

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI (VETERİNER)
DOKTORA PROGRAMI
DR-2023-0052

**GASTROİNTESTİNAL İNFLAMASYONLU KÖPEKLERDE
SERUM DİAMİN OKSİDAZ, ZONULİN, LAKTAT VE D-
DİMER SEVİYELERİNİN TESPİTİ**

Nurcan ŞAHİN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kerem URAL

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
VTF-23020 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2023

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen ve biliyorum ki bundan sonraki yaşamım boyunca da desteğini hep üzerimde hissedeceğim sevgili danışmanım Prof. Dr. Kerem URAL'a öncelikli olarak teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca ne zaman yardıma ihtiyacım olsa bir telefon kadar uzağımda olan Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN ve Doç. Dr. Songül ERDOĞAN'a verdikleri destekten dolayı çok teşekkür ederim. Yine genç çalışma arkadaşım Vet. Tek. Batuhan GÜNEY'e verdiği teknik destek ve sabrı için teşekkür ederim.

Son olarak kızım Zeynep Eylül HASIRCI'ya doktora tez çalışmam sebebiyle benden ayrı geçirmek zorunda kaldığı zamanlardaki sabır ve anlayışı için ve hayattaki en büyük destekçim ve arkadaşım olduğu için ayrıca hem her konuda yanımda oldukları hem de kızımınla yakinen ilgilendikleri için sevgili annem ve babam Gül ve Hüseyin ŞAHİN'e sonsuz teşekkürlerimle.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Bağırsak Bariyeri	2
2.1.1. Bağırsak Fizyolojisi ve Sıkı Bağlantılar	2
2.1.2. Bağırsak Bariyeri ve Düzenlenmesi	3
2.1.3. Artan Bağırsak Geçirgenliği ve Hastalıklarla İlişkisi	4
2.2. Köpeklerde Gastrointestinal İşlevselliğin Belirlenmesi	6
2.2.1. Beslenme Müdahaleleri ve Mikrobiyom	8
2.2.1.1. Probiyotikler	9
2.2.1.2. Prebiyotikler	10
2.2.1.3. Kompleks karbonhidratlar	11
2.2.1.4. Basit karbonhidratlar	12
2.2.1.5. Protein	13
2.2.1.6. Yağ	15
2.2.2. Etkili Sindirim ve Emilim Kapasitesi	16

2.2.3. Gastrointestinal Mikrobiyota	17
2.2.3.1. Köpeklerde gastrointestinal inflamasyonda mikrobiyota değişimleri	18
2.2.3.1.1. Sağlıklı köpeklerde intestinal mikrobiyota	20
2.2.3.1.2. Köpeklerin gastrointestinal hastalıklarında mikrobiyota	21
2.2.4. Etkili Bağışıklık Durumu	25
2.2.5. Bağırsak Mukozası	26
2.2.6. Bağırsağın Nöroendokrin İşlevi	26
2.3. Köpeklerde Gastrointestinal İnflamasyonun Potansiyel Biyobelirteçleri	29
2.3.1. Diamin Oksidaz (DAO)	29
2.3.1.1. Mukozal Büyüme Düzenlemesinde DAO'nun Rolü	31
2.3.1.2. Bazal DAO Düzeyleri	32
2.3.1.3. Postheparin DAO Salımı	32
2.3.1.4. DAO'nun Patolojik Durumlarla İlgisi	33
2.3.1.5. Çeşitli Gastrointestinal Hastalıkların Tespitinde DAO'nun Rolü	37
2.3.1.6. İlaçların Gastrointestinal Sistem Toksisitesinin Tahmincisi Olarak DAO	37
2.3.2. Zonulin	38
2.3.2.1. Zonulin ve Bakteriyel Enfeksiyonlar	42
2.3.2.2. Zonulin ve Probiyotikler	43
2.3.3. Laktat	44
2.3.4. D-dimer	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	50
3.1. Gereç	50
3.1.1. Cihazlar	50
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	51
3.1.3. Hayvan Materyali	51

3.2. Yöntem	52
3.2.1. DAO Analizi	52
3.2.1.1. Test Hazırlığı	52
3.2.1.2. Kit Kompozisyonu.....	54
3.2.1.3. Testin Yapılışı.....	54
3.2.1.4. Sonuç Belirleme.....	55
3.2.2. Zonulin Analizi	55
3.2.2.1. Test hazırlığı	56
3.2.2.2. Kit Kompozisyonu.....	56
3.2.2.3. Testin Yapılışı.....	57
3.2.2.4. Sonuç Belirleme.....	58
3.2.3. Laktat Analizi	58
3.2.3.1. Test Hazırlığı	58
3.2.3.2. Kit Kompozisyonu.....	59
3.2.3.3. Testin Yapılışı.....	59
3.2.3.4. Sonuç Belirleme.....	59
3.2.4. D-dimer Analizi	60
3.2.4.1. Test Hazırlığı	60
3.2.4.2. Kit Kompozisyonu.....	60
3.2.4.3. Testin Yapılışı.....	60
3.2.4.4. Sonuç Belirleme.....	61
3.3. İstatistiksel Analizler	61
4. BULGULAR.....	62
4.1. Olgulara Ait Demografik Veriler.....	68
5. TARTIŞMA	72

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	78
KAYNAKLAR	80
EKLER	126
Ek 1. Hasta Bilgi Formu	126
Ek 2. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	127
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	128
ÖZ GEÇMİŞ	129



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AHD	: Akut Hemorajik Diyare
APTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
AT	: Anti Trombin
BA	: Safra Asitleri
BC	: Bakteri topluluğu
BCFA	: Dallı Zincirli Yağ Asitleri
BV	: Kan damarı
CD	: Crohn Hastalığı
CDAI	: Crohn Hastalığı Aktivite İndeksi
CE	: Kronik Enteropati
CH₄	: Metan
CID	: Kronik İnflamatuvar Hastalıklar
CNS	: Merkezi sinir sistemi
CPV	: Köpek Parvoviral Enterit
CXCR3	: G Proteini Bağlı Reseptör 3
DAO	: Diamin Oksidaz
DIC	: Dissemine İntravasküler Koagülasyon
D-LA	: D- Laktat
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EL	: Epitel tabakası

ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPI	: Ekzokrin Pankreatik Yetmezlik
FDP	: Çözünür Fibrin
Fg	: Fibrinojen
FISH	: Floresan Yerde Hibridizasyon
FOS	: Fruktooligosakkarit
FT	: Fluorourosil
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
GDV	: Gastrik Dilatasyon Volvulus
GI	: Gastrointestinal
GNB	: Gram-negatif bakteriler
H₂	: Hidrojen
H₂S	: Hidrojen Sülfür
HC	: Sağlıklı Kontrol
HDC	: Histidin Dekarboksilaz
HIT	: Histamin İntoleransı
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
HNMT	: Histamin-N-metiltransferaz
HPA	: Hipotalamus Hipofiz Adrenal Aksı
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
IAP	: Bağırsak Alkalın Fosfataz
IBD	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı

ID	: Kullanıcı numarası
IEC	: Bağırsak epitel hücresi
IFABP	: Bağırsak Yağ Asidi Bağlayıcı Proteinler
IFN-γ	: İnterferon Gama
Ig A	: İmmunglobulin A
IL	: Bağırsak Lenfanjektazisi
IN	: Bağırsak lümeni
INR	: Uluslararası Normalizasyon Oranı
ITS	: Dahili Kopyalanmış Aralayıcı
JAM	: Birleşme adezyon molekülleri
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
LP	: Lamina Propria
LPB	: LPS bağlayıcı protein
LPS	: Lipopolisakkarit
MPO	: Miyeloperoksidaz
MUC2	: Müsin 2
NGAL	: Nötrofil-jelatinaz ilişkili lipokalin
NHD	: Non Hemorajik Diyare
OD	: Absorbans Değeri
ODC	: Ornitin Dekarboksilaz
PAR 2	: Proteaz Aktive Edici Reseptör
PC	: Protein C
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PS	: Protein S
PT	: Protrombin Zamanı
RMBD	: Çiğ Et Bazlı Diyet
rRNA	: Ribozomal RNA
SCFA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
sIgA	: Salgılayıcı IgA
T1D	: Tip 1 Diyabet
TEER	: Transepitel Elektrik Direnci
TJ	: Sıkı Bağlantı Noktaları
TMAO	: Trimetilamin-N-Oksit
TNBSA	: Trinitrobenzen Sülfonik Asit
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
T-RFLP	: Terminal Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
TT	: Trombin Zamanı
ÜK	: Ülseratif Kolit
WBC	: Beyaz Kan Hücreleri
ZO	: Zonula Okludens
Zot	: Zonula Okludens Toksini
ZRP	: Zonulin İlişkili Protein
ZUN	: Canine Zonulin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bağırsak bileşenleri ve bariyer anatomisi .	3
Şekil 2. Bağırsak epitelyal sıkı bağlantıları ve ilgili proteinlerin yapısı .	4
Şekil 3. Bağırsak mukozasındaki inflamasyon sırasında farklı biyobelirteçlerin kana ve/veya dışkıya nasıl ulaştığının gösterimi	5
Şekil 4. Evcil hayvan gıdaları, GI mikrobiyomu ve konakçı arasındaki 8 aşamadaki üçlü etkileşimler	8
Şekil 5. Karmaşık karbonhidratların ve lifin çözünabilirlik ve fermente edilebilirlik spektrumu	11
Şekil 6. Köpek ve kedilerde major mikrobiyal gen fonksiyonlarının nisbi oranı	21
Şekil 7. ODC ve DAO'nun mukozal büyümedeki spekülative rolü	32
Şekil 8. Bağırsak epitel hücrelerinden polarize zonulin salınımına neden olan uyaranlar	39
Şekil 9. CID'nin gelişmesine yol açan bariyer fonksiyonunun kaybına neden olan zonulinin öne sürülen mekanizması	40
Şekil 10. Fibrinojen, çözünabilen fibrin veya çapraz bağlı fibrinin plazmin aracılı bölünmesiyle salınan bozunma ürünleri	47
Şekil 11. D-dimer için lateks aglütinasyon slayt testi	48
Şekil 12. DAO Konsantrasyonu	55
Şekil 13. Zonulin konsantrasyonu	58
Şekil 14. Gruplara göre DAO analizlerine ait kutu grafiği	64
Şekil 15. Gruplara göre zonulin analizlerine ait kutu grafiği	65
Şekil 16. Gruplara göre laktat analizlerine ait kutu grafiği	66
Şekil 17. Gruplara göre D-dimer analizlerine ait kutu grafiği	67

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. DAO test kiti	53
Resim 2. ELISA testinin yapılışı.....	59
Resim 3. Laktat analizi.....	59
Resim 4. D-dimer test kiti	60
Resim 5. Olgu 1 görsel ve demografik veriler	68
Resim 6. Olgu 2 görsel ve demografik veriler	68
Resim 7. Olgu 3 görsel ve demografik veriler	69
Resim 8. Olgu 4 görsel ve demografik veriler	69
Resim 9. Olgu 5 görsel ve demografik veriler	70
Resim 10. Olgu 6 görsel ve demografik veriler	70
Resim 11. Olgu 7 görsel ve demografik veriler	71

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 1. Bağırsak bakterilerinin hastalığı ve sağlığı etkileyen metabolik yollara katkısı	19
Tablo 2. Gastrointestinal hastalığı olan köpeklerde bildirilen mikrobiyal kaymalar.....	22
Tablo 3. IBD’de bildirilen mikrobiyal kaymaların sağlıklı deneklere göre türler arasında karşılaştırılması	24
Tablo 4. DAO’nun saflaştırılması ve karakterizasyonu.....	29
Tablo 5. Değişen DAO aktivitesi ile ilişkili patofizyolojik durumlar.....	34
Tablo 6. Farklı hastalıklarda serum DAO	36
Tablo 7. Serum zonulin seviyesi ile farklı sıkı bağlantı protein antikorları arasındaki korelasyon	41
Tablo 8. Zonulin' in dahil olduğu CID'lerin listesi	42
Tablo 9. Çalışma kapsamına alınan köpekler ve hastalık tanıları.....	51
Tablo 10. Çalışma kapsamına alınan hastalara yapılan analizler.....	52
Tablo 11. DAO kit kompozisyonu	54
Tablo 12. DAO sonuçlarının okunması	55
Tablo 13. Zonulin kit kompozisyonu	56
Tablo 14. Gruplara göre DAO, zonulin, laktat ve D-dimer verilerinin ortalama ve standart hata değerleri.....	63

ÖZET

GASTROİNTESTİNAL İNFLAMASYONLU KÖPEKLERDE SERUM DİAMİN OKSİDAZ, ZONULİN, LAKTAT VE D-DİMER SEVİYELERİNİN TESPİTİ

Şahin, N. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı (Veteriner), Doktora Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: İntestinal sistem patojenlere karşı bir savunma bariyeri gibi görev alırken aynı zamanda seçici emilim yoluyla temel besinlerin, iyonların ve diğer bileşiklerin metabolizmada kalmasını veya atılımını düzenler. Sızıntılı bağırsak da denilen patolojik durum bu bariyer işlevi bozukluğunda ve seçici geçirgenlik işlevinde değişiklikler meydana geldiğinde şekillenir. Ölüm veya hastalık, bağırsak duvarından "sızan" toksin ya da patojenlerin sistemik etkilerinin ve sonrasında başlayan inflamatuvar araçların üretimini içeren bağışıklık tepkisinin bir sonucudur. Sızıntılı bağırsak bu nedenle hem hayatı tehdit eden bağırsak tıkanıklıklarına hem de hayatı olumsuz yönde etkileyebilecek kronik hastalıklara yol açmaktadır. Erken tanı, prognoz ve komplikasyonların öngörülebilmesi ve olguların risk kategorilerine ayrılması amacıyla kullanılan biyobelirteçler klinik kullanımda oldukça yararlıdır. Bu konuda farklı etiyolojik nedenlerle oluşan gastrointestinal inflamasyonda diamin oksidaz, zonulin, laktat ve D-dimer'in sızıntılı bağırsağın tespitinde diyagnostik biyobelirteçler olarak rutinde kullanımının, teşhis ve sağaltım protokolleri konusunda fayda sağlayacağı düşünüldüğünden, analiz sonuçlarının bu bağlamda değerlendirilmesi çalışmamızın ana hedefi olmuştur.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında en az 1 gündür süre gelen diyare, kusma gibi gastroenteritis semptomları ile getirilen ve en az 1 ay öncesine kadar antibiyotik kullanmamış olan 62 hasta değerlendirilmiştir. Olgular yaş, ırk ve cinsiyet anlamında bir sınıflandırmaya tabii tutulmazken, etiyolojik sınıflandırma dikkate alınmıştır (Tablo 9). Kontrol grubu, aşıları ve antiparaziter tedavileri düzenli yapılan ve klinik olarak sağlıklı bulunan 10 köpekten oluşturulmuştur. Çalışma grubundaki olgulardan herbiri için *Vena cephalica antebrachii*'den antikoagülanlı tüplere 2'şer ml kan alınarak D-dimer ve laktat ölçümleri gerçekleştirilmiş ve

ELISA ile gerçekleştirilecek DAO ve zonulin testi için antikoagölansız tüplere 2' şer ml kan alınıp santrifüje edilen örnekler -80 derecede saklanmış ve ELISA testleri akredite laboratuvarda yapılmıştır. Örneklerin hemolize ya da hiperlipidemik olmamasına dikkat edilmiştir.

Bulgular: Çalışma kapsamına 0-5 yaşlı her iki cinsiyette ve farklı ırklarda 72 adet köpek dahil edilmiştir. Analizleri yapılan hastalarda ortalama $\pm$ standart hata yönünden DAO seviyelerinde (ng/mL) kontrol grubu ile parvoviral enteritis grubu arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p<0,0001$) anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Yine DAO seviyelerinde (ng/mL) ortalama $\pm$ standart hata yönünden kontrol grubu ile corona virüs grubu arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p<0,05$) anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Ortalama $\pm$ standart hata yönünden zonulin seviyelerinde (ng/mL), kontrol grubu ile Distemper virüs grubu arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p<0,001$), kontrol grubu ile miksamatoz ko-infeksiyöz grup arasındaki istatistiksel fark ($p<0,05$), kontrol grubu ile parvoviral enteritis grubu arasındaki istatistiksel farkların ($p<0,01$) tamamı anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Laktat seviyelerinde (mmol/L) ortalama $\pm$ standart hata yönünden kontrol grubu ile non-infeksiyöz grup ve parvoviral enteritis grubu arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p<0,01$), kontrol grubu ile Distemper virüs grubu arasında istatistiksel olarak bulunan fark kontrol grubu ile corona virüs grubu arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p<0,0001$), yine kontrol grubu ile giardiazis grubu arasında istatistiksel olarak bulunan farkların ($p<0,05$) tamamı anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Ortalama $\pm$ standart hata yönünden D-dimer seviyelerinde (mg/dL) kontrol grubu ile parvoviral enteritis grubu arasında ve yine kontrol grubu ile miksamatoz ko-infeksiyöz grup arasında istatistiksel olarak fark ($p<0,01$), kontrol grubu ile Distemper virüs grubu arasındaki fark ($p<0,001$) anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen köpeklere ait serum örneklerinden elde edilen DAO, zonulin, laktat ve D-dimer verilerinin ortalama ve standart hata değerleri tablolastırılmıştır (Tablo 14). Verilerin homojenite testleri Shapiro-Wilk analizine göre gerçekleştirildiğinde normal dağılmadığı ve transformasyon işlemlerine normalitenin sağlanmadığı belirlenmiştir. Bu kapsamda non-parametrik test tekniklerinden Kruskal-Wallis ANOVA yardımı ile incelenen parametrelere ait karşılaştırmalar yapılmıştır. Tüm analizler Graphpad Prism 9.2.0 (Dotmatics, Amerika) programında gerçekleştirilmiş olup analizlerde $p<0,05$ olarak tespit edilen durumlar istatistiksel anlamlı kabul edilmiştir.

Sonuç: Analizleri yapılan hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı farklar bulunmuştur. Değişik etiyolojik sebeplerle gastrointestinal inflamasyona sahip köpeklerde DAO, zonulin, laktat, D-dimer, sızıntılı bağırsağın potansiyel biyobelirteçleri olarak umut vadetmektedir.

Anahtar kelimeler: D-dimer, Diamin Oksidaz, Laktat, Sızıntılı Bağırsak, Zonulin



ABSTRACT

DETERMINATION OF SERUM DIAMINE OXIDASE, ZONULIN, LACTATE AND D-DIMER LEVELS IN DOGS WITH GASTROINTESTINAL INFLAMMATION

Şahin, N. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Department of Internal Medicine (Veterinary Medicine), PhD Thesis, Aydın, 2023.

Objective: While the intestinal tract acts as a defense barrier against pathogens, it also regulates the metabolism or excretion of essential nutrients, ions and other compounds through selective absorption. The pathological condition, also called leaky gut, is formed when changes in this barrier dysfunction and selective permeability function occur. Death or disease is the result of the systemic effects of toxins or pathogens "leaking" through the intestinal wall and the subsequent immune response, which includes the production of inflammatory mediators. Leaky gut therefore leads to both life-threatening intestinal blockages and chronic diseases that can negatively affect life. Biomarkers used for early diagnosis, prediction of prognosis and complications, and classification of cases into risk categories are very useful in clinical use. Since it is thought that the routine use of diamine oxidase, zonulin, lactate and d-dimer as diagnostic biomarkers in the detection of leaky gut in gastrointestinal inflammation caused by different etiological reasons, it is thought that it will be beneficial for diagnosis and treatment protocols, the evaluation of the analysis results in this context has been the main target of our study.

Materials and Methods: Within the scope of the study, 62 dogs who were brought with gastroenteritis symptoms such as diarrhea and vomiting for at least 1 day and who did not use antibiotics until at least 1 month before were evaluated. While the cases were not classified in terms of age, race and gender, the etiological classification was taken into account. (Table 8). The healthy control group consisted of 10 dogs that were regularly vaccinated and treated with antiparasitic agents and were found to be clinically healthy. D-dimer and lactate measurements were performed by taking 2 ml of blood from Vena cephalica antebrachii into tubes with

anticoagulants for each of the cases in the study group. ELISA tests were carried out in an accredited laboratory. Care was taken to ensure that the samples were not hemolyzed or hyperlipidemic.

Results: 72 dogs of both sexes and different breeds, aged 0-5 years, were included in the study. The statistical difference ($p < 0.0001$) between the control group and the parvoviral enteritis group in DAO levels (ng/mL) in terms of mean $\pm$ standard error in the analyzed patients was found and evaluated as significant. Again, a statistically significant difference ($p < 0.05$) was found between the control group and the coronavirus group in terms of mean $\pm$ standard error in DAO levels (ng/mL), and it was evaluated as significant. In terms of mean $\pm$ standard error, zonulin levels (ng/mL) were statistically different between the control group and the distemper group ($p < 0.001$), while there was a statistical difference ($p < 0.05$) between the control group and myxamatous co-infectious group. The statistical difference ($p < 0.01$) between the control group and the parvoviral enteritis group was determined and all of these differences were evaluated as significant. In terms of mean $\pm$ standard error in lactate levels (mmol/L), the statistical difference between the control group, noninfectious group and parvoviral enteritis group ($p < 0.01$), the statistical difference between the control group and the distempervirus group was found between the control group and the coronavirus group statistically found difference ($p < 0.0001$) was determined. Again, the statistical difference ($p < 0.05$) between the control group and the giardia group was determined and all of them were evaluated as significant. There was a statistical difference ($p < 0.01$) between the control group and the parvoviral enteritis group, and also between the control group and myxamatous co-infectious group, in the d-dimer levels (mg/dL) in terms of mean $\pm$ standard error. difference ($p < 0.001$) was detected and evaluated as significant. The mean and standard error values of DAO, zonulin, lactate and d-dimer data obtained from serum samples of dogs included in the study were tabulated (Table 14). When the homogeneity tests of the data were performed according to the Shapiro-Wilk analysis, it was determined that they were not normally distributed and normality could not be achieved in the transformation processes. In this context, comparisons of the examined parameters were made with the help of Kruskall-Wallis ANOVA, one of the non-parametric test techniques. All analyzes were performed in the Graphpad Prism 9.2.0 (Dotmatics, USA) program, and the cases determined as $p < 0.05$ in the analyzes were considered statistically significant.

Conclusion: Significant differences were found between the analyzed patients and the healthy control group. DAO, zonulin, lactate, d-dimer are promising as potential biomarkers of leaky gut in dogs with gastrointestinal inflammation of various etiologies.

Keywords: D-dimer, Diamine oxidase, Lactate, Leaky Gut, Zonulin



1. GİRİŞ

İntestinal sistem patojenlere karşı bir savunma bariyeri gibi görev alırken aynı zamanda seçici emilim yoluyla temel besinlerin, iyonların ve diğer bileşiklerin metabolizmada kalmasını veya atılımını düzenler. Sızıntılı bağırsak da denilen patolojik durum bu bariyer işlevi bozukluğunda ve seçici geçirgenlik işlevinde değişiklikler meydana geldiğinde şekillenir. Ölüm veya hastalık, bağırsak duvarından "sızan" toksin ya da patojenlerin sistemik etkilerinin ve sonrasında başlayan inflamatuvar araçların üretimini içeren bağışıklık tepkisinin bir sonucudur. Sızıntılı bağırsak bu nedenle hem hayatı tehdit eden bağırsak tıkanıklıklarına hem de hayatı olumsuz yönde etkileyebilecek kronik hastalıklara yol açmaktadır. Bağırsak geçirgenliğini incelemek için, çoğunlukla idrar, dışkı veya kan numuneleri analizleriyle bağırsak geçirgenliğini ölçmek için spesifik maddelerin kullanılmasına izin veren dolaylı yöntemler dahil olmak üzere çeşitli teknikler geliştirilmiştir.

Diamin oksidaz (DAO), çeşitli dokularda bulunur ancak özellikle bağırsak mukozasında aktiftir. İşlevi, hücre proliferasyonu için gerekli olan birkaç poliaminin oksidatif deaminasyonudur. Ayrıca histamin intöleransının ana nedeni diamin oksidaz yetersizliğidir. Zonulin, sıkı bağlantıların önemli bir modülatörüdür. Mukozada oluşturulan bu protein bağırsak geçirgenlinin kontrolünden direk sorumludur. Laktat, bağırsak mikrobiyotası tarafından çeşitli hastalıklarda fermentatif reaksiyonlar yoluyla konakçıyı etkileyebilecek düzeyde üretilebilir, özellikle gastrointestinal (GI) hastalıklardaki değişimi ilgi çekicidir. D-dimer, plazma fibrinolitik enzimi tarafından oluşturulan fibrinin spesifik bir metabolitidir. Artan bir D-dimer konsantrasyonu, ikincil fibrinolizi yansıtır. GI sistem hastalarında inflamasyonun biyobelirteci olabilir.

Erken tanı, prognoz ve komplikasyonların öngörülebilmesi ve olguların risk kategorilerine ayrılması amacıyla kullanılan biyobelirteçler klinik kullanımda oldukça yararlıdır. Bu konuda farklı etiyolojik nedenlerle oluşan gastrointestinal inflamasyonda diamin oksidaz, zonulin, laktat ve D-dimer'in sızıntılı bağırsağın tespitinde diyagnostik biyobelirteçler olarak rutinde kullanımının, teşhis ve sağaltım protokolleri konusunda fayda sağlayacağı düşünüldüğünden, analiz sonuçlarının bu bağlamda değerlendirilmesi çalışmamızın ana hedefi olmuştur. Sızıntılı bağırsağın erken teşhisi ile olumlu anlamda değişebilecek hasta prognozu hem bu biyobelirteçlerin önemini ortaya koyacak hem de GI hastalıklara bakış açısını değiştirebilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

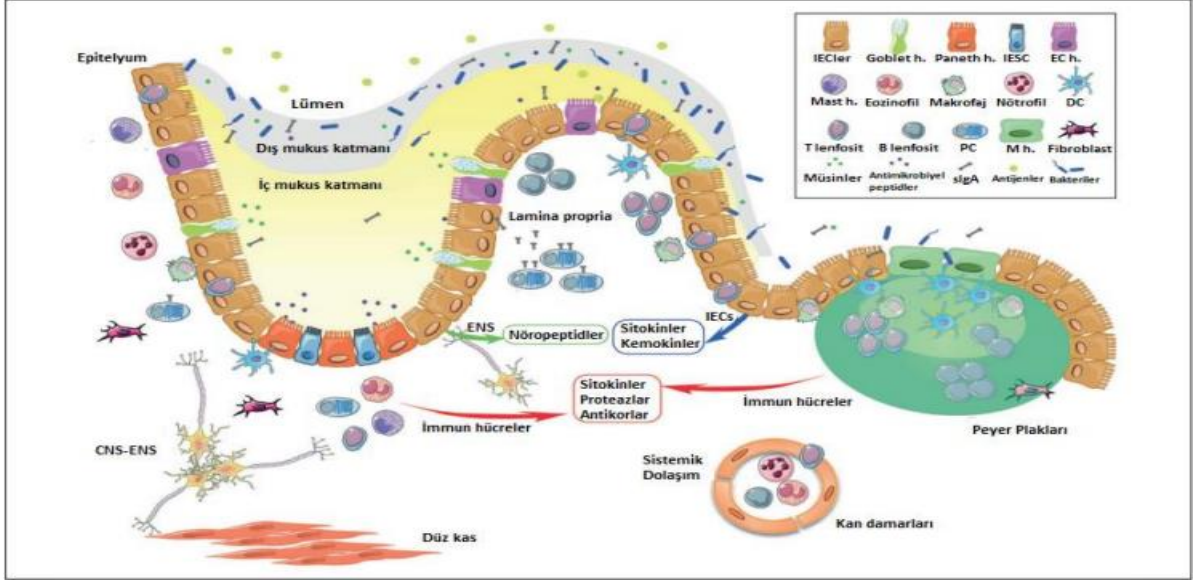
2.1. Bağırsak Bariyeri

2.1.1. Bağırsak Fizyolojisi ve Sıkı Bağlantılar

Bağırsak, bağışıklık ve besin sindirim ve emiliminin bütünleştirilmesinde önemli bir rol oynar. Bitişik bağırsak epiteli, fiziksel bağırsak bariyerinin işlevi için gerekli olan ve bağırsak epiteli boyunca iyonlar, çözünenler ve su dahil olmak üzere çeşitli maddelerin paraselüler hareketini düzenleyen sıkı bağlantılar (TJ) oluşturur. Epitel hücreler; sıkı bağlantılar, birleşme yerleri ve desmozomlar ile bir arada tutulur (Farquhar ve Palade, 1963). Geçmişte, sıkı bağlantıların makromoleküllerin paraselüler geçişini bloke eden geçirgen olmayan bir bariyer olduğu düşünülmüş olsa da artık bunların, bağırsak epitelyal antijen değiş tokuşunun hem fizyolojik hem de patolojik düzenlemesinde yer alan dinamik yapılar olduğu bilinmektedir (Turner, 2009). Sıkı bağlantılar hem komşu epitelyal hem de endotelial hücreleri bağlayan apikal birleşme kompleksidir ve bunları içeren transmembran proteinleri okludinler, klaudinler, birleşme adezyon molekülleri (JAM), trisellulinler ve angulinler'dir (Furuse ve diğerleri, 1993; Higashi ve diğerleri, 2013; Ikenouchi ve diğerleri, 2005; Martin-Padura ve diğerleri, 1998). Bu transmembran proteinleri kendi aralarında homofilik ve heterofilik etkileşebilirken, aktin hücre iskeletine bağlanan *zonula okludensler* (ZO's) de dahil olmak üzere hücre içi iskelet proteinleri ile de etkileşim gösterebilirler. Hücreler ve ZO'lar arasında okludinler, klaudinler, JAM' lar ve trisellulinlerin etkileşimi, sıkı bağlantının bütünlüğünü sağlar ve moleküllerin paraselüler boşluktan geçişini kontrol eder (Sturgeon ve Fasano, 2016).

