE1	PERK
YAŞ (yıl)	r	-,225*	-,193
	p değeri	,035	,071
BOY (cm)	r	-,219*	-,157
	p değeri	,040	,145
ALT (U/L)	r	,041	,137
	p değeri	,703	,204
KREATİNİN (mg/dL)	r	-,152	-,202
	p değeri	,158	,059
FOSFOR (mg/dL)	r	,333**	,286**
	p değeri	,002	,007
HGB (mg/dL)	r	-,174	-,295**
	p değeri	,105	,005
HCT %	r	-,119	-,285**
	p değeri	,271	,007
MCH (fL)	r	-,141	-,125
	p değeri	,189	,244
PDW	r	-,354**	-,229*
	p değeri	,001	,032
BA# (K/uL)	r	,024	,037
	p değeri	,828	,730
IRE1 (ng/L)	r	-	,582**
	p değeri	-	,001
PERK (ng/ml)	r	,582**	-
	p değeri	,001	-
HRR	r	-,096	-,151
	p değeri	,376	,160

Korelasyon katsayısı = r, Sig. (2-tailed) = p

IRE1 ile PERK ve fosfor arasında pozitif korelasyon, IRE1 ile yaş, boy ve PDW arasında negatif korelasyon bulundu. PERK ile fosfor arasında pozitif korelasyon, PERK ile HGB, HCT ve PDW arasında negatif korelasyon olduğu tespit edildi (**Grafik 3.3**).

Grafik 3.4. Çölyak hastalığını ayırt etmede IRE1 ve PERK Düzeylerine Ait ROC eğrisi.



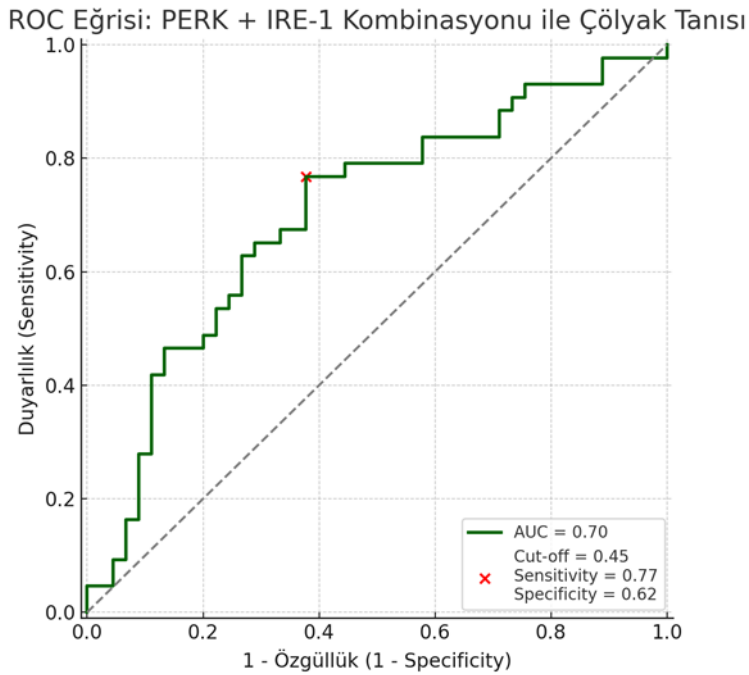
IRE1 parametresi ile çölyak hastalarını sağlıklı bireylerden ayırt etme gücü orta düzeyde bulunmuş olup, AUC değeri 0,69 olarak bulunmuştur. Bu parametre için cut-off değeri 251,27 ng/mL, duyarlılık (sensitivity) %58, özgüllük (specificity) ise %78 olarak hesaplanmıştır (**Grafik 3.4.**). Duyarlılığının %58 olması ile beraber çölyak hastalarının %58'i doğru tanımlanabilir. Özgüllüğünün %78 olmasıyla sağlıklı bireylerin %78'i doğru şekilde dışlanabilir.

Bu özellikleriyle IRE1, özgüllüğü yüksek ama duyarlılığı nispeten daha düşük bir parametre olarak ön plana çıkmaktadır. Yanlış pozitifliği azaltmada başarılı olabilir ancak bazı çölyak vakalarını atlayabileceğini göstermektedir.

PERK parametresi için elde edilen ROC eğrisine göre AUC değeri 0,65 olarak hesaplanmış, bu da ayırt etme gücünün düşük–orta seviyede olduğunu göstermektedir. Belirlenen cut-off değeri 2,22 ng/mL, duyarlılık %79, özgüllük %53 olarak bulunmuştur (**Grafik 3.4.**). Duyarlılığının %79 olması ile beraber çölyak hastalarının büyük bir kısmını doğru tanımlanabilir. Özgüllüğünün %53 olmasıyla sağlıklı bireylerin neredeyse yarısı yanlış pozitif olarak sınıflanabilir.

PERK, duyarlılığı yüksek ama özgüllüğü daha düşük bir parametre olarak ön plana çıkmaktadır. Bu özellikleriyle PERK, tarama testlerinde avantajlı olabilir. Çünkü çölyak hastalarını kaçırma riski daha düşüktür.

Grafik 3.5. Çölyak hastalığını ayırt etmede PERK ve IRE1 kombinasyonuna ait ROC eğrisi.



PERK ve IRE1 kombinasyonuna ait lojistik regresyon tabanlı ROC analizinde AUC (Area Under Curve) değeri 0.7 ile diğerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Kombine modelin cut-off değeri 0.45 olup, duyarlılık %77, özgüllük %62 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, PERK ve IRE-1'in birlikte değerlendirildiğinde çölyak

hastalığın tanısında tek başlarına olduğundan daha etkili olabileceğini göstermektedir (**Grafik 3.5.**).

Sonuç olarak her iki parametrede tek başlarına sınırlı ayırt ediciliğe sahipken, kombinasyon halinde kullanıldığında (AUC= 0,70) tanı gücü artmaktadır. Ancak özgüllük değerinin sınırlı olması, bu kombinasyonun tanıdan çok ön tarama ya da destekleyici tanı aracı olarak daha uygun olabileceğini düşündürmektedir.



4. TARTIŞMA

Prevalansı dünya çapında gitgide artmakta olan ÇH, genetik yatkınlığı olan bireylerde gluten tüketimi sonucu ortaya çıkan ve bağışıklık sisteminin bağırsaklarda sürekli inflamasyona neden olduğu çok etkenli bir otoimmün hastalıktır. ÇH, bağırsak mukozasında kronik bir inflamasyon ile karakterizedir. Özellikle, gliadin peptidlerinin bağırsak epitel hücreleri ile etkileşimi, doku hasarına, bağırsak bariyerinin geçirgenliğinin düzensizleşmesine, malabsorpsiyona, bağışıklık hücrelerinin aktive olmasına, proinflamatuvar sitokinlerin salınımına ve sıkı bağlantıların çözülmesine/gevşemesine neden olmaktadır (Leonard ve ark 2017).

Günümüzde ÇH için kesin ve kalıcı bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Hastalara önerilen tek yöntem glutensiz diyet uygulamasıdır. Bu diyet, her hastada tam iyileşme sağlamamakla birlikte uzun vadede sürdürülmesi oldukça zordur. Bu nedenle, daha etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi adına yeni klinik hedeflerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Araştırmalar, ER'nin hücrede salgılama, sentezleme ve depolama gibi hayati işlevleri yerine getiren temel bir organel olduğunu göstermektedir. Bu organelde oluşan stres (ERS), hücrenin metabolik faaliyetlerini doğrudan etkileyebilmekte ve zamanla bu hücrelerin oluşturduğu doku ve organlarda fizyolojik ve metabolik bozukluklara, dolayısıyla çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir. Öte yandan, hücre içi diğer sinyal yollarında meydana gelen aksaklıklar ya da doku ve organlardaki hastalıklar da ERS'yi tetikleyebilir. Bu nedenle, ERS ile metabolik süreçler ve hastalıklar arasında karşılıklı etkileşime dayalı çift yönlü bir ilişki söz konusudur.

ERS genel olarak ÇH'ye benzer Chron, ülseratif kolit ve diğer İBH'ler üzerinde çalışılmış olup çölyak ile ilişkisini doğrudan inceleyen çalışmalar özellikle İtalya'da yapılmış olmak üzere birkaç tane ile sınırlıdır. ÇH ile ERS arasındaki ilişkiye bakan çalışmalar genelde doku ve fare modelleri üzerindedir. Tezin bu bölümünde bu çalışmalardan bahsedilmiştir.

Yapmış olduğumuz çalışma, çölyak hastası bireyler ile ERS arasındaki ilişkiyi doğrudan inceleyen ve daha önce çölyak için bakılmamış parametreleri içeren ilk çalışmadır. Çalışmaya, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalları

Polikliniklerine başvuran, 1–17 yaş aralığında olan ve çölyak tanısı almış (yeni tanı), çalışmaya dâhil edilme kriterlerini karşılayan toplam 43 gönüllü hasta dâhil edilmiştir. Sağlıklı kontrol olarak yine aynı yaş aralığında olup herhangi bir inflamatuvar, otoimmün ya da genetik bir hastalığa sahip olmayan toplam 45 gönüllü birey dâhil edilmiştir. Çalışmaya katılmayı kabul eden toplam 88 bireyin ebeveynleri bilgilendirilmiş ve onam formu imzalatılmıştır.

Bu çalışma kapsamında Çölyak Hastalığında Endoplazmik Retikulum Stresinin İncelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamız, pediatri çölyak hastalarının serum örnekleri ile ERS'nin incelenmesi; PERK, IRE1, ATF6 ve kalneksin parametereleri dâhilinde ilk çalışma olmaktadır. Çalışmanın bu bölümünde çalışmaya dâhil edilen 88 bireyin ÇH'de ERS'nin varlığını incelemek için seçtiğimiz bu dört parametrenin serum düzeyleri değerlendirilmiştir.

4.1. İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları ile Endoplazmik Retikulum Stresi

Üç UPR yolundan IRE1/XBP1 eksenini, en kapsamlı şekilde çalışılmış olanıdır ve bağışıklık sistemi ile inflamasyonun düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalar, XBP1 geninin İBH ile ilişkili olduğunu göstermektedir. IEC'lerde XBP1 geninin hücreye özgü olarak silinmesi, ERS'nin belirgin şekilde artmasına yol açmaktadır (Kaser ve ark 2008).

IRE1/XBP1 sinyal yolunun bağırsak iltihabıyla bağlantılı olduğuna dair ilk bulgular, IRE1 β geninin genetik olarak devre dışı bırakıldığı bir çalışmadan elde edilmiştir. Bertolotti ve ark.'larının Amerika Birleşik Devletleri'nde yaptığı bu çalışmada IRE1 β geninin genetik olarak silinmesinin, kolonik mukozada BiP proteininin seviyesini ve deneysel ülseratif kolit indükleyicisi olarak bilinen dekstran sodyum sülfata karşı duyarlılığı artırdığı bildirilmiştir (Bertolotti ve ark 2001).