Kas tabakası, bağ doku, enterik sinir sistemi, lamina propriayı da içeren epitel altı bölge ve epitel hücreler bağırsak mukozasını oluşturur (Şekil 1). Epitelyum, bağırsak kök hücreleri, enterokromafin hücreleri, Paneth hücreleri, enterositler ve Goblet hücrelerini içerir. Enterokromafin hücreleri hormon ve diğer maddelerin üretiminden sorumlu iken Paneth hücreleri antimikrobiyal peptitleri sentezler. Goblet hücrelerinin görevi ise mûsin sentelemek ve salmaktır. Epitelyal bariyerin üstünde bulunan ve glikokaliks içeren iç mukus tabakası ise

sırasıyla mikrobiyota, salgılayıcı IgA, müsin ve antimikrobiyal peptitleri içeren karmaşık mukus tabakasının temelini oluşturur. İntraepitelyal lenfositler, sıkı bağlantıların altında, bazal membranın üzerindedir. Lamina propria, makrofajlar, dendritik hücreler, plazma hücreleri, lamina propria lenfositleri ve zaman zaman nötrofillerden oluşan dağınık bir lenfoid doku ve M hücrelerini içeren Peyer plakları, dendritik hücreler ve lenfositleri içeren yapılandırılmış bir lenfoid doku içerir (Salvo-Romero ve diğerleri, 2015).

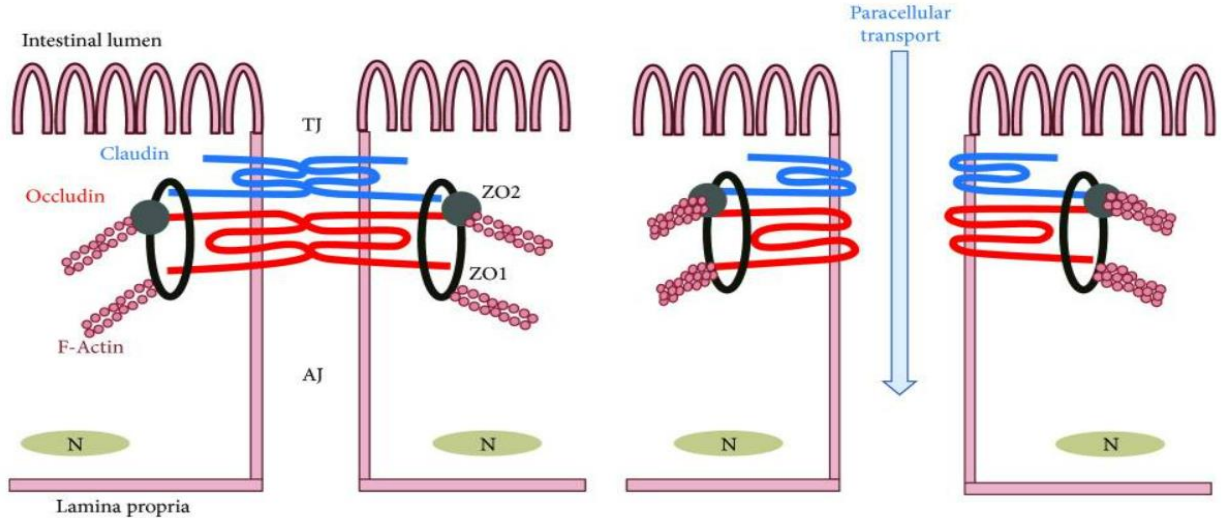


Şekil 1. Bağırsak bileşenleri ve bariyer anatomisi (Salvo-Romero ve diğerleri, 2015).

2.1.2. Bağırsak Bariyeri ve Düzenlenmesi

Parasellüler yol, intestinal epitelyal bariyer boyunca, pasif çözünen akış için baskın yoldur ve hücreler arası sıkı bağlantıların düzenlenmesi bu yolun işlevine bağlıdır (Yu ve Yang, 2009). TJ, komşu hücreler arasındaki epitelin apikal kısmına yakın bir yerde bulunan çok sayıda proteinin bir araya gelmesiyle üretilir ve parasellüler taşıma yolunun geçirgenliğini kontrol eder (Laukoetter ve diğerleri, 2006) (Şekil 2). Şimdiki kanıtlar, eskiden statik yapılar olarak kabul edilen sıkı bağlantıların aslında dinamik olduğunu ve çeşitli gelişimsel, fizyolojik ve patolojik durumlara kolayca adapte olduğunu göstermektedir (Clayburgh ve diğerleri, 2004; Fasano ve Nataro, 2004; Fasano ve SheaDonohue, 2005; Fleming ve diğerleri, 2000; Furuse ve Tsukita, 2006; Madara ve Pappenheimer, 1987; Madara ve Trier, 1980 Magnuson ve diğerleri, 1978; Mazariegos ve diğerleri, 1984; Revel ve Brown, 1976; Sardet ve diğerleri, 1979).

Bağırsak epitel bariyerinin maruz kaldığı çeşitli fizyolojik zorlukların üstesinden gelmek için, sıkı bağlantılar hızlı ve koordineli tepkiler verebilmelidir. Bu, sıkı bağlantıların multiprotein ağının kurulumunu düzenleyen karmaşık bir düzenleyici sistemin varlığını gerektirir. Son 10 yılda sıkı bağlantılar hakkında en üst düzey yapı ve hücre içi sinyal olayları ile ilgili bilgiler önemli ölçüde ilerlemesine rağmen, sadece son zamanlarda sıkı bağlantılar ve birçok patofizyolojik durum arasındaki bağlantıyı aydınlatmaya yönelik çalışmalar gündeme gelmiştir (Fasano, 2001b, 2008; Turner, 2006, 2009).



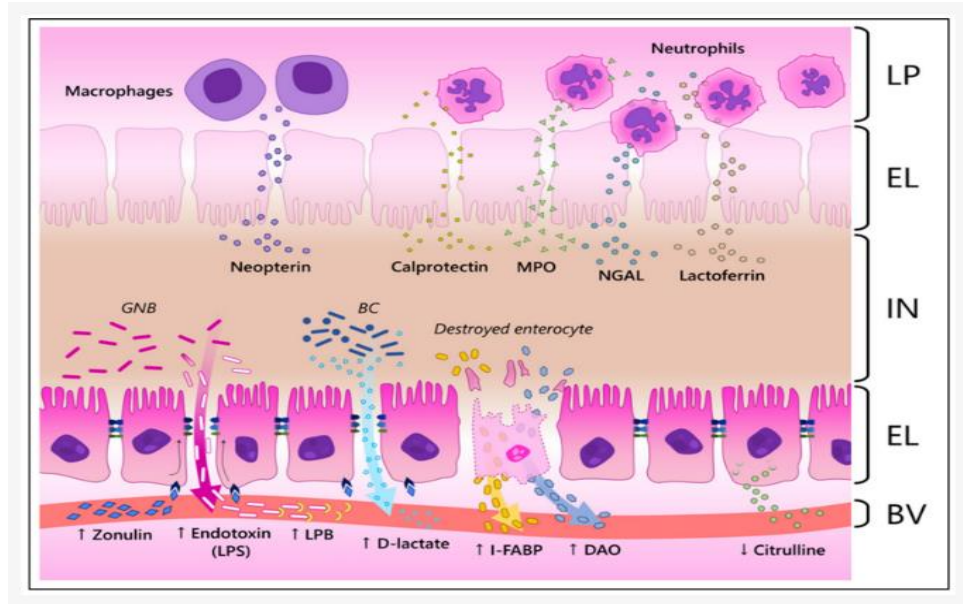
Şekil 2. Bağırsak epitelyal sıkı bağlantıları ve ilgili proteinlerin yapısı (Lee ve diğerleri, 2018).

(a) Claudin, okludin, ZO-1 ve -2 ve F-aktin dahil olmak üzere TJ ile ilişkili proteinlerin birleşimi, ince bağırsağa fiziksel bariyer işlevi veren bir TJ yapısı oluşturur. (b) Luminal stimülasyon üzerine, TJ açılır ve hücre dışı bileşenlerin paraselüler taşınmasına yol açar.

2.1.3. Artan Bağırsak Geçirgenliği ve Hastalıklarla İlişkisi

Son yıllarda artan bağırsak geçirgenliği, alerjik, otoimmün ve metabolik hastalıklar dahil olmak üzere, kronik inflamatuvar hastalıkların (CID) patogenezinde genetik ve çevresel etkenlerle birlikte, bütünleyici bir unsur olarak ele alınmıştır (Arrieta ve diğerleri, 2006; Fasano ve Shea-Donohue, 2005; Sapone ve diğerleri, 2006). TJ tarafından tutulan bağırsak epitel bariyerinin bütünlüğü, vücudu inflamasyon ve enfeksiyonla ilgili stres uyaranlarına karşı korumak için çok önemlidir. TJ homeostazındaki değişikliğin çeşitli hastalıkların patogenezi indüklediği ve bunun tersinin de geçerli olduğu düşünülmektedir (Şekil 3). TJ homeostazının

değişmesiyle ilgili faktörler arasında proinflamatuvar sitokinler, patojenik bakteriler, lipopolisakkaritler (LPS) ve patolojik durumlar yer alır (Lee ve diğerleri, 2018). Gelişmekte olan ülkelerde artan hijyen koşullarıyla CID salgınları paralel değildir ve hijyen hipotezinin geçerliliğini sorgularken doğumdan beri birlikte yaşadığımız mikrobiyal ekosistemin olası epigenetik rolüne odaklanan daha karmaşık bir konak-çevre etkileşimi dinamiğini göstermektedir (Sturgeon ve Fasano, 2016). Mikrobiyom kompozisyonunun klinik sonuçları etkileyen pre-, peri- ve post-natal çevresel faktörlerin anahtar rolünde olan bir transdüktör olarak kabul edilmesi, mikrobiyota hipotezinin ortaya çıkmasına yol açmıştır ki bu da doğum yöntemi, antibiyotiklerin aşırı kullanımı ve en önemlisi, sanayileşmiş ülkelerdeki diyet farklılıklarının mikrobiyom bileşiminde değişikliklere neden olması ve sonuçta CID'nin başlangıcını tetiklemesi dahil olmak üzere temel yaşam tarzı değişikliklerini şart koşmaktadır (Martin ve diğerleri, 2016; Noverr ve Huffnagle, 2005). Günümüzde mikrobiyom ile konak arasında simbiyotik bir ilişki olduğu açıktır. 2001'in başlarında, komensal bakterilerin bağırsak geçirgenliği üzerinde etkili olduğu tanımlanmıştır (Garcia-Lafuente ve diğerleri, 2001). Kanıtlar, azalmış bağırsak bariyer fonksiyonunun, çeşitli CID'nin sekonder etkisinden ziyade anahtar bir patojenik bileşen olduğunu göstermiştir (Arrieta ve diğerleri, 2009; Visser ve diğerleri, 2010; Watts ve diğerleri, 2005).



Şekil 3. Bağırsak mukozasındaki inflamasyon sırasında farklı biyobelirteçlerin kana ve/veya dışkıya nasıl ulaştığının gösterimi (Soares ve diğerleri, 2022)

Çizimde, zonulin enterositlerdeki reseptörleri ile etkileşime girerek sıkı bağlantıların yapısını değiştirir ve sonuç olarak parasellüler akışı artırır. Bu artan geçirgenlik, endotoksinler ve D-laktat gibi bakteriyel bileşenlerin ve metabolitlerin epitel bariyerini geçmesine ve kan dolaşımına ulaşmasına izin verir. İnflamatuvar sürecin sonucu olarak tahrip olan enterositler, dolaşım sisteminde I-FABP ve DAO gibi iç bileşenlerini serbest bırakır. Sağlıklı enterositler sitrülün üretir ve kan dolaşımına bırakır. Bu nedenle, enterositler hasar gördüğünde seviyeleri azalır. Mukozaya ulaşan nötrofiller ve makrofajlar, IN'ye ulaşan neopterin, kalprotektin, MPO, NGAL ve laktoferrin gibi antimikrobiyal bileşenleri serbest bırakır. Açıklanan biyobelirteçlerin hem IN hem de BV'ye ulaşabileceği belirtilmelidir. Mukozaya ulaşan nötrofiller ve makrofajlar, IN'ye ulaşan neopterin, kalprotektin, MPO, NGAL ve laktoferrin gibi antimikrobiyal bileşenleri serbest bırakır.

2.2. Köpeklerde Gastrointestinal İşlevselliğin Belirlenmesi

Son birkaç yıldır, beslenme uzmanları, veteriner hekimler ve bilim adamları tarafından "bağırsak sağlığı" kavramı ilgiyle araştırılmaktadır (Kogut ve Arsenault, 2016). GI işlevselliğinin hayvanların genel sağlığını ve refahını etkilediği iyi bilinmektedir (Celi ve diğerleri, 2019; Ziese ve Suchodolski, 2021). Ayrıca, evcil hayvan sahiplerinin ticari diyetleri değerlendirmesinde önemli bir etkiye sahip olan kıvam ve koku gibi dışkı özelliklerini de etkiler. Bu, bilim adamlarının bu konuya olan ilgisinin artmasına neden olmuş, özellikle içeriklerin, gıda katkı maddelerinin ve gıdaların tabii tutulduğu işlemlerin evcil hayvanların GI sağlığını nasıl etkileyebileceğini araştırmak neredeyse zorunluluk haline gelmiştir (Ziese ve Suchodolski, 2021).

Önemine rağmen, GI sağlık kavramını tanımlamak zordur. Bu nedenle, GI işlevselliğinin "mikrobiyom ve bağırsak yolunun simbiyotik dengede var olduğu ve hayvanın refahı ve performansının bağırsak disfonksiyonu tarafından kısıtlanmadığı sabit bir durum" olarak tanımlanması önerilmiştir. GI işlevsellikle ilgili altı ana alan önerilmiştir. Bu alanlar arasında diyet, etkili sindirim ve emilim, normal ve stabil mikrobiyota, etkili bağışıklık durumu, bağırsak mukozası ve bağırsağın nöroendokrin ve motor işlevi bulunur. Tüm bu alanlar GI fizyoloji, hayvan sağlığı, refahı ve performansta kritik bir rol oynamaktadır (Celi ve diğerleri, 2017). Bu alanlardan bağırsak mikrobiyotası ve metabolitlerinin, köpekler de dahil olmak üzere birçok tür için GI işlevselliğinin potansiyel biyobelirteçleri olduğu gösterilmiştir (AlShawaqfeh ve diğerleri, 2017; Celi ve diğerleri, 2019; Lima ve diğerleri, 2020; Minamoto ve diğerleri, 2014; Ziese ve Suchodolski, 2021). Bununla birlikte, GI sistemde meydana gelen etkileşimlerin karmaşıklığı, bireysel varyasyonlar, diyet bileşenleri arasındaki etkileşimler ve analitik

yöntemlerdeki varyasyonlar göz önüne alındığında, GI işlevselliğinin kısa biyobelirteçlerini doğrulamak hala bir zorluktur. Ayrıca evcil hayvanlarda, bu potansiyel biyobelirteçlerin çoğu dışkıda değerlendirilir çünkü daha kolay toplanır ve invaziv değildir; bununla birlikte, bu yöntem daha fazla varyasyona yol açar ve bu nedenle tüm bu tür potansiyel biyobelirteçler, bağırsakta ne olduğunun mutlaka iyi tahmin edicileri olmayabilir.

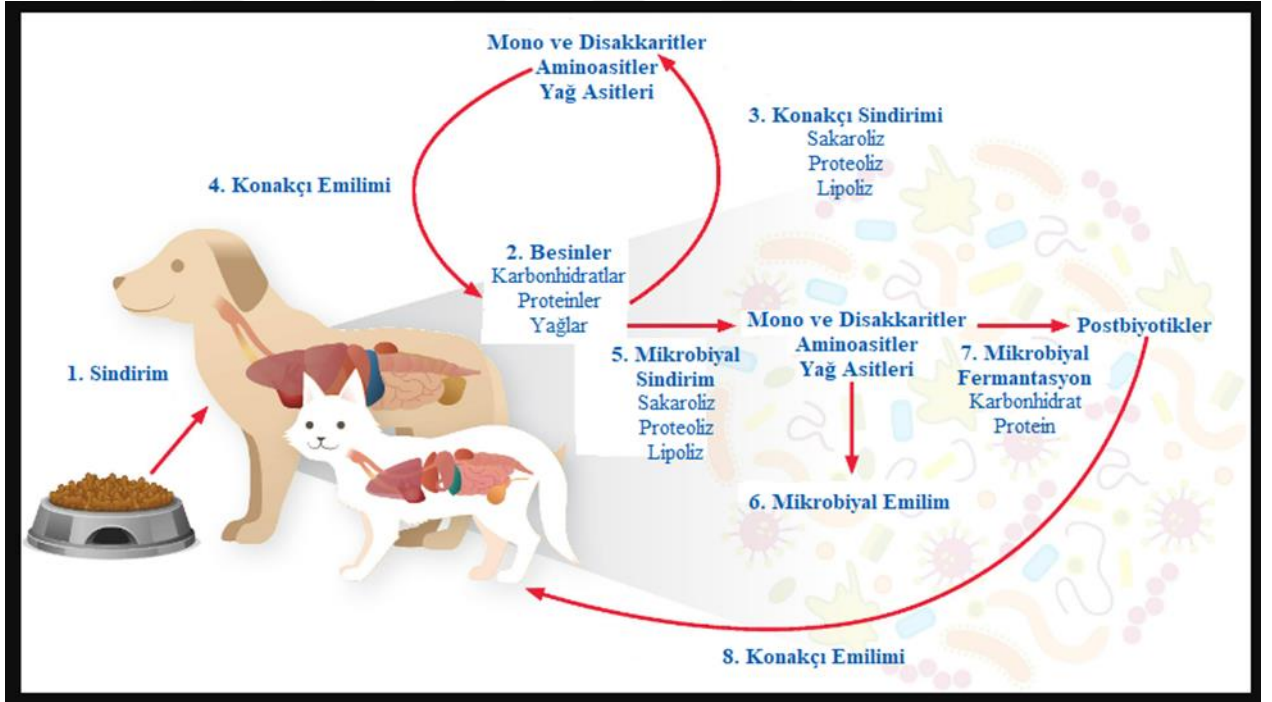
İn vivo olarak GI işlevselliğin biyobelirteçlerini tanımlamaya yönelik açık bir ihtiyaç olsa da çeşitli faktörlerin yukarıda listelenen alanları etkileyebileceğini göz önünde bulundurarak bu biyobelirteçleri geliştirmek ve doğrulamak zordur. Bu, özellikle insan tıbbında üretilen bilgiyi bireysel düzeyde beslenme müdahalelerinin potansiyel faydalarını nüfus düzeyinde değerlendirmek için uygulamaya çalışılırsa doğrudur. Diğer bir zorluk, bazı türlerde bazı belirteçlerin olmaması veya tahlilleri geliştirmek ve doğrulamak için gerekli reaktiflerin bulunmamasıdır (Niewold, 2015).

GI işlevsellik biyobelirteçlerinin geliştirilmesi, bağırsak bariyerini, işlevselliğini ve gastrointestinal mikrobiyotanın ekolojisini etkileyen olayları anlamayı ilerletmek için çok önemlidir. Başlıca makro ve mikro besinlerin sindirim ve emilim mekanizmalarına ilişkin bilgiler oldukça ileri düzeydeyken, literatürde GI geçirgenliğin biyobelirteçleri, gastrointestinal bariyer işlevi, bağırsak endokrin sistemi için biyobelirteçler veya faydalı mikrobiyotaların veya metabolitlerinin işlevsel varlığının bir göstergesi olan biyobelirteçler ile ilgili olarak büyük bir boşluk bulunmaktadır (Celi ve diğerleri, 2017). Bu nedenle, yeni incelemelerin amacı, hayvan beslenme uzmanlarına ve veteriner bilim adamlarına, invaziv olmayanlara vurgu yaparak ve spesifik belirteçlerin potansiyelini vurgulayarak çeşitli GI işlevsellik belirteçleri sunmaktır.

Yeni teknolojilerdeki hızlı gelişme nedeniyle, literatürde bildirilen biyobelirteçlerin sayısı neredeyse katlanarak artmıştır. Literatürde bildirilen biyobelirteç türleri ve yakın zamanda Celi ve diğerleri (2017) tarafından tanımlanan GI alanlara göre sınıflandırmaya aşağıdaki alt maddelerde yer verilmiştir. Literatürde tanımlanan biyobelirteçlerin her biri için avantajlar ve sınırlamalar sunulmuş ve bunların hem araştırma hem de pratik ortamda kabul ve kullanımlarını gözden geçirilmiştir.

2.2.1. Beslenme Müdahaleleri ve Mikrobiyom

Bir gıdanın sindirilebilirlik derecesi, farklı besinlerin konakçı tarafından ne ölçüde sindirilip emildiğini belirler. Konak tarafından sindirimden ve emilimden kaçan bu besinler kolona gelir ve böylece mikrobiyal metabolizma için kullanılabilir. Kediler ve köpekler için gıda hazırlarken, evcil hayvanın uygun şekilde beslenmesini sağlamak için protein ve yağın yüksek sindirilebilirliği önemlidir. Buna karşılık, üst GI sistemde tam olarak sindirilmeyen gıda bileşenleri, GI mikrobiyom için besin kaynakları olarak işlev görür ve bileşimini ve işlevlerini tanımlamada önemli bir rol oynar. Konak ve yerleşik GI mikroorganizmalar birlikte, sindirilen gıdanın sakaroliz, proteoliz ve lipoliz yoluyla parçalandığı, sadece evcil hayvanı değil aynı zamanda mikrobiyomu da besleyen tamamlayıcı sindirim enzimlerini barındırır (Şekil 4).



Şekil 4. Evcil hayvan gıdaları, GI mikrobiyomu ve konakçı arasındaki 8 aşamadaki üçlü etkileşimler (Wernimont ve diğerleri, 2020)

(1) Sindirim: Köpekler ve kediler, kendilerine sağlanan evcil hayvan gıdaları şeklinde karbonhidrat, protein ve lipitler gibi besinleri alırlar. (2) Besinler: Evcil hayvan gıdalarından gelen besinler, konakçı ve mikrobiyom tarafından sindirim için hazır oldukları GI yoluna girerler. (3) Konak Sindirimi: Konak tarafından sindirim, sakaroliz, proteoliz ve lipoliz gibi mono- ve disakkaritleri, amino asitleri ve yağ asitlerini serbest bırakan süreçleri

içerir. (4) Konak Emilimi: Konak sindirimi yoluyla üretilen mono- ve disakkaritler, amino asitler ve yağ asitleri konak hücreler tarafından emilebilir ve kullanılabilir. (5) Mikrobiyal Sindirim: Konak tarafından sindirilmeyen veya absorbe edilmeyen besinler, mikrobiyom tarafından sakaroliz, proteoliz ve lipoliz yoluyla sindirilmek üzere mono- ve disakaritler, amino asitler ve yağ asitleri salarak kullanılabilir. (6) Mikrobiyal Emilim: Mikrobiyal sindirim yoluyla üretilen mono- ve disakkaritler, amino asitler ve yağ asitleri, mikrobiyom tarafından emilebilir ve kullanılabilir. (7) Mikrobiyal Fermantasyon: Konağın ve mikrop emme kapasitelerinin üzerindeki besinler, GI yolu içinde yerel olarak konakçı sağlığını etkileyebilecek postbiyotikler üretmek için mikrobiyal fermantasyona uğrayabilecekleri alt GI yoluna baypas edilir. (8) Konak Emilimi: Mikrop türevi postbiyotikler ayrıca konakçı tarafından emilebilir ve bu da GI kanalının dışındaki yerlerde konak sağlığını etkiler.

Diyet müdahalelerine yanıt olarak mikrobiyomdaki değişikliklerin hızla meydana geldiği gösterilmiştir (David ve diğerleri, 2014; Mori ve diğerleri, 2019). Örneğin, kedi ve köpeklerle verilen karbonhidrat, protein ve yağ miktarındaki değişikliklerin bağırsak mikrobiyotası üzerinde önemli bir etkisi olabilir. Bu, piyasada bulunan dört reçeteli diyet rejiminin altı sağlıklı köpekte dışkı mikrobiyomu üzerindeki etkisini değerlendiren yakın tarihli bir çalışmada gösterilmiştir (Mori ve diğerleri, 2019). Her köpek, her biri 21 gün boyunca aşağıdaki dört diyetten biriyle beslenmiştir: (1) kilo verme diyeti (yüksek protein, düşük yağ, düşük karbonhidrat, yüksek lif); (2) az yağlı diyet (düşük yağ, orta protein, yüksek karbonhidrat, düşük lif); (3) böbrek diyeti (düşük protein, yüksek yağ, yüksek karbonhidrat, düşük lif); ve (4) alerjenik bir diyet (hidrolize orta protein, yüksek yağ, orta karbonhidrat, düşük lif). Bu çalışma, kilo verme diyetiyle beslenen köpeklerin mikrobiyomunda, alerjenik diyetle beslenenlere kıyasla önemli ölçüde azalan *Actinobacteria* ve *Firmicutes* oranları ve önemli ölçüde artan *Fusobacteria* oranları dahil olmak üzere birkaç önemli farklılık ortaya çıkarmıştır (Mori ve diğerleri, 2019). Bununla birlikte, her beslenme müdahalesi mikrobiyom bileşiminde bir değişiklik ile sonuçlanmaz (Bresciani ve diğerleri, 2018; Pilla ve diğerleri, 2019).

2.2.1.1. Probiyotikler

Bağırsak mikrobiyomunu ve dolayısıyla konağın sağlığını iyileştirmek için yaygın olarak kullanılan bir yaklaşım, probiyotiklerin kullanılmasıdır. Probiyotikler, bir gıdanın parçası olarak yeterli miktarda tüketildiğinde konakçıya sağlık yararı sağlayabilen canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], World Health Organization [WHO], 2002). Evcil hayvan sağlığında incelenen

probiyotiklerin çoğu *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Enterococcus* cinslerine aittir (Jugan ve diğerleri, 2017; Sanders ve diğerleri, 2019; Schmitz ve Suchodolski, 2016; Weese ve Martin, 2011). Probiyotikler, yerleşik mikrobiyomu, metabolik etkileşimler yoluyla yerleşik bakterilerin büyümesinin uyarılması, patojenik bakterilerin bolluğunun değiştirilmesi veya dolaylı olarak konakçı epitel ve epitelyal bağışıklık sistemi ile etkileşimler yoluyla çeşitli mekanizmalar yoluyla değiştirebilir (Derrien ve van Hylckama Vlieg, 2015). Ancak yerleşik mikrobiyomun probiyotik tarafından başarılı bir şekilde kolonizasyonu evrensel değildir ve hem konağın diyetine hem de konağın yerleşik mikrobiyomunun özelliklerine bağlıdır (Derrien ve van Hylckama Vlieg, 2015; Zmora ve diğerleri, 2018). Bazıları, bir probiyotikte kullanılan bakteri türlerinin ideal olarak konakçı türün bağırsağından kaynaklanması gerektiğini ileri sürmüştür ancak bu, şu anda köpekler için pazarlanan probiyotiklerin çoğu için geçerli değildir ve köpek veya kedi türevli probiyotiklerin etkinliğini diğer türlerden türetilen ticari olarak temin edilebilen türlerle karşılaştıran hiçbir çalışma yoktur (Grzeskowiak ve diğerleri, 2015). Ticari olarak temin edilebilen veteriner probiyotiklerinin gözden geçirilmesi, yanlış etiketler ve zayıf canlılık dahil olmak üzere kalite sorunlarını ortaya çıkarmıştır (Weese ve Martin, 2011).

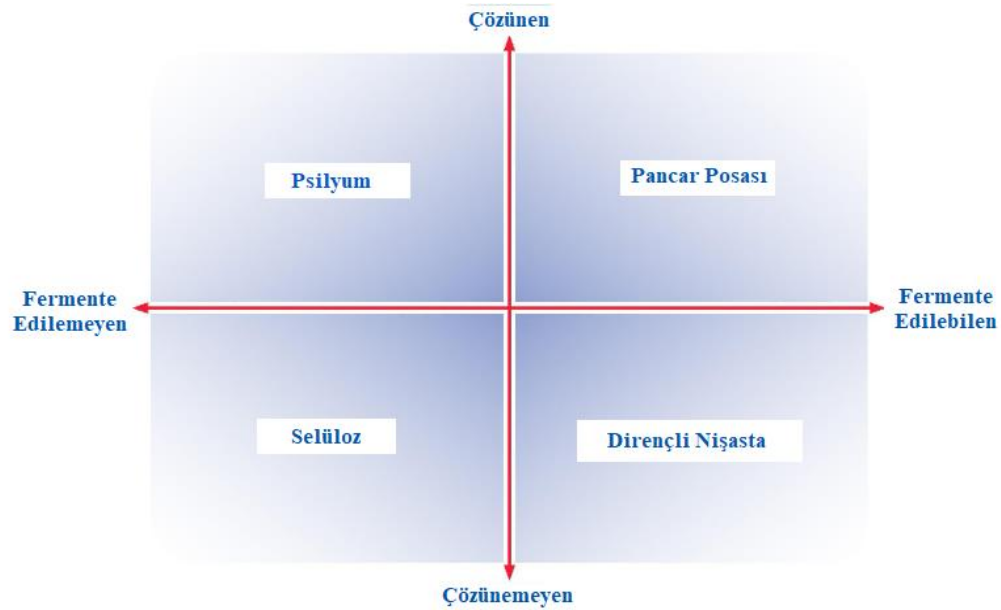
2.2.1.2. Prebiyotikler

Tarihsel olarak, prebiyotik terimi, "kolondaki bir veya sınırlı sayıda bakterinin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici olarak uyarak konakçıyı faydalı bir şekilde değiştiren ve böylece konak sağlığını iyileştiren sindirilemeyen gıda maddesi" olarak tanımlanmıştır (Gibson ve Roberfroid, 1995). Bununla birlikte, artık karbonhidrat, protein, amino asitler, yağ ve polifenoller gibi mikrobiyoma ulaşan baypas besinleri dahil olmak üzere, fermentasyon için bağırsak mikrobiyomunda bulunan herhangi bir maddenin prebiyotik görevi görebileceği anlaşılmıştır (Gibson ve diğerleri, 2010). Bu nedenle, prebiyotikler artık "konakçının refahı ve sağlığı üzerinde faydalar sağlayan GI mikroflorada hem kompozisyonda hem de aktivitede spesifik değişikliklere izin veren seçici olarak fermente edilmiş içerikler" olarak tanımlanmaktadır (Gibson ve diğerleri, 2004; 2010).

2.2.1.3. Kompleks karbonhidratlar

Kompleks karbonhidratlar, üç veya daha fazla şeker içeren oligosakkaritler ve polisakkaritlerdir. Kompleks karbonhidratların tümü lif sağlamasada, evcil hayvan mama endüstrisinde yaygın olarak kullanılanlar, çözünmeyen ve çözünür lif içeren pancar posası ve çözünmez, viskoz olmayan lif içeren selüloz karışımı gibi kediler ve köpekler için geleneksel lif kaynaklarını içerir (de Godoy ve diğerleri, 2013) (Şekil 5). Evcil hayvan gıdalarında kullanılan veya değerlendirilen diğer lif kaynakları arasında mısır, meyve, pirinç, yulaf ve arpa lifi sayılabilir ve bu lifler, GI mikrobiyomu için substrat görevi görebilen dirençli nişastalar ve çözünür liflerin kaynaklarıdır (de Godoy ve diğerleri, 2013).

Diyet lifleri için çoklu sınıflandırma sistemleri önerilmiş olsada, çözünürlük ve fermente edilebilirlik özellikleri en uygun sınıflandırmalar olarak önerilmiştir (Dhingra ve diğerleri, 2012; Tungland ve Meyer, 2002). Pek çok bileşen birden fazla türde lif içermesine rağmen, evcil hayvan yemi endüstrisinde kullanılan yaygın lif kaynaklarını genel olarak karakterize eden çözünürlük ve fermente edilebilirlik aralığını vurgulamaktadır (Aura ve diğerleri, 2013; Azad ve diğerleri, 2014; Chung ve diğerleri, 2017; Gupta ve diğerleri, 2018; Iktor ve diğerleri, 1989; McRorie, 2013; Naran ve diğerleri, 2008).



Şekil 5. Karmaşık karbonhidratların ve lifin çözünebilirlik ve fermente edilebilirlik spektrumu
(Wernimont ve diğerleri, 2020)

Farklı kompleks karbonhidrat türlerinin mikrobiyom bileşimi üzerindeki etkisi sağlıklı köpeklerde değerlendirilmiştir. Örneğin, köpeklerde dirençli nişastalar veya sağlıklı bir hayvanın ince bağırsağında sindirilmeyen veya emilmeyen nişastalarla ilgili çalışmalar yapılmıştır (Yang ve diğerleri, 2017). Bu çalışmalar hem dirençli hem de sindirilebilir nişastadan oluşan artan patates lifi konsantrasyonlarının mikrobiyomdaki *Faecalibacterium* oranını artırdığını göstermiştir (Panasevich ve diğerleri, 2015). Fruktooligosakkarit (FOS) ile beslenmenin, potansiyel olarak faydalı *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* popülasyonlarını arttırdığı ve potansiyel olarak zararlı olan popülasyonları azalttığı gösterilmiştir. Köpeklerde yapılan bir çalışmada *C. perfringens* (Swanson ve diğerleri, 2002); ikinci bir çalışma, FOS'un diyet proteini ile etkileşime girerek düşük proteinli bir diyetle beslendiğinde daha düşük dışkı *Bifidobacterium* ve yüksek proteinli bir diyetle beslendiğinde daha yüksek ölçülen fekal *Bifidobacterium* ile sonuçlandığını öne sürmüştür (Pinna ve diğerleri, 2018). Pancar lifi ile takviye edilmiş diyetlerle beslenen köpeklerde yapılan diğer araştırmalar, daha yüksek konsantrasyonlarda pancar küspesi ile beslenenlerin bağırsak mikrobiyal bileşiminde önemli değişikliklere sahip olduğunu göstermiş; bu, bir çalışmada *Fusobacteria*'da azalma ve *Firmicutes*'ta artış ve diğerinde artış gösterilmiştir (Middelbos ve diğerleri, 2010).

Son olarak, karbonhidrat kaynaklarının bir karışımını (%0,07 konsantrasyonda elma pektini, inülin, arabinoksilan-oligosakkaritler, dirençli nişasta tip III, galaktomannan ve β -glukan içerir) değerlendiren bir çalışma, sindirilemeyen karmaşık karbonhidrat substratlarının ve substrat karışımlarının bağırsak mikrobiyota bileşimi ve çeşitliliği üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir (Chung ve diğerleri, 2019).

2.2.1.4. Basit karbonhidratlar

Karmaşık karbonhidratların mikrobiyom üzerindeki etkileri iyi çalışılmış olmasına rağmen, monosakkaritler ve disakkaritler gibi basit karbonhidratlar da mikrobiyomun bileşimini değiştirebilir. Basit karbonhidratlar diyetle bulunabilir veya üst ince bağırsakta polisakkarit sindiriminin ürünü olarak üretilebilir. Sıçanlarda, erken yaşamda şekerle maruz kalma *Prevotella* ve *Lachnospiraceae incertae sedis*'i azaltırken *Bacteroides*, *Clostridium sensu stricto*, *Alistipes*, *Lactobacillus*, *Bifidobacteriaceae* ve *Parasutterella*'yı artırmıştır (Noble ve diğerleri, 2017). Monosakkarit oranı, kalori alımı, vücut ağırlığı veya adipozite indeksinden bağımsız olan bu artışlardan bazıları, daha önce metabolik ve bilişsel bozukluklar gibi sağlık ve/veya

hastalık süreçleriyle ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, bu değişikliklerin yüksek şeker tüketimi ile ilişkili bozukluklar üzerindeki etkileri, kedi ve köpeklerde daha fazla çalışma gerektirir.

2.2.1.5. Protein

Geleneksel olarak, protein kalitesi, proteinin amino asit bileşiminin yanı sıra protein kaynağının sindirilebilirliği ve biyoyararlanımı ile tanımlanmaktadır. Çoğu evcil hayvan yemi, tipik olarak daha eksiksiz bir amino asit tamamlayıcısı içerdiğinden hayvansal protein kaynakları kullanılmakta ancak bitki protein kaynakları da kullanılmaktadır. Kaynağı ne olursa olsun, diyet proteininin hayvan tarafından emilebilmesi için proteolize veya bozulmamış proteinlerin bireysel amino asitlere hidrolizine uğraması gerekmektedir. Çoğu durumda, protein hidrolizi, konakçı sindiriminin bir parçası olarak gerçekleşir ancak bazı özel gıdalar, alerjik tepki potansiyelini azaltmak ve sindirimi kolaylaştırmak için hidrolize protein bileşenleri kullanılmaktadır. Farklı protein kaynakları yalnızca amino asit bileşimlerinde değil, aynı zamanda hepsi GI mikrobiyomu etkileyen mikro ve makro besinlerde de farklılık göstermektedir (Madsen ve diğerleri, 2017). Protein kalitesi (amino asit profilinin bütünlüğü ve sindirilebilirlik), miktar (porsiyon başına protein miktarı) ve bölüm (proteinin karbonhidrat gibi diğer enerji içeren besinlere oranı) kavramları hem konak hem de mikrobiyal metabolizmada önemli faktörlerdir. Çünkü konakçı tarafından sindirilmeyen ve absorbe edilmeyen besinler, alt GI kanalındaki mikrobiyom tarafından metabolizma için uygun hale gelmektedir.

Kalite ve bölüm kavramlarını gösteren, protein kaynağının (kalite) ve proteinin karbonhidrata oranının (bölüm) GI mikrobiyomunun bileşimini etkileyebileceğini gösteren kanıtlar vardır. Sağlıklı köpekler arasında, hidrolize et proteini kaynağı olan ve tam tahıl içermeyen bir mamanın tüketilmesi, bozulmamış protein içeren tahıl bakımından zengin bir mamanın tüketimine kıyasla artan çeşitlilik ve cins düzeyinde eşitlikle sonuçlanmıştır ancak takson zenginliği farklı olmamıştır (Jackson ve Jewell, 2018). Ayrıca, hidrolize et yiyeceğine lif eklenmesi, tahıl bakımından zengin yiyeceğe lif eklenmesine kıyasla operasyonel taksonomik birimlerde daha fazla sayıda önemli değişikliğe neden olmuştur. Yazarlar hem bozulmamış hem de hidrolize protein kaynaklarını değerlendirdiğinden, gözlemlenen mikrobiyom değişiklikleri kesin olarak protein kaynağına atfedilemez. Gıdalardaki proteinin karbonhidrata oranı da muhtemelen katkıda bulunmaktadır. Diğer yazarlar, hidrolize proteinli gıdaların etkisini

doğrudan incelemişler ve hidrolize proteinli bir mamayla beslenmenin ne sağlıklı köpeklerin ne de gıdaya duyarlı kronik enteropatisi olanların mikrobiyom bileşimi üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını bulmuşlardır (Pilla ve diğerleri, 2019). Diğer gruplar, bitki protein kaynaklarını kullanan gıdaların mikrobiyom üzerindeki etkisini değerlendirmiş ve hayvansal protein içermeyen bir mama ile beslenmenin sağlıklı köpeklerin mikrobiyomları üzerinde hiçbir etkisi olmadığını, gıdaya duyarlı enteropatisi olan köpeklerin ise, gıdayı tükettikten sonra mikrobiyota zenginliğini artırdığı sonucuna varmıştır (Bresciani ve diğerleri, 2018).

Çiğ et bazlı diyetler (RMBD), protein miktarı ve bölümü kavramlarını gösteren yüksek proteinli diyetlerdir. Bu tür diyetler, hayvanlardan elde edilen pişmemiş bileşenleri içermektedir (Freeman ve diğerleri, 2013). Bu içerikler, pastörize edilmemiş süt ve pişmemiş yumurtaların yanı sıra çiftlik hayvanlarından (geviş getiren hayvanlar, domuzlar ve kümes hayvanları), atlardan, av hayvanlarından veya balıklardan alınan iskelet kası, yağ, iç organlar, kıkırdak ve kemikleri içerebilir ve bu diyetler tipik olarak ticari olarak üretilen evcil hayvan mamalarından daha yüksek protein ve yağ içeriği ile karakterize edilen farklı makro besin profillerine sahiptir (Fredriksson-Ahomaa ve diğerleri, 2017; Freeman ve diğerleri, 2013). RMBD diyetleri, patojen kontaminasyonu potansiyeli nedeniyle çoğu büyük veteriner ve halk sağlığı kuruluşu tarafından genellikle önerilmezken, giderek daha popüler hale gelmektedir (American Animal Hospital Association, [AAHA], 2011; American Veterinary Medical Association, [AVMA], 2012; Centers for Disease Control and Prevention, [CDC], 2017; Food and Drug Administration, [FDA], 2018). Çok sayıda araştırma, RMBD'lerle beslenen hayvanların, ekstrüde edilmiş, ısıyla işlenmiş gıdalarla beslenenlere kıyasla GI mikrobiyom bileşimi ve metabolizmasında farklılık gösterdiğini göstermiştir (Algys ve diğerleri, 2018; Butowski ve diğerleri, 2019; Herstad ve diğerleri, 2017; Kerr ve diğerleri, 2012; Kim ve diğerleri, 2017; Sandri ve diğerleri, 2017; Schmidt ve diğerleri, 2018). Örneğin, bir RMBD ile beslenen köpekler, ticari gıdalarla beslenenlere kıyasla bağırsakta daha çeşitli ve bol miktarda mikroorganizma sergilenmiş ancak yazarların belirttiği gibi, RMBD ile beslenen köpeklerin, ticari gıdalarla beslenen köpeklere göre daha fazla fırsatçı enfeksiyon riski olabilmektedir (Kim ve diğerleri, 2017). Başka bir çalışma, RMBD'lerle ve ticari gıdalarla beslenen köpekler arasında alfa çeşitliliği ölçümlerinde anlamlı bir fark olmadığını bildirmiştir ancak gruplar arasında beta çeşitliliğinde önemli bir fark bulunmuştur ve bu kısmen, ticari gıdalara kıyasla RMBD'lerde önemli ölçüde daha yüksek protein ve yağ ve daha düşük karbonhidrat ve lif içeriğine sahip iki gıda türünün farklı makro

besin bileşimlerinden kaynaklanıyor olabilir (Schmidt ve diğerleri, 2018). Bugüne kadarki mevcut kanıtlara dayanarak, RMBD'ler üzerine yapılan araştırmalar bağırsak mikrobiyomu üzerinde net bir fayda göstermez ve patojen maruziyeti riskini artırabilmektedir.

Yüksek düzeyde sindirilebilir proteinin makul miktarlarda sindirimi miktar, kalite ve bölüm kavramlarını dengeleyerek evcil hayvan tarafından protein kullanımını optimize ederken, büyük miktarlarda zayıf sindirilebilir proteinin sindirimi, diyet proteininin kolondaki bakteri popülasyonlarına sunumunu artırmaktadır. Çürüme, amino asitlerin mikrobiyal olarak postbiyotik ürünlere ayrıştırılması işlemidir; bunlardan bazıları atopi (Nylund ve diğerleri, 2015), kronik böbrek yetmezliği (Niwa ve diğerleri, 1997) ve kronik enterit (Nikolaus ve diğerleri, 2017) gibi bazı inflamatuvar hastalıkların başlamasında ve ilerlemesinde rol oynamıştır. Kısacası, hem alınan toplam protein miktarı (miktar), proteinin karbonhidratlar gibi diğer enerji içeren bileşenlere oranı (bölüm), hem de diyetteki proteinin sindirilebilirliği ve amino asit bileşimi (kalite), sindirime geçen miktarı ve amino asit bileşimi ve ardından mikrobiyal metabolizma için sunulan nitrojenli atığın (örn. amonyak ve üre) mevcudiyeti için belirleyicidir.

2.2.1.6. Yağ

Yağ miktarının mikrobiyomu etkilemede oynadığı rol hakkında protein ve karbonhidrattan çok daha az şey bilinmektedir. Mevcut bilgilerin çoğu, yüksek diyet yağının insan veya farelerin mikrobiyotası üzerindeki etkisini açıklamaktadır (Martinez ve diğerleri, 2017; Shen ve diğerleri, 2014). Bu raporlar, yüksek yağlı diyetler (günlük kalori alımının %45-60'ı) ile yüksek yağlı diyet tüketimine başladıktan sonraki 2-3 gün içinde mikrobiyotadaki hızlı ve dramatik değişim arasında açık bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, obez bireylerde yararlı postbiyotik SCFA'larda azalmalar ve zararlı hidrojen sülfürde (H_2S) artışlar bulunmuştur (Martinez ve diğerleri, 2017). Ancak metabolik sendrom bağlamında, yağ alımının spesifik etkisini izole etmek zordur. Bu nedenle, diyet yağının proinflamatuvar doğası, belki de konakçı-mikrobiyom immün aracılı homeostaz yoluyla mikrobiyom kompozisyonunu etkileyebilir. Bu etkilerin altında yatan mekanizmaları daha iyi anlamak için önemli ek araştırmalara ihtiyaç vardır.

Yağ asitleri, GI mikrobiyomu üzerindeki etkileri yoluyla sağlık ve fizyolojiyi etkileme potansiyeline sahip, yeterince takdir edilmeyen prebiyotiklerdir. Gelişmekte olan araştırmalar,

linoleik asidin bağırsak mikrobiyal metabolizmasının, sağlığı teşvik edici etkilere sahip postbiyotik metabolitler üretmek için bir rol oynadığını göstermiştir. Örneğin, linoleik asidin bakteriyel bir metabolitinin, periodontopatik bakterilerin neden olduğu epitel bariyerinin bozulmasını önlediği gösterilmiştir (Yamada ve diğerleri, 2018). Lipitlerin kalın bağırsağa hedefli olarak iletilmesine ilişkin gelecekteki araştırmalar, bunun hayvan sağlığını iyileştirme potansiyeline sahip yağ asidi postbiyotiklerinin üretimini etkilemek için başarılı bir strateji olup olmadığını belirleyecektir.

2.2.2. Etkili Sindirim ve Emilim Kapasitesi

Besinleri sindirilmesi ve emilmesi GI sistemin temel işlevidir. Fizyolojik olarak sindirim, ağız boşluğunda başlar ve mide asidi ve birkaç endojen ve eksojen enzimin etkisiyle GI sistemin çeşitli bölümlerinde ilerlemektedir. Gıda daha küçük moleküller, makro besinler (proteinler, karbonhidratlar ve yağlar) ve mikro besinler (vitaminler ve mineraller) halinde parçalanır ve daha sonra çeşitli fiziksel ve biyokimyasal işlemlerle emilebilmektedir. Etkili GI işlevselliğe genellikle optimal sindirim ve emilim eşlik etmektedir. Bununla birlikte, olası bir GI sistem inflamasyonunda, sindirim etkinliğinde bir düşüş ve hem makro hem de mikro besinlerde emiliminin azalması meydana gelebilmektedir (Celi ve diğerleri, 2017). Demir, çinko ve yağ, malabsorpsiyondan en çok etkilenen mikro besinler ve makro besinlerdir (Davin ve diğerleri, 2012; 2013; Koutsos ve diğerleri, 2003; 2006). Bu nedenle, sindirim ve emilim bozulduğunda, iki olası sonuç olan sindirim ve emilim bozukluğunu gözlemlemek mümkündür. Kötü sindirim, besinlerin eksik parçalanmasıdır ve genellikle bozulmuş veya yetersiz enzim veya mide asidi salgılanmasının sonucudur. Malabsorbsiyon, sindirim sürecinden kaynaklanan nihai ürünlerin emilimindeki bozukluktur. Etkisiz sindirim ve emilim, yetersiz besin emilimine ve fazla besin maddelerinin (özellikle protein ve yağ), mikrobiyotanın uygun olmayan şekilde fermente edebileceği mide-bağırsak sisteminin uzak bölümlerine iletilmesine neden olur. Sindirim ve emilimin farklı biyobelirteçleri toplam karotenoidler, protein fermentasyon ürünleri, fekal yağ ve yağda çözünen vitaminleri içermektedir (Celi ve diğerleri, 2019).

2.2.3. Gastrointestinal Mikrobiyota

GI mikrobiyom çalışması, sadece GI sağlığı değil, tüm organizmanın sağlığını yönetmek için heyecan verici ve güçlü bir alan olarak ortaya çıkmaktadır. GI mikrobiyom "beşinci organ" olarak adlandırılmıştır ve aslında literatür, mikrobiyomun çevreden gelen sinyalleri ve ipuçlarını işlemede ve bunları organizmaya dağıtmada önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir (Dietert ve Silbergeld, 2015). GI mikrobiyomun temel işlevlerinden birinin, bağışıklık sistemine, konakçı bağışıklık sistemi ile mikrobiyomun kendisi arasında karşılıklı bir ilişki sürdürmeyi "öğretmek" olduğu öne sürülmüştür (Dietert ve Silbergeld, 2015). Bu karmaşık ilişkinin sonuçları, GI mikrobiyomun beyin ve bağışıklık sistemi gibi organ ve sistemlerin işlevselliğini modüle etmek için kullandığı ana yollardır. GI mikrobiyom, sindirim ve emilim, enerji metabolizması, bağışıklık sistemi gelişimi, enfeksiyonların önlenmesi gibi çeşitli fizyolojik işlevleri modüle eder (Lee ve Hase, 2014; Marchesi ve diğerleri, 2015; Willing ve Van Kessel, 2010).

Mikrobiyom ve konakçı arasındaki sayısız ve karmaşık etkileşimler dikkate alındığında, GI mikrobiyomun ve fonksiyonlarının karakterizasyonunda önemli bir etki olmuştur. Yüksek verimli tekniklerin geliştirilmesi ve kullanılabilirliği, bağırsak mikrobiyotasının filogenetik kompozisyonundaki (16S sekanslama), fonksiyonel kabiliyetindeki (metagenomik) ve amacındaki (metatranskriptomik) ve metabolik etkisindeki (metabolomik) değişiklikler hakkındaki anlayışımızı hızla ilerletmektedir (Ji ve Nielsen, 2015). GI mikrobiyom, önemli derecede fonksiyonel fazlalık ile karakterize edilir; başka bir deyişle, farklı bakteriler, aynı substratları metabolize etmek ve benzer metabolitler üretmek gibi benzer işlevleri yerine getirebilir (Moussavi ve diğerleri, 2007). Bu nedenle, öbiyotik müdahalelerin etkisini değerlendirmek için, GI mikrobiyomun bileşimi ve yapısından ziyade aktivitesinin analizi daha uygun olabilir. "Omik" teknolojilerinin uygulanması bağırsak ekolojisi anlayışımızı ilerletse de bu teknikler "normal" veya "ideal" GI mikrobiyotanın bileşimini tanımlamamıza izin vermez. Bu düşüncenin ışığında "omik" yaklaşımı, GI ekosistemin karmaşık ekolojisine biraz ışık tutmada hayati öneme sahip olabilir. Özellikle, mikrobiyomun GI sistemin farklı bölümleri boyunca zaman içinde nasıl değiştiğinin daha iyi anlaşılması, mikrobiyota bileşimi ve aktivitesindeki dinamik değişimleri tetikleyen faktörleri daha iyi anlamayı sağlayacaktır. GI mikrobiyotayı karakterize etmek için farklı biyobelirteçler kullanılır. Bunlar laktat, süksinat, fenol, p-kresol, indol, amonyak ve hidrojen sülfiddir (Celi ve diğerleri, 2019).

2.2.3.1. Köpeklerde gastrointestinal inflamasyonda mikrobiyota değişimleri

Bağırsak mikrobiyotası, GI yolda yaşayan canlı mikroorganizmaların (bakteri, mantar, protozoa ve virüsler) biraraya gelmesi ile oluşmaktadır. Yeni çalışmalar, köpeklerin GI mikrobiyotasının insanlara benzer şekilde, en az birkaç yüz farklı bakteriyel filotip içeren çok karmaşık bir ekosistem olduğunu ortaya koymuştur (Handl ve diğerleri, 2011; Suchodolski ve diğerleri, 2008). Fungal organizmalar ince ve kalın bağırsakta mikrobiyotanın normal bir bileşeni olarak tanımlanmıştır ancak hastalığa ve sağlığa katkıları henüz bilinmemektedir (Foster ve diğerleri, 2013; Suchodolski ve diğerleri, 2008). Memelilerin bağırsağının, toplam 10^{10} - 10^{14} mikrobiyal hücre barındırdığı öne sürülmüştür. Bu karmaşık mikrobiyal ekosistem ve ökaryotik konakçı hücrelerle etkileşimi, köpeklerin sağlığı ve hastalıkları üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bağırsak mikrobiyotası, enteropatojenlere karşı koruyucu bir bariyer görevi görerek konakçıya yardımcı olur. Ayrıca karmaşık lif kaynaklarının sindirimine yardımcı olurlar ve enterositler için beslenme desteği sağlayan ve konakçı bağışıklık sisteminin geliştirilmesinde ve düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan çeşitli kısa zincirli yağ asitleri ve diğer metabolitleri üretirler (Suvold ve diğerleri, 1995a; 1995b). Bu mikrobiyal etkiler GI sistemin ötesine ulaşır. Köpekler ve kediler üzerinde yapılan araştırmalar, bağırsak mikrobiyomu ve/veya işlevindeki değişikliklerin sadece GI hastalıklarda değil aynı zamanda kronik böbrek hastalığı (KBH), kalp hastalığı, nörolojik bozukluklar, diyabetes mellitus ve obezite gibi diğer organ sistemlerindeki bozukluklarla da ilişkili olduğunu göstermektedir (Bermudez Sanchez ve diğerleri, 2020; Blake ve diğerleri, 2019; Janeczko ve diğerleri, 2008; Jeffery ve diğerleri, 2017; Kieler ve diğerleri, 2019; ; Li ve diğerleri, 2021; Seo ve diğerleri, 2020; Summers ve diğerleri, 2019; Qinghong ve diğerleri, 2021). Bu bozuklukların birçoğunda kesin olarak altta yatan mekanizmaların hala araştırılması gerekirken bazı mikrobiyal yolların hastalığa ve sağlığa katkıda bulunduğu artık iyi bilinmektedir ve bunlardan bazıları farklı yöntemler kullanılarak doğrudan değerlendirilebilir (Tablo 1). Bağırsak mikrobiyotasının ve işlevlerinin daha iyi anlaşılması, yeni teşhis ve tedavi seçeneklerinde ilerlemelere yol açacaktır.

Tablo 1. Bağırsak bakterilerinin hastalığı ve sağlığı etkileyen metabolik yollara katkısı (Ziese, A.L. ve Sucholdolski, J.S., 2021).

Kaynak	İlişkili Bakteri	Mikrobiyal Metabolit(ler)	Konağa Etkisi	
			Normal konsantrasyonlarda olduğunda faydalı	Anormal konsantrasyonlarda potansiyel olarak zararlı
Diyet karbonhidratları	Çeşitli (örneğin; <i>Faecalibacterium</i> , <i>Bifidobacterium</i>)	Kısa zincirli yağ asitlerine fermantasyon	Anti-inflamatuvar etki. Bariyer işlevini geliştirir. Bağırsak hareketliliğini düzenler. Sistemik ve yerel enerji sağlar.	Anormal SCFA oranı, enteropatojenlerin virülans faktörlerini aktive edebilir. (örneğin; <i>Salmonella</i> istila genleri, <i>Escherichia coli</i> motilitesi)
Karaciğerden primer safra asitleri	Köpeklerde ve kedilerde çoğunlukla <i>Clostridium hiranonis</i>	Sekonder safra asitlerine (BA) dönüşüm	Anti-inflamatuvar etki. Sekonder BA, normal mikrobiyomun ana düzenleyicisidir, ayrıca <i>C. difficile</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>E. coli</i> 'nin büyümesini de engeller.	Artan primer BA, sekretuar diyareye yol açabilir.
Diyet triptofan	Çeşitli	İndol metabolitleri	Anti-inflamatuvar etki. Bağırsak bariyer fonksiyonunu korur.	Artan konsantrasyonlarda sitotoksik, pütrefaktiv indoksil sülfat, üremik toksin görevi görür.
Diyet karnitin ve kolin	Çeşitli (örneğin; <i>E. coli</i>)	Trimetilamin N-oksit (TMAO)	Uygun değil	Kalp hastalığı ile ilişkili değişmiş kolesterol metabolizması.

Köpeklerde yapılan çeşitli çalışmalar, inflamatuvar bağırsak hastalığı (IBD) dahil olmak üzere akut ve kronik GI hastalıkların, ince bağırsak ve dışkı mikrobiyal topluluklarındaki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermiştir (Allenspach ve diğerleri, 2010; Craven ve diğerleri, 2011; Desai ve diğerleri, 2009; Sucholdolski ve diğerleri, 2010; 2012a; 2012b; Xenoulis ve diğerleri, 2008). Bu değişikliklerin genellikle IBD'li insanlarda gözlemlenen disbiyoz veya bağırsak inflamasyonu olan hayvan modellerine benzer olması, bağırsağın inflamatuvar koşullarındaki mikrobiyal yanıtların memeli konakçı tipleri arasında korunduğunu göstermekte ve köpeklerin GI sisteminin spontan inflamatuvar durumlarına terapötik

yaklaşımları incelenmektedir (Craven ve diğerleri, 2012; Frank ve diğerleri, 2007; Packey ve Sartor, 2009; Sokol ve diğerleri, 2009; Swidsinski ve diğerleri, 2008). Son veriler, örneğin probiyotik ürünlerin (yani VSL#3 suşları) daha önce insanlarda gösterildiği gibi IBD'li köpeklerde de benzer klinik faydalar gösterdiği gösterilmiştir (Rossi ve diğerleri, 2014).

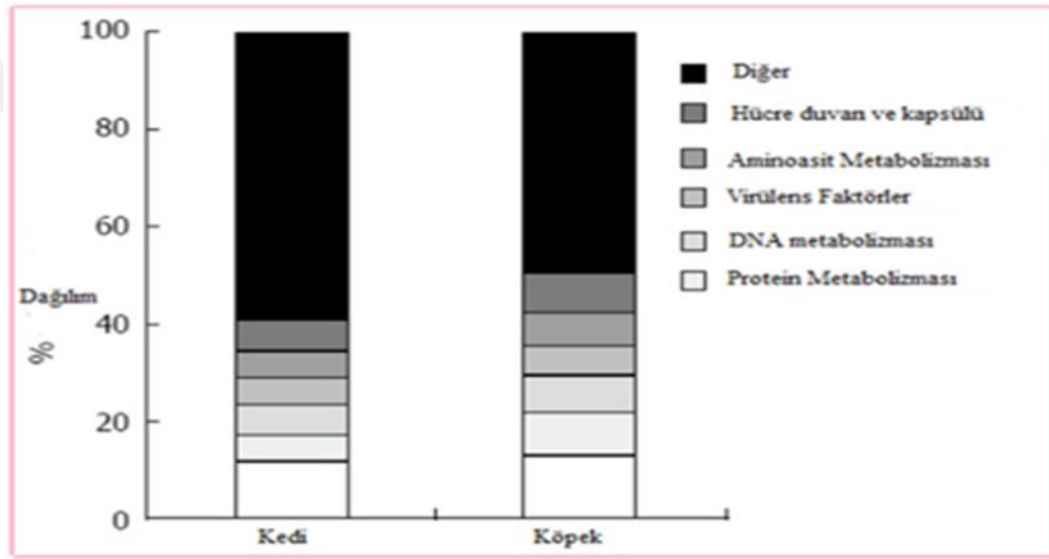
Çalışmalar ayrıca bağırsak mikrobiyotası ve konakçı sağlığı arasındaki karmaşık ilişkiyi gösterecek şekilde IBD'li köpeklerin doğuştan gelen bağışıklık sisteminde olası altta yatan duyarlılıkları ortaya koymuştur (Kathrani ve diğerleri, 2012; Luckschander ve diğerleri, 2010; McMahon ve diğerleri, 2010). Mikrobiyomu değiştirme olasılığı, veterinerlik tıbbında terapötik bir araç olarak anlam bulmakta ve son çalışmalar, bağırsak mikrobiyomunun antibiyotikler, diyet ve / veya probiyotikler yoluyla doğrudan veya dolaylı manipülasyonlarının köpeklerin GI hastalıklarında faydalı etkileri olabileceğini doğrulamaktadır (Herstad ve diğerleri, 2010; Kelley ve diğerleri, 2009; Rossi ve diğerleri, 2014).