Tsuru ve ark.'larının Japonya'da yaptığı çalışmada IRE1 β 'nin özellikle goblet hücrelerinde MUC2 (mucin 2) mRNA düzeylerini düzenleyerek mukus üretimi ve salgılanmasında kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir. IRE1 β 'nin yokluğunda, MUC2 proteini ER'de birikmekte, bu da ERS'yi artırmakta ve hücresel işlevi bozarak bağırsak bariyer bütünlüğünü tehdit etmektedir. Buna karşılık IRE1 α , goblet hücrelerinde bu işlevi telafi edememektedir. Dolayısıyla IRE1 β 'nin, sindirim sistemine özgü, mukus salgısının düzgün gerçekleşmesi için gerekli özgün bir ERS

sensörü olduğunu kanıtlamışlardır (Tsuru ve ark 2013).

IRE1 α geninin silinmesine dayanan ve fareler üzerinde yapılan farklı bir çalışma, IRE1 α 'nın IEC'lerde homeostazın korunmasında hayati bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre IRE1 α 'nın yokluğu, goblet hücre kaybı ve epitel bariyer fonksiyonlarının bozulması ile birlikte, CHOP proteini aracılığıyla apoptozun artmasına neden olarak inflamatuvar süreçleri tetiklemiştir. Ayrıca, IRE1 α eksikliği, hücreleri bakteriyel endotoksinlere karşı daha duyarlı hale getirerek, kimyasal olarak indüklenen kolite yatkınlığı artırmıştır. Bu bulgular doğrultusunda IRE1 α ve CHOP'un İBH patogenezinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Zhang ve ark 2015).

XBP1'in, ERS ve katlanmamış protein birikimine yanıt olarak IRE1 sinyali ile aktive olan bir transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir. Farklı bir çalışmada XBP1 eksikliği, paneth hücre fonksiyonunun bozulmasına ve artmış ERS'ye bağlı olarak epitelin aşırı proinflamatuvar yanıt vermesine neden olarak bağırsak iltihabını tetiklediği belirtilmiştir. Bu çalışma, XBP1 geninin IEC işlev bozukluğunun, İBH patogenezinde merkezi bir rol oynadığını XBP1 geninin silindiği fare modelleriyle doğrulamıştır (Kaser ve ark 2008).

XBP1 geninin silinmesi, IRE1 α yolunun aşırı derecede aktive olmasına neden olmuş ve fare modellerinde deneysel olarak oluşturulan inflamasyona karşı duyarlılığın arttığını göstermiştir. Bu durum, IRE1 α 'nın bağırsak iltihabında önemli bir düzenleyici olduğunu düşündürmektedir. Araştırmalar, ERS sırasında IRE1 α 'nın TNFR1 (Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü 1) ile etkileşime girerek, TNF'den bağımsız JNK (c-Jun N-terminal kinaz) sinyal yolunu ve apoptozu tetiklediğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde IEC'lerde XBP1 eksikliği bulunan farelerde TNFR1 geninin ortadan kaldırılması inflamasyon gelişimini engellemiştir. Ayrıca, XBP1 eksikliği, bağırsak bütünlüğünün korunmasında kilit rol oynayan Paneth hücrelerinin apoptoz yoluyla kaybına yol açarak homeostazın bozulmasına neden olmuştur (Kaser ve ark 2008, Saveljeva ve ark 2015).

Yapmış olduğumuz tez çalışmasında çölyak hastalarının serum IRE1 düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu saptadık (p=0.001). Bu durum ERS ve özellikle IRE1 yolunun ÇH patogenezinde aktif bir rol oynadığını göstermektedir. Bu bulgu, önceki literatürle uyumlu bir şekilde,

IRE1/XBP1 yolunun inflamatuvar süreçlerde ve intestinal epitel homeostazında rol aldığını desteklemektedir (Kaser ve ark 2008, Saveljeva ve ark 2015). Literatürde, özellikle İBH fare modellerinde IRE1 α ve XBP1'in artmış ERS'ye yanıt olarak aktive olduğu ve bunun sonucunda inflamatuvar yanıtların şiddetlendiği gösterilmiştir (Bertolotti ve ark 2001, Kaser ve ark 2008, Tsuru ve ark 2013). Bizim çalışmamızda çölyak hastalarında artmış serum IRE1 düzeylerinin saptanması, bu mekanizmanın yalnızca İBH ile sınırlı olmadığını, çölyak gibi otoimmün/inflamatuvar özellikteki diğer bağırsak hastalıklarında da benzer bir ERS yanıtının rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, Tsuru ve arkadaşlarının bulgularına göre IRE1 β 'nin goblet hücrelerindeki mukus üretiminde kritik rol oynadığı ve eksikliğinde mukus bariyerinin bozulduğu gösterilmiştir (Tsuru ve ark 2013). ÇH'de de bağırsak mukozasında yapısal hasarlar ve bariyer bütünlüğünde bozulma göz önüne alındığında, IRE1 yolunun bu süreçlerde etkili olması muhtemeldir.

Fosforile olmuş eIF2 α , PERK yolunun önemli bir bileşenidir. Cao ve ark.'larının IEC spesifik fosforile edilemeyen eIF2 α mutant fareleri (AAIEC) üzerinde yaptıkları çalışmada, fosforile eIF2 α kaybının paneth hücrelerinde sekretuar granül sayısının azalmasına, ER'nin parçalanmasına ve mitokondri distorsiyonlarına yol açtığı, ayrıca lizozim ve kriptidinleri kodlayan mRNA'ların çevirisinde bozulmalar olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu durum, paneth hücrelerinin fonksiyonlarını olumsuz etkileyerek, AAIEC farelerini Salmonella enfeksiyonu ve kolit gibi bağırsak iltihaplarına karşı daha hassas hale getirmiştir. Sonuç olarak, fosforile eIF2 α 'nın, IEC'lerin işlevlerini sağlıklı sürdürebilmesi için gerekli olduğu vurgulanmaktadır (Cao ve ark 2014).

Bir çalışmada, İBH tedavisinde yaygın kullanılan azatiyoprin ilacının otofajiyi artırıcı etkileri incelemiştir. Araştırma, azatiyoprinin mTORC1 sinyal yolunu baskılayarak ve PERK'i aktive ederek otofajiyi uyardığını, bunun da crohn hastalığı ile ilişkili E. coli bakterisinin temizlenmesini kolaylaştırdığını ve inflamasyon belirteci TNF- α üretimini azalttığını göstermiştir. Ayrıca, Crohn hastalığına yatkınlıkla ilişkili genetik varyantların bu etkileri bozmadığı belirlenmiştir (Hooper ve ark 2019).

Brezilya'da ülseratif kolit hastaları ve sağlıklı kontrol bireyler üzerinde yapılmış güncel bir çalışmada, ülseratif kolitli hastaların kolonik mukozasında

ERS'nin ve buna bağlı olarak gelişen UPR'nin aktivasyonu incelenmiştir. Bulgular, özellikle PERK/eIF2 α yolunun hem IEC'lerde hem de lamina propriadaki bağışıklık hücrelerinde aktive olduğunu göstermektedir. PERK yoluna bağlı EIF2AK3 geninin artmış ekspresyonu ve PERK aktivasyonuna bağlı olarak artan ATF3, DDIT3 gibi UPR genleri, ERS'nin inflamatuvar sürece katkı sağladığını göstermektedir. Ayrıca, PERK aktivasyonu ile ilişkili apoptoz (BAX) ve otofaji (ATG16L1) genlerinin de yukarı regüle olduğu saptanmıştır (Rodrigues ve ark 2022).

CHOP'un hem apoptoz hem de inflamatuvar yanıtlarda rol oynayan PERK sinyal yolunda bulunan bir transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir (Oakes ve Papa 2015). Bir çalışmada ERS'nin CHOP'u aktive ettiğini ve CHOP'un, Nükleer Faktör kappa B (NF- κ B)'nin negatif düzenleyicisi olan peroksizom proliferatörle aktive olan reseptör γ 'yı inhibe ederek, bu yolla NF- κ B aktivasyonunu tetiklediği gösterilmiştir. Ayrıca aktive olan NF- κ B, çekirdeğe giderek ve bağırsak epitelinde IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini artırarak, bağırsak disfonksiyonu ve İBH gelişimine katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (Park ve ark 2010).

UPR ile ilişkili genlerin ekspresyonununun 23 sağlıklı kontrol, 15 ülseratif kolit ve 54 Crohn hastasından alınan kolon ve ileum biyopsilerinde incelendiği bir çalışmada, kolon kaynaklı İBH örneklerinde HSPA5, PDIA4 ve XBP1s genlerinde mRNA ve protein düzeyinde anlamlı artış saptanmıştır. Bu bulgu, ATF6 ve IRE1 kollarının aktivasyonunu göstermektedir. Ayrıca, kolonik İBH örneklerinde eIF2'nin artmış fosforilasyonu PERK kolunun aktive olduğunu düşündürmektedir. UPR ile ilişkili üç kolun aktivasyonu kolonik İBH ile ilişkili inflamasyonda görülmüştür. Bununla birlikte, eIF2'nin aktivasyonuna rağmen, iltihaplı kolon dokusu, genellikle ER homeostazının yeniden kurulmasında rol oynayan ve PERK yolunun hedef genlerindem GADD34 ekspresyonunu artırmamıştır. Bu çalışma aynı zamanda sağlıklı ileal mukozada, inflamasyon sırasında daha fazla aktivasyon olmaksızın, yapısal bir UPR aktivasyonunun varlığına işaret etmektedir. Bu nedenle, UPR'nin devreye girmesi kolon ve ileum arasında farklılık gösterebileceği ve bu durumun ileal veya kolonik hastalık gelişiminde etkili bir faktör olabileceği bildirilmiştir (Bogaert ve ark 2011).

IL-8 ve IL-1 β 'ya ek olarak, IL-23'ünde İBH patogenezinde kritik bir sitokin olarak yer aldığı, ayrıca hem crohn hastalarında hem de ülseratif kolit hastalarında

IL-23 reseptörü genindeki polimorfizmler bildirilmiştir (Duerr ve ark 2006, Abraham ve Cho 2009). Goodall ve ark.'ları ERS'nin monosit kaynaklı dendritik hücrelerde IL-23 üretimi üzerindeki etkilerini incelemiştir. ER stresi, Toll-benzeri reseptör (TLR) agonistleriyle birlikte uygulandığında, IL-23'ün p19 alt biriminin mRNA düzeylerini ve protein sekresyonunu belirgin şekilde artırdığı fakat IL-12 de aynı etki gözlemlenmemiş. IL-23'ün bu etkisinin CHOP aracılığıyla gerçekleştiği ve CHOP'un IL-23 promotörüne bağlanmasının bu süreçte kilit rol oynadığı gösterilmiştir. CHOP'un susturulması, IL-23 ekspresyonunu azaltmış ancak diğer inflamatuvar genleri etkilememiştir. Ayrıca, *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonu da CHOP ekspresyonunu artırarak benzer bir etki yaratmıştır. Bulgular, enfeksiyon ve çevresel faktörlerin ERS yoluyla doğuştan gelen bağışıklık yanıtlarını şekillendirebileceğini ortaya koymaktadır (Goodall ve ark 2010).