2.2.3.1.1. Sağlıklı köpeklerde intestinal mikrobiyota

Çeşitli çalışmalar sağlıklı köpeklerdeki bakteri topluluklarını geleneksel bakteri kültürü veya yeni nesil sekanslama yaklaşımları kullanarak değerlendirmiştir. Geleneksel bakteri kültürüne dayanarak, köpeklerin ince bağırsağı, genellikle 10^2 ila 10^5 cfu/g ince bağırsak içeriği arasında değişen düşük bakteri sayısını barındırır; bununla birlikte, bazı çalışmalar 10^9 cfu/ g'a kadar olan sağlıklı köpeklerde çok daha yüksek sayımlar tespit etmiştir (German ve diğerleri, 2003). Kolondaki toplam bakteri sayısı yaklaşık 10^9 ila 10^{11} cfu/g arasında değişmektedir ve en bol yetiştirilebilen gruplar *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Enterobacteriaceae*'dir (Benno ve diğerleri, 1992; Mentula ve diğerleri, 2005). 16S rRNA geninin yeni nesil sekanslama çalışmaları, daha yüksek filogenetik doğrulukta insanların ve diğer memelilerin mikrobiyomuna benzeyen köpek mikrobiyomunu tarif etmiştir. Ortalama olarak, köpek bağırsaklarında 10 farklı bakteriyel filum tespit edilmiştir; tüm bağırsak mikroplarının büyük çoğunluğunu *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* ve *Actinobacteria* içerir. Çok az üye filum *Tenericutes*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria* ve *Chloroflexi*'dir (Handl ve diğerleri, 2011; Middelbos ve diğerleri, 2010; Ritchie ve diğerleri, 2010; Suchodolski ve diğerleri, 2008). *Firmicutes*, *Clostridium* küme IV ve *Clostridium* küme XIVa'ya bağlı çeşitli sekanslar içerir ve bunlar dışkı örneklerinde baskın bakteri grupları olan *Bacteroides* veya *Prevotella* ile birlikte bulunur (Handl ve diğerleri, 2011; Ritchie ve diğerleri,

2010). *Helicobacter* midede baskın grup olurken (sekans okumalarının %90'dan fazlası), duodenum *Enterobacteriaceae*, *Clostridiales*, *Bacteroidales* ve *Lactobacillales*'e ev sahipliği yapar (Garcia-Mazcorro ve diğerleri, 2012; Suchodolski ve diğerleri, 2008).

Köpek dışkı metagenomları (yani, genomik DNA'nın shotgun dizilimi) da incelenmiştir. Bu yaklaşım, bir numunede bulunan mikrobiyal genler hakkında bilgi verir ve Şekil 6' da özetlenen mikrobiyotanın fonksiyonel yeteneklerinin değerlendirilmesine izin verir (Swanson ve diğerleri, 2011).



Şekil 6. Köpek ve kedilerde major mikrobiyal gen fonksiyonlarının nisbi oranı (Barry ve diğerleri, 2012; Swanson ve diğerleri, 2011; Tun ve diğerleri, 2012).

2.2.3.1.2. Köpeklerin gastrointestinal hastalıklarında mikrobiyota

İnsan ve hayvanlarda yapılan birçok çalışma, çeşitli GI bozuklukların GI mikrobiyotadaki değişikliklerle ilişkili olduğunu göstermiştir. Spesifik enteropatojenler köpeklerde (yani *Campylobacter jejenu*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* ve *Salmonella*) tanınırken, bunların çoğu sağlıklı hayvanlarda benzer sıklıkta bulunur. Bu nedenle, neden-sonuç ilişkileri belirsizliğini korumaktadır (Marks ve diğerleri, 2011; Queen ve diğerleri, 2012). Bağırsak mikrobiyomundaki daha geniş değişikliklerin akut ve kronik GI hastalıklar ile ilişkili olduğu artık iyi bilinmektedir. Köpeklerde yapılan son çalışmaların örnekleri ve bulguları Tablo 2 'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Gastrointestinal hastalığı olan köpeklerde bildirilen mikrobiyal kaymalar.

Referans	Örnekleme Yeri	Hayvan (Örnek Boyutu)	Yöntem	Hastalıklı Hayvanlarda Mikrobiyal Değişimler
Suchodolski ve diğerleri, 2012b	Duodenal biyopsiler	IBD (n = 14) HC (n = 6)	454-pyrosequencing (16S rRNA geni)	Proteobakterilerde Artış (<i>Diaphorobacter</i> , <i>Acinetobacter</i>) <i>Fusobacteria</i> , <i>Bacteroidaceae</i> , <i>Prevotellaceae</i> , <i>Clostridiales</i> 'te azalma
Suchodolski ve diğerleri, 2010	Duodenal biyopsiler	IBD (n = 7) HC (n = 7)	Gen klon kitaplıkları (16S rRNA geni)	Proteobakterilerde Artış <i>Clostridia</i> 'da azalma
Allenspach ve diğerleri, 2010	Duodenal fırçalamalar	Kronik enteropatiler (n = 13) HC (n = 8)	Gen klon kitaplıkları (16S rRNA geni)	<i>Actinobacteria</i> , <i>Lactobacillales</i> , <i>Erysipelotrichales</i> 'de Artış
Xenoulis ve diğerleri, 2008	Duodenal fırçalamalar	IBD (n = 10) HC (n = 9)	Gen klon kitaplıkları (16S rRNA geni)	<i>Enterobacteriaceae</i> 'de (<i>E. coli</i>) artış Biyocoşetlilikte azalma
Suchodolski ve diğerleri, 2008	Duodenal fırçalamalar	Kronik enteropatiler (n = 71) HC (n = 64)	Gen klon kitaplıkları (Fungal ITS geni)	Mantar topluluklarında önemli farklılıklar yok
Glanemann ve diğerleri, 2008	Mide, duodenum Kolon biyopsileri	Kronik GI hastalığı (n = 42) HC (n = 14)	PCR	<i>Mycobacterium avium</i> alt türü <i>paratuberculosis</i> varlığı Kronik GI hastalığı olan köpeklerin 8/42'sinde (%19) tespit edildi
Manchester ve diğerleri, 2013	Kolon biyopsileri	Granümatöz kolit (n = 6)	FISH	İnvaziv <i>E. coli</i> varlığı
Simpson ve diğerleri, 2006	Kolon biyopsileri	Granümatöz kolit (n = 13) HC (n = 38)	FISH	Yapışkan ve istilacı <i>E. coli</i> 'nin hücre içi translokasyonu
Rossi ve diğerleri, 2014	Dışkı örnekleri	IBD (n = 20) HC (n = 10)	qPCR (16S rRNA geni)	<i>Faecalibacterium spp.</i> ve <i>Turicibacter spp</i> 'de azalma

Foster ve diğerleri, 2013	Dışkı örnekleri	Akut diyare (n = 7) HC (n = 12)	454- pyrosequencing (18S rRNA geni)	Mantar topluluklarında önemli farklılıklar yok
Suchodolski ve diğerleri, 2012a	Dışkı örnekleri	IBD (n = 19) AHD (n = 13) NHD (n = 12) HC (n = 32)	454- pyrosequencing (16S rRNA geni) qPCR (16S rRNA geni)	AHD: mikrobiyomlarındaki en derin değişiklikler <i>Sutterella</i> , <i>Clostridium perfringens</i> 'te artış <i>Blautia</i> , <i>Ruminococcaceae</i> , <i>Turicibacter</i> 'de azalma IBD: <i>Faecalibacterium spp.</i> , <i>Fusobacteria</i> 'da azalma
Markel ve diğerleri, 2012	Dışkı örnekleri	Kronik enteropatiler (n = 87) AHD (n = 48) HC (n = 180)	qPCR (16S rRNA geni)	<i>Faecalibacterium spp.</i> , <i>Turicibacter spp.</i> , <i>Ruminococcaceae</i> 'de azalma <i>C. perfringens</i> ve <i>E. coli</i> 'de artış
Jia ve diğerleri, 2010	Dışkı örnekleri	Kronik diyare (n = 9) HC (n = 8)	FISH	Bacteroides Artış
Glanemann ve diğerleri, 2008	Dışkı örnekleri	Diyare (n = 4) HC (n = 9)	T-RFLP	<i>C. perfringens</i> , <i>E. faecalis</i> ve <i>E. faecium</i> 'da artış

Değişikliklerin neden-sonuç ilişkileri hala araştırılmaktadır ancak özellikle IBD gibi kronik enteropatilerde bağırsak mikrobiyotasının hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynadığına dair güçlü kanıtlar vardır. İnsanlarda yapılan çalışmalar IBD ve bağırsaktaki mikrobiyal disbiyoz arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalarda, bakteriyel filum *Firmicutes* ve *Bacteroidetes*'de bir azalma ve *Proteobacteria* ve *Actinobacteria*'da bir artış IBD ile ilişkilendirilmiştir (Packey ve diğerleri, 2009). Ayrıca, *Clostridium kumeleri XIVa* ve *IV*'ün (yani, *Lachnospiraceae* ve *C. coccoides* alt grupları) çeşitliliğinde bir azalma IBD ile ilişkilidir, bu da bu bakteri grubunun, muhtemelen kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA) üretimine bağlı olarak, GI sağlığın korunmasında önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. IBD'li köpeklerde benzer çalışmalar bildirilmiştir ve IBD'li insanlar ve köpekler için gözlemlenen mikrobiyal kaymaların bir karşılaştırması Tablo 3' de verilmektedir.

Tablo 3. IBD’de bildirilen mikrobiyal kaymaların sağlıklı deneklere göre türler arasında karşılaştırılması.

Organizma	İnsan (Crohn Hastalığı)	İnsan (Ülseratif Kolit)	Köpek
<i>Firmicutes</i>	Azaldı (Frank ve diğerleri, 2007; Sokol ve diğerleri, 2008,2009)	Azaldı (Frank ve diğerleri, 2007; Sokol ve diğerleri, 2009)	Azaldı (Suchodolski ve diğerleri, 2012a)
<i>Clostridia</i> sınıfı			Azaldı (Suchodolski ve diğerleri, 2010, 2012a, 2012b)
<i>Ruminococcaceae</i> ailesi (Clostridial küme IV)	Azaldı (Sokol ve diğerleri, 2009)	Azaldı (Sokol ve diğerleri, 2009)	Azaldı (Suchodolski ve diğerleri, 2010, 2012a, 2012b)
<i>Lachnospiraceae</i> ailesi (Clostridial küme XIVa)	Azaldı (Sokol ve diğerleri, 2009; Frank ve diğerleri, 2007)	Azaldı (Sokol ve diğerleri, 2009; Frank ve diğerleri, 2007)	Azaldı (Suchodolski ve diğerleri, 2010, 2012a)
<i>Bacteroidetes</i>	Azaldı (Frank ve diğerleri, 2007)	Azaldı (Frank ve diğerleri, 2007)	Azaldı (Suchodolski ve diğerleri, 2012a; Xenoulis ve diğerleri, 2008) Arttı (Suchodolski ve diğerleri, 2010)
<i>Bacteroides</i> cinsi			Azaldı (Suchodolski ve diğerleri, 2012a)
<i>Fusobacteria</i>			Azaldı (Suchodolski ve diğerleri, 2010, 2012a)
<i>Proteobacteria</i>	Arttı (Frank ve diğerleri, 2007)	Arttı (Frank ve diğerleri, 2007)	Arttı (Suchodolski ve diğerleri, 2010, 2012a; Xenoulis ve diğerleri, 2008)
<i>Enterobacteriaceae</i> ailesi	Değişmedi (Frank ve diğerleri, 2007); Arttı (Swidsinski ve diğerleri, 2008)	Değişmedi (Frank ve diğerleri, 2007) Azaldı (Swidsinski ve diğerleri, 2008)	Arttı (Suchodolski ve diğerleri, 2010, 2012a; Xenoulis ve diğerleri, 2008)
<i>E. coli</i>	Değişmedi (Sokol ve diğerleri, 2009); Arttı (Baumgart ve diğerleri, 2007)		Arttı (Suchodolski ve diğerleri, 2010)
Yapışık-İnvaziv <i>E. coli</i>	Arttı (Baumgart ve diğerleri, 2007)		Arttı (Simpson ve diğerleri, 2006)
<i>Actinobacteria</i>	Arttı (Frank ve diğerleri, 2007)	Arttı (Frank ve diğerleri, 2007)	Arttı (Suchodolski ve diğerleri, 2012a)
<i>Mycobacterium avium</i> alt türleri psödötüberküloz	Tartışmalı (Frank ve diğerleri, 2007)		Arttı (Glanemann ve diğerleri, 2008)
<i>Bifidobacterium</i> cinsi	Azaldı (Sokol ve diğerleri, 2009)	Azaldı (Sokol ve diğerleri, 2009)	

2.2.4. Etkili Bağışıklık Durumu

Bağışıklık sistemindeki hücrelerin %70'inden fazlasının GI kanalda bulunduğu düşünöldüğünde, GI yapının bağışıklık sisteminin en büyük organı olarak kabul edilmesi şaşırtıcı değildir (Vighi ve diğerleri, 2008). Bağışıklık sistemi ile GI sistem arasındaki ilişkinin karakterizasyonu, sadece GI işlevselliğinde değil aynı zamanda sağlık, refah ve hastalıklarda da giderek önem kazanmaktadır (Celi ve diğerleri, 2017; Yegani ve Korver, 2008). GI sistemin önemli bir fizyolojik rolü, GI konak ve çevre arasındaki en büyük arayüz olduğundan, antijenlere ve patojenlere karşı bir bariyer işlevi görmektir. GI bariyerin önemi, bunun, bağırsak içeriğini konakçıdan ayırırken, aynı zamanda yoğun örneklemenin ve konakçı ile GI içerik arasındaki iletişimin lokasyonu olan dinamik ve fonksiyonel bir varlık olduğü gerçeğıyle vurgulanmaktadır. Bu nedenle, GI bariyerin değeriendirilmesi için çok çeşitli testler ve biyobelirteçler düşünölebilir. GI inflamasyon ve bağışıklık fonksiyonunun biyobelirteçleri, GI sistemin çevre ile etkileşimleri ve GI bariyer işlevselliğinin ne kadar iyi korunduğı hakkında önemli bilgiler sağlayabilir. GI bariyer, vasküler endotelyum, epitel hücre astarı ve mukus tabakasından oluşarı yapısal bir bariyer ve sindirim salgıları, bağışıklık molekülleri, sitokinler gibi hücre ürünleri, inflamatuvar araçılar ve antimikrobiyal peptidlerden oluşarı fonksiyonel immünolojik bariyerden oluşur. İnce bağırsak kriptlerindeki Paneth hücreleri ve yonca faktör ailesi proteinleri, onarım sürecini aktif olarak tetikleyerek mukozal epitel üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir (Bischoff ve diğerleri, 2014; Kim ve diğerleri, 2009). Bağırsak inflamasyonunun bağırsak mukozasının yapısını ve işlevini bozarak mide-bağırsak işlevini olumsuz etkileyebileceğı düşünöldüğünde, bağırsak inflamasyonu aktivitesinin varlığının belirlenmesi, mide-bağırsak bariyerinin değeriendirilmesi için çok önemlidir. GI sistemdeki bağışıklık durumunu karakterize etmek için kullanılan farklı biyobelirteçler; Pankreatitle ilişkili proteinler veya rejenere adacık türevi III proteinleri, myeloperoksidaz, neopterin, alfa-1 antitripsin, eozinofilik katyonik protein ve eozinofil protein X, kalprotektin, S100 proteinleri, lipokalin 2, laktoferrin, lipopolisakkarit, akut faz proteinleri, aitokinler ve sekretuvar IgA'yı içerir (Celi ve diğerleri, 2019).

2.2.5. Bağırsak Mukozası

Etkili bağırsak bariyeri işlevi, optimal GI işlevselliği, hayvan sağlığını ve refahını sürdürmek için gereklidir (Celi ve diğerleri, 2017). Bağırsak bariyerinin ilk katmanı, mikrobiyota ile ilişkili bir dış katman ve yüksek konsantrasyonlarda sIgA ve müsin içeren bir iç katmandan oluşan bir mukus katmanından oluşur (Bischoff, 2011). GI sistemin doğuştan gelen bağışıklık sistemi, her biri komensal bakterilere tolerans ile patojenlere yanıt arasındaki ince dengeye katkıda bulunan birden fazla unsurdan oluşur (Celi ve diğerleri, 2017). GI mukoza, sürekli olarak GI mikrobiyotaya maruz kalmasına rağmen, temel besin maddelerinin seçici girişine izin verirken, toksinler, bakteriler ve bunların hücre kalıntıları, antinutrisyonel faktörlerin oluşturduğu sayısız tehdide karşı bağırsak bariyerinin bütünlüğünü koruyabilir (Bischoff, 2011). Bağırsak geçirgenliğini ve bütünlüğünü değerlendirmek için çeşitli teknikler mevcuttur (Bischoff ve diğerleri, 2014). *In vitro* veya *in vivo* olarak kurulabilirler, farklı hayvan modellerinde doğrulanmışlardır, çok çeşitli molekülleri (iyonlar, farklı boyutlardaki karbonhidratlar, makromoleküller ve antijenler, bakteri ürünleri ve bakteriler) çeşitli biyolojik matrislerde (periferik kan, portal ven kanı, idrar) ölçülebilirler.

Geçirgenlik tahlillerinde genellikle, konakçı tarafından sindirilemeyen ve metabolize edilemeyen laktuloz, l-ramnoz ve mannitol gibi oligosakkaritler kullanır (Bischoff ve diğerleri, 2014). Ayrıca MUC 2, sialikasit, doku trans-epitel elektrik direncinin (TEER) ve bağırsak segmentleri boyunca besin geçişinin ölçülmesine izin veren Ussing odası yöntemi, DAO, Zonulin, Sitrülin, Bağırsak Alkalın Fosfataz (IAP), Bağırsak yağ asidi bağlayıcı proteinler (iFABP) geçirgenliğin biyobelirteçleri olarak araştırılmaktadır (Boudry, 2005; Chen ve diğerleri, 2015; Crenn ve diğerleri, 2008; Enko ve diğerleri, 2016; Funaoka ve diğerleri, 2010; Gilani ve diğerleri, 2016; Huang ve diğerleri, 2015; Kim ve Ho, 2010; Lallès, 2014; Pearce ve diğerleri, 2013).

2.2.6. Bağırsağın Nöroendokrin İşlevi

Muhtemelen GI sistemin en önemli işlevi bilgi toplamaktır, aslında bağırsak bir duyu organı olarak düşünülmelidir (Furness ve diğerleri, 2013). Sindirim sırasında, sindirim sisteminin sindirim ve emilim kapasitesini, alınan gıdanın miktarı ve bileşimi ile aynı hizaya getirmek amacıyla, bağırsak içeriği algılanır ve nöroendokrin sinyaller beyne iletilir (Furness ve

Cottrell, 2017). Konak beyin ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki çift yönlü bağlantı, temel olarak merkezi sinir sisteminin (CNS) çevre ile nöral ve humeral iletişimine dayanır (Jenkins ve diğerleri, 2016). Nöral iletişim, enterik sinir sisteminden bağırsağın sempatik gangliyonlarına ve parasempatik innervasyonuna uzanan projeksiyonlar yoluyla vagus siniri ve ince ve kalın bağırsağın dorsal kök ganglionlarını içerir. Humeral iletişim ise aynı zamanda mikrobiyal aktivite ürünlerine, sitokinlere ve hormonlara bağlıdır.

GI sistemin nöroendokrin işlevi, hayvan refahı ve performansı ile ilgili olan ve "bağırsak-beyin eksenini" olarak adlandırılan önemli bir iletişim koludur (Celi ve diğerleri, 2017). GI peptid hormonları, besinler, nöral veya hormonal stimülasyon, GI mikrobiyotanın metabolik ürünleri gibi çeşitli ipuçlarına yanıt olarak bağırsak mukozası boyunca geniş ölçüde yayılan çok sayıda enteroendokrin hücre tarafından salgılanır (Steinert ve diğerleri, 2013). GI hormonlar, yalnızca sindirim ve emilim değil, aynı zamanda bağırsak bariyer işlevi, mukozal sağlık, yem alımı ve metabolizma dahil olmak üzere etkili GI işlevselliğe katkıda bulunur (Celi ve diğerleri, 2017).

Beynin duyuşal ve bilişsel merkezlerinin bağırsak ve onun yerleşik mikrobiyotasıyla bağlantısında yer alan bileşikler arasında serotonin çok önemli bir rol oynar. Serotonin, CNS içinde bir nörotransmitter olmanın dışında, bağırsak epitelinin enterokromaffin hücreleri tarafından salgılanır ve gıdanın geçiş süresini ve ardından bakteriyel fermantasyonun kapsamını ve fermantasyonun son ürünlerinin miktarını düzenleyerek bağırsak motilitesini uyarır (Jenkins ve diğerleri, 2016).

Bağırsak mikrobiyotası, triptofan metabolizması ile etkileşime girer ve serotonin sentezi için mevcut miktarını etkiler böylece serotonerjik sistemle etkileşime girer (O'Mahony ve diğerleri, 2015). Örneğin irritabl bağırsak sendromu için bildirilen triptofan metabolizmasının modifikasyonu, depresif bir ruh haline veya hedef olarak CNS'ye sahip nörotoksik/nöroprotektif metabolitlerin üretimine yol açan bir serotonin eksikliğini gösterir (Kennedy ve diğerleri, 2014). Ayrıca, mikrobiyal popülasyonlar bağırsak epiteli, lokal mukozal bağışıklık sistemi ve vagus siniri üzerinde etkileri olan GABA ve kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar) gibi diğer sinyal moleküllerini sentezler (Forsythe ve diğerleri, 2016). Bağırsak mikrobiyotasının bozulması aynı zamanda diğer nörotransmitterlerin ve sinyal moleküllerinin (örneğin, dopamin, sitokinler, interleukinler ve Tümör Nekroz Faktörü (TNF) GI sistemden) modülasyonunu indükler ve bu da hipotalamus adrenal hipofiz eksenini olarak bir nöroendokrin yanıtı aktive

edebilir. Hipotalamus Hipofiz Adrenal Aksı (HPA) veya serotonerjik sistemle çıkarım yaparak triptofan metabolizmasını modüle edebilir (Forsythe ve diğerleri, 2016).

Gıda katkı maddelerinin prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotik olarak kullanılması, gastrointestinal ve mikrobiyal dengeyi yeniden sağlamak için terapötik bir yaklaşım sunar (de Souza ve diğerleri, 2019). Ancak polifenoller gibi diğer biyoaktif bileşikler için daha az bilgi mevcuttur. Bitkilerde polifenoller glikosilat formundadır ve organizma tarafından alındıktan sonra ksenobiyotik olarak tanınırlar; bu nedenle, katabolize edilmiş biyoyararlanımları, yaygın besinlerle karşılaştırıldığında azalır (Monagas ve diğerleri, 2010). Toplam polifenol alımının sadece %5-10'unun ince bağırsakta emildiği, geri kalan %90-95'in ise bağırsak mikrobiyalinin enzimatik aktiviteleri tarafından sonuç olarak işlendiği kolon lümeninde birikebileceği tahmin edilmektedir (Cardona ve diğerleri, 2013). Bu nedenle, düşük moleküler ağırlıklı bileşiklere dönüşüm sayesinde, bağırsakta yaşayan mikroorganizmaların polifenolik yapının emilimine dahil olması muhtemeldir. Sonuç olarak, kanıtlar, ana moleküllere kıyasla daha yüksek biyoyararlanım göz önüne alındığında, polifenollerin sağlık yararlarının yalnızca bitkilerde bulunan orijinal moleküllerle değil, aynı zamanda bunların ara ürünleri ve son ürünleriyle de ilişkili olduğunu göstermektedir (Russell ve diğerleri, 2009). Bununla birlikte, polifenollerin metabolizması bağırsaktaki sadece birkaç mikrobiyal tür için rapor edilmiştir (Kutschera ve diğerleri, 2011) Günlük doza ve bağırsak mikrobiyota topluluğunun bireysel değişkenliğine bağlıdır. Bu nedenle, bağırsak mikrobiyotasının bileşimindeki bireyler arası farklılıklar, polifenol metabolitlerinin biyoyararlanımı ve biyoaktivitesinde farklılıklara yol açabilir (Gross ve diğerleri, 2010). Bununla birlikte, son araştırmalar hem polifenollerin hem de polifenollerden türetilen moleküllerin, seçici prebiyotik etkiler ve patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteler yoluyla arka bağırsak mikrobiyotasını şekillendirebildiğini göstermiştir (Cardona ve diğerleri, 2013).

Bağıışıklık sistemi bir patojen tarafından zorlandığında veya stres durumları sırasında, kasta protein birikimini ve ortalama günlük kazancı azaltan proinflamatuvar sitokinler salgılar, ancak aynı zamanda anoreksi, uyuşukluk, duruş değişiklikleri, bilişsel eksiklikler gibi davranışsal değişikliklerden de sorumludurlar (Johnson, 2012). GI mikrobiyomun beyinde bulunan çoğu nörotransmitteri üretebildiği düşünüldüğünde, önemli kanıtlar bağırsak mikrobiyomunun davranışı etkileyebileceğini göstermektedir (Dinan ve Cryan, 2017). Dahası, duruş ve hareket sadece kas-iskelet sistemi hastalıklarından değil, aynı zamanda iç organ

hastalıklarından da etkilenebilir (Radostisis ve diğerleri, 2000). Gerçek zamanlı sıcaklık, ses ve görüntü analizi ile sürekli sağlık izleme, modern hayvancılık sistemlerinde bir gerçeklik haline gelmektedir (Berckmans, 2014). Davranış değişikliklerinin ve hareketliliğin otomatik tespiti, çiftlik hayvanlarında önemli sağlık sorunlarının erken tespitine izin verecektir (Kashiha ve diğerleri, 2014; Matthews ve diğerleri, 2016; Silvera ve diğerleri, 2017).

2.3. Köpeklerde Gastrointestinal İnflamasyonun Potansiyel Biyobelirteçleri

2.3.1. Diamin Oksidaz (DAO)

DAO, insan ve memeli üst bağırsak mukozası kromafin hücrelerinin sitoplazmasında bulunan salgılayıcı bir proteindir ve alerjik reaksiyonları durdurmak için histamini (esas olarak hücre dışı) katabolize etmekten sorumludur (Sattler ve Lorenz, 1990). DAO enzimi, histamin ve poliaminler gibi diğer biyojenik aminleri oksidatif deaminasyon reaksiyonuyla etkisiz hale getirir (Oliva ve diğerleri, 1997). Poliaminler optimal hücre büyümesi için kritik olmasına rağmen, aşırı birikim normal hücre fonksiyonuna doğrudan müdahale edebilir ve apoptotik yanıt, inflamasyon ve kanserojenезin kontrolünde rol oynarlar (Gerner ve Meyskens, 2004; Zaletok ve diğerleri, 2004).

Çeşitli kaynaklardan DAO saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir. Farklı türlerden DAO'nun biyokimyasal özellikleri üzerine yapılan çeşitli çalışmalar Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4. DAO'nun saflaştırılması ve karakterizasyonu.

DOKU	KAYNAK	MOLEKÜLER KÜTLE	REFERANS
Böbrek	At Domuz İnsan	Belirlenmedi 185,000 Belirlenmedi	Corda ve diğerleri, 1984 Bardsley ve diğerleri, 1976 Shindler ve Bardsley, 1976
Plasenta	İnsan	90,000-120,000	Bardsley ve diğerleri, 1974; Lin ve diğerleri, 1981
Amniyotik Sıvı	İnsan	245.000(DAO-A: dimer) 485,000(DAO-B: tetramer)	Tufvesson, 1978a; 1978b
Gebe Kadın Plazması	İnsan	245.000(DAO-A: dimer) 485,000(DAO-B: tetramer)	Bardsley ve diğerleri, 1976; Tufvesson , 1978b

DAO seviyesi periferik kanda son derece düşüktür. Bu enzim esas olarak bağırsakta dağılır ve böbrek, plasenta ve diğer organlarda da bol miktarda bulunur (Schwelberger ve diğerleri, 1990). Bağırsak mukozasının olgunlaşmasıyla birlikte, özellikle ince bağırsakta temel DAO seviyeleri önemli ölçüde artar. İlaçlar ve yiyecekler dahil olmak üzere çeşitli faktörler DAO düzeylerini etkiler (Maintz ve Novak, 2007).

Periferik kandaki DAO seviyesi nispeten stabil olmasına rağmen bağırsak mukozasındaki seviye iskemi, hipoksi veya bağırsak lümen dokularının beslenme bozukluğu sırasında azalır ve sonuç olarak kandaki DAO seviyesi düşer. DAO seviyesi bağırsak hasarını ve onarımını yansıtır. Spesifik olarak, invaziv olmayan koşullar altında ince bağırsak mukozal bariyerinin işlevini izlemek için plazma DAO seviyeleri kullanılabilir. Bu nedenle, DAO son yıllarda GI hastalıklar, histamin intoleransı (HIT), migren ve anormal gebelik ve tümörlerin prognozunun teşhisinde giderek artan bir klinik ilgi görmüştür. Birkaç GI durumun neden olduğu ince bağırsakta mukozal hasar DAO aktivitesini azaltabilir (Enko ve diğerleri, 2016). Hem köpeklerde hem de insanlarda çeşitli bağırsak hastalıklarında azalmış DAO seviyeleri tespit edilmiştir (Oliva ve diğerleri, 1997, Raithel ve diğerleri, 1998).