Çin'de ülseratif kolit fare modelinde yapılmış güncel bir çalışma, ülseratif kolit patogenezinde ERS kaynaklı PERK-eIF2 α -CHOP sinyal iletiminin önemli rol oynadığını ortaya koymuştur. PERK ve CHOP'un hedeflenerek inhibe edilmesi, stres altındaki hücrelerde yaşam oranını artırmış, apoptozu azaltmış ve epitel bütünlüğünü iyileştirmiştir. Ayrıca, serum D-laktat ve diamin oksidaz düzeylerinin artışı, bağırsak bariyer fonksiyonlarının bozulduğunu ve sistemik inflamasyonu yansıttığını göstermiştir. 5-aminosalisilik asit tedavisi ile hem bu moleküler belirteçlerin düzeyleri hem de kolonik mukozal hasar belirgin şekilde azalmıştır. Bu bulgular doğrultusunda PERK-eIF2 α -CHOP ekseninin terapötik olarak hedeflenmesi ülseratif kolitte hem hücresel stresin hafifletilmesi hem de intestinal hasarın önlenmesi açısından potansiyel bir tedavi stratejisi olabileceğini göstermektedir (Shen ve ark 2022).

Yapmış olduğumuz tez çalışmasında çölyak hastaları ile sağlıklı kontrollerin serum PERK düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptadık (p=0.018). Yapılan çalışmalar ile PERK yolunun, IEC'lerde ERS'ye karşı yanıt olarak aktive olduğu, bunun hem epitel bütünlüğünü etkilediği hem de bağışıklık sistemini yönlendiren sinyalleri tetiklediği gösterilmiştir. PERK'in eIF2 α fosforilasyonu üzerinden protein sentezini düzenlediği, bunun da özellikle paneth hücrelerinin fonksiyonları, savunma peptidleri üretimi ve inflamatuvar sitokin salınımı üzerinde belirleyici olduğu gösterilmiştir. ÇH'de epitel hücrelerin gluten peptitlerine verdiği stres yanıtı, PERK aracılığıyla ERS sinyalinin devreye girmesine neden olabilir.

Serum PERK düzeylerinde saptanan artış, bu hücrel stresin sistemik düzeyde de izlenebileceğine işaret etmektedir. Bu bulgu, ÇH'de yalnızca antijenik uyarılara karşı immün yanıtın değil, aynı zamanda hücrel stres mekanizmalarının da önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Ayrıca PERK yolunun aktivasyonu, yalnızca protein katlanmasıyla ilgili süreçleri değil, aynı zamanda inflamatuvar gen ekspresyonunu, apoptoz yanıtlarını ve bağırsak bariyer fonksiyonlarını da etkilemektedir. Bu çok yönlü etki, PERK'in ÇH'de hem hücrel hem de sistemik düzeyde klinik tablonun bir parçası olabileceğini göstermektedir. Sonuçlarımız, PERK'in hastalığın tanısasal bir biyobelirteci ya da tedavi hedefi olarak değerlendirilebilmesi açısından önem taşımaktadır.

Shkoda ve ark.'larının Almanya da yürüttüğü bir hücre kültürü çalışmasında, aktif Crohn hastalığı, ülseratif kolit ve sigmoid divertikülitli olmak üzere toplam 12 hastadan ve inflamasyon içermeyen kontrol bireylerden IEC'ler saflaştırılmıştır. Aynı zamanda germsiz ve IL-10 gen eksikliği olan farelerden de benzer epitel hücreleri elde edilmiştir. Çalışma da farelerden ve İBH olan hastalardan elde edilen primer IEC'lerinde, kronik inflamasyon koşullarında ERS ile ilişkili GRP78 düzeylerinde artış gözlenmiştir. TNF'nin, GRP78 proteinini ER içinden alıp sitoplazmadaki IκB kinaz kompleksine taşıyarak ERS yanıtını başlattığı gözlemlenmiştir. Bu bulguyla uyumlu olarak, GRP78 proteini devre dışı bırakıldığında, TNF'nin epitel hücrelerde neden olduğu NF-κB RelA fosforilasyonu tamamen engellediğini saptamışlardır. Sonuç olarak İBH hastalarından elde edilen primer IEC'ler, bağırsak epitelinde aktifleşmiş ERS yanıtlarını ortaya koymuştur. IL-10, inflamasyon kaynaklı ERS yanıt mekanizmalarını, ATF-6'nın GRP78 gen promotörüne nükleer düzeyde bağlanmasını düzenleyerek inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Shkoda ve ark 2007).

Bir çalışmada IEC'lerde ATF6α'yı eksprese edemeyen (ATF6α^{-/-}), ve P58IPK'yı eksprese edemeyen (P58IPK^{-/-}) fareler incelenmiştir. P58IPK^{-/-} farelerden elde edilen IEC'lerde aşırı ERS görülürken, ATF6α^{-/-} farelerdeki IEC'lerde apoptoz sinyalleşmesinin aktive olduğu görülmüştür. ATF6α'nın silinmesinin ER şaperonları olan BiP ve P58IPK ekspresyonlarında azalmaya, aynı zamanda apoptoz belirtilerinin gelişmesine neden olduğu saptanmıştır. İBH

hastalarının ve XBP1, ATF6 α veya P58IPK eksikliği olan farelerin bağırsak epitelinde CHOP'un yüksek ekspresyonu bildirilmiştir (Cao ve ark 2013).

Farklı bir çalışmada P58IPK geninin silindiği farelerde ERS'nin arttığı ve kolite karşı daha duyarlı hale geldikleri gözlemlenmiştir (Rutkowski ve ark 2007).

Bir başka çalışmada ise ATF6 α ve P58IPK genlerinin birlikte silinmesi embriyonik ölümlerle sonuçlanmış, bu da protein katlanma bozukluklarının kontrolü için bu iki faktörden en az birinin gerekli olduğunu düşündürmektedir (Gomez ve ark 2014).

Almanya'da yapılan güncel bir çalışmada chron hastalarından alınan ileal epitel hücrelerinde, ATF6 seviyelerinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. ATF6, bağırsak hücrelerinde ERS'ye yanıt olarak TNF ve diğer inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Stengel ve ark 2020).

Japonya'da yapılmış bir çalışmada, ATF6, hem ülseratif kolit ile ilişkili hem de ilişkili olmayan kolorektal kanser gelişiminde prekarsinomatöz atipik değişim gösteren lezyonlarda eksprese olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, ülseratif kolit hastalarında düşük dereceli displaziye inflamatuvar rejeneratif epitelyumdan ayırt etmede yardımcı olabilecek potansiyel bir tanısal belirteç olabileceği bildirilmiştir (Hanaoka ve ark 2018).

Ranjan ve ark.'larının yaptığı bir çalışma İBH ile ilişkili RNF186 geninin, bağırsaklık sistemi yanıtlarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Araştırmada RNF186'nın, NOD2 (nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı içeren 2) aracılığıyla aktive olan makrofajlarda ATF6'yı ubiquitinleyerek UPR'yi başlattığı ve böylece sitokin üretimi ile antimikrobiyal savunma mekanizmalarını etkinleştirdiği ortaya konmuştur. Ayrıca, İBH riskine neden olan RNF186 gen varyantlarının bu süreçleri bozduğu gösterilmiştir. Bu bulgular, RNF186 ve ATF6'nın bağırsak bağırsaklığı ve inflamasyon kontrolünde kritik hedefler olabileceğini göstermektedir (Ranjan ve ark 2021).

Yapmış olduğumuz çalışmada çölyak hastaları ile sağlıklı kontrollerin serum ATF6 düzeyleri kıyaslanmıştır. Ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamadık (p=0.465). Yukarıda bahsedilen çalışmalar epitel hücre düzeyinde, yani doku temelli analizlerle İBH'de ATF6'nın aktifleştiğini ve ekspresyonunun

arttığını göstermiştir. Ve hücrel ERS yanıtları doğrudan bağırsak mukozasından veya kültürlenmiş bağırsak epitel hücrelerinden elde edilmiştir. Bu durum, büyük olasılıkla ATF6'nın hücre içi lokalizasyonu ve seruma salınan bir protein olmamasıyla açıklanabilir. ATF6, normal fizyolojide ER ve nükleus arasında görev yapan bir transkripsiyon faktörü olup, sistemik dolaşıma geçişi sınırlıdır. Bu nedenle, serumdaki ATF6 düzeyleri, dokudaki hücrel aktivasyonu doğrudan yansıtmayabilir ve bu da doku temelli çalışmalarla elde edilen bulgularla serum temelli bulgular arasında farklılık oluşmasına neden olabilir. Yani serumda saptanan düzeyler, dokudaki hücrel aktivasyonu doğrudan yansıtmayabilir. Ek olarak ÇH her ne kadar intestinal inflamasyona neden olan bir durum olsa da, patogenezinde glutenle tetiklenen adaptif immün yanıt, HLA-DQ2/8 ilişkili T-hücre aktivasyonu ve antijen sunumu gibi mekanizmalar ön plandadır. Bu durum, crohn ve ülseratif kolit gibi kronik İBH'lerde görülen sürekli ERS'nin çölyakta aynı şiddet ve süreklilikle gelişmeyebileceğini düşündürmektedir.

Kalneksin ile yapılmış çalışmalar oldukça sınırlıdır. İBH ve kalneksin arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar ise yok denecek kadar azdır.

Kalneksin, ER'de yer alan konstitütif olarak eksprese edilen bir şaperon proteini olup, proteinlerin doğru katlanmasında ve hücrel homeostazın sürdürülmesinde temel bir rol oynar. İnflamatuar koşullar altında, özellikle EBİ3 (Epstein-Barr virüsü ile indüklenen gen 3) gibi indüklenebilir şaperon benzeri moleküllerle iş birliği yaparak bu süreci güçlendirdiği öne sürülmektedir. Bu bağlamda, kalneksin yalnızca fizyolojik protein katlanması süreçlerinde değil, aynı zamanda romatoid artrit, İBH ve sistemik skleroz gibi inflamatuvar hastalıkların patogenezinde de dolaylı bir role sahip olabileceği öne sürülmektedir. Dolayısıyla, kalneksin ve onun EBİ3 ile olan etkileşimi, inflamasyona bağlı hücrel stres yanıtlarının düzenlenmesinde potansiyel bir hedef olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Watanabe ve ark 2021).

2002'de yapılan bir çalışmada, kalneksin proteininin, paneth hücrelerinin farklılaşmasında ve fonksiyonlarıyla ilişkili olup olmadığına; normal ince bağırsak, mide intestinal metaplazisi ve paneth hücresi açısından zengin adenomlarda ilişkisi olup olmadığı incelenmiştir. Çalışmanın sonucuna göre kalneksinin normal ince bağırsak paneth hücreleri tarafından düzenli olarak sentezlendiği saptanmıştır. Buna

karşılık intestinal metaplazi ve paneth hücresi açısından zengin adenomlardaki paneth hücreleri, hem kalneksin hem de lizozim açısından azalmış immün boyanma göstermiştir. Sonuç olarak kalneksinin paneth hücrelerinin farklılaşma ve fonksiyon durumunu yansıtabileceği fakat bu bulgular ile kalneksinin paneth hücresi proliferasyonunda doğrudan bir rolü olduğunu göstermemektedir (Gassler ve ark 2002).