Histamin esas olarak mast hücreleri, trombositler, bazofiller, histaminerjik nöronlar ve enterokromatin hücreler tarafından üretilir ve burada veziküllerde depolanır ve stimülasyona yanıt olarak salınır. Piridoksal fosfat içeren L-histidin dekarboksilaz (HDC) tarafından amino asit histidinden sentezlenir ve çeşitli dokulardaki hedef hücrelerde dört reseptöre bağlanarak işlev görür. Düz kas hücresi kasılmasına, vazodilatasyona, artmış vasküler geçirgenliğe ve mukus sekresyonuna, taşikardiye, aritmilere, değişen kan basıncına, uyarılmış gastrik asit sekresyonuna ve nosiseptif sinir liflerine neden olur (Maintz ve Novak, 2007).

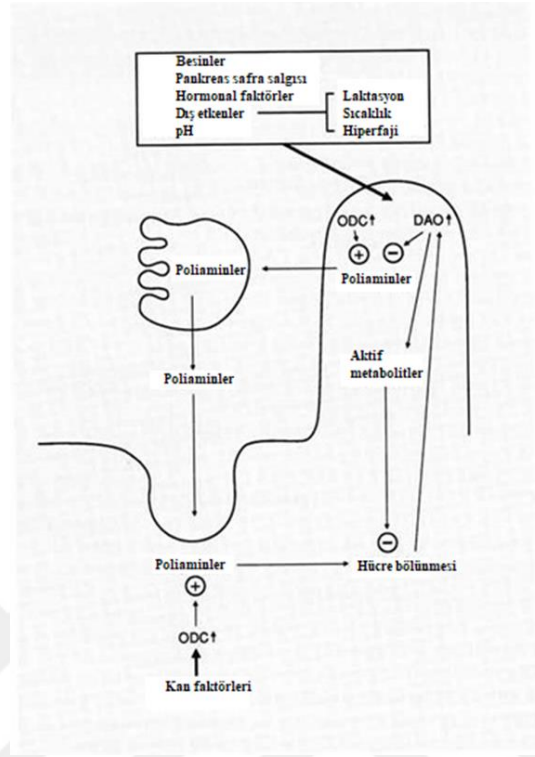
Histamin başlıca iki şekilde metabolize edilir. Bunlar; DAO ile oksidatif deaminasyon ve histamin-N-metiltransferaz (HNMT) ile siklometilasyondur. Histamin lokalizasyonu, DAO veya HNMT tarafından katabolize edilip edilmediğini belirler. DAO, böbrek, kolon, plasenta ve timus gibi periferik dokularda depolanır. Mediatörlerin salınmasından sonra hücre dışı histamini temizlemekten sorumludur ve uyarıldığında dolaşıma salınır. DAO ayrıca putresin ve spermidin gibi diğer poliaminleri de katabolize edebilir. Buna karşılık HNMT, histamini yalnızca hücre içi boşluğa (mast hücreleri ve histaminerjik nöronlar içeren) dönüştürebilen bir hücre zarı proteindir (Schwelberger ve Bodner, 1997).

Son yıllarda, serum DAO, çeşitli hastalıkların teşhisindeki rolü nedeniyle araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmüştür. Bununla birlikte, DAO ile ilgili geçmiş araştırmalar çoğunlukla temel deneylere odaklanmıştır ve DAO'nun klinik uygulamada uygulanmasındaki son gelişmeleri tartışan yayın eksikliği vardır. Bu gözden geçirme, DAO'nun farklı hastalıklardaki (Tablo 5) diferansiyel ekspresyonunu ve bu enzimin klinik ortamda uygulanmasını aydınlatmayı amaçlamaktadır.

2.3.1.1. Mukozal Büyüme Düzenlemesinde DAO'nun Rolü

GI sistemdeki hücrelerin çoğalması, hormonlar (glukokortikoidler, tiroksin, insülin) ve büyüme faktörleri (epidermal büyüme faktörü) dahil olmak üzere birçok madde tarafından kontrol edilir. Ek olarak, bağırsak mukozasındaki hücre proliferasyonunun, orijinal trofik uyarıdan bağımsız olarak progenitör hücrelere ulaşan poliaminlerin sağlanmasına bağlı olduğu öne sürülmüştür (Mc Cormack ve Johnson, 1991). Çeşitli çalışmalarda, ornitin dekarboksilaz (ODC)'nin poliamin düzeylerini düzenleyerek mukozal büyümeyi düzenlemede anahtar rol oynadığı belgelenmiştir.

ODC ve DAO'nun mukozal büyümeyi düzenlemedeki göreceli rolünü incelemek için, bu enzimlerin aktivitesi farelerde ince bağırsak rezeksiyonundan sonra enterositlerde ölçülmüştür. Dowling (1990) adaptif yanıt sırasında mukozal DAO aktivitesinin bağırsak büyümesine izin verecek ve/veya kolaylaştıracak şekilde düşeceğinden şüphelenildiğini tanımlamıştır. Bununla birlikte, çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçlar, ODC aktivitesinin yalnızca adaptif hiperplazi sırasında yükselmediğini, aynı zamanda DAO aktivitesinin ODC'ye paralel olarak arttığını göstermiştir (Mennigen ve diğerleri, 1989). ODC ve DAO'nun mukozal büyüme düzenleme sürecindeki spekülasyon eylemleri, şekil 7'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 7. ODC ve DAO'nun mukozal büyümedeki spekülatif rolü (Wolvekamp ve de Bruin, 1994).

2.3.1.2. Bazal DAO Düzeyleri

Plazma DAO'nun fizyolojik bazal seviyeleri çok düşüktür (Rokkas ve diğerleri, 1990a). Enzim, plazma seviyelerinin bağırsak mukozasının olgunluğu ve bütünlüğü ile pozitif korelasyon göstermesi bakımından benzersizdir. Örneğin, intestinal mukozal atrofisi olan hastaların plazmasında azalmış enzimatik aktivite bulunur, bu da normal plazma DAO'sunun birincil olarak bağırsaklardan etkilendiğini gösterir (D'Agostino ve diğerleri, 1987). Yapılan bazı çalışmalar, elde edilen serum değerlerindeki büyük biyolojik varyasyonlar nedeniyle enteropatilerin takibinde serum DAO aktivitesinin ölçülmesinin tarama testlerinden daha uygun olduğunu öne sürmektedir (Corazza ve diğerleri, 1988).

2.3.1.3. Postheparin DAO Salımı

DAO esas olarak olgun villus hücreleri tarafından sentezlenir. Yaklaşık %60'ı organellerde bulunur ve geri kalanı sitozolik bölmede serbesttir. Çalışmaların çoğunda,

sentezden sonra DAO'nun lamina propria'nın kılcal damarlarındaki heparine duyarlı bağlanma bölgelerine yer değiştirdiği varsayılmıştır (Robinson-White ve diğerleri, 1985). Bu konum, poliaminin bağırsaktan dolaşıma geçişini engelleyebilir. Yakın zamandaki immünofloresan çalışmaları, endotelial bağlanma bölgelerinin değil, villus hücrelerinin tabanının bağırsaktaki birincil saklama kompartımanını temsil ettiğini ortaya koymuştur (Danielle ve Quaroni, 1990). DAO'nun salınması, büyük olasılıkla, heparin veya diğer yüksek oranda negatif yüklü moleküller tarafından indüklenen bazolateral membrandaki yapıcı salgı yolu yoluyla gerçekleşir. Organellere bağlı DAO, yalnızca sitozolik bölme tükendiğinde salınır. Salınması üzerine DAO, heparin stimülasyonu ile zaten tükenmiş olan endotelial bağlanma bölgelerine taşınır ve daha sonra dolaşıma salınır. Genel olarak, heparin stimülasyonunu takiben plazma DAO seviyelerinin belirgin şekilde yükseldiği ve bağırsağın böyle bir artışın ana (veya tek) kaynağı olduğu bilinmektedir (Rokkas ve diğerleri, 1990b). Bu provokatif plazma postheparin DAO ölçümünün, DAO'nun mukozal olgunlaşma ve bütünlüğün bir monitörü olarak duyarlılığını arttırdığı düşünülmektedir.

2.3.1.4. DAO'nun Patolojik Durumlarla İlgisi

DAO aktivitesinin bir dizi patofizyolojik durumla ilişkisi genellikle üzerine varsayılır. Bazı patolojik durumlarda değişmiş DAO aktiviteleri bulunmasına rağmen, bunların kesin rolü spekülatif olmaya devam etmektedir. DAO'nun metabolik rolünün sürekli araştırılması, enzimin normal ve hastalıklı durumlardaki işlevine dair ipuçları sağlayabilir. Ayrıca, belirli hastalıkların klinik değerlendirmesinde DAO'nun tanısal değerinin araştırılması, izleme için hassas araçlara yol açabilir.

Tablo 5. Değişen DAO aktivitesi ile ilişkili patofizyolojik durumlar.

DURUM	DEĞİŞİM	SAĞLIKTAKİ ROLÜ	REFERANS
Gebelik Toksemisi, Abortus	Serum DAO seviyesi ↓	Bariyer fonksiyonu, Plasentadan histamin/poliamin geçişini önleme	Kapeller-Adler, 1944; Ahlmark, 1944
Neoplazi	İntrakarsinom DAO seviyesi ↑ Bunu takiben Dolaşımdaki DAO seviyesi↑	Çözümlememiş	Baylin ve Luk, 1981
Alerjik Reaksiyon	DAO bloklama	Histamin regülatörünün salınım düzenleyisi	Sattler ve diğerleri, 1988
Kistik Fibrozis	Serum DAO aktivitesi ↑↑	Çözümlememiş	Baylin ve diğerleri; 1980
İnfertilite	Meni DAO aktivitesi ↑↑	Çözümlememiş	Gahl ve Pitot, 1981
Üremi	Böbrek ve idrar DAO ↓↓ Plazma DAO ↑	Nefrotoksiteden koruma	Gahl ve Pitot, 1981
Bağırsak İskemisi	Plazma DAO seviyelerini takiben azalmış doku aktivitesi ↑	Bağırsağı toksisiteden ve iskemiden koruma	Baylin ve Luk, 1981; Bragg ve diğerleri 1991

Gebelik sırasında, plasentanın serumdaki yüksek DAO aktivitesinin kaynağı olduğu ileri sürülmüştür. Normalde DAO'nun, zararlı histamin/poliaminin maternal dolaşıma geçişini önleyerek plasentada bir bariyer işlevi gördüğü düşünülür (Ahlmark, 1944; Kapeller-Adler, 1944).

Neoplastik bozukluklarda, endometriyal adenokarsinom, granüloza hücreli karsinom, uterus miyosarkomu, tiroid bezinin medüller karsinomu, akciğerin küçük hücreli karsinomunda ve mide ve kolon karsinomunda artmış DAO aktivitesi gözlenmiştir (Baylin ve Luk, 1981). İmmünohistokimyasal çalışmalar, bu tümörlerdeki bazı hücre tiplerinin dolaşımdaki DAO'nun kaynağı olduğunu doğrulamıştır. Bununla birlikte, birkaç çalışma, dolaşımdaki DAO aktivitesinin, muhtemelen tümörden salınımının değişkenliği nedeniyle güvenilir bir teşhis belirteci olmadığını göstermiştir. Neoplastik hücrelerde artan DAO aktivitesinin tümör hücresi gelişimi ile bağlantılı olup olmadığı henüz belirlenmemiştir.

Luminal histamin kaynaklı histaminozis, DAO blokajı altında gıda kaynaklı histaminozis sonrasında ortaya çıkabilecek alerjik benzeri reaksiyonların genel adıdır. DAO inhibisyonunun alerjik yanıtları artırdığı bilinmektedir, bu da DAO'nun histamin salınımını içeren patofizyolojik reaksiyonlarda düzenleyici bir rol oynadığını düşündürmektedir (Sattler ve diğerleri, 1988).

Kistik fibrozda sürekli olarak yüksek poliamin seviyeleri bildirilmiştir. Bu hastalıkta, hastaların yaklaşık %30'unda anormal derecede yüksek dolaşımdaki DAO aktivitesi bulunmasına rağmen, poliamin katabolizmasında herhangi bir anormallik ortaya konmamıştır. DAO'nun bu hastalıkta görülen bazı klinik belirtilerdeki rolünü belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Baylin ve diğerleri; 1980).

Bazı çalışmalar, DAO aktivitesi ile sperm hareketliliği ve dolayısıyla doğurganlık arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Ejakülate aminoguanidin eklenmesi, bazı erkek kısırlığı vakalarında doğurganlığı iyileştirmek için yeni terapötik yöntemler sunabilir (Gahl ve Pitot, 1981).

Üremide, poliaminler tutulur ve enfeksiyon ve anemi dahil olmak üzere bazı ikincil komplikasyonlarda rol oynayabilir. Üremik hastalarda azalmış idrar ve böbrek DAO'su ile birlikte yükselmiş serum DAO seviyeleri tespit edilmiştir. Bu DAO seviyeleri, plazmadaki toksik poliaminlerin uzaklaştırılmasına ve böbrekte toksik aldehit oluşumunun inhibisyonuna neden olabilir (Gahl ve Pitot, 1981).

Birkaç araştırmacı, barsakların iskemik durumları ile DAO değişikliklerini tanımlamıştır. Doku DAO'sunun ana kaynağı (>%90) olan mukozal DAO aktivitesi, kolonda düşük seviyelere inerek, proksimalden distale artan bir gradyan gösterir. Enzim öncelikle sentezlenir ve gastrointestinal sistemin villus emici hücrelerinde bulunur. Villus ucu hücreleri iskemiye en duyarlı olduklarından, doku DAO aktivitesinde azalma ve bunu takiben lümen salımı ve kanda alımından dolayı DAO'nun dolaşımdaki plazma seviyelerinde artış bulunmuştur. Bu nedenle, DAO aktivitesinin ölçülmesi, bağırsak hasarının bir belirtisi olabilir. Ayrıca, DAO'nun bağırsak iskemisinde gözlenen artmış histamin konsantrasyonlarını takiben bağırsağı toksik etkilerden korumada koruyucu bir rolü olduğu öne sürülmüştür (Bragg ve diğerleri 1991).

Crohn hastalığından (CD) etkilenen insan deneklerde mukozal DAO aktivitesi, sağlıklı akranlarına kıyasla %50 daha düşük bulunmuştur (Schmidt ve diğerleri, 1990). Kurkumin takviyesinden sonra domuzlarda DAO konsantrasyonlarında ve bağırsak geçirgenliğinde bir

azalma gözlemlenmiştir (Xun ve diğerleri, 2015). Etlik piliçler, probiyotik ve zeolit ile beslendiğinde benzer gözlemler yapılmıştır (Lei ve diğerleri, 2013; Wu ve diğerleri, 2013). Son olarak, serum DAO konsantrasyonları, broyler piliçinde bağırsak geçirgenliğindeki bir artışı yansıtan bir LPS zorlamasıyla artırılmıştır (Wu ve diğerleri, 2013). Trigliceridler ve yağ asitleri gibi besin maddelerinin DAO'yu bağırsak mukozasından vücudun diğer kısımlarına saldıgı gözlemleri, doku büyümesi ve yeniden şekillenmenin düzenlenmesi ile olası bir beslenme bağlantısını gösterebilir (Wollin ve diğerleri, 1998). DAO ölçümü, en azından broylerlerde daha az invaziv bir teknik olan kanda yapılabilir ve aynı hayvanları tekrar tekrar kullanma avantajı sunar ancak pratik durumlarda kullanımını doğrulamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (Gilani ve diğerleri, 2016).

Tablo 6. Farklı hastalıklarda serum DAO.

Hastalık	Menşei	Serum DAO değişimi	Yorumlar	Referans
GI hastalıklar	Sıçanlar, fareler, insanlar	Artış	DAO'nun tanısal değerini desteklemek için daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.	Cai ve diğerleri, 2012; Çakmaz ve diğerleri, 2013; Karabulut ve diğerleri 2013; Takiishi ve diğerleri, 2017
Migren	İnsanlar	Azalış/Artış	Oral DAO takviyesi, migren için yeni bir tedavi olabilir.	Izquierdo-Casas ve diğerleri, 2018, 2019; Vos ve diğerleri, 2012, 2015
Gebelik	İnsanlar	Artış	Serum DAO, gebeliğin doğrulanmasında ve trofoblast hastalıklarının taranmasında rol oynar.	García-Martín ve diğerleri, 2022; Meza-Velázquez ve diğerleri, 2017; Noskova ve diğerleri, 2006
GI sistem toksisitesi	İnsanlar, fareler, sıçanlar	Azalış/Artış	Toksisiteyi yansıtan DAO seviyelerinin kesinliği daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyar.	Brew ve diğerleri, 2007; Brew ve Sullivan, 2001; García-Martín ve diğerleri, 2022; Hamada ve diğerleri, 2013
Karaciğer Hastalığı	İnsanlar	Artış	DAO, karaciğer ve bağırsak fonksiyon bozukluğu olan hastalarda potansiyel bir biyobelirteç olabilir.	Legge ve Duff, 1981; Moriyama ve diğerleri, 2006; Velicky ve diğerleri, 2018
Histamin intoleransı	İnsanlar	Artış	Histamin intoleransı tanısında ve tedavisinde DAO'nun rolü açıklığa kavuşturulmuştur.	Goto ve diğerleri, 2011; John-Baptiste ve diğerleri, 2012; Miyoshi ve diğerleri, 2015; Tanaka ve diğerleri, 2016

2.3.1.5. Çeşitli Gastrointestinal Hastalıkların Tespitinde DAO'nun Rolü

Çeşitli insan ve hayvan deneyleri, plazma DAO seviyesinin bağırsak mukozal bariyerinin işlevini değerlendirmede anahtar bir belirteç olduğunu doğrulamıştır (Zhou ve diğerleri, 2006). DAO seviyesinin intestinal mukozal hasarı izlemedeki kritik rolü de çeşitli klinik senaryolarda doğrulanmıştır (Liu ve diğerleri, 2012; Sugawara ve diğerleri, 2006; Wang ve diğerleri, 2014; Zhao ve diğerleri, 2018). Bağırsak mukozal bariyerinin yaralanması, epitel hücre geçirgenliğini artırır. Sonuç olarak, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, özellikle Crohn hastalığı ile yakından ilişkili olan bir inflamatuvar yanıtı tetikler (Honzawa ve diğerleri, 2011; Salim ve Söderholm, 2011). Yükselmiş plazma DAO seviyesi, bağırsak hasarının onarıldığını gösterir ve Crohn hastalığı aktivitesinin izlenmesinde hassas ve kesin bir belirteç olarak kullanılabilir (Cai ve diğerleri, 2019; Takiishi ve diğerleri, 2017). DAO, ince bağırsak tıkanıklığının erken ve doğru teşhisi ve tanımlanması için yararlı bir moleküler parametredir. Klinik olarak, serum DAO seviyesindeki bir artış (bazal seviyenin iki katı), basit ila boğulmuş bağırsak tıkanıklığını teşhis etmek için yararlı bir belirteç olabilir. Bir hayvan çalışması, serum DAO seviyesinin basit bağırsak tıkanıklığında önemli ölçüde arttığını, ancak boğulmuş bağırsak tıkanıklığında giderek azaldığını göstermiştir (Akimoto ve diğerleri, 2006). Bu sonuç, boğulmuş bağırsak tıkanıklığının neden olduğu kan akışının azalmasına bağlanabilir. Ek olarak, artan sayıda hayvan deneyi, akut mezenterik iskemi ve superior mezenterik arter oklüzyonunun erken teşhisinde DAO'nun değerini göstermiştir (Çakmaz ve diğerleri, 2013; Karabulut ve diğerleri, 2013). Başka bir çalışma, DAO=29.81 U/L'nin superior mezenterik arter oklüzyonunun teşhisinde erken tanı kriteri olarak kullanılabileceğini belirtmiştir ancak bu kriter klinik tanı için yetersizdir ve insanlarda kapsamlı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır (Cai ve diğerleri, 2012).

2.3.1.6. İlaçların Gastrointestinal Sistem Toksisitesinin Tahmincisi Olarak DAO

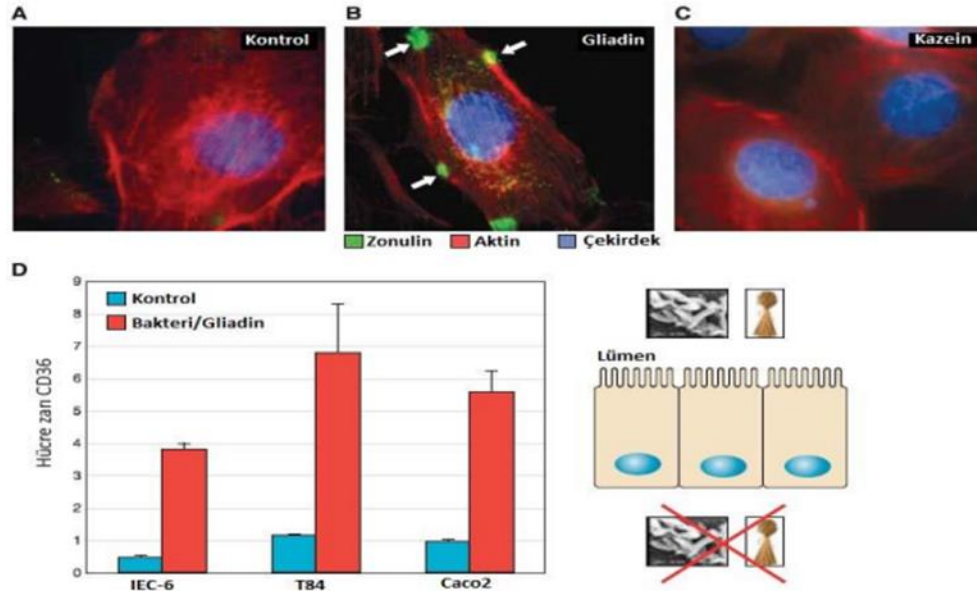
Sıçanlarda, kandaki DAO seviyesi, ince bağırsak mukozal villuslarındaki seviye ve 5-fluorourasil (FT) gibi antikanser ilaçların neden olduğu bağırsak toksisitesinin ciddiyeti ile önemli ölçüde ilişkilidir (Moriyama ve diğerleri, 2006). Yapılan bir çalışmada oral FT antikanser ilaçları ile adjuvan kemoterapi sırasında mide kanserli 20 hastada serum DAO seviyeleri ölçülmüş ve antitümör ilaç tedavisinin DAO seviyelerini düşürdüğünü ve bu hastalarda sağlık durumunun DAO seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini bulunmuştur

(Namikawa ve diğerleri, 2012). Docetaxel + cisplatin + 5-FU ile tedavi edilen özofagus kanseri olan 50 hastayı içeren yeni bir prospektif kohort çalışması, plazma DAO seviyesinin bağırsağın amino asitleri emme yeteneğini yansıttığını ve bu nedenle hastalarda kemoterapinin etkinliğinin bir göstergesi olarak kullanılabileceğini bildirdi (Sato ve diğerleri, 2022). Serum DAO aktivitesi, antikanser ilaç tedavisi süresince kademeli olarak azalır ve DAO aktivitesindeki azalma yüzdesi, GI toksisitenin ciddiyeti ile yakından ilişkilidir (Miyoshi ve diğerleri, 2015). Bu sonuç, plazma DAO düzeylerinin, kanserli hastalarda kemoterapiye verilen GI toksite yanıtını izlemek ve değerlendirmek için kullanılabileceğini göstermektedir (Goto ve diğerleri, 2011; Miyoshi ve diğerleri, 2015). Kolşisin bağırsak geçirgenliğini artırır, bağırsak mikrobiyotasını değiştirir, floranın yer değiştirmesini şiddetlendirir ve farelerde inflamatuvar yanıtı inhibe eder, bu da fare bağırsağında toksik yükü artırabilir. Böylece, DAO ve lipopolisakaritin serum seviyeleri artar (John-Baptiste ve diğerleri 2012). Plazma DAO seviyesi, antikanser ilaca bağlı gastrointestinal toksisitenin ilaç/gıda tedavisi çalışmalarının yürütülmesinde ve mide, yemek borusu, karaciğer, kolorektal, meme, baş ve boyun kanserlerinde bağırsak bütünlüğünün ve ilgili komplikasyonların izlenmesinde önemli bir ölçüdür (Kamei ve diğerleri, 2005; Lages ve diğerleri, 2017; Liang ve diğerleri, 2021; Liu ve diğerleri, 2020; Tanaka ve diğerleri, 2016; Usami ve diğerleri, 2011).

2.3.2. Zonulin

Bağırsak geçirgenliğinin sağlık ve hastalıktaki rolünün anlaşılmasında bir dönüm noktası, TJ bağlantılarının düzenleyici aktivitesini sergileyen ilk insan proteini olan zonülinin keşfiyle belirlenmiştir. Muhtemelen, zonulin, epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR), proteinazla aktive olan reseptör 2 (PAR 2) yoluyla aktive etmekte; bu, TJ proteinlerinin fosforilasyonuna ve aktin filamentlerinin yeniden düzenlenmesine yol açmakta, ardından TJ proteinlerinin baskılanması sağlanmaktadır ki sonuç olarak bu da artan bağırsak geçirgenliğini gevşetmektedir (Fasano, 2012a). Araştırma programları, zonulin'in bakteri ve konakçı arasındaki etkileşimleri etkilediğini ortaya çıkarmıştır. Bu proteinin artan sekresyonu, patojenik ve ayrıca patojenik olmayan bakteri suşlarına maruz kaldıktan sonra tespit edilmiştir (El Asmar ve diğerleri, 2002) (Şekil 8). Çeşitli bakteri türlerine maruz kalan farklı hayvan türlerinde ince bağırsak geçirgenliği üzerine yapılan bir çalışmada, ZO-1 proteininin TJ'lerden ayrılmasıyla birlikte paraselüler bağırsak geçirgenliğinde tesadüfi bir artış kaydedilmiştir (Valitutti ve

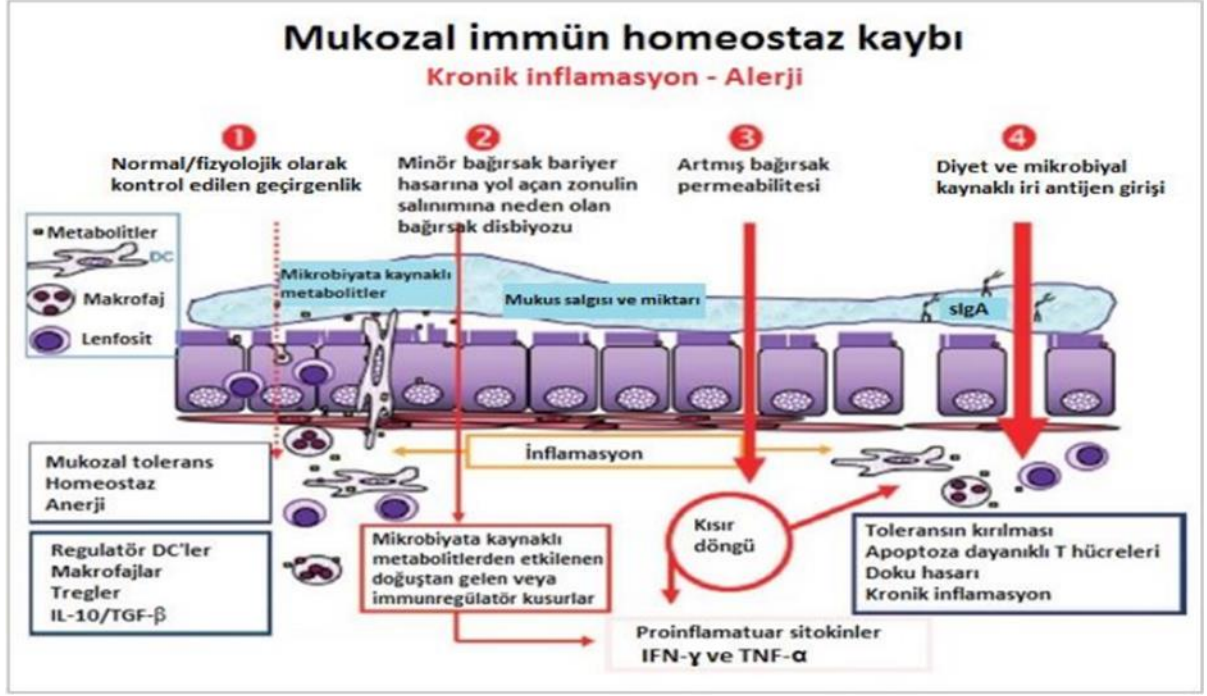
Fasano, 2019). Zonulin yolunun aktivasyonunun, patojenik bakterilerin ince bağırsağa yapışmasını ve kolonize olmasını önleyen bir savunma mekanizması olabileceği varsayılmaktadır. Bu durumda, zonulin yolunu aktive ederek bağırsak geçirgenliğinin modülasyonu, bağırsak homeostazını sürdürmek için vücudun spesifik olmayan tepkisine yardımcı olabilir. Bu nedenle zonulin seviyeleri her zaman patolojik bir klinik duruma çevrilemez. Zonulin sekresyonunu arttırdığı kanıtlanmış bir başka uyarıcı glutendir (Drago ve diğerleri, 2009). Glutende bulunan gliadin, MyD88 ile birleşerek aktive olan CXCR3 reseptörü tarafından bir zonulin salgı tepkisini tetikler ve ardından bağırsak geçirgenliğinde şekillenen artış, glutenin zonulin yolu tarafından mikrofloranın bileşeni için potansiyel olarak zararlı olarak yanlış yorumlandığını düşündürür (Clemente ve diğerleri, 2003; Lammers ve diğerleri, 2008).



Şekil 8. Bağırsak epitel hücrelerinden polarize zonulin salınımına neden olan uyarılar (A – C) (Fasano, 2011).

İnsan bağırsak Caco2 hücrelerinin anti-zonulin immüno Floresans boyanması. (B) Gliadin / PTgliadine maruziyet sonrasında hücreler, hücre zarına kademeli olarak yaklaşacak şekilde önceden oluşmuş zonülini veziküllerin içine (oklar) paketleyerek tepki verir ve gliadine maruz kaldıktan birkaç dakika sonra zonulin içeriğini hücre ortamında serbest bırakır. Uyarılmamış hücrelerde (kontrol, A) veya PT-kazein (C) ile inkübe edilmiş hücrelerde paketleme tespit edilmemiştir. Çekirdek mavi renkte, hücre iskeleti kırmızı renkte ve zonulin yeşil renktedir. Büyütme x 100. (D) Bakterilere veya PT-gliadine maruz bırakılan bağırsak hücrelerinin polarize zonulin

salgısı. Patojenik olmayan bakterilere veya gliadine maruz bırakılan hem sıçan (IEC6) hem de insan (Caco2 ve T84) bağırsak epitel hücreleri, kontrol hücre ortamındaki hücrelerde ölçülen zonulin miktarına kıyasla, banyo ortamında büyük miktarlarda zonulin salgılar. Bu salgılama, sadece tetikleyiciler hücre mono tabakalarının lümen (apikal) yönüne eklendiğinde tespit edilmiştir.



Şekil 9. CID'nin gelişmesine yol açan bariyer fonksiyonunun kaybına neden olan zonulinin öne sürülen mekanizması (Sturgeon ve Fasano, 2016).

(1) Bireysel olmayan antijenlerin (antijen örnekleme) spesifik bağırsak ilişkili lamina propria hücreleri ve sitokinler mikro çevresi ile birlikte normal bariyer geçişi, mukozal toleransa yol açar. (2) Çevresel uyarılar mikrobiyom dengesizliğine neden olur, zonulin salınımını tetikler, (3) bu da bağırsak lümeninden lamina propriaya artmış antijen girişine neden olur. (4) Lamina propriadaki antijenler, IFN- γ ve TNF- α salınımına neden olacak şekilde bağışıklık sistemini aktive eder, bu da artan bağırsak geçirgenliğini ve bağışıklık yanıtını daha da şiddetlendirir. Bu, toleransın kırılmasına ve sonuçta genetik olarak yatkın kişilerde CID'lerin başlangıcına neden olan bir kısır döngüye yol açar.

Zonulin yolunun negatif düzenlenmesi yoluyla bağırsak bariyer fonksiyonunu değiştirmeye yönelik stratejiler, çölyak hastalığının tedavisi için potansiyel bir terapötik uygulama önermektedir. Zonulin inhibitörü larazotid asetat, çölyak hastalığının tedavisinde olumlu sonuçlar verir, ancak yine de geniş bir klinik grupta kapsamlı çalışmalar gerektirir (Khaleghi ve diğerleri, 2016). Geleneksel tedavilere ek olarak, *Colostrum bovinum* (Halasa ve diğerleri, 2017), elma pektini (Jiang ve diğerleri 2016) ve A ve D vitaminleri (Xiao ve diğerleri, 2019) dahil olmak üzere çeşitli beslenme bileşikleri, serum zonulin seviyelerini düşürerek epitel bariyerini modüle eder.

Çölyak hastalığına ek olarak, tip 1 diyabet , lupus eritematozus ve ankilozan spondilit dahil olmak üzere diğer otoimmün hastalıklarda artan bağırsak geçirgenliği bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2007; Pavón ve diğerleri, 2006; Sapone ve diğerleri, 2006). Ayrıca otoimmün hastalıkların patogeneğinde paraselüler yolun önemini vurgulamaktadır. Zonulin'in bazı kronik inflamatuvar hastalıkların (CID'ler) akut fazı sırasında aşırı eksprese edildiğini ve üretimini bloke etmenin bir otoimmün yanıtın başlamasını önlediğini gösteren çalışmalar, zonulin'in bu durumların patogeneğine katkıda bulunduğunu öne sürerek, immün aracılı hastalıklar için patomekanizma ve tedavi seçenekleri için daha önce tarif edilmemiş paradigmaları vurgulamaktadır (Şekil 9). Ayrıca, insan makrofajlarındaki antijen sunumunun, değişmiş sitokin profilleri ve bağışıklık toleransında otoimmüniteye kayma ile ilişkili olan zonulin tarafından düzenlendiği sonucuna varılabilir (Watts ve diğerleri, 2005). Zonulin yolunun negatif düzenlenmesi, kronik otoimmün hastalıkların tedavisini hedefleyen potansiyel terapötik önlemler için bir odak noktası sunar (Tablo 7-8).

Tablo 7. Serum zonulin seviyesi ile farklı sıkı bağlantı protein antikorları arasındaki korelasyon (Vojdani ve diğerleri, 2017).

Tight junction (sıkı bağlantı) proteini	IgG		IgA	
	<i>r</i>	<i>P</i> değeri	<i>r</i>	<i>P</i> değeri
Zonulin	0.34	0.064	0.55	0.002
Okludin	0.60	<0.001	0.50	0.005
Vinkülin	0.40	0.032	0.52	0.003
Akuaporin 4	0.42	0.020	0.24	0.197
Glial fibriler asidik protein	0.55	0.002	0.60	<0.001

Serum zonulin seviyeleri ve çeşitli TJ'ler protein antikorları arasındaki doğrudan veya dolaylı korelasyon tabloda gösterilmektedir. Burada "r", serum zonulin seviyesi ile zonulin ve diğer sıkı bağlantı proteinlerine karşı antikorlar arasındaki korelasyonun en iyi göstergesidir.

Tablo 8. Zonulin' in dahil olduğu CID'lerin listesi (Sturgeon ve Fasano, 2016).

Hastalık Kategorisi	Hastalık	Model	Hastalıkla İlişki
Otoimmün hastalıklar	Çölyak Hastalığı	İnsan	Patogeneizde Spesifik Rol
	Tip-1 Diyabet	İnsan, fare	Patogeneizde Olası Rol
	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı / Kolitisi	Fare	Patogeneizde Olası Rol
	Multiple Skleroz	İnsan, fare	Patogeneizde Olası Rol
Metabolik Bozukluklar	Obezite/İnsülin Direnci	İnsan	Reseptör Artışı
	Tip-2 Diyabet Polikistik Over Sendromu	İnsan	Reseptör Artışı
		İnsan	Reseptör Artışı
Akciğer Hastalıkları	Akut Akciğer Hasarı	Fare	Patogeneizde Olası Rol
	Astım	İnsan	Patogeneizde Olası Rol
Kalp Hastalıkları	Koroner Arter Hastalığı	İnsan	Reseptör Artışı
Nörolojik Hastalıklar	Gliom	İnsan, Hücre Kültürü	Reseptör Artışı
Sistemik Enfeksiyöz Hastalıklar	Septisemi	İnsan	Reseptör Artışı
	HIV	İnsan	Reseptör Azalması
Bağırsak Hastalıkları	Huzursuz Bağırsak Sendromu	İnsan	Reseptör Artışı
	Çölyak Olmayan Gluten İntoleransı	İnsan	Reseptör Artışı
	Çevresel Enteropati	İnsan	İlişkili
	Nekrotizan Enterokolit	Fare, hücre kültürü	Reseptör Artışı

2.3.2.1. Zonulin ve Bakteriyel Enfeksiyonlar

Bugüne kadar tanımlanan zonulin salınımı için ana katalizörler bakteri ve gliadin iken, birçok enterik patojen, konağın sıkı bağırsak bağlantılarını etkileyen enterotoksinler üretme yeteneğine sahiptir (Sturgeon ve Fasano, 2016). El Asmar ve diğerleri (2002), *komensal Escherichia coli*, laboratuvar *E. coli*, virü lent *E. coli* ve *Salmonella typhimurium* dahil olmak üzere zot geni olmayan ve Zot salgılamayan mikroorganizmaların memeli bağırsak duvar hücrelerinden zonulin salınımına neden olduğunu göstermiştir. Zonulin salındıktan sonra, test hayvanlarının bağırsakları artan geçirgenlik ve sıkı bağlantı protein kompleksinin ZO-1 ayrılması şeklinde yeniden düzenlenmesini sergilenmiştir. Bunun üzerine, Li ve diğerleri (2016), ayrıca Caco-2 hücrelerinin *Pseudomonas fluorescens*'e maruz kalmasının zonulin ekspresyonunu arttırdığını bulmuştur.

Bağırsak bariyeri disfonksiyonu, sepsisin patogenezi ve ilerlemesinin güçlü bir belirleyicisidir. Deneysel bir modelde, Yoseph ve diğerleri (2016), sıkı bağlantı proteinlerinin

ekspresyonunun sepsis sırasında değiştiğini göstermiştir. Buna karşılık, Klaus ve diğerleri (2013), sepsisli hastalarda serum zonulin düzeylerinin yükseldiğini bulmuştur. Zonulin'in postoperatif sepsise önemli bir katkıda bulunabileceği varsayılmıştır. Liu ve diğerleri (2015) tarafından yapılan bir çalışmada postoperatif yönetimde probiyotik tedavi kullanımının sepsis riskini azalttığını ve serum zonulin düzeylerinde azalma ile korele olduğunu gösterilmiştir. Probiyotik tedavisi ayrıca karaciğer bariyerinin korunmasına yardımcı olur ve kolon kanseri ameliyatı geçiren hastalarda onu metastaza karşı korur. Bu veriler, enterositlerden salınan zonulin seviyesinin artmasının, sepsisin ilerlemesine neden olabilecek şekilde, bakterilerin epitel boyunca g etmesine yol açtığını göstermektedir. Öte yandan yapılan çalışmalar, zonulin kaynaklı sıkı bağlantıların açılması nedeniyle bağırsak lümenine su salgılanmasının bağımsız bir konak savunma mekanizması olduğunu varsaymaktadır. Bu fenomenin arkasındaki prensip, hidrostatik basınç gradyanına göre mikroorganizmaların bağırsaktan dışarı atılmasına yol açmasıdır (El Asmar ve diğerleri, 2002; Fasano, 2008; Fasano ve diğerleri, 1997).

2.3.2.2. Zonulin ve Probiyotikler

Probiyotikler, uygun miktarlarda ve oranlarda uygulandıklarında sağlıkla ilgili faydalar sağlayan canlı mikroorganizmalardır.

En belirgin organizmaları *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*'u içerir (Gomes ve diğerleri 2014; Swanson ve diğerleri, 2020). Probiyotik bakteriler için besin olan prebiyotiklerle birlikte alınan probiyotiklere sinbiyotik denir. Probiyotikler, bağırsak mikroflorasının yararlı bileşimini artırarak, patojen yapışmasını azaltarak, bağırsak epitelyal geçirgenliğini artırarak, bağışıklık tepkisini düzenlemeye yardımcı olarak ve uygun metabolik enerji seviyelerini sağlayarak çok sayıda yararı sağlar. Probiyotikler genellikle güvenli ve iyi tolere edilir olarak kabul edilir. Metabolik bozukluklar, inflamatuvar barsak hastalığı ve kolon kanseri gibi çeşitli hastalıklarla mücadelede avantajlı oldukları kanıtlanmıştır (Ali ve diğerleri, 2018; Sez-Lara ve diğerleri, 2016; Zaharuddin ve diğerleri, 2019). Birçok alışma, probiyotiklerin bağırsak geçirgenliğinin bir ls olan serum zonulin seviyeleri üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Probiyotik (ve sinbiyotik) alımının ve serum zonulin düzeylerinin etkileri üzerine dokuz çalışma seçilerek bir meta-analiz oluşturulmuştur. Sonuçlar, plasebo gruplarına kıyasla probiyotiklerin/sinbiyotiklerin serum zonulini azaltmada önemli bir etkiye

sahip olduğunu göstermektedir. Analiz, probiyotik ve sinbiyotik için ayrı ayrı yapıldığında, yalnızca probiyotik alan deneklerde gözlemlenen önemli bir azalma olmuştur (Ramezani Ahmadi ve diğerleri, 2020).

2.3.3. Laktat

Karbonhidratların ve proteinlerin mikrobiyal fermentasyonu, SCFA (asetik, propiyonik ve butirik asit ile laktik asit ve süksinik asit), dallı zincirli yağ asitleri (BCFA), amonyak, aminler, p-kresol, indol ve hidrojen (H_2), metan (CH_4) ve hidrojen sülfür (H_2S) gazlarını içeren bir dizi metabolitin üretimiyle sonuçlanır (Macfarlane ve Macfarlane, 2012).

Laktat, konak hücreler ve bağırsak mikrobiyotası tarafından D-laktat ve L-laktat olmak üzere iki izoformda üretilir (Fall ve Szerlip, 2005; Liu, 2003; Sheedy ve diğerleri, 2009; Stiles ve Holzapfel, 1997; Thornalley, 1993). GI kanalındaki diğer bir D- ve L-laktat kaynağı, yoğurt ve lahana turşusu gibi fermente gıdaların diyetle alınmasıdır (Uribarri ve diğerleri, 1998). Laktat üreten bakteriler, lümen pH'ını düşürmek ve patojenik bakterilere karşı koymak gibi bağırsakta yararlı özelliklere sahip olduklarından probiyotiklerde de sıklıkla kullanılırlar (Gilliland, 1990; Swanson ve diğerleri, 2002). Bununla birlikte, laktat üretimi, emilimi veya klirensi sistemleri değiştiğinde, laktat dışkıda veya serumda birikebilir.

Hipoperfüzyon, hipoksi, sindirim bozukluğu veya metabolik hastalık ile ilişkili bazı hastalıklar veya durumlar, serumda laktat bolluğuna neden olarak laktik asidoza yol açabilmektedir (Ewaschuk ve diğerleri, 2005; Sharkey ve Wellman, 2015). D-laktik asidoz ataksi, konfüzyon, bulanık görme, uyuşukluk ve sinirlilik gibi nörolojik belirtilerle karakterize edilir (Ewaschuk ve diğerleri, 2005). D-laktik asidoz, insanlarda kısa barsak sendromu, buzağılarda diyare ve bir kedide ekzokrin pankreatik yetmezlik (EPI) gibi bağırsak mikrobiyotasındaki değişikliklerle ilişkili hastalıklarda bildirilmiştir (Ewaschuk ve diğerleri, 2005; Kowgi ve Chhabra, 2015; Lorenz, 2004; Packer ve diğerleri, 2005). Kısmen, farklı laktat izoformları, klinik olarak ilgili farklı asidoz türleri ürettikleri ve farklı bakteri gruplarıyla ilişkili oldukları için, dışkıda D- ve L-laktatın ölçülmesi ilgi çekicidir. Bununla birlikte, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile geleneksel yaklaşımlar, karmaşık numune hazırlama ve genellikle yalnızca referans laboratuvarlarında bulunan pahalı laboratuvar ekipmanı gerektirir. Dışkıdaki her iki laktat izoformunu ölçmek için uygun maliyetli ve nispeten hızlı bir yöntem, enzimatik

spektrofotometri deneyleridir. Birçok çalışma bu analizleri daha önce insan dışkısı inek dışkısı ve murin dışkısında kullanmış ve köpek dışkısındaki laktat ölçümünü için umut verici bir test haline getirmiştir (Bustos ve diğerleri, 1994; Mayeur ve diğerleri, 2013; Rul ve diğerleri, 2011; Sato ve Koiwa, 2008; Shimomura ve Sato, 2006).

Laktat ve süksinat fizyolojik koşullar sırasında genellikle asetat, bütirat ve propiyonata metabolize edilir ve bu nedenle konsantrasyonları özellikle GI sistemde düşüktür (Macfarlane ve Macfarlane, 2007). Son kanıtlar, süksinatın, redoks dengesi ve inflamasyonun modülasyonu dahil olmak üzere çeşitli metabolik yollarda yer aldığını göstermektedir (Tretter ve diğerleri, 2016). Gerçekten de antibiyotik tedavisi alan domuz yavrularının ve dispepsi olanların diyareik dışkılarında süksinik ve laktik asidin dışkı konsantrasyonunda bir artışı kaydedilmiştir (Tsukahara ve Ushida, 2001). Ayrıca, kolitli farelerin kolonunda yüksek süksinat konsantrasyonu bildirilmiştir (Ariake ve diğerleri, 2000). Kolitli bu farelerin mikrobiyotalarında daha fazla *Bacteroidaceae* hücresi, özellikle büyük miktarlarda süksinik asit üreten *B. caccae* vardı. Gerçekte, süksinat lavman verilen farelerde mukozada fokal erozyonlar ve submukozada ödem vardır ve bu nedenle süksinik asit, DSS ile indüklenen kolit sırasında ülserojenik lezyonlardan sorumlu olabilir (Ariake ve diğerleri, 2000). Domuzlarda, yüksek plazma d-laktat konsantrasyonları, artan bağırsak geçirgenliği ve bakteriyel translokasyon ile ilişkilendirilirken, düşük d-laktat seviyeleri, azalmış bağırsak geçirgenliğinin göstergesidir (Kurundkar ve diğerleri, 2010; Xun ve diğerleri, 2015). Yüksek serum d-laktat seviyeleri aynı zamanda yumurtlayan tavuklarda artan bağırsak geçirgenliğinin göstergesidir ve broylerlerde LPS tehdidinden sonra artmış d-laktat konsantrasyonları gözlenmiştir (Lei ve diğerleri, 2013; Wu ve diğerleri, 2013). Bu gözlemler, plazma d-laktatın domuzlarda ve tavuklarda bağırsak geçirgenliğinin güvenilir bir biyobelirteci olduğunu göstermektedir (Gilani ve diğerleri, 2016).

2.3.4. D-dimer

D-dimer, trombin ve plazmin aktivasyonunu gösterir ve fibrinolize özgüdür. Bu nedenle, D-dimer çoğunlukla insan ve köpek hastalarında DIC ve derin ven veya pulmoner arter trombozu dahil olmak üzere tromboembolik hastalığı saptamak için kullanılır (Bick ve Baker, 1992; Caldin, 1998, 2000; Calverley ve Liebman, 2000; Griffin ve diğerleri, 2002; Horan ve Francis, 2001; Kelly ve diğerleri, 2002; Nelson ve Andreasen, 2002; Stokol ve diğerleri, 2000). D-dimer, fibrin oluşumu ve parçalanmasıyla sonuçlanan herhangi bir durumda artar; bu nedenle

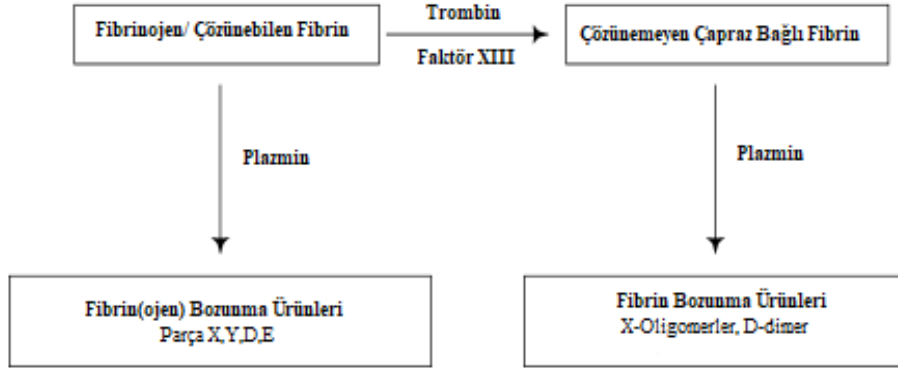
tromboembolik hastalığa özgü değildir. D-dimer konsantrasyonlarının, operasyonlardan sonra veya kanser, enfeksiyon, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, akut koroner hastalık veya gebelik olan hastalarda da arttığı belirlenmiştir (Anderson ve Wells, 2000; Calverley ve Liebman, 2000; Horan ve Francis, 2001; Kelly ve diğerleri, 2002). Benzer şekilde, cerrahi prosedürlerden sonra ve immün aracılı hemolitik anemi, karaciğer hastalığı, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği travma, neoplazi veya iç kanama (koagülopatilere sekonder) olan köpeklerde D-dimer konsantrasyonları artar (Griffin ve diğerleri, 2002; Nelson ve Andreasen, 2002; Scott-Moncrieff ve diğerleri, 2001).

DIC, bu hastalıkların çoğunda komplike bir özellik olsada, bu çalışmalar, D-dimer'in fibrinolyze özgü olmasına rağmen, tromboembolik hastalığa (DIC dahil) özgü olmadığını vurgulamaktadır. Ayrıca, bozunma ürünleri (FDP'ler ve D-dimer), plazmin olmayan proteaz aracılı fibrin(ojen)olizin (örneğin, elastaz ve katepsin G) bir sonucu olarak salınabilir (Sidelmann ve diğerleri, 2000). Sepsis ve neoplazili bazı insan hastalarda D-dimer düzeylerindeki artış, fibrini parçalayan nötrofil elastazın salınmasına bağlanmıştır. Elastaz ve plazmin aracılı bozunma ürünleri arasında ayırım yapan yeni deneyler geliştirilmiştir (Sidelmann ve diğerleri, 2000). D-dimer konsantrasyonları da insan hastalarda yaşla birlikte lineer olarak artmaktadır (Kelly ve diğerleri, 2002). Köpekte yaşa bağlı artışlar değerlendirilmemiştir. Bu nedenle D-dimer, tromboembolik hastalığın tek tanısal göstergesi olarak kullanılmamalıdır.

D-dimer, D-dimer epitopuna karşı ortaya çıkan monoklonal antikorlar kullanılarak immünolojik yöntemlerle saptanır. Bu antikorlar, X-oligomerler içindeki D-dimeri tespit eder ve fibrinojenin veya çözünür fibrinin (FDP'ler) parçalanmasından üretilen bozunma ürünleriyle çapraz reaksiyona girmez (Anderson ve Wells, 2000; Horan ve Francis, 2001; Kroneman ve diğerleri, 1990). Bu nedenle sitratlı plazma numuneleri üzerinde D-dimer ölçümü yapılabilir, bu avantajlıdır, çünkü bu, pıhtılaşma testi için bir hastadan alınan damar delinme sayısını ve alınan kan miktarını en aza indirir.

D-dimer saptama yöntemleri, insan hastalar için mevcut birçok farklı kit veya sistemle aglütinasyona (lateks boncuk veya immünotürbidimetrik analizler) veya ELISA teknolojisine dayanmaktadır (Kelly ve diğerleri, 2002; Mavromatis ve Kessler, 2001; Reber ve de Moerloose, 2000). Köpeklerde ve atlarda D-dimer saptamak için her iki test türü de kullanılmıştır (Caldin

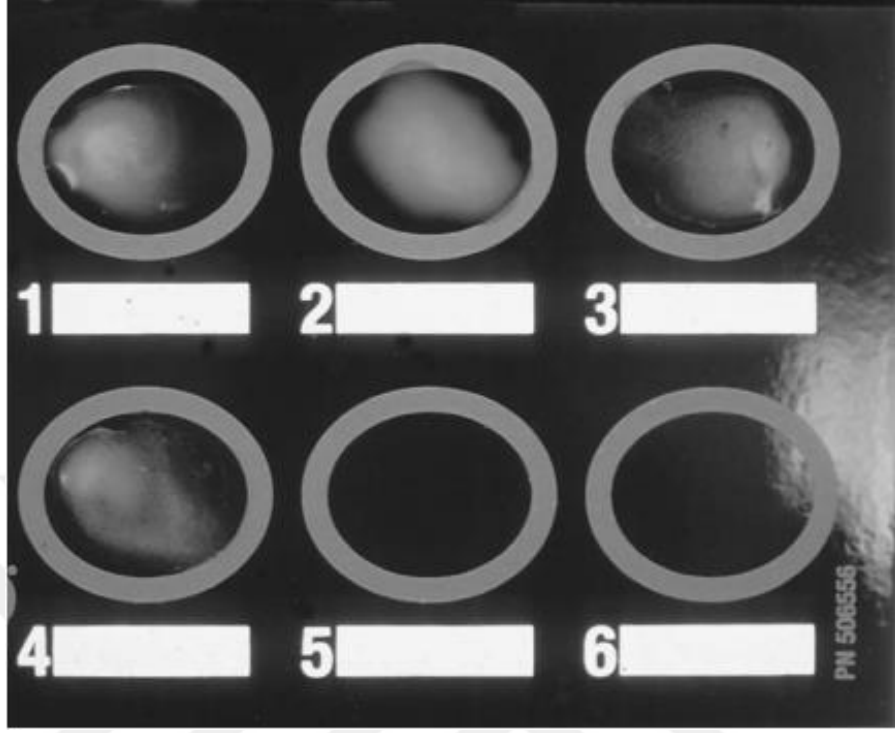
ve diğerleri, 2000; Griffin ve diğerleri, 2002; Monreal ve diğerleri, 1995; Sandholm ve diğerleri, 1995; Stokol ve diğerleri, 2000)



Şekil 10. Fibrinojen, çözünebilen fibrin veya çapraz bağlı fibrinin plazmin aracılı bölünmesiyle salınan bozunma ürünleri (Stokol, 2003).

Çözünbilen fibrin, trombin tarafından aktive edilen faktör XIII tarafından çözünmez fibrine çapraz bağlanır. Plazmin, fibrinojeni veya çözünebilir fibrini parçalayarak fibrin(ojen) bozunma ürünleri X, Y, D ve E fragmanları. Çapraz bağlı fibrinin plazmin bölünmesi, spesifik fibrin bozunma ürünleri X-oligomerler ve D-dimer üretir.

D-dimer için üç tip aglütinasyon testi vardır. Bunlar kırmızı kan hücresi aglütinasyonu, lateks boncuk aglütinasyonu ve immünotürbidimetridir (Anderson ve Wells, 2000; Kelly ve diğerleri, 2002; Reber ve de Moerloose, 2000). Son ikisi köpeklerde D-dimeri saptamak için kullanılmıştır (Caldin ve diğerleri, 2000; Nelson ve Andreasen, 2002; Stokol ve diğerleri, 2000). Köpeklerde en sık kullanılan yöntem, lateks boncuk slayt aglütinasyon testidir (Stokol ve diğerleri, 2000). Bu, D-dimer'e karşı antikorlarla kaplanmış lateks tanecikler içerir. Bir hastadan alınan plazma boncuklarla karıştırıldığında, numunedeki D-dimer antikorlarla reaksiyona girerek görünür bir aglütinasyon reaksiyonu üretir. Bu deneylerden elde edilen sonuçlar ya kalitatif (pozitif ya da negatif) ya da yarı kantitatifdir.



Şekil 11. D-dimer için lateks aglütinasyon slayt testi (Stokol, 2003).

Yaygın damar içi pıhtılaşması olan iki farklı köpekten alınan seyreltilmemiş plazma (göz 3 ve 4), antikor kaplı lateks boncuklarla karıştırıldı. Her iki numunede de pozitif bir sonuç gösteren bir aglütinasyon reaksiyonu meydana geldi (yani, D-dimer $>0,25$ lg/mL). Teste pozitif (kuyu 1) ve negatif (kuyu 2) kontroller dahil edildi. Test, hasta numunelerinin seri olarak seyreltilmesiyle yarı kantitatif hale getirilebilir.

Değerleri ölçmek için plazma numuneleri seri olarak seyreltilir; pozitif bir aglütinasyon reaksiyonu veren en düşük seyreltme, D-dimer konsantrasyonunun kaba bir tahminini sağlar. Ticari olarak mevcut lateks aglütinasyon kitleri, bazıları köpek D-dimeri ile çapraz reaksiyona girmeyen ve köpeklerde kullanılamayan insan D-dimer'e karşı antikorlar içerir. Bu aynı zamanda atlar ve kediler için de geçerlidir. Lateks boncuk aglütinasyon kitlerinin bazı avantajları arasında, gerçekleştirmeleri ve yorumlamalarının kolay olması, kritik hastalar için hasta başı testleri olarak kullanılabilmeleri ve nispeten ucuz olmaları (özellikle yalnızca kalitatif test) sayılabilir. Başlıca dezavantajları ise, yarı kantitatif olmaları (değerler yalnızca seri dilüsyonla tahmin edilebilir), sübjektif yoruma açık olmaları (özellikle aglütinasyon

reaksiyonları zayıf olduğunda) ve ELISA veya immünotürbidimetrik testlerden daha az duyarlı olmalarıdır (Kelly ve diğerleri, 2002; Mavromatis ve Kessler, 2001).

İmmünotürbidimetrik tahliller, plazma numunelerinde D-dimer ile reaksiyona giren ve numune bulanıklığında otomatik bir analizör tarafından okunan değişiklikler üreten antikor kaplı boncuklar kullanır. Kantitatif, hassas, kolayca otomatikleştirilmiş ve lateks aglütinasyon testlerine göre teknik hataya daha az eğilimlidirler (Kelly ve diğerleri, 2002; Mavromatis ve Kessler, 2001). Ayrıca daha pahalıdır, teknik uzmanlık ve özel ekipman gerektirirler ve hasta başı testleri olarak gerçekleştirilemezler. Köpek D-dimeri için bir immünotürbidimetrik test, köpek için geçerli kılınmıştır (Caldin ve diğerleri, 2000).

ELISA testlerinde, görsel olarak veya bir spektrofotometre veya reflektometre] tarafından okunabilen bir renk değişikliği üreten bir enzime (örn. yabancıturpu peroksidaz) veya gösterge boyaya (örn. koloidal-altın) bağı antikor kullanılır (Kelly ve diğerleri, 2002; Mavromatis ve Kessler, 2001). Görsel ELISA tabanlı bir tahlil, yakalama antikorunun bir filtrasyon kuyusunda veya bir reaktif ucundaki geçirgen bir zara empenye edildiği immünofiltrasyon testidir. Görsel analizler genellikle nitelikseldir (pozitif veya negatif), ancak elde edilen rengi bir dizi standartla karşılaştırarak yarı niceliksel sonuçlar elde edilebilir. Bu deneyler, lateks boncuk aglütinasyon deneylerine benzer avantajlara ve dezavantajlara sahiptir.