Ryan ve ark.'ları II. ve III. evre kolorektal kanserli 23 hastaya ait dondurulmuş tümör dokuları ile eşleşmiş normal doku örneklerinde kalneksin, kalretikulin, GRP78 ve Grp94'ün ekspresyon düzeyleri değerlendirmiştir. II. ve III. evre kolorektal kanser hastalarının tümör dokularında kalneksin, kalretikulin, GRP78 ve GRP94 ERS proteinlerinin düzeylerinde, normal dokulara kıyasla artış gözlenmemiştir. Ancak, artmış kalneksin protein düzeylerinin kötü klinik prognozla ilişkili olduğu belirlenmiştir Kalneksin geninin silinmesi, hücre canlılığını anlamlı düzeyde azaltmış ve kanser hücrelerini 5-FU kemoterapisine karşı daha duyarlı hale getirmiştir. Sonuç olarak tümör dokularında kalneksin düzeylerinin artmasının, kolorektal kanserde prognostik öneme sahip olabileceği ve kalneksinin gelecekteki tedavilere yönelik potansiyel bir hedef olabileceği bildirilmiştir (Ryan ve ark 2016).

Çölyak hastaları ile sağlıklı kontrollerin serum kalneksin düzeylerini kıyasladığımız çalışmamızda, iki grup arasında kalneksin düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlemlenmedi (p=0.583). Literatürde, ÇH'de UPR'nin çeşitli şaperon proteinler (örneğin GRP78, CHOP) düzeyinde aktive olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Bu nedenle, kalneksinin de ÇH patogenezinde yer alabileceğini düşünmekteyiz. Ancak, çalışmamızda serum düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemesi, kalneksinin çölyakta sistemik dolaşıma yansıyan bir biyobelirteç olmadığını, bunun yerine hastalığa bağlı lokal (intestinal mukozal) düzeyde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

4.2. Çölyak Hastalığı ve Endoplazmik Retikulum Stresi

Son zamanlarda, ERS'nin ÇH'nin hem in vitro hem de in vivo fare modellerinde yer aldığı gösterilmiştir. Ancak hastalarda bu stresin indüklenmesi henüz kanıtlanmamıştır. Monzani ve ark.'larının yaptığı güncel bir çalışmada

pediatrik çölyak hastalarından alınan bağırsak biyopsileri ile iki farklı çölyak fare modeli kullanılmış. Gliadin maruziyetinden hemen sonra hem çölyak hastalarına ait IEC'lerde hem de in vitro ve ex vivo çölyak fare modellerinde ERS'nin indüklendiği gözlemlenmiştir. ÇH grubunda kontrollere kıyasla tTG2 ve CXCR3 (C-X-C motif kemokin reseptörü 3) ekspresyonunun arttığı ve CFTR (kistik fibroz transmembran iletkenlik düzenleyicisi)'nin düzensiz ekspresyonu gözlemlenmiştir. Ayrıca, sıkı bağlantı proteinlerinin düzensiz ekspresyonu saptanmıştır, bu da ÇH için tipik olan bağırsak geçirgenliğinin bozulduğunu göstermektedir. Ek olarak, ÇH'ye bağlı doku iltihaplanması, IFN γ , IL-15 ve IL-17 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda meydana gelen artış kanıtlanmıştır. Aynı örneklerde ERS'nin üç belirteci olan ATF4, ATF6 ve XBP1s'nin artmış ekspresyonu da tespit edilmiştir. Bu durum ERS ilişkili sinyal yolunun ÇH hastalarında da aktive olduğunu göstermektedir. Yine aynı çalışmada çölyak fare modelinde, glutensiz diyetle beslenen farelerin ince bağırsak dokuları gliadin peptidi ile ex vivo olarak kültüre edilerek, ERS belirteci eIF2 α 'nın ekspresyonu incelenmiş. Gliadin uygulamasının IEC'lerde ERS'yi hızlı bir şekilde ve gliadine bağlı olarak arttırdığını gözlemlenmiştir. Bu bulgular, gliadine maruz kalmanın çölyak hastalarının bağırsak dokularında ERS'yi tetiklediğini doğrulamaktadır. Çalışmanın dikkat çekici tarafı ERS'nin inflamasyon, tTG2 ve CFTR düzensizlikleri ile bağırsak geçirgenliğinde bozulma gibi ÇH'nin temel özelliklerinin ortaya çıkmasında doğrudan sorumlu olmasıdır. Ve bu etkilerin büyük ölçüde NF- κ B aktivasyonu yoluyla gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır (Monzani ve ark 2025).

Monzani ve ark.'larının doku düzeyindeki bulguları, gliadin maruziyeti sonrası ERS belirteçlerinin (ATF4, ATF6, XBP1s) arttığını ve bunun bağırsak geçirgenliği bozduğu, inflamasyon ve CFTR gibi proteinlerde düzensizlikle bağlantılı olduğunu göstermektedir. Biz de çalışmamızda benzer olarak XBP1s'in öncüsü olan IRE1, ATF4'ün öncüsü olan PERK'in serum düzeylerini çölyak hastası bireylerde kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğunu saptadık. Bu bulgular ÇH'de sistemik düzeyde ERS aktivasyonunun meydana geldiğini doğrulamaktadır. Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, ERS'nin çölyak hastalığının hem patogenezinde hem de ilerleyişinde rol oynadığı anlaşılmaktadır.

Caputo ve ark.'nın İtalya'da gerçekleştirdiği çalışmada gliadin peptitlerinin hücre içi kalsiyum homeostazını ve tTG2 aktivitesi üzerindeki etkilerini bulmak

amaçlanmıştır. Çalışmada Caco-2 hücrelerinde tek hücreli mikroflorimetri ile kalsiyum homeostazı incelenmiştir. Gliadin peptitlerinden 31-43, kalsiyumu ER ve mitokondrilerden mobilize ederken, 57-68'in yalnızca mitokondriden mobilize ettiği görülmüştür. Ayrıca, gliadin peptitleri tarafından indüklenen kalsiyum mobilizasyonunun, hücre içi tTG2 enziminin aktivitesini artırdığı bulunmuştur. Bunun yanı sıra, peptit 31-43'ün, peptit 57-68'e kıyasla tTG2 ekspresyonunu daha fazla artırdığı bulunmuştur. Ek olarak, BiP ve CHOP, ERS'nin biyokimyasal işaretleyicileri olarak izlenmiştir. Gerçek zamanlı RT-PCR ve Western blot analizleri ile yapılan ölçümler, yalnızca peptit 31-43'ün her iki genin ekspresyonunu artırdığını, peptit 57-68'in ise herhangi bir değişikliğe yol açmadığını ortaya koymuştur (Caputo ve ark 2012).

Monzani'nin İtalya'da yaptığı güncel ve farklı bir hücre kültürü çalışmasında gliadin peptitlerinin IEC'ler ile etkileşimi sonucunda GRP78 proteininin ekspresyonunda, eIF2 α 'nın fosforilasyon düzeyinde ve ATF6 proteininin ekspresyonunda artış olduğu bildirilmiştir. Böylece gliadin peptitlerine maruz kalan ÇH fare modelinde, bağırsak bariyerinin bozulduğu ve bununla birlikte ERS'nin moleküler düzeyde güçlü şekilde aktive olduğunu ortaya koymuşlardır (Monzani 2022).

Önceki çalışmalar, gliadin peptitlerine maruz kalan IEC'lerin ER bölmesinden kalsiyum salıdığını göstermiştir (Deniaud ve ark 2008). Ve ER'den sürekli kalsiyum salınımının da ERS'ye yol açabileceğini göstermişlerdir (Mekahli ve ark 2011). Gliadin peptitleri, PLC/IP3/IP3R (fosfolipaz C/İnozitol trifosfat/İnozitol trifosfat reseptörleri) akseni üzerinden ER'den aktif bir şekilde kalsiyum salınımını uyarır. Ancak bu mekanizma net olarak açıklığa henüz kavuşmamıştır. Monzani ve ark.'larının yaptığı farklı güncel bir çalışmada gliadin peptitlerinin ERS'yi indükleyerek ÇH patogenezinin etkisini moleküler düzeyde incelemiştir. Çalışma da gliadin peptitlerinin CXCR3 reseptörünü aktive ettiğini ve bunun sonucunda PLC/IP3/IP3R sinyal yolunun devreye girerek ER'den sitozole kalsiyum salınımını tetiklediğini, böylece yanlış katlanmış proteinlerin birikimine ve UPR'nin aktive olmasına neden olduğunu bildirilmiştir. Ayrıca PLC inhibisyonunun, gliadin peptit kaynaklı kalsiyum salınımını ve ERS belirteçleri ile tTG2'nin artışını engellediği gösterilmiştir. Sonuç olarak, PLC/IP3/IP3R yolu, gliadin peptitleri ile ilişkili hücrel disfonksiyonda merkezi bir rol oynadığını ve bu disfonksiyonun yalnızca stresin

sonucu değil, aynı zamanda aktif bir süreç olduğu bildirilmiştir. Ek olarak CXCR3/PLC/IP3/IP3R kalsiyum sinyal yolunun, IEC'lerde ERS'yi tetikleyen temel bir mekanizma olarak tanımlanması, inflamasyon, artmış bağırsak geçirgenliği ve otoimmün yanıtlarla karakterize edilen hastalığın moleküler temelini aydınlatmaktadır (Monzani ve ark 2025).

Tapsigargin maddesinin ERS ve otofajiyi indüklediği bilinmektedir. İtalya da yapılan güncel bir çalışmada çölyak hastaları ve sağlıklı kontrol bireylerden elde edilen deri kaynaklı fibroblastların ERS indükleyicisi olan tapsigargin maddesine nasıl yanıt verdiği incelenmiştir. Çalışmaya glutensiz diyet uygulayan 17-43 yaş aralığında olan 5 çölyak hastası ile 25-30 yaş aralığında olan 5 sağlıklı birey dâhil edilmiştir. Çölyak hastaları en az 4 yıldır glutensiz diyet uyguladıkları için normal (Marsh Tip0) biyopsi bulgularına, negatif serolojiye ve anti-endomisyum antikoru negatifliğine sahiptir. Çalışmanın sonucuna göre çölyak hücrelerinde hem sitozolde hem de ER lümeninde Ca^{2+} iyonu düzeylerinin daha düşük olduğu ve buna bağlı olarak tTG2 aktivasyonunun da kontrol hücrelerine kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, ÇH hücrelerinin tapsigargin maddesine karşı kontrol fibroblastlara kıyasla daha yoğun bir UPR gösterdiği ve otofajide de yetersizlik sergilediği gözlemlenmiştir (Sposito ve ark 2023).

ER, hücrede kalsiyum deposu görevi gördüğünden Ca^{2+} mobilizasyonu, miktarı veya kalsiyumu ER içinde bağlayan kalretikulin/kalneksin gibi proteinlerde meydana gelen değişikliklerin ERS üzerinde etkisinin olabileceği öngörülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda ERS'de bir belirteç olabileceğini düşündüğümüz ve hakkında çok fazla çalışmanın bulunmadığı kalneksin proteinini parametrelerimiz arasına dâhil ettik. Kalneksin hücre içi bir proteindir ve normalde hücre dışına salınmaz çünkü görevi hücre içinde, özellikle ER'de sınırlıdır. İnce bağırsakta inflamasyon, enterosit hasarı ve apoptoz gibi durumlar meydana geldiğinde kalneksinin hücre dışına sızabileceğini böylece serum düzeylerinin artabileceğini düşünüyoruz. Bu nedenle hipotezimiz çalışmaya dâhil ettiğimiz aktif çölyak hastası bireylerin serum kalneksin düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olması yönündeydi. Fakat çalışmanın sonucunda iki grup arasında kalneksin düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi (p=0.583).