Spektrofotometrik ELISA tahlilleri kantitatif sonuçlar sağlar ve yarı kantitatif tekniklerden daha hassastır ancak immünotürbidimetrik tahlillere benzer şekilde, teknik uzmanlık gerektirirler ve hasta tarafı testlerine kolayca uyarlanamazlar (Kelly ve diğerleri, 2002; Mavromatis ve Kessler, 2001).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Veteriner hekimlik alanında diyare, klinik ile hastanelerde köpekler için en sık saptanan bulgulardan biridir. Diyare farklı yaş gruplarında, farklı etkenlerden kaynaklanabilir. Viral, bakteriyel ya da paraziter hastalıklarda oluşan GI inflamasyonun biyobelirteçlerle tespiti dolayısıyla sızıntılı bağırsağın patofizyolojisinin ortaya çıkarılması ve erken hasarın ortaya konulması hastalıkların prognozu açısından önem taşımaktadır. Köpeklerde yapılan bu çalışmanın benzer patofizyolojiyle seyreden farklı hastalıklarda beşeri hekimliğe fayda sağlayacağı aşikardır. Bu tez çalışmasında kullanılan gruplardan I. grup 16 adet Parvo virüslü, II. grup 16 adet Corona virüslü, III. grup 8 adet Distemper virüslü, IV. grup 8 adet Giardiazisli, V. grup 7 adet miksamatoz co-enfeksiyonlu, VI. grup 7 adet non-infeksiyöz diyareli köpek içermektedir. VII. Grup ise 10 adet kontrol grubundan oluşturuldu. Canlı hayvan kullanma gerekçesi, çalışmanın amacıyla uygun olarak tez çalışması kapsamında yaşayan hayvanlarda hastalık/sağlık aktivitesindeki değişimin ilgili biyobelirteçlerle saptanmış olmasıdır (Hadyek Rapor No: 6458101/2021/134).

3.1.1. Cihazlar

Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda bulunan, buzdolabı/derin dondurucu (Bosch KSU40631NE), santrifüj (LC-04B), hemogram cihazı (Mindray BC5000), biyokimya cihazı (Fujifilm NX500i), hasta başı cihazı (Arkray Marka Lactate Pro2) ve kitleri, D-Dimer ölçüm cihazı ve kitleri (Healvet marka), enfeksiyöz hastalıklara özel hasta başı hızlı test kitleri, biyolojik güvenlik dolapları, buzdolapları (4 °C, -20 °C, -86 °C), multi pipet, makas, cımbız, pense vb. gereçler, santrifüj tüpü (1.5 ml, 5 ml vb. kapasiteli), tek kullanımlık uçlar (0.5-10µl-20µl, 20-200µl, 200-1000µl aralığında) kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Saf su veya distile su, EDTA, heparin.

3.1.3. Hayvan Materyali

Çalışmaya Tablo 9’de belirtilen farklı etiyolojilere ilişkin olarak hasta olan ve kontrol grubu denekleri de dahil olmak üzere toplam 72 adet hayvan dahil edilmiştir. GI semptomları olan köpekler farklı hastalıklara ilişkin olarak 6 gruba dağıtılmıştır. Kontrol grubu vektör kaynaklı hastalıklardan ari olduğu belirlenen, sağlıklı ve aşıları köpekler arasından seçilen 10 köpekten oluşmuştur.

Diyareye neden olan sızıntılı bağırsak ile ilişkisine dair çalışmaların köpeklerde azlığı da göz önüne alınarak, ön değerlendirmeye tabi tutulan hasta köpekler ve kontrol grubu arasından 72 adedi (kliniklere getirildiği tarihteki yaş durumları göz önüne alınarak) farklı, ırk, yaş ve her iki cinsiyetten teşekkül etmiştir.

Tablo 9. Çalışma kapsamına alınan köpekler ve hastalık tanıları.

Çalışma kapsamına alınan gruplar ve olgu sayıları (n)	İnfeksiyöz ve non-infeksiyöz etmenlere ilişkin grupların dağılımı
Grup 1 (n:16)	Parvoviral Enteritis
Grup 2 (n:16)	Corona virüs
Grup 3 (n:8)	Distemper virüs
Grup 4 (n:8)	Giardiazis
Grup 5 (n:7)	Miksamatöz ko-infeksiyöz
Grup 6 (n:7)	Non- İnfeksiyöz
Grup 7 (n:10)	Kontrol

3.2. Yöntem

Çalışma kapsamında en az 1 gündür süre gelen diyare, kusma gibi gastroenteritis semptomları ile getirilen ve en az 1 ay öncesine kadar antibiyotik kullanılmamış olan 62 hasta değerlendirilmiştir. Olgular yaş, ırk ve cinsiyet anlamında bir sınıflandırmaya tabii tutulmazken, etiyolojik sınıflandırma dikkate alınmıştır (Tablo 9). Kontrol grubu, aşıları ve antiparaziter tedavileri düzenli yapılan ve klinik olarak sağlıklı bulunan 10 hastadan oluşturulmuştur. Çalışma grubundaki olgulardan herbiri için *Vena cephalica antebrachii*'den antikoagülanlı tüplere 2'şer ml kan alınarak D-dimer ve laktat ölçümleri gerçekleştirilmiş ve ELISA ile gerçekleştirilecek DAO ve zonulin testi için antikoagülsüz tüplere 2'şer ml kan alınıp santrifüje edilen örnekler -80 derecede saklanmış ve ELISA testleri akredite laboratuvarda yapılmıştır. Örneklerin hemolize ya da hiperlipidemik olmamasına dikkat edilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Çalışma kapsamına alınan hastalara yapılan analizler.

Çalışma kapsamına alınan hastalarda yapılan analizler	Yöntem
DAO	ELISA
Zonulin	ELISA
Laktat	Hasta başı hızlı (POC) test kiti
D-dimer	Floresan immunoassay
Enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz etken teşhisi	Hasta başı hızlı test kitleri/Immunokromatografik-ELISA

3.2.1. DAO Analizi

Serum tüplerine alınan 2 ml kan örneği 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Tüpün üzerinde ayrıışan serumun başka tüpe aktarılmasının ardından analizin gerçekleşeceği güne kadar -80°C'de muhafaza edildi.

3.2.1.1. Test Hazırlığı

DAO ELISA kiti, bir poliklonal anti-DAO antikoru ve bir DAO-HRP konjugatı kullanan rekabetçi enzim immünoassay tekniğini uygulamaktadır. Tahlil numunesi ve tampon, DAO-

HRP konjugatı ile birlikte önceden kaplanmış plakada bir saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinden sonra kuyucuklar boşaltılarak beş kez yıkanmıştır. Kuyucuklar daha sonra HRP enzimi için bir substrat ile inkübe edilmiştir. Enzim-substrat reaksiyonunun ürünü mavi renkli bir kompleks oluşturulmuştur. Son olarak, reaksiyonu durdurmak için bir durdurma solüsyonu eklendi ve bu daha sonra solüsyonu sarıya çevirilmiştir. Rengin yoğunluğu, bir mikroparka okuyucuda 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Numunelerden alınan DAO ve DAO-HRP konjugatı anti-DAO antikoru bağlanma bölgesi için rekabet ettiğinden, rengin yoğunluğu DAO konsantrasyonuyla ters orantılı idi. Bölge sayısı sınırlı olduğundan, numuneden DAO tarafından daha fazla bölge işgal edildiğinden, DAO-HRP konjugatını bağlamak için daha az bölge kalmıştır. Rengin yoğunluğunu (O.D.) standartların konsantrasyonuyla ilişkilendiren standart bir eğri çizilmiştir. Her numunedeki DAO konsantrasyonu, bu standart eğriden enterpolasyona tabi tutulmuştur.

Kullanmadan önce tüm kit bileşenlerini ve numuneleri oda sıcaklığına (20-25°C) getirildi. Numuneler için seyreltme tamponu olarak %0.9 fizyolojik salin kullanıldı. 1000 mL yıkama solüsyonu hazırlamak için 10 mL yıkama solüsyonu konsantresi 100 katı saf suyla seyreltildi. Kullanıma hazır diğer bileşenler sulandırılmadı.



Resim 1. DAO test kit

3.2.1.2. Kit Kompozisyonu

Tablo 11. DAO kit kompozisyonu

MATERYAL	TANIMLAMA	MİKTAR
Mikrotiter Plaka	96 Kuyu	
Enzim Konjugatı	6.0 ml	1 Şişe
Standart A	0 ng/ml	1 Şişe
Standart B	10 ng/ ml	1 Şişe
Standart C	25 ng/ ml	1 Şişe
Standart D	50 ng/ml	1 Şişe
Standart E	100 ng/ml	1 Şişe
Standart F	250 ng/ml	1 Şişe
Substrat A	6 ml	1 Şişe
Substrat B	6 ml	1 Şişe
Durdurma Solüsyonu	6 ml	1 Şişe
Yıkama Solüsyonu (100x)	10 ml	1 Şişe
Denge Solüsyonu	3 ml	1 Şişe
Talimatlar	1	

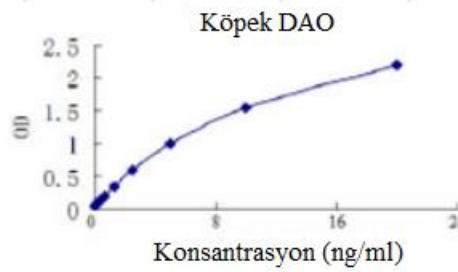
3.2.1.3. Testin Yapılışı

İlgili kuyucuklara 100 µL numune eklendi. Kör kontrol kuyucuğuna 100 µL PBS (pH 7.0-7.2) eklendi. Kör kontrol kuyucuğu hariç her kuyucuğa 50 µL konjugat eklendi. İyice karıştırıldı. Plaka kapatıldı ve 37°C'de 1 saat inkübe edildi. 1 saatin sonunda plaka içeriği aspire edildi. Her kuyu 1 kere yıkama solüsyonu ile tamamen dolduruldu ve ardından plakanın içeriği tekrar aspire edildi. Toplam beş yıkama için bu prosedür tekrarlandı. Yıkama işleminden sonra, plaka ters çevrildi ve kağıt havluyla nem kalmayana kadar vurarak kurulandı.

Daha sonra kör kontrol kuyucuğu dahil olmak üzere her bir kuyucuğa 50 µL Substrat A ve 50 µL Substrat B eklendi. Üzeri örtüldü ve 37°C'de 20 dakika inkübe edildi. Kör kontrol kuyucuğu dahil her kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklendi. İyice karıştırıldı ve OD 10 dakika içinde okundu.

3.2.1.4. Sonuç Belirleme

MyBioSource Canine Diaminoksidaz (DAO) ELISA kitinin, seyreltilmemiş orijinal canine serumu, plazma veya doku homojenat numunelerindeki analit seviyesini belirlemek için kullanılması amaçlanmıştır. Kitin duyarlılığı 0.06 ng/ml, algılama aralığı 20 ng/ml-0,312 ng/ml'dir. Sonuçlar Blank'in (OD0) ortalama optik yoğunluğunu çıkarmak için, her standart ve numune için çift okumaların ortalamasını alınarak bulunmuştur (Şekil 12; Tablo 12).



Şekil 12. DAO Konsantrasyonu

Tablo 12. DAO sonuçlarının okunması

Konsantrasyon	Boş	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Ortalama O.D. (450 nm)	OD0	OD1	OD2	OD3	OD4	OD5	OD6

Her numune ve numunenin OD değeri, boş kuyunun değerinden çıkarıldı. Standart eğri manuel olarak çizildi. Numunelerin konsantrasyon değeri apsis ve OD okumaları dikey koordinat olarak alındı. Standart örneğin her bir koordinat noktasını bağlamak için düz çizgi kullanıldı. Sonucu analiz etmek ve hesaplamak için profesyonel eğri yazılımı kullanıldı.

3.2.2. Zonulin Analizi

Serum tüplerine alınan 2 ml kan örneği 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Tüpün üzerinde ayrılan serumun başka tüpe aktarılmasının ardından analizin gerçekleştirileceği güne kadar -80°C'de muhafaza edildi.

3.2.2.1. Test hazırlığı

Elisa Kit'i 20 dakika önceden buzdolabından çıkarıldı ve oda sıcaklığına geldiğinde test prosedürü başlatıldı. Konsantre yıkama solüsyonu çift damıtılmış su (1:25) ile seyreltildi. Canine zonulin iyofilize standart numuneye 1.0 ml standart seyreltici eklendi ve 30 dakika bekletildi. Numune tamamen çözündükten sonra hafifçe karıştırıldı ve gerektiği kadar seyreltme yapıldı. 7 temiz tüp sırasıyla 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 numaraları ile etiketlendi ve her tüpe 300 mikrolitre standart örnek seyreltici eklendi. Tüp 2' den tüp 3' e 300 mikrolitre seyreltici pipetlendi ve iyice karıştırıldı. Daha sonra Tüp 2' den tüp 3' e 300 mikrolitre seyreltici pipetlendi ve iyice karıştırıldı. Tüp 7' ye kadar yukarıdaki adımlar tekrarlandı. Tüp 8' de standart numune dilüsyonu negatif kontrol olarak belirlendi. Biyotinlenmiş Köpek Zonulin antikor sıvısı oluşturmak adına konsantre biyotinlenmiş antikor (1:100) seyreltmek için antikor seyreltici kullanıldı. Enzim-konjugat sıvısı hazırlamak için konsantre enzimkonjugatı, enzim-konjugat seyreltici (1:100) ile seyreltildi ve enzim-konjugat sıvısı oluşturuldu. Renk reaktifi sıvısı, renk reaktifi A ve renk reaktifi B ile 9:1 oranında hazırlandı.

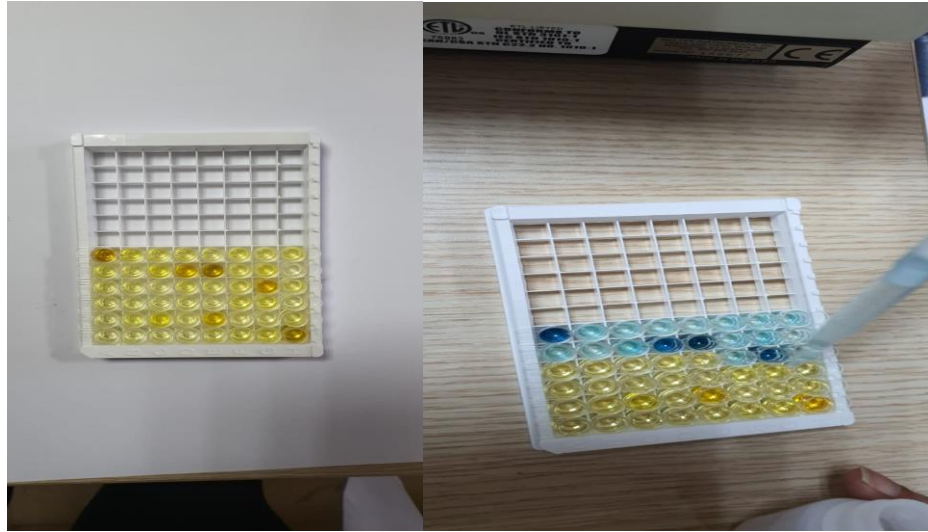
3.2.2.2. Kit Kompozisyonu

Tablo 13. Zonulin kit kompozisyonu

İsim	96 Test	48 Test	Depolama
Antikor Kaplı Plaka	8x12	8x6	4/-20 °C
Köpek Zonulin Standartları	2 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Biyotinlenmiş Antikor (1:100)	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Enzim Eşleniği (1:100)	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Enzim Seyreltici	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Antikor Seyreltici	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Standart Seyreltici	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Örnek Seyreltici	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Yıkama Tamponu (1:25)	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Renk Reaktifi A	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Renk Reaktifi B	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Renk Reaktifi C	1 şişe	1 şişe	4/-20 °C
Talimatlar	1 set	1 set	RT

3.2.2.3. Testin Yapılışı

Oda sıcaklığına denk gelen kilitli poşetten gerekli şeritler çıkarıldı. İlgili kuyucuklara numuneler veya farklı konsantrasyonlarda canine zonulin standart numuneleri eklendi (her kuyu için 100 µl), 0 ng/ml kuyucuk standart seyreltici ile dolduruldu. Reaksiyon kuyuları yapışkan bantlarla kapatıldı, inkübatörde 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Biotinlenmiş canine zonulin antikör sıvısı 30 dakika önceden hazırlandı. Elisa plakası 2 kez yıkandı. Biotinlenmiş canine zonulin antikör sıvısı her kuyucuğa eklendi (her biri için 100 µl). Reaksiyon kuyuları yapışkan bantlarla kapatıldı, inkübatörde 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Enzim-konjugat sıvısı 30 dakika önceden hazırlandı. Elisa plakası 3 kez yıkandı. Boş kuyucuklar (her biri için 100 µl) hariç her kuyucuğa enzim-konjugat sıvısı eklendi. Reaksiyon kuyuları yapışkan bantlarla kapatıldı, inkübatörde 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Elisa plakası 5 kez yıkandı. Bireysel kuyuya (kör kuyuya da) 100 µl Renk Reaktif sıvısı eklendi, 37°C'de karanlık inkübatörde inkübe edildi. Yüksek konsantrasyonlu standart eğri için renk koyulaştığında ve renk gradyanı belirldiğinde, tarama durduruldu. Kromojenik reaksiyon 30 dakika içinde kontrol edildi. Bireysel kuyucuğa (ayrıca kör kuyucuğa) 100 µl Renk Reaktif C eklendi. İyice karıştırıldı ve OD (450 nm) 10 dakika içinde okundu.

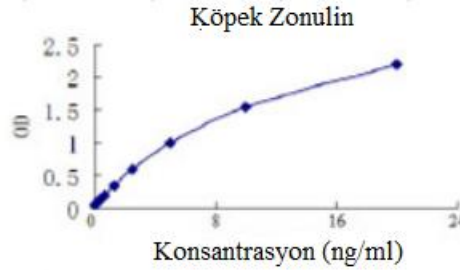


Resim 2. ELISA testinin yapılışı

3.2.2.4. Sonuç Belirleme

MyBioSource Canine Zonulin (ZUN) ELISA kitinin, seyreltilmemiş orijinal canine serumu, plazma veya doku homojenat numunelerindeki analit seviyesini belirlemek için kullanılması amaçlanmıştır. Kitin duyarlılığı 1.0ng/ml, algılama aralığı 1.56ng/ml-50ng/ml'dir. Sonuçlar Blank'in (OD0) ortalama optik yoğunluğunu çıkarmak için, her standart ve numune için çift okumaların ortalamasını alınarak bulunmuştur.

Her numune ve numunenin OD değeri, boş kuyunun değerinden çıkarılmıştır. Standart eğri manuel olarak çizilmiştir. Numunelerin konsantrasyon değeri apsis ve OD okumaları dikey koordinat olarak alınmıştır. Standart örneğin her bir koordinat noktasını bağlamak için düz çizgi kullanılmıştır. Sonucu analiz etmek ve hesaplamak için profesyonel eğri yazılımı kullanılmıştır (Şekil 13).



Şekil 13. Zonulin konsantrasyonu

3.2.3. Laktat Analizi

Hastadan alınan 0.5 µl taze tam kan örneği vakit kaybetmeden analiz edildi.

3.2.3.1. Test Hazırlığı

Hastadan alınan taze kan örnekleri kuru ve oda sıcaklığında saklanan test stripleriyle vakit kaybetmeden analiz edildi.

3.2.3.2. Kit Kompozisyonu

Her strip; 2 IU Laktat oksidaz, 20 µg Hexaammineruthenium (III) klorid, 18ng 1-metoksil-5-metilfenazinum metilsülfat reaktif içerir.

3.2.3.3. Testin Yapılışı

Alimünyum paketteki strip çıkarılarak cihazın strip haznesine yerleştirildi. Test sribinin ucu 90 derece açılı ile hastadan alınan taze kan numunesine dokunduruldu. Test sribi kontrol penceresi dolana kadar bu şekilde tutuldu. Her numune için aynı işlem tekrarlandı. Ekranda çıkan test sonuçları kayıt altına alındı.



Resim 3. Laktat analizi

3.2.3.4. Sonuç Belirleme

Arkay Marka Lactate Pro2 testi taze tam kandan laktat ölçümleri için uygundur. Kitin duyarlılığı 2.0 mmol/L, algılama aralığı 0.5-25.0 mmol/L, referans aralığı <2.5 mmol/L dir. Laktat test sonuçları numune eklendikten 15 saniye sonra cihaz tarafından otomatik hesaplanarak ekrandan okunmuş olup, yazıcı aracılığıyla kayıt altına alınmıştır.

3.2.4. D-dimer Analizi

Sodyum sitrat içeren tüplere alınan 2 ml kan örneği 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Tüpün üzerinde ayrışan plazmanın başka tüpe aktarılmasının ardından 2 gün içerisinde analiz gerçekleştirilecek şekilde -80°C'de muhafaza edildi.

3.2.4.1. Test Hazırlığı

Tüm numuneler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Donmuş numuneler tamamen çözündürülüp iyice karıştırıldıktan sonra test edildi.

3.2.4.2. Kit Kompozisyonu

Her kutu; 10 ayrı mühürlü poşet içerisinde test kiti, 1 adet ID çip, 10 tüp tris-HCl tamponu ve kullanım için talimatları içerir.



Resim 4. D-dimer test kiti

3.2.4.3. Testin Yapılışı

Test cihazı yatay ve temiz bir ortama kuruldu. ID çipi cihaza yerleştirildi. 10µl plazma örneği tampon çözeltinin içine konarak nazikçe karıştırıldı. Oluşan karışımdan 75µl numune pipet aracılığıyla test kitine koyuldu. Kit, test cihazına yerleştirilerek standart test modunda çalıştırıldı. Ana ekranda çıkan test sonuçları kayıt altına alındı.

3.2.4.4. Sonuç Belirleme

HealVet D-Dimer hızlı kantitatif test floresan immunoassay tekniği ile canine D-Dimer konsantrasyonunu tam kan ya da plazma örneklerinden bakabilmektedir. Kitin algılama aralığı 50-10.000 ng/ml, referans aralığı 0-250 ng/ml'dir. D-Dimer test sonuçları numune eklendikten 5 dk sonra cihaz tarafından otomatik hesaplanarak ekrandan okunmuş olup, yazıcı aracılığıyla kayıt altına alınmıştır.

3.3. İstatistiksel Analizler

İshalli köpeklere ait serum örneklerinden elde edilen DAO, zonulin, laktat ve d-dimer verilerinin ortalama ve standart hata değerleri tablolaştırılmıştır. Verilerin homojenite testleri Shapiro-Wilk analizine göre gerçekleştirildiğinde normal dağılmadığı ve transformasyon işlemlerine normalitenin sağlanamadığı belirlenmiştir. Bu kapsamda non-parametrik test tekniklerinden Kruskal-Wallis ANOVA yardımı ile incelenen parametrelere ait karşılaştırmalar yapılmıştır. Tüm analizler Graphpad Prism 9.2.0 (Dotmatics, Amerika) programında gerçekleştirilmiş olup analizlerde $p < 0,05$ olarak tespit edilen durumlar istatistiksel anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma kapsamına 0-5 yaşlı her iki cinsiyetten (40 adet erkek- 32 adet dişi) ve farklı ırklardan (3 adet Alman kurdu, 3 adet Cane corso, 1 adet Doberman, 2 adet French bulldog, 5 adet Golden retriever, 6 adet Kangal, 1 adet Labrador retriever, 2 adet Maltese-Toy poodle melezi, 34 adet melez, 5 adet Pitbull, 1 adet Pug, 5 adet Rottweiler, 3 adet Terrier, 1 adet Setter) 72 adet köpek dahil edilmiştir. Olgulardan bazılarının ait görseller resim 5 ile resim 11 arasında gösterilmiş, demografik bilgiler ve ilgili fotografik hafızaya yer verilmiştir.

Analizleri yapılan hastalarda ortalama $\pm$ standart hata yönünden DAO seviyelerinde (ng/mL) kontrol grubu ($15,36 \pm 1,11$) ile parvoviral enteritis grubu ($4,68 \pm 0,70$) arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p < 0,0001$) anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Yine DAO seviyelerinde (ng/mL) ortalama $\pm$ standart hata yönünden kontrol grubu ile corona virüs grubu ($7,51 \pm 1,37$) arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p < 0,05$) anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Ortalama $\pm$ standart hata yönünden zonulin seviyelerinde (ng/mL), kontrol grubu ($1,95 \pm 0,43$) ile Distemper virüs grubu ($20,54 \pm 3,70$) arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p < 0,001$), kontrol grubu ile miksamatoz ko-infeksiyöz grup ($14,24 \pm 5,01$) arasındaki istatistiksel fark ($p < 0,05$) ve yine kontrol grubu ile parvoviral enteritis grubu ($14,86 \pm 3,61$) arasındaki istatistiksel farkların ($p < 0,01$) tamamı anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

Laktat seviyelerinde (mmol/L) ortalama $\pm$ standart hata yönünden kontrol grubu ($1,94 \pm 0,39$) ile non-infeksiyöz grup ($11,47 \pm 2,05$) ve parvoviral enteritis grubu ($9,85 \pm 1,20$) arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p < 0,01$), kontrol grubu ile Distemper virüs grubu ($10,99 \pm 1,29$) arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p < 0,001$), kontrol grubu ile Corona virüs grubu ($10,93 \pm 1,17$) arasında istatistiksel olarak bulunan fark ($p < 0,0001$), yine kontrol grubu ile giardiazis grubu ($9,29 \pm 1,12$) arasında istatistiksel olarak bulunan farkların ($p < 0,05$) tamamı anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

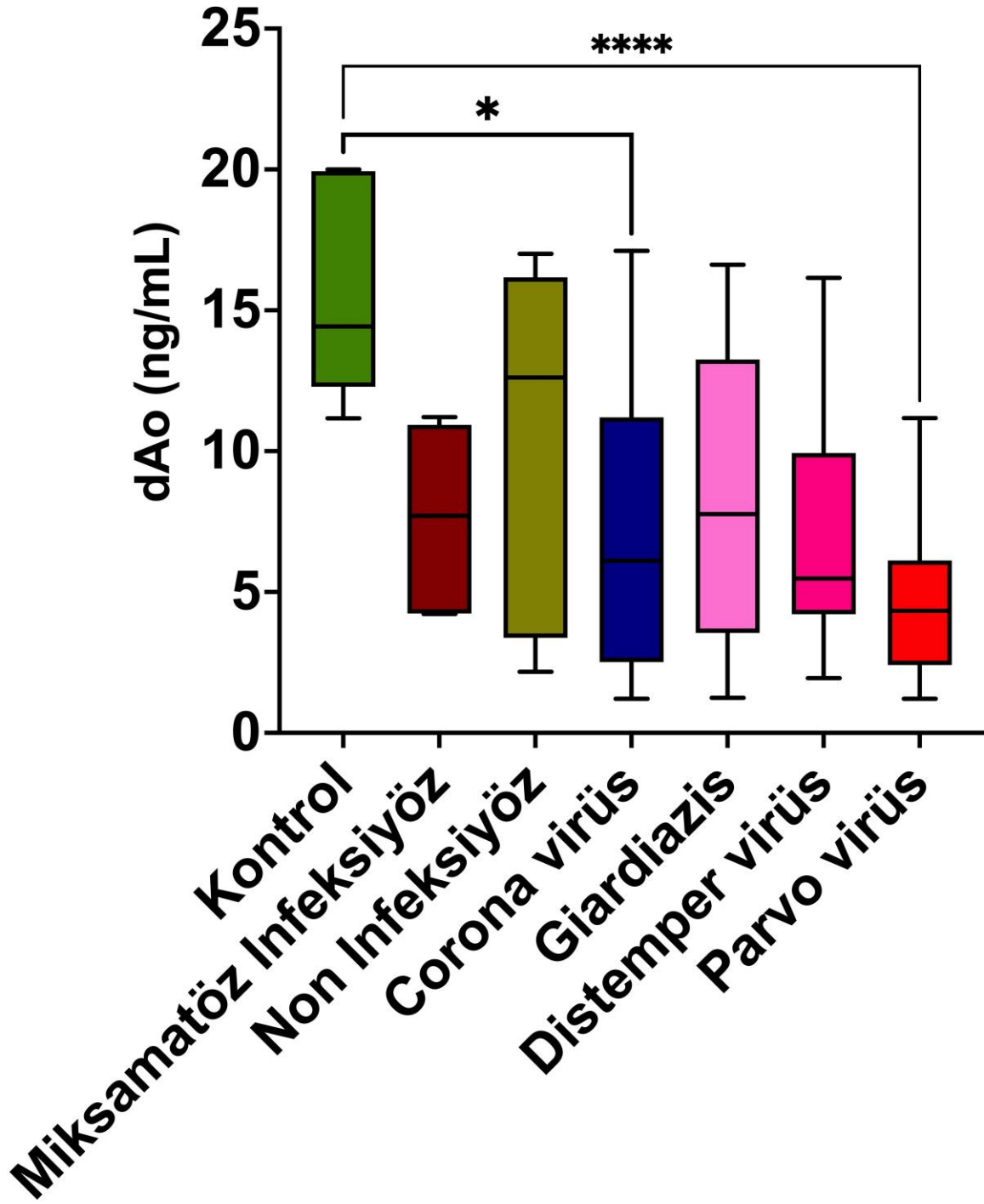
Ortalama $\pm$ standart hata yönünden D-dimer seviyelerinde (mg/dL) kontrol grubu ($24,86 \pm 5,11$) ile parvoviral enteritis grubu ($181,9 \pm 12,31$) arasında ve yine kontrol grubu ile

miksamatöz ko-infeksiyöz grup ($207,1 \pm 18,19$) arasında istatistiksel olarak fark ($p < 0,01$) olarak saptanırken kontrol grubu ile Distemper virüs grubu ($217,8 \pm 13,34$) arasındaki fark ($p < 0,001$) anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