Yukarıda verilen çalışmalar ile gliadin maruziyetinin çölyak hastalarının intestinal epitel hücrelerinde ERS'yi tetiklediği ve bu stres yanıtının çölyak hastalığının patofizyolojisinde bir rol oynadığını ortaya kanıtlanmıştır. Hem in vitro hem de in vivo modellerde ve pediatrik hasta biyopsilerinde ATF4, ATF6, XBP1s ve eIF2 α gibi ERS belirteçlerinin ekspresyonunun artması, gliadin kaynaklı ERS'nin hücresel düzeyde bir aktivasyonuna yol açtığını göstermektedir. Kendi çalışmamızda, sistemik düzeyde ERS aktivasyonunu yansıtan PERK ve IRE1 sinyal yollarının çölyak hastalarında anlamlı düzeyde artmış olması, bu stres yanıtının sadece lokal değil, organizma genelinde etkili olabileceğini göstermektedir. Ancak kalneksin ve ATF6 düzeylerindeki farklılık istatistiksel olarak anlamlı çıkmamakla birlikte, bu proteinlerin seruma geçiş mekanizmaları üzerine daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Tüm bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, ERS'nin ÇH'nin hem başlangıcında hem de ilerleyici seyrinde etkili olabilecek bir mekanizma olduğu anlaşılmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız çölyak hastalarında IRE1 düzeylerinin yükseldiğini göstermesi bakımından literatüre bir katkı sağlamaktadır. Bu bulgu, ÇH'nin moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması açısından önemlidir ve ileride IRE1 yolu hedef alınarak geliştirilecek tedavi stratejileri için yeni bir bakış açısı oluşturmaktadır.

Çalışmamızda çölyak hastalarında serum PERK düzeylerinin anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Bu bulgu, ERS'ye bağlı hücresel yanıtın ÇH patogenezinde yalnızca lokal düzeyde değil, sistemik olarak da izlenebilir olduğunu ortaya koymaktadır. PERK yolunun aktifleşmesiyle birlikte eIF2 α üzerinden protein sentezinin düzenlenmesi, paneth hücre fonksiyonları, inflamatuvar sitokin salınımı ve epitel bütünlüğün korunması açısından kritik rol oynamaktadır. Bu sebeple PERK, ÇH'de tanısal bir biyobelirteç adayı olarak değerlendirilebilir ve hastalığın seyrini ve mukozal hasarı yansıtan bir sistemik stres göstergesi olarak kullanılabilir.

Çalışmamız ÇH'de serum ATF6 düzeylerinde sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı bir değişiklik olmadığını ortaya koymaktadır. ATF6'nın hücre içi lokalizasyonu ve sistemik dolaşıma sınırlı geçişi, ERS'ye bağlı hücresel aktivasyonun serum düzeylerine yansımamasını açıklayabilir. ERS'nin ÇH patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmeyle birlikte, ATF6 aktivasyonunun doku düzeyinde sınırlı kalması ve ÇH'de baskın olan adaptif immün yanıtın ön planda olması, ATF6'nın sistemik biyobelirteç olarak kullanımını kısıtlamaktadır. ÇH'de UPR'nin daha net anlaşılması için doku temelli analizlerin yapılması gerekmektedir.

Çalışmamız ÇH'de serum kalneksin düzeylerinde sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı bir değişiklik olmadığını ortaya koymaktadır. Bulgularımız ve literatürdeki veriler birlikte değerlendirildiğinde, kalneksin düzeylerinin ÇH'de serumdan ziyade doku düzeyinde değişiklik gösterebileceğidir. Bu nedenle sistemik bir biyobelirteç olarak sınırlı olduğu görülmektedir. Gelecekte yapılacak immünohistokimyasal çalışmalarla intestinal mukozada kalneksin ekspresyonunun doğrudan değerlendirilmesi, ÇH'de ERS'nin moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Sonuç olarak çalışmamız, ÇH'de ERS'ye bağlı özellikle PERK ve IRE1 sinyal yollarının sistemik düzeyde aktive olduğunu göstermektedir. Çalışmamız ÇH patogenezinde yalnızca adaptif immün yanıtların değil, hücrel stres mekanizmalarının da önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Böylece ERS de rol oynayan moleküllerin ileride ÇH'de klinik olarak değerlendirilebilecek birer biyobelirteç olabilmeleri öngörülmektedir. Ek olarak ERS'nin kilit rol oynadığı mekanizmalar doğru bir şekilde analiz edilebilirse, İBH ve ÇH tedavisi için yeni yaklaşımlar geliştirilmesi umut vaat etmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Abadie V, Kim SM, Lejeune T, Palanski BA, Ernest JD, Tastet O, Voisine J, Discepolo V, Marietta EV, Hawash MB, 2020. IL-15, gluten and HLA-DQ8 drive tissue destruction in coeliac disease. *Nature*, 578, 7796, 600-4.
- Abadie V, Sollid LM, Barreiro LB, Jabri B, 2011. Integration of genetic and immunological insights into a model of celiac disease pathogenesis. *Annual review of immunology*, 29, 1, 493-525.
- Aboulaghras S, Piancatelli D, Oumhani K, Balahbib A, Bouyahya A, Taghzouti K, 2022. Pathophysiology and immunogenetics of celiac disease. *Clinica Chimica Acta*, 528, 74-83.
- Abraham C, Cho JH, 2009. IL-23 and autoimmunity: new insights into the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annual review of medicine*, 60, 1, 97-110.
- Adams CJ, Kopp MC, Larburu N, Nowak PR, Ali MM, 2019. Structure and molecular mechanism of ER stress signaling by the unfolded protein response signal activator IRE1. *Frontiers in molecular biosciences*, 6, 11.
- Akobeng A, Thomas A, 2008. Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 27, 11, 1044-52.
- Al-Bawardy B, Codipilly DC, Rubio-Tapia A, Bruining DH, Hansel SL, Murray JA, 2017. Celiac disease: a clinical review. *Abdominal Radiology*, 42, 351-60.
- Al-Bawardy B, Codipilly DC, Rubio-Tapia A, Bruining DH, Hansel SL, Murray JA, 2017. Celiac disease: a clinical review. *Abdominal Radiology*, 42, 2, 351-60.
- Almanza A, Carlesso A, Chintha C, Creedican S, Doultinos D, Leuzzi B, Luis A, McCarthy N, Montibeller L, More S, 2019. Endoplasmic reticulum stress signalling—from basic mechanisms to clinical applications. *The FEBS journal*, 286, 2, 241-78.
- Anelli T, Sitia R, 2008. Protein quality control in the early secretory pathway. *The EMBO journal*, 27, 2, 315-27.
- Aziz I, Branchi F, Sanders DS, 2015. The rise and fall of gluten! *Proceedings of the nutrition society*, 74, 3, 221-6.
- Bai D, Brar P, Holleran S, Ramakrishnan R, Green PH, 2005. Effect of gender on the manifestations of celiac disease: evidence for greater malabsorption in men. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 40, 2, 183-7.
- Balch WE, Morimoto RI, Dillin A, Kelly JW, 2008. Adapting proteostasis for disease intervention. *science*, 319, 5865, 916-9.
- Balchin D, Hayer-Hartl M, Hartl FU, 2016. In vivo aspects of protein folding and quality control. *Science*, 353, 6294, aac4354.
- Bedard K, Szabo E, Michalak M, Opas M, 2005. Cellular functions of endoplasmic reticulum chaperones calreticulin, calnexin, and ERp57. *International review of cytology*, 245, 91-121.
- Bernales S, McDonald KL, Walter P, 2006. Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. *PLoS biology*, 4, 12, e423.
- Bertolotti A, Wang X, Novoa I, Jungreis R, Schlessinger K, Cho JH, West AB, Ron D, 2001. Increased sensitivity to dextran sodium sulfate colitis in IRE1 β -deficient mice. *The Journal of clinical investigation*, 107, 5, 585-93.
- Bhattarai KR, Riaz TA, Kim H-R, Chae H-J, 2021. The aftermath of the interplay between the endoplasmic reticulum stress response and redox signaling. *Experimental & Molecular Medicine*, 53, 2, 151-67.
- Bogaert S, De Vos M, Olievier K, Peeters H, Elewaut D, Lambrecht B, Pouliot P, Laukens D, 2011. Involvement of endoplasmic reticulum stress in inflammatory bowel disease: a different implication for colonic and ileal disease? *PloS one*, 6, 10, e25589.
- Borgese N, Francolini M, Snapp E, 2006. Endoplasmic reticulum architecture: structures in flux. *Current opinion in cell biology*, 18, 4, 358-64.
- Caballero B, 2002. *The nutrition transition: diet and disease in the developing world*, Elsevier, p.
- Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, Fasano A, 2019. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC medicine*, 17, 1-20.
- Cao SS, Wang M, Harrington JC, Chuang B-M, Eckmann L, Kaufman RJ, 2014. Phosphorylation of eIF2 α is dispensable for differentiation but required at a posttranscriptional level for paneth cell function and intestinal homeostasis in mice. *Inflammatory bowel diseases*, 20, 4, 712-22.
- Cao SS, Zimmermann EM, Chuang BM, Song B, Nwokoye A, Wilkinson JE, Eaton KA, Kaufman RJ, 2013. The unfolded protein response and chemical chaperones reduce protein misfolding and colitis in mice. *Gastroenterology*, 144, 5, 989-1000. e6.

- Caproni M, Bonciolini V, D' Errico A, Antiga E, Fabbri P, 2012. Celiac disease and dermatologic manifestations: many skin clue to unfold gluten-sensitive enteropathy. *Gastroenterology Research and Practice*, 2012, 1, 952753.
- Caputo I, Secondo A, Lepretti M, Paoletta G, Auricchio S, Barone MV, Esposito C, 2012. Gliadin peptides induce tissue transglutaminase activation and ER-stress through Ca²⁺ mobilization in Caco-2 cells. *PLoS One*, 7, 9, e45209.
- Catassi C, Bearzi I, Holmes GK, 2005. Association of celiac disease and intestinal lymphomas and other cancers. *Gastroenterology*, 128, 4, S79-S86.
- Chibbar R, Dieleman LA, 2019. The gut microbiota in celiac disease and probiotics. *Nutrients*, 11, 10, 2375.
- Chino H, Mizushima N, 2020. ER-phagy: quality control and turnover of endoplasmic reticulum. *Trends in Cell Biology*, 30, 5, 384-98.
- Clapham DE, 2007. Calcium signaling. *Cell*, 131, 6, 1047-58.
- Dancourt J, Barlowe C, 2010. Protein sorting receptors in the early secretory pathway. *Annual review of biochemistry*, 79, 1, 777-802.
- de Lorgeril M, Salen P, 2014. Gluten and wheat intolerance today: are modern wheat strains involved? *International journal of food sciences and nutrition*, 65, 5, 577-81.
- Deniaud A, Maillier E, Poncet D, Kroemer G, Lemaire C, Brenner C, 2008. Endoplasmic reticulum stress induces calcium-dependent permeability transition, mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis. *Oncogene*, 27, 3, 285-99.
- Di Sabatino A, Vanoli A, Giuffrida P, Luinetti O, Solcia E, Corazza GR, 2012. The function of tissue transglutaminase in celiac disease. *Autoimmunity reviews*, 11, 10, 746-53.
- Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D, 1997. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature medicine*, 3, 7, 797-801.
- Dubois P, Van Heel D, 2008. Translational mini-review series on the immunogenetics of gut disease: immunogenetics of coeliac disease. *Clinical & Experimental Immunology*, 153, 2, 162-73.
- Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, 2006. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *science*, 314, 5804, 1461-3.
- Ellgaard L, Helenius A, 2003. Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nature reviews Molecular cell biology*, 4, 3, 181-91.
- Ellgaard L, McCaul N, Chatsisvili A, Braakman I, 2016. Co- and post-translational protein folding in the ER. *Traffic*, 17, 6, 615-38.
- Fasano A, Catassi C, 2012. Celiac disease. *New England Journal of Medicine*, 367, 25, 2419-26.
- Fesus L, Piacentini M, 2002. Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. *Trends in biochemical sciences*, 27, 10, 534-9.
- Fisher AH, Lomasky SJ, Fisher MJ, Oppenheim YL, 2008. Celiac disease and the endocrinologist: a diagnostic opportunity. *Endocrine Practice*, 14, 3, 381-8.
- Fleckenstein B, Molberg Ø, Qiao S-W, Schmid DG, von der Mu F, Elgstøen K, Sollid LM, 2002. Gliadin T cell epitope selection by tissue transglutaminase in celiac disease: role of enzyme specificity and pH influence on the transamidation versus deamidation reactions. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 37, 34109-16.
- Frakes AE, Dillin A, 2017. The UPRER: sensor and coordinator of organismal homeostasis. *Molecular cell*, 66, 6, 761-71.
- Freeman HJ, 2008. Neurological disorders in adult celiac disease. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, 11, 909-11.
- Galipeau HJ, Verdu EF, 2014. Gut microbes and adverse food reactions: Focus on gluten related disorders. *Gut Microbes*, 5, 5, 594-605.
- Gassler N, Schnölzer M, Rohr C, Helmke B, Kartenbeck J, Grünewald S, Laage R, Schneider A, Kränzlin B, Bach A, 2002. Expression of calnexin reflects paneth cell differentiation and function. *Laboratory investigation*, 82, 12, 1647-59.
- Ghemrawi R, Khair M, 2020. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in neurodegenerative diseases. *International journal of molecular sciences*, 21, 17, 6127.
- Giersiepen K, Lelgemann M, Stuhldreher N, Ronfani L, Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Diagnosis EWGoCD, 2012. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 54, 2, 229-41.
- Gomez JA, Tyra HM, DeZwaan-McCabe D, Olivier AK, Rutkowski DT, 2014. Synthetic embryonic lethality upon deletion of the ER cochaperone p58IPK and the ER stress sensor ATF6 α . *Biochemical and biophysical research communications*, 443, 1, 115-9.

- Goodall JC, Wu C, Zhang Y, McNeill L, Ellis L, Saudek V, Gaston JH, 2010. Endoplasmic reticulum stress-induced transcription factor, CHOP, is crucial for dendritic cell IL-23 expression. *Proceedings of the national academy of Sciences*, 107, 41, 17698-703.
- Gordiyenko Y, Ll acer JL, Ramakrishnan V, 2019. Structural basis for the inhibition of translation through eIF2 α phosphorylation. *Nature communications*, 10, 1, 2640.
- Greco L, Romino R, Coto I, Di Cosmo N, Percopo S, Maglio M, Paparo F, Gasperi V, Limongelli M, Cotichini R, 2002. The first large population based twin study of coeliac disease. *Gut*, 50, 5, 624-8.
- Grehn S, Fridell K, Lilliecreutz M, Hallert C, 2001. Dietary habits of Swedish adult coeliac patients treated by a gluten-free diet for 10 years. *N aringsforskning*, 45, 1, 178-82.
- Guandalini S, Assiri A, 2014. Celiac disease: a review. *JAMA pediatrics*, 168, 3, 272-8.
- Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB, 2012. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World journal of gastroenterology: WJG*, 18, 42, 6036.
- Halfdanarson TR, Litzow MR, Murray JA, 2007. Hematologic manifestations of celiac disease. *Blood*, 109, 2, 412-21.
- Hallert C, Svensson M, Tholstrup J, Hultberg B, 2009. Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 29, 8, 811-6.
- Han J, Back SH, Hur J, Lin Y-H, Gildersleeve R, Shan J, Yuan CL, Krokowski D, Wang S, Hatzoglou M, 2013. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nature cell biology*, 15, 5, 481-90.
- Hanaoka M, Ishikawa T, Ishiguro M, Tokura M, Yamauchi S, Kikuchi A, Uetake H, Yasuno M, Kawano T, 2018. Expression of ATF6 as a marker of pre-cancerous atypical change in ulcerative colitis-associated colorectal cancer: a potential role in the management of dysplasia. *Journal of gastroenterology*, 53, 631-41.
- Hartl FU, Hayer-Hartl M, 2009. Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo. *Nature structural & molecular biology*, 16, 6, 574-81.
- Hayashi T, Rizzuto R, Hajnoczky G, Su T-P, 2009. MAM: more than just a housekeeper. *Trends in cell biology*, 19, 2, 81-8.
- Hetz C, 2012. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nature reviews Molecular cell biology*, 13, 2, 89-102.
- Hetz C, Chevet E, Oakes SA, 2015. Proteostasis control by the unfolded protein response. *Nature cell biology*, 17, 7, 829-38.
- Hetz C, Zhang K, Kaufman RJ, 2020. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nature reviews Molecular cell biology*, 21, 8, 421-38.
- Hetzer MW, 2010. The nuclear envelope. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2, 3, a000539.
- Hillary RF, FitzGerald U, 2018. A lifetime of stress: ATF6 in development and homeostasis. *Journal of biomedical science*, 25, 1-10.
- Hooper KM, Casanova V, Kemp S, Staines KA, Satsangi J, Barlow PG, Henderson P, Stevens C, 2019. The inflammatory bowel disease drug azathioprine induces autophagy via mTORC1 and the unfolded protein response sensor PERK. *Inflammatory bowel diseases*, 25, 9, 1481-96.
- Horiuchi K, Tohmonda T, Morioka H, 2016. The unfolded protein response in skeletal development and homeostasis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 2851-69.
- Hu H, Tian M, Ding C, Yu S, 2019. The C/EBP homologous protein (CHOP) transcription factor functions in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and microbial infection. *Frontiers in immunology*, 9, 3083.
- Huang R, Hui Z, Wei S, Li D, Li W, Daping W, Alahdal M, 2022. IRE1 signaling regulates chondrocyte apoptosis and death fate in the osteoarthritis. *Journal of cellular physiology*, 237, 1, 118-27.
- Huang W, Gong Y, Yan L, 2023. ER stress, the unfolded protein response and osteoclastogenesis: a review. *Biomolecules*, 13, 7, 1050.
- Hurtley SM, Bole DG, Hoover-Litty H, Helenius A, Copeland CS, 1989. Interactions of misfolded influenza virus hemagglutinin with binding protein (BiP). *Journal of Cell Biology*, 108, 6, 2117-26.
- Husby S, Koletzko S, Korponay-Szab o I, Mearin M, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, 2012. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 54, 1, 136-60.

- Hüe S, Mention J-J, Monteiro RC, Zhang S, Cellier C, Schmitz J, Verkarre V, Fodil N, Bahram S, Cerf-Bensussan N, 2004. A direct role for NKG2D/MICA interaction in villous atrophy during celiac disease. *Immunity*, 21, 3, 367-77.
- Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C, 2016. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *The FEBS journal*, 283, 14, 2640-52.
- Iversen R, Sollid LM, 2023. The immunobiology and pathogenesis of celiac disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 18, 1, 47-70.
- Jakes AD, Bradley S, Donlevy L, 2014. Dermatitis herpetiformis. *BMJ*, 348.
- James MW, Scott BB, 2001. Coeliac disease: the cause of the various associated disorders? *European journal of gastroenterology & hepatology*, 13, 9, 1119-21.
- Kagnoff MF, 2007. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *The Journal of clinical investigation*, 117, 1, 41-9.
- Kaser A, Lee A-H, Franke A, Glickman JN, Zeissig S, Tilg H, Nieuwenhuis EE, Higgins DE, Schreiber S, Glimcher LH, 2008. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell*, 134, 5, 743-56.
- Kaufman RJ, 1999. Stress signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum: coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes & development*, 13, 10, 1211-33.
- Kim SM, Mayassi T, Jabri B, 2015. Innate immunity: actuating the gears of celiac disease pathogenesis. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 29, 3, 425-35.
- King JA, Jeong J, Underwood FE, Quan J, Panaccione N, Windsor JW, Coward S, deBruyn J, Ronsley PE, Shaheen A-A, 2020. Incidence of celiac disease is increasing over time: a systematic review and meta-analysis. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 115, 4, 507-25.
- Koskinen O, Villanen M, Korponay-Szabo I, Lindfors K, Mäki M, Kaukinen K, 2009. Oats do not induce systemic or mucosal autoantibody response in children with coeliac disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 48, 5, 559-65.
- Kozlov G, Gehring K, 2020. Calnexin cycle - structural features of the ER chaperone system. *Febs j*, 287, 20, 4322-40.
- Kulak NA, Geyer PE, Mann M, 2017. Loss-less nano-fractionator for high sensitivity, high coverage proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 16, 4, 694-705.
- Lamriben L, Graham JB, Adams BM, Hebert DN, 2016. N-glycan-based ER molecular chaperone and protein quality control system: the calnexin binding cycle. *Traffic*, 17, 4, 308-26.
- Lebwohl B, Rubio-Tapia A, 2021. Epidemiology, presentation, and diagnosis of celiac disease. *Gastroenterology*, 160, 1, 63-75.
- Lebwohl B, Rubio-Tapia A, Assiri A, Newland C, Guandalini S, 2012. Diagnosis of celiac disease. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America*, 22, 4, 661-77.
- Lei Y, Yu H, Ding S, Liu H, Liu C, Fu R, 2024. Molecular mechanism of ATF6 in unfolded protein response and its role in disease. *Heliyon*, 10, 5.
- Lemmer IL, Willemsen N, Hilal N, Bartelt A, 2021. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Mol Metab*, 47, 101169.
- Lemmer IL, Willemsen N, Hilal N, Bartelt A, 2021. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Molecular metabolism*, 47, 101169.
- Leonard MM, Sapone A, Catassi C, Fasano A, 2017. Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity: a review. *Jama*, 318, 7, 647-56.
- Liu GY, Sabatini DM, 2020. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature reviews Molecular cell biology*, 21, 4, 183-203.
- Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, Hadjivassiliou M, Kaukinen K, Kelly CP, Leonard JN, Lundin KE, Murray JA, Sanders DS, Walker MM, Zingone F, Ciacci C, 2013. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*, 62, 1, 43-52.
- Lundin KE, Wijmenga C, 2015. Coeliac disease and autoimmune disease—genetic overlap and screening. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 12, 9, 507-15.
- Maglione MA, Okunogbe A, Ewing B, Grant S, Newberry SJ, Motala A, Shanman R, Mejia N, Arifkhanova A, Shekelle P, 2016. Diagnosis of celiac disease.
- MÄKI M, 1997. Tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. *Gut*, 41, 4, 565-6.
- Marciniak SJ, Yun CY, Oyadomari S, Novoa I, Zhang Y, Jungreis R, Nagata K, Harding HP, Ron D, 2004. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes & development*, 18, 24, 3066-77.
- Marsh MN, Crowe PT, 1995. 5 Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity. *Bailliere's clinical gastroenterology*, 9, 2, 273-93.

- Martinez J, Chalupowicz DG, Roush RK, Sheth A, Barsigian C, 1994. Transglutaminase-mediated processing of fibronectin by endothelial cell monolayers. *Biochemistry*, 33, 9, 2538-45.
- Mekahli D, Bultynck G, Parys JB, De Smedt H, Missiaen L, 2011. Endoplasmic-reticulum calcium depletion and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3, 6, a004317.
- Meldolesi J, Pozzan T, 1998. The endoplasmic reticulum Ca²⁺ store: a view from the lumen. *Trends in biochemical sciences*, 23, 1, 10-4.
- Merighi A, Lossi L, 2022. Endoplasmic reticulum stress signaling and neuronal cell death. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 23, 15186.
- Metcalf MG, Higuchi-Sanabria R, Garcia G, Tsui CK, Dillin A, 2020. Beyond the cell factory: Homeostatic regulation of and by the UPRER. *Science advances*, 6, 29, eabb9614.
- Meusser B, Hirsch C, Jarosch E, Sommer T, 2005. ERAD: the long road to destruction. *Nature cell biology*, 7, 8, 766-72.
- Molberg Ø, Mcadam SN, Körner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, Fugger L, Scott H, Norén O, Roepstorff P, 1998. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nature medicine*, 4, 6, 713-7.
- Monzani R, 2022. Role of ER Stress in the pathogenesis of Celiac Disease.
- Monzani R, Gagliardi M, Saverio V, Clemente N, Monzani A, Rabbone I, Nigrelli F, Pellizzaro S, Ferrario E, Saettone S, 2025. The CXCR3/PLC/IP3-IP3R axis is responsible for the ignition of UPR in intestinal epithelial cells exposed to gliadin peptide, during the onset of celiac disease. *Biology Direct*, 20, 1, 39.
- Monzani R, Gagliardi M, Saverio V, Clemente N, Monzani A, Rabbone I, Nigrelli F, Pellizzaro S, Ferrario E, Saettone S, 2025. Gliadin-dependent UPR induction directly triggers the expression of TG2 and pro-inflammatory cytokines, dysregulates intestinal permeability, and reduces CFTR expression in intestinal epithelial cells of celiac disease patients. *Biology Direct*, 20, 1, 55.
- Murray JA, Van Dyke C, Plevak MF, Dierkhising RA, Zinsmeister AR, Melton III LJ, 2003. Trends in the identification and clinical features of celiac disease in a North American community, 1950–2001. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 1, 1, 19-27.
- Nellikkal SS, Hafed Y, Larson JJ, Murray JA, Absah I. High prevalence of celiac disease among screened first-degree relatives. *Mayo Clinic Proceedings*, 1807-13.
- Oakes SA, Papa FR, 2015. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 10, 1, 173-94.
- 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.
- Omura T, Siekevitz P, Palade G, 1967. Turnover of constituents of the endoplasmic reticulum membranes of rat hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 242, 10, 2389-96.
- Pagliari D, Urgesi R, Frosali S, Riccioni ME, Newton E, Landolfi R, Pandolfi F, Cianci R, 2015. The interaction among microbiota, immunity, and genetic and dietary factors is the condicio sine qua non celiac disease can develop. *Journal of Immunology Research*, 2015, 1, 123653.
- Palade GE, Porter KR, 1954. Studies on the endoplasmic reticulum: I. Its identification in cells in situ. *The Journal of experimental medicine*, 100, 6, 641.
- Park S-H, Choi HJ, Yang H, Do KH, Kim J, Lee DW, Moon Y, 2010. Endoplasmic reticulum stress-activated C/EBP homologous protein enhances nuclear factor- κ B signals via repression of peroxisome proliferator-activated receptor γ . *Journal of Biological Chemistry*, 285, 46, 35330-9.
- Parzanese I, Qehajaj D, Patrinicola F, Aralica M, Chiriva-Internati M, Stifter S, Elli L, Grizzi F, 2017. Celiac disease: From pathophysiology to treatment. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 8, 2, 27.
- Paskevicius T, Farrar RA, Michalak M, Agellon LB, 2023. Calnexin, More Than Just a Molecular Chaperone. *Cells*, 12, 3.
- Pes GM, Bibbò S, Dore MP, 2019. Coeliac disease: beyond genetic susceptibility and gluten. A narrative review. *Ann Med*, 51, 1, 1-16.
- Pietzak MM, Schofield TC, McGinniss MJ, Nakamura RM, 2009. Stratifying risk for celiac disease in a large at-risk United States population by using HLA alleles. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 7, 9, 966-71.
- Platt SG, Kasarda DD, 1971. Separation and characterization of α -gliadin fractions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 243, 3, 407-15.
- Porter KR, Claude A, Fullam EF, 1945. A study of tissue culture cells by electron microscopy: methods and preliminary observations. *The Journal of experimental medicine*, 81, 3, 233.

- Rampertab SD, Pooran N, Brar P, Singh P, Green PH, 2006. Trends in the presentation of celiac disease. *The American journal of medicine*, 119, 4, 355. e9-. e14.
- Ranjan K, Hedl M, Sinha S, Zhang X, Abraham C, 2021. Ubiquitination of ATF6 by disease-associated RNF186 promotes the innate receptor-induced unfolded protein response. *The Journal of clinical investigation*, 131, 17.
- Rashid M, Cranney A, Zarkadas M, Graham ID, Switzer C, Case S, Molloy M, Warren RE, Burrows V, Butzner JD, 2005. Celiac disease: evaluation of the diagnosis and dietary compliance in Canadian children. *Pediatrics*, 116, 6, e754-e9.
- Raymundo DP, Doultinos D, Guillory X, Carlesso A, Eriksson LA, Chevet E, 2020. Pharmacological targeting of IRE1 in cancer. *Trends in cancer*, 6, 12, 1018-30.
- Reif S, Lerner A, 2004. Tissue transglutaminase—the key player in celiac disease: a review. *Autoimmunity reviews*, 3, 1, 40-5.
- Rodrigues BL, Dotti I, Pascoal LB, Morari J, Esteller M, Coope A, Ayrizono MdLS, Salas A, Leal RF, 2022. Endoplasmic reticulum stress in colonic mucosa of ulcerative colitis patients is mediated by PERK and IRE1 pathway activation. *Mediators of Inflammation*, 2022, 1, 6049500.
- Ron D, Walter P, 2007. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature reviews Molecular cell biology*, 8, 7, 519-29.
- Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, 2005. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. *Gastroenterology*, 128, 4, S38-S46.
- Rostom A, Murray JA, Kagnoff MF, 2006. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology*, 131, 6, 1981-2002.
- Rubin JE, Crowe SE, 2020. Celiac disease. *Annals of internal medicine*, 172, 1, ITC1-ITC16.
- Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA, 2013. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology* | *ACG*, 108, 5, 656-76.
- Rubio-Tapia A, Kyle RA, Kaplan EL, Johnson DR, Page W, Erdtmann F, Brantner TL, Kim WR, Phelps TK, Lahr BD, 2009. Increased prevalence and mortality in undiagnosed celiac disease. *Gastroenterology*, 137, 1, 88-93.
- Rutkowski DT, Kang S-W, Goodman AG, Garrison JL, Taunton J, Katze MG, Kaufman RJ, Hegde RS, 2007. The role of p58IPK in protecting the stressed endoplasmic reticulum. *Molecular biology of the cell*, 18, 9, 3681-91.
- Ryan D, Carberry S, Murphy AC, Lindner AU, Fay J, Hector S, McCawley N, Bacon O, Concannon CG, Kay EW, 2016. Calnexin, an ER-induced protein, is a prognostic marker and potential therapeutic target in colorectal cancer. *Journal of translational medicine*, 14, 1-10.
- Sadr-Azodi O, Sanders DS, Murray JA, Ludvigsson JF, 2012. Patients with celiac disease have an increased risk for pancreatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10, 10, 1136-42. e3.
- Sage AT, Holtby-Ottenhof S, Shi Y, Damjanovic S, Sharma AM, Werstuck GH, 2012. Metabolic syndrome and acute hyperglycemia are associated with endoplasmic reticulum stress in human mononuclear cells. *Obesity*, 20, 4, 748-55.
- Saveljeva S, Mc Laughlin S, Vandenabeele P, Samali A, Bertrand M, 2015. Endoplasmic reticulum stress induces ligand-independent TNFR1-mediated necroptosis in L929 cells. *Cell death & disease*, 6, 1, e1587-e.
- Schroder M, Kaufman RJ, 2006. Divergent roles of IRE1 α and PERK in the unfolded protein response. *Current molecular medicine*, 6, 1, 5-36.
- Schröder M, 2008. Endoplasmic reticulum stress responses. *Cellular and molecular life sciences*, 65, 6, 862-94.
- Schröder M, Kaufman RJ, 2005. ER stress and the unfolded protein response. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 569, 1-2, 29-63.
- Schuppan D, Junker Y, Barisani D, 2009. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*, 137, 6, 1912-33.
- Schwarz DS, Blower MD, 2016. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. *Cellular and molecular life sciences*, 73, 79-94.
- Shan L, Molberg Ø, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C, 2002. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, 297, 5590, 2275-9.

- Shan L, Qiao S-W, Arentz-Hansen H, Molberg Ø, Gray GM, Sollid LM, Khosla C, 2005. Identification and analysis of multivalent proteolytically resistant peptides from gluten: implications for celiac sprue. *Journal of proteome research*, 4, 5, 1732-41.
- Shen J, Chen X, Hendershot L, Prywes R, 2002. ER stress regulation of ATF6 localization by dissociation of BiP/GRP78 binding and unmasking of Golgi localization signals. *Developmental cell*, 3, 1, 99-111.
- Shen Y, Mo D, Liu Y, Ni S, Li S, Lv B, 2022. Role of the PERK-eIF2 α -CHOP signaling axis in mucosal barrier injury caused by ulcerative colitis.
- Shibata Y, Voeltz GK, Rapoport TA, 2006. Rough sheets and smooth tubules. *Cell*, 126, 3, 435-9.
- Shkoda A, Ruiz PA, Daniel H, Kim SC, Rogler G, Sartor RB, Haller D, 2007. Interleukin-10 blocked endoplasmic reticulum stress in intestinal epithelial cells: impact on chronic inflammation. *Gastroenterology*, 132, 1, 190-207.
- Singh P, Arora A, Strand TA, Leffler DA, Catassi C, Green PH, Kelly CP, Ahuja V, Makharia GK, 2018. Global prevalence of celiac disease: systematic review and meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 16, 6, 823-36. e2.
- Singh P, Arora S, Singh A, Strand TA, Makharia GK, 2016. Prevalence of celiac disease in Asia: A systematic review and meta-analysis. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 31, 6, 1095-101.
- Skowera A, Peakman M, Cleare A, Davies E, Deale A, Wessely S, 2001. High prevalence of serum markers of coeliac disease in patients with chronic fatigue syndrome. *Journal of clinical pathology*, 54, 4, 335-6.
- Smith MH, Ploegh HL, Weissman JS, 2011. Road to ruin: targeting proteins for degradation in the endoplasmic reticulum. *Science*, 334, 6059, 1086-90.
- Sollid LM, Jabri B, 2011. Celiac disease and transglutaminase 2: a model for posttranslational modification of antigens and HLA association in the pathogenesis of autoimmune disorders. *Current opinion in immunology*, 23, 6, 732-8.
- Sposito S, Secondo A, Romanelli AM, Montefusco A, Nanayakkara M, Auricchio S, Barone MV, Caputo I, Paoletta G, 2023. Peculiar Ca(2+) Homeostasis, ER Stress, Autophagy, and TG2 Modulation in Celiac Disease Patient-Derived Cells. *Int J Mol Sci*, 24, 2.
- Stengel ST, Fazio A, Lipinski S, Jahn MT, Aden K, Ito G, Wottawa F, Kuiper JW, Coleman OI, Tran F, 2020. Activating transcription factor 6 mediates inflammatory signals in intestinal epithelial cells upon endoplasmic reticulum stress. *Gastroenterology*, 159, 4, 1357-74. e10.
- Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A, 2006. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO reports*, 7, 9, 880-5.
- Szymański J, Janikiewicz J, Michalska B, Patalas-Krawczyk P, Perrone M, Ziółkowski W, Duszyński J, Pinton P, Dobrzyń A, Więckowski MR, 2017. Interaction of mitochondria with the endoplasmic reticulum and plasma membrane in calcium homeostasis, lipid trafficking and mitochondrial structure. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 7, 1576.
- Tabas I, Ron D, 2011. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Nature cell biology*, 13, 3, 184-90.
- Telega G, Bennet TR, Werlin S, 2008. Emerging new clinical patterns in the presentation of celiac disease. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 162, 2, 164-8.
- Toulmay A, Prinz WA, 2011. Lipid transfer and signaling at organelle contact sites: the tip of the iceberg. *Current opinion in cell biology*, 23, 4, 458-63.
- Troncone R, Greco L, Mayer M, Paparo F, Caputo N, Micillo M, Mugione P, Auricchio S, 1996. Latent and potential coeliac disease. *Acta Paediatrica*, 85, 10-4.
- Tsuru A, Fujimoto N, Takahashi S, Saito M, Nakamura D, Iwano M, Iwawaki T, Kadokura H, Ron D, Kohno K, 2013. Negative feedback by IRE1 β optimizes mucin production in goblet cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 8, 2864-9.
- Tully M-A, 2008. Pediatric Celiac Disease. *Gastroenterology Nursing*, 31, 2, 132-40.
- Urano F, Bertolotti A, Ron D, 2000. IRE1 and efferent signaling from the endoplasmic reticulum. *Journal of cell science*, 113, 21, 3697-702.
- Vahedi K, Mascart F, Mary J-Y, Laberrenne J-E, Bouhnik Y, Morin M-C, Ocmant A, Velly C, Colombel J-F, Matuchansky C, 2003. Reliability of antitransglutaminase antibodies as predictors of gluten-free diet compliance in adult celiac disease. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 98, 5, 1079-87.
- Valitutti F, Cucchiara S, Fasano A, 2019. Celiac disease and the microbiome. *Nutrients*, 11, 10, 2403.
- Valitutti F, Fasano A, 2019. Breaking down barriers: how understanding celiac disease pathogenesis informed the development of novel treatments. *Digestive diseases and sciences*, 64, 1748-58.

- Villanacci V, Not T, Sblattero D, Gaiotto T, Chirido F, Galletti A, Bassotti G, 2009. Mucosal tissue transglutaminase expression in celiac disease. *Journal of cellular and molecular medicine*, 13, 2, 334-40.
- Virta L, Saarinen M, Kolho KL, 2017. Declining trend in the incidence of biopsy-verified coeliac disease in the adult population of Finland, 2005-2014. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 46, 11-12, 1085-93.
- Vriezinga SL, Auricchio R, Bravi E, Castillejo G, Chmielewska A, Crespo Escobar P, Kolaček S, Koletzko S, Korponay-Szabo IR, Mummert E, 2014. Randomized feeding intervention in infants at high risk for celiac disease. *New England Journal of Medicine*, 371, 14, 1304-15.
- Wahab PJ, Meijer JW, Mulder CJ, 2002. Histologic follow-up of people with celiac disease on a gluten-free diet: slow and incomplete recovery. *American journal of clinical pathology*, 118, 3, 459-63.
- Walter P, Ron D, 2011. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *science*, 334, 6059, 1081-6.
- Wang M, Kaufman RJ, 2016. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease. *Nature*, 529, 7586, 326-35.
- Watanabe A, Mizoguchi I, Hasegawa H, Katahira Y, Inoue S, Sakamoto E, Furusaka Y, Sekine A, Miyakawa S, Murakami F, 2021. A chaperone-like role for EBI3 in collaboration with calnexin under inflammatory conditions. *Frontiers in immunology*, 12, 757669.
- Westrate L, Lee J, Prinz W, Voeltz G, 2015. Form follows function: the importance of endoplasmic reticulum shape. *Annual review of biochemistry*, 84, 1, 791-811.
- Withoff S, Li Y, Jonkers I, Wijmenga C, 2016. Understanding celiac disease by genomics. *Trends in Genetics*, 32, 5, 295-308.
- Yao Z, Fan Y, Lin L, Kellems RE, Xia Y, 2024. Tissue transglutaminase: A multifunctional and multisite regulator in health and disease. *Physiological Reviews*, 104, 1, 281-325.
- Yoshida H, Okada T, Haze K, Yanagi H, Yura T, Negishi M, Mori K, 2000. ATF6 activated by proteolysis binds in the presence of NF-Y (CBF) directly to the cis-acting element responsible for the mammalian unfolded protein response. *Molecular and cellular biology*, 20, 18, 6755-67.
- Zhang H-S, Chen Y, Fan L, Xi Q-L, Wu G-H, Li X-X, Yuan T-L, He S-Q, Yu Y, Shao M-L, 2015. The endoplasmic reticulum stress sensor IRE1 α in intestinal epithelial cells is essential for protecting against colitis. *Journal of Biological Chemistry*, 290, 24, 15327-36.
- Zhang K, Kaufman RJ, 2008. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. *Nature*, 454, 7203, 455-62.
- Zhang W, Shi Y, Oyang L, Cui S, Li S, Li J, Liu L, Li Y, Peng M, Tan S, Xia L, Lin J, Xu X, Wu N, Peng Q, Tang Y, Luo X, Liao Q, Jiang X, Zhou Y, 2024. Endoplasmic reticulum stress—a key guardian in cancer. *Cell Death Discovery*, 10, 1, 343.
- Zielke S, Kardo S, Zein L, Mari M, Covarrubias-Pinto A, Kinzler MN, Meyer N, Stolz A, Fulda S, Reggiori F, 2021. ATF4 links ER stress with reticulophagy in glioblastoma cells. *Autophagy*, 17, 9, 2432-48.

7. EKLER

7.1. EK-A: Etik Kurul Kararı



7.2. Ek-B: Turnitin Raporu

ÇÖLYAK HASTALIĞINDA ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNİN İNCELENMESİ

ORIGINALITY REPORT

4%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet	125 words — 1%
2	openaccess.biruni.edu.tr Internet	47 words — < 1%
3	turkkok.net Internet	37 words — < 1%
4	file.uroturk.org.tr Internet	28 words — < 1%
5	acikerisim.selcuk.edu.tr Internet	24 words — < 1%
6	openaccess.hacettepe.edu.tr Internet	22 words — < 1%
7	www.researchgate.net Internet	22 words — < 1%
8	9lib.net Internet	17 words — < 1%
9	Göral, Fatma. "Kuru baklagiller ve glutensiz un kullanılarak hazırlanan türk mutfak kültüründe çok tüketilen bazı tariflerin B1 , B2 ve B6 vitamin içerikleri	17 words — < 1%

açısından değerlendirilmesi", İstanbul Sabahattin Zaim
University (Turkey)

ProQuest

- 10 dergipark.org.tr
Internet 17 words — < 1%
- 11 www.sporbilim.com
Internet 17 words — < 1%
- 12 www.afzhan.com
Internet 16 words — < 1%
- 13 Sarikaya, Buse. "Aronya (Aronia Melanocarpa) Meyvesinin Kronik Obstrüktif Akciger Hastalarında Antiinflatuar Etkilerinin Belirlenmesi.", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2024
ProQuest 15 words — < 1%
- 14 estudogeral.sib.uc.pt
Internet 12 words — < 1%
- 15 www.aott.org.tr
Internet 11 words — < 1%
- 16 beyazgazete.com
Internet 10 words — < 1%
- 17 Büyükyıldırım, Cemile. "Türk Mutfağında Füzyon Uygulama: Kimchi Örneği.", Necmettin Erbakan University (Turkey)
ProQuest 9 words — < 1%
- 18 KIRSAÇLIOĞLU TUNA, Ceyda, KULOĞLU, Zarife, ÜSTÜNDAĞ, Gonca, ENSARİ, Arzu and KANSU, Aydan. "Fonksiyonel Kabızlığı Olan Çocuklarda Çölyak Hastalığı Taramalı mıyız?", RNA, 2016.
Publications 9 words — < 1%

- 19 Bunsuz, Merve. "Hipoksi/Re-Oksijenasyona Maruz Kalan Kardiyomiyositlerde Metilprednizolon'un Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması", Ankara Üniversitesi (Turkey), 2024
ProQuest 8 words — < 1%
- 20 Genisyurek, Ceyda. "Zeka Oyunlarının 5-6 Yas Çocuklarının Dil Gelişimine Etkisinin İncelenmesi", Bursa Uludag University
ProQuest 8 words — < 1%
- 21 abis-files.istanbul.edu.tr
Internet 8 words — < 1%
- 22 dspace.akdeniz.edu.tr
Internet 8 words — < 1%
- 23 kongre.akademikiletisim.com
Internet 8 words — < 1%
- 24 liu.diva-portal.org
Internet 8 words — < 1%
- 25 slideplayer.biz.tr
Internet 8 words — < 1%
- 26 tez.sdu.edu.tr
Internet 8 words — < 1%
- 27 www.gmjjournal.net
Internet 8 words — < 1%
- 28 "Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2016
Crossref 7 words — < 1%
- 29 hdl.handle.net
Internet 7 words — < 1%

8. ÖZGEÇMİŞ