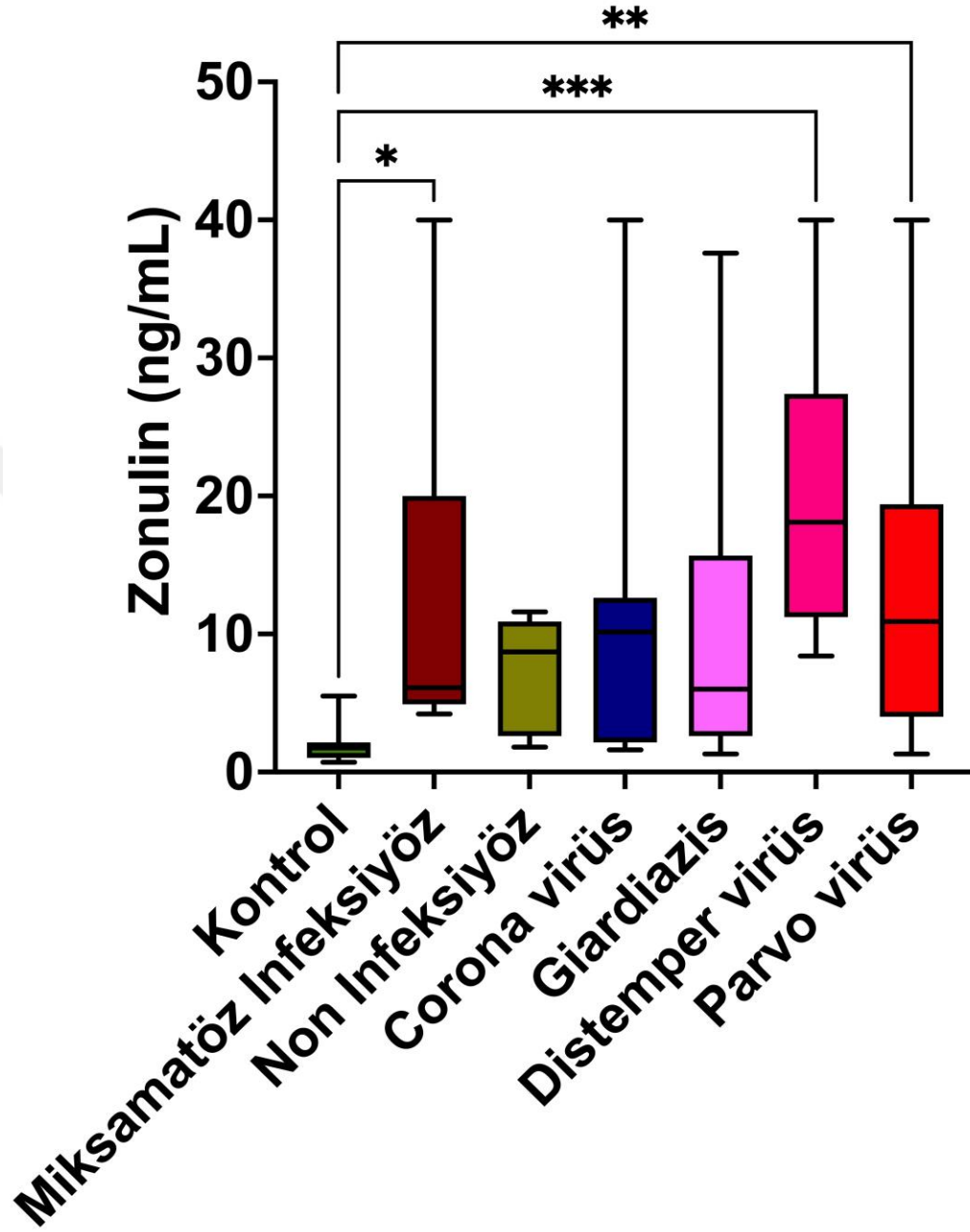
Tablo 14. Gruplara göre DAO, zonulin, laktat ve D-dimer verilerinin ortalama ve standart hata değerleri

	DAO (ng/mL) $\bar{X} \pm SH$	Zonulin (ng/mL) $\bar{X} \pm SH$	Laktat (mmol/L) $\bar{X} \pm SH$	D-dimer (mg/dL) $\bar{X} \pm SH$
Kontrol	$15,36 \pm 1,11^a$	$1,95 \pm 0,43^a$	$1,94 \pm 0,39^a$	$24,86 \pm 5,11^a$
Parvoviral Enteritis	$4,68 \pm 0,70^b$	$14,86 \pm 3,61^f$	$9,85 \pm 1,20^x$	$181,9 \pm 12,31^p$
Corona virüs	$7,51 \pm 1,37^c$	$11,56 \pm 3,04$	$10,93 \pm 1,17^t$	$136,1 \pm 28,25$
Distemper virüs	$7,11 \pm 1,61$	$20,54 \pm 3,70^g$	$10,99 \pm 1,29^z$	$217,8 \pm 13,34^k$
Giardiazis	$8,27 \pm 1,91$	$10,8 \pm 4,30$	$9,29 \pm 1,12^y$	$95,91 \pm 32,78$
Miksamatöz ko- infeksiyöz	$7,65 \pm 1,1$	$14,24 \pm 5,01^h$	$7,49 \pm 0,75$	$207,1 \pm 18,19^p$
Non İnfeksiyöz	$10,65 \pm 2,20$	$7,16 \pm 1,50$	$11,47 \pm 2,05^x$	$150,9 \pm 36,21$

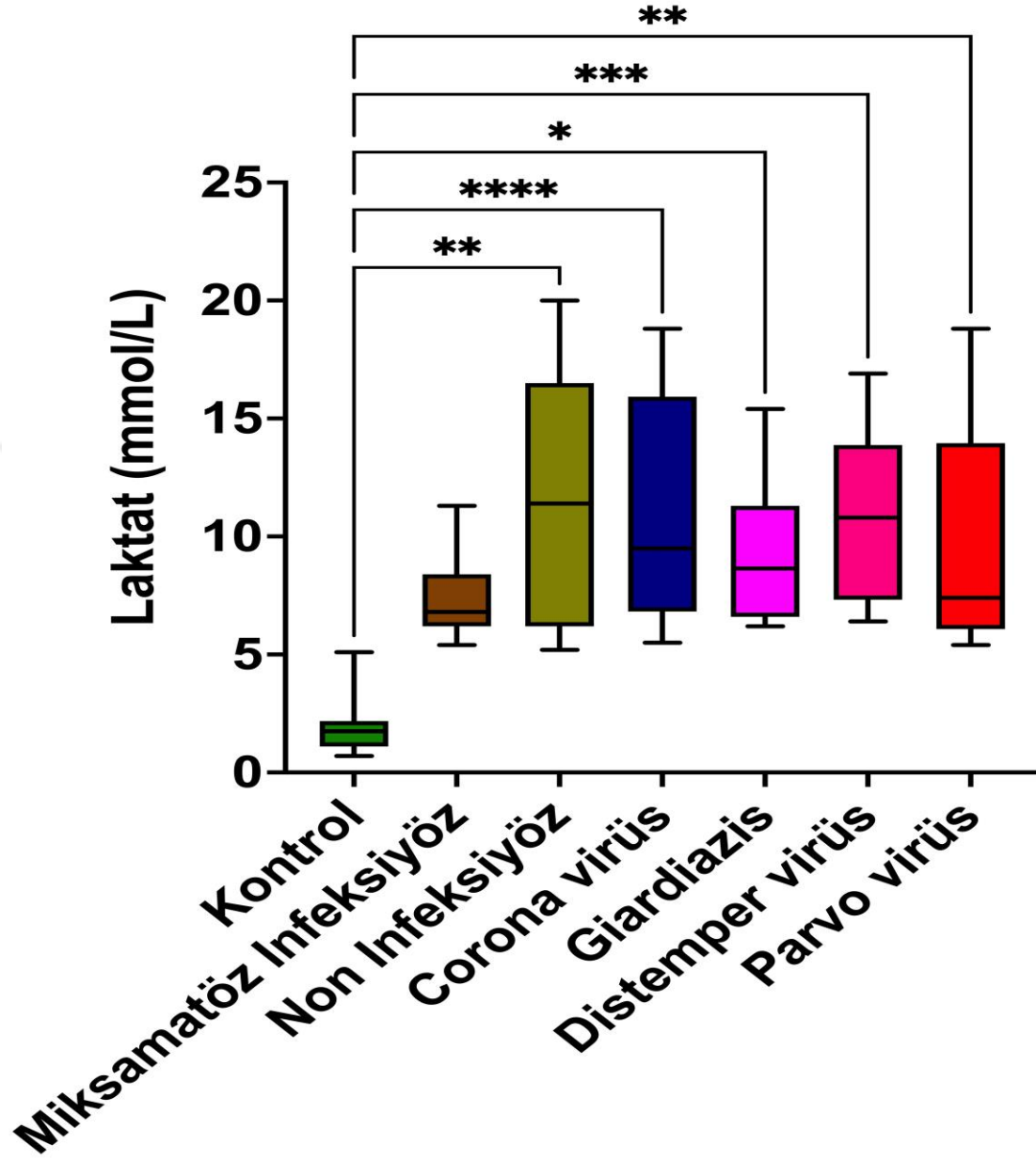
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamlı farklıdır (^{a,b} : $p < 0,0001$, ^{a,c} : $p < 0,05$), (^{a,f} : $p < 0,01$, ^{a,g} : $p < 0,001$, ^{a,h} : $p < 0,05$), (^{a,x} : $p < 0,01$, ^{a,y} : $p < 0,05$, ^{a,z} : $p < 0,001$, ^{a,t} : $p < 0,0001$), ^{a,p} : $p < 0,01$, ^{a,k} : $p < 0,001$).



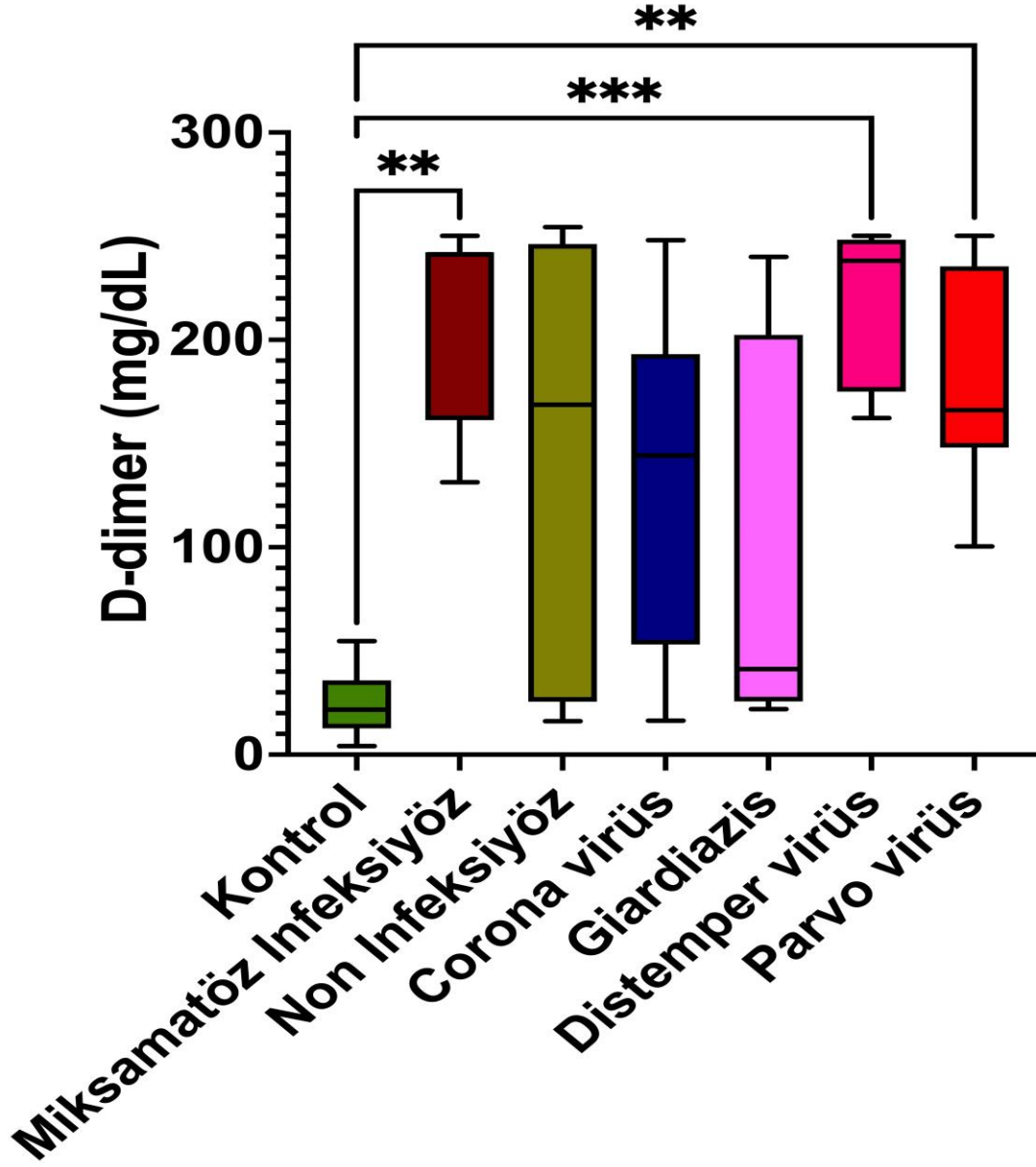
Şekil 14. Gruplara göre DAO analizlerine ait kutu grafiği



Şekil 15. Gruplara göre zonulin analizlerine ait kutu grafiği



Şekil 16. Gruplara göre laktat analizlerine ait kutu grafiği



Şekil 17. Gruplara göre D-dimer analizlerine ait kutu grafiği

4.1. Olgulara Ait Demografik Veriler

Çalışma kapsamına alınan 72 köpekten oluşturulan 7 gruba ait örnek görsel kayıtları ve demografik veriler resim 5 ve resim 11 arasında sunulmuştur.



Resim 5. Olgu 1 görsel ve demografik veriler



Resim 6. Olgu 2 görsel ve demografik veriler



TANI	Distemper
EŞGAL	Kangal / Dişi / 3 Aylık



Resim 7. Olgu 3 görsel ve demografik veriler



TANI	Giardiazis
EŞGAL	Melez / Erkek / 3 Aylık



Resim 8. Olgu 4 görsel ve demografik veriler



TANI	Miksamatöz Co-İnfeksiyon
EŞGAL	Melez / Dişi / 1 Yaş



Resim 9. Olgu 5 görsel ve demografik veriler



TANI	Noninfeksiyöz
EŞGAL	Golden Retriever / Erkek / 2 Yaş

Resim 10. Olgu 6 görsel ve demografik veriler



TANI	Sağlıklı Kontrol
EŞGAL	Setter / Dişi / 1 Yaş

Resim 11. Olgu 7 görsel ve demografik veriler

5. TARTIŞMA

Diamin oksidaz (DAO), bağırsak villuslarının ucunda bulunan, olgun enterositlerde yüksek oranda eksprese edilen ve histamin olarak poliaminlerin oksidasyonunu katalize eden hücre içi bir enzimdir (Luk ve diğerleri, 1983; McGrath ve diğerleri, 2009; Wolvekamp ve Bruin, 1994). Enterik mukoza yaralanmaları, hasarlı enterositlerden kan dolaşımına sızan dolaşımdaki daha yüksek DAO seviyeleri ile ilişkilidir (Dieryck ve diğerleri, 2022; Tsunooka ve diğerleri, 2006). Çeşitli insan ve hayvan deneyleri, plazma DAO seviyesinin bağırsak mukozal bariyerinin işlevini değerlendirmede anahtar bir belirteç olduğunu doğrulamıştır (Zhou ve diğerleri, 2006). Bağırsak bütünlüğünü bozan, ısı stresi (Song ve diğerleri, 2017), bakteriyel enfeksiyonlar (Hou ve diğerleri, 2012; Liu ve diğerleri, 2012, 2018; Zhang ve diğerleri, 2017), viral enfeksiyonlar (Wang ve diğerleri, 2017; Zhang ve diğerleri, 2019) veya kimyasal nedenler (Yi ve diğerleri, 2018) ile enterik yükleme, iskemi (Çakmaz ve diğerleri, 2013; Tsunooka ve diğerleri, 2006) ve mikotoksinlere maruz kalma (Liu ve diğerleri, 2012; Wang ve diğerleri, 2018) dolaşımdaki DAO konsantrasyonlarını artırmış böylece mukoza bozulmasını ifade etme potansiyelini doğrulamıştır. Zhou ve diğerleri (2006) 5-6 haftalık 104 sıçan ile yaptıkları deneyde kolitisi, trinitrobenzen sülfonik asitin (TNBSA) lavman yoluyla verilmesiyle indüklemiş ve bağırsak mukozal hasarı hafifledikçe plazma DAO seviyelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yine Crohn hastalığından (CD) etkilenen 59 insan deneğin ve 28 kontrol grubu hastanın bulunduğu bir çalışmada CD hastalarında D-LA ve DAO seviyeleri, hastalık aktivitesi ile pozitif korelasyon göstermiş ve D-LA ve DAO'nun, CD aktivitesi için iyi bir prognostik değere sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Cai ve diğerleri, 2019). DAO seviyesinin intestinal mukozal hasarı izlemedeki kritik rolü de çeşitli klinik senaryolarda doğrulanmıştır (Liu ve diğerleri, 2012; Sugawara ve diğerleri, 2006; Wang ve diğerleri, 2014; Zhao ve diğerleri, 2018). Kurkumin takviyesinden sonra domuzlarda DAO konsantrasyonlarında ve bağırsak geçirgenliğinde bir azalma gözlemlenmiştir (Xun ve diğerleri, 2015). Etlik piliçler, probiyotik ve zeolit ile beslendiğinde benzer gözlemler yapılmıştır (Lei ve diğerleri, 2013; Wu ve diğerleri, 2013). Serum DAO konsantrasyonları, broyler piliçlerinde bağırsak geçirgenliğindeki bir artışı yansıtan bir LPS indüklemesiyle artırılmıştır (Li ve diğerleri, 2015; Wu ve diğerleri, 2013). Bu tezde analizleri yapılan olgularda ortalama $\pm$ standart hata yönünden DAO

seviyelerinde (ng/mL) kontrol grubu ($15,36 \pm 1,11$) ile parvoviral enteritis grubu ($4,68 \pm 0,70$) arasında istatistiksel olarak belirgin fark ($p < 0,0001$) saptanmış ve anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Yine DAO seviyelerinde (ng/mL) ortalama $\pm$ standart hata yönünden kontrol grubu ($15,36 \pm 1,11$) ile Corona virüs grubu ($7,51 \pm 1,37$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0,05$) saptanmıştır. Çalışmamızda elde edilen veriler DAO'nun köpeklerde de bağırsak mukozal hasarının bir göstergesi olduğunu doğrular niteliktedir. Elde ettiğimiz sonuçlarla her iki viral enfeksiyonda (Corona virüs ve Parvoviral enteritis) köpeklerde DAO seviyelerinde azalma olabileceğini ve bu durumun intestinal mukozal hasar yönünden değerlendirilerek sağaltım protokollerinde değişim sağlanması gerektiği öne sürülebilir. Şöyle ki, DAO etkinliğini azaltan ilaçların, her iki viral enfeksiyon durumunda da kullanımından sakınılması ve yine intestinal mukozal hasarın giderilmesine yönelik immunonutrisyonel uygulamalarda bulunulması gerekliliği açıktır. Periferel dolaşımda daha stabil olan DAO seviyeleri; iskei, hipoksi ile nutrisyonel açlık durumlarında bağırsak mukozasında DAO azalmasına sebep olabilir (Enko ve diğeri, 2016; Oliva ve diğeri, 1997; Raithel ve diğeri, 1998). Elde ettiğimiz sonuçlar bu patofizyolojik mekanizmalarla ilişkide olabilir.

Zonulin, sıkı bağlantıların (TJ) önemli bir modülatörüdür ve teorik olarak su çıkışını arttırmak ve lümen yüzeyini zararlı elementlerden "yıkamak" için paraselüler geçirgenliği artırır (Fasano, 2012a; Vanuytsel ve diğeri, 2013). Bağırsak mukozasındaki ekspresyonunun, bakteriyel enfeksiyonlar ve glütene maruz kalma tarafından yukarı regüle edildiği, dolayısıyla enterik inflamasyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Clemente ve diğeri, 2003; el Asmar ve diğeri, 2002). Zonulin tarafından uyarılan reaksiyon kaskadı, zonula occludens-1 (ZO-1) dahil olmak üzere belirli TJ proteinlerinin yer değiştirmesiyle sonuçlanır. Zonulin'in bariz bir hedefi olarak ZO-1, dış claudin ve okludin arasındaki iç hücre iskeletine giden köprüye aracılık ettiği hücre zarı yerine sitoplazmada yeniden düzenlenmiş olarak bulunur (el Asmar ve diğeri, 2002; Fasano, 2012b). İnsan sağlığında fekal zonulin, CD aktivitesinin potansiyel bir biyobelirtecidir (Malíčková ve diğeri, 2017; Szymanska ve diğeri, 2021). Malíčková ve diğeri (2017), 40 IBD hastası ve 40 adet kontrol grubuna mensup insan denekle yaptıkları çalışmada serum ve fekal zonulin seviyelerini, CD olan hastalarda ülseratif kolitis (ÜK) ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır (fekal zonulin için $p = 0.038$ ve serum zonulin konsantrasyonları için $p = 0.041$). Yine pediatrik 94 (47 CD, 41 ÜK, 6 kontrol grubu) insan denek ile Szymanska ve diğeri (2021) tarafından yapılan çalışmada fekal zonulin ilişkili protein (ZRP) seviyeleri, IBD'si olanlarda yüksek

bulunurken, CD aktivitesi ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Bağırsak bütünlüğünü değerlendirmek için köpeklerle yapılan çalışmalarda da zonulin biyobelirteç olarak değerlendirilmektedir (Damms-Machado ve diğerleri, 2017; Meineri ve diğerleri, 2022; Ohlsson ve diğerleri, 2017; Rossi ve diğerleri, 2021). Rossi ve diğerleri (2021), intestinal lenfanjiyektazisi (IL) olan köpeklerde serum ve dışkıda zonulini değerlendirmiş hem hastalığın teşhisinde hem de izlenmesinde potansiyel biyobelirteç olduğunu ortaya koymuşlardır. Dinesh ve diğerleri (2022) tarafından kronik enteropatiye sahip 21 köpekte yapılan çalışmada ise kronik enteropatileri olan köpeklerin medyan serum zonulin değerleri 0,28 ng/mL (0,04-2,59), kontrol köpeklerinde ise 0,27 ng/mL (0,05-3,67) olarak bulunmuş ve bu popülasyonlar arasında köpek serum zonulin düzeylerinde anlamlı bir fark tespit edilememiştir. Diğer dokular tarafından zonulin ekspresyonu bağırsak sağlığı ile güvenli bir ilişkiye izin vermesede, zonulin serum seviyeleri domuzlarda aynı amaç için kullanılmıştır (Cheng ve diğerleri, 2018; Wang ve diğerleri, 2019; Xiong ve diğerleri, 2019). Bizim bu tez çalışmamızda ortalama $\pm$ standart hata yönünden zonulin seviyelerinde (ng/mL), kontrol grubu ($1,95 \pm 0,43$) ile Distemper virüs grubu ($20,54 \pm 3,70$) arasında ($p < 0,001$), kontrol grubu ile miksamatoz ko-infeksiyöz grup ($14,24 \pm 5,01$) arasındaki ($p < 0,05$) ve yine kontrol grubu ile parvoviral enteritis grubu ($14,86 \pm 3,61$) arasında istatistiksel farklılıklar ($p < 0,01$) saptanmış ve bu farkların tamamı anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar zonulinin bağırsak bütünlüğünü değerlendirmek için biyobelirteç olabileceğini doğrular niteliktedir. Covid-19 hastalığı esnasında hospitalizasyon süresi ile ko-morbiditeyi etkilediği belirlenen, bağırsak permeabilite biyobelirteci olan zonulin, viral enfeksiyonlarla iç içe bağırsak geçirgenliğine işaret edebilir (Palomino-Kobayashi ve diğerleri, 2022). Çalışmamızda viral enfeksiyonlarla ilişkili zonulin değişiklikleri bu yönüyle açıklanabilir.

D-laktat, 2-hidroksipropanoatın d-izomeridir. L-izomerinden farklı olarak D-laktat, ağırlıklı olarak kolondaki mikrobiyal fermantasyondan kaynaklanan memeli hücreleri tarafından yalnızca nanomolar konsantrasyonlarda üretilir (Ewaschuk ve diğerleri, 2005; Montagnana ve diğerleri, 2018). Laktat metabolik asidoz ile ilişkilendirildiğinden GI hastalıklarda özellikle ilgi çekicidir. CD'den etkilenen 59 insan deneğin ve 28 kontrolün bulunduğu bir çalışmada CD hastalarında D-LA ve DAO seviyeleri, hastalık aktivitesi ile pozitif korelasyon göstermiş ve D-LA ve DAO'nun, CD aktivitesi için iyi bir prognostik değere sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Cai ve diğerleri, 2019). 34 sağlıklı köpektan, kronik enteropatili (CE) 15 ve ekzokrin pankreas yetmezliği (EPI) olan 36 köpektan dışkı örnekleri

toplanarak yapılan bir başka çalışmada CE'li köpeklerde ve EPI'li köpeklerde dışkı laktat konsantrasyonlarında önemli artışlar gözlenmiştir (Blake ve diğerleri, 2019). Diğer bir çalışmada venöz kan laktat konsantrasyonları, 109 hasta köpek ve 20 kontrol üzerinde ölçülmüş, majör travma ve zehirlenmeler ile kardiyopulmoner, gastrointestinal ve nörolojik sorunları olan köpeklerde laktat konsantrasyonları, kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (Lagutchick ve diğerleri, 2007). Urbanova ve diğerleri (2022) tarafından yapılan bir çalışmada ise GI sistem hasarı olan ve olmayan köpeklerde kan/peritoneal sıvıdaki seçilmiş biyokimyasal indeksleri değerlendirilmiştir. GI hasarı olan 11, GI hasarı olmayan 18 olmak üzere toplam 29 köpeğin kan ve periton sıvısının alındığı çalışmada potasyum, toplam protein, glukoz, laktat ve kreatinin değerlendirilmiş ve bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadığından bu parametrelerin GI sistem hasarının teşhisinde belirleyici olmadığı sonucuna varılmıştır. Domuzlarda, yüksek plazma d-laktat konsantrasyonları, artan bağırsak geçirgenliği ve bakteriyel translokasyon ile ilişkilendirilirken, düşük d-laktat seviyeleri, azalmış bağırsak geçirgenliğinin göstergesidir (Kurundkar ve diğerleri, 2010; Xun ve diğerleri, 2015). Ayrıca bu biyobelirteç, fitobiyotik veya probiyotik ürünlerle tedavi edilen domuzların bağırsak sağlığındaki iyileşmelerin belirlenmesi ile de tartışmasız ilişkilendirilmiştir (Wang ve diğerleri, 2022; Xiong ve diğerleri, 2019; Zhao ve diğerleri, 2019). Yüksek serum d-laktat seviyeleri aynı zamanda yumurtlayan tavuklarda artan bağırsak geçirgenliğinin göstergesidir ve broylerlerde LPS tehdidinden sonra artmış d-laktat konsantrasyonları gözlenmiştir (Lei ve diğerleri, 2013; Wu ve diğerleri, 2013). Bizim çalışmamızda laktat seviyelerinde (mmol/L) ortalama $\pm$ standart hata yönünden kontrol grubu ($1,94 \pm 0,39$) ile non-infeksiyöz grup ($11,47 \pm 2,05$) parvoviral enteritis grubu ($9,85 \pm 1,20$) ($p < 0,01$), Distemper virüs grubu ($10,99 \pm 1,29$) ($p < 0,001$), Corona virüs grubu ($10,93 \pm 1,17$) ($p < 0,0001$), giardiasis grubu ($9,29 \pm 1,12$) ($p < 0,05$) arasında tamamı anlamlı olarak değerlendirilen belirgin farklılıklar saptanmıştır. Bu kısmın daha iyi anlaşılmasına yönelik olarak kısa literatür takviyesi yerinde olacaktır. Şöyle ki, GI kanalda konakçı ev sahibi konumundaki mikroflora tarafından salınan d-laktat yükseldiği takdirde intestinal mukozal permeabilite artışını (Liu ve diğerleri, 2016) ya da mitokondriyel disfonksiyonu işaret edebilmektedir (Chen ve diğerleri, 2023; Esmael ve diğerleri, 2021; Hancock, 2002; Koenig, 2008). Yine dolaşımdaki d-Laktat seviyeleri, intestinal mukozal hasarın derecesini yansıtmaktadır (Manzotti ve diğerleri, 2016). Alınan tüm bu patofizyolojik yolaklar çalışmamızda saptanan d-Laktat artışlarını açıklayabilir.

D-dimer fibrin oluşumu ve parçalanmasıyla sonuçlanan herhangi bir durumda artar; bu nedenle tromboembolik hastalığa özgü değildir. D-dimer konsantrasyonlarının, operasyonlardan sonra veya kanser, enfeksiyon, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği, akut koroner hastalık veya gebelik olan hastalarda da arttığı belirlenmiştir (Anderson ve Wells, 2000; Calverley ve Liebman, 2000; Horan ve Francis, 2001; Kelly ve diğerleri, 2002). Benzer şekilde, cerrahi prosedürlerden sonra ve immün aracılı hemolitik anemi, karaciğer hastalığı, kalp yetmezliği, böbrek yetmezliği travma, neoplazi veya iç kanama (koagülopatilere sekonder) olan köpeklerde D-dimer konsantrasyonları artmaktadır (Griffin ve diğerleri, 2002; Nelson ve Andreasen, 2002; Scott-Moncrieff ve diğerleri, 2001). İnsanlarda, IBD'nin 2 ana klinik formu olan CD ve ÜK, hiper pıhtılaşma durumuyla ilişkilidir (Danese ve diğerleri, 2007). Yine insanlarda spondiloartrit (SpA) D-dimer'in bağırsak iltihabı ile ilişkisini araştırmak amacıyla yapılan 65 SpA ve 70 kontrol denek arasında yapılan bir çalışmada D-dimer değerinin, bağırsak iltihabı olan SpA hastalarını belirlemek için potansiyel bir biyobelirteç olabileceği sonucuna varılmıştır (Feng ve diğerleri, 2022). Zhang ve diğerleri (2017) tarafından yapılan bir diğer çalışmada CD Aktivite İndeksi (CDAI) ile pıhtılaşma ve fibrinolizis parametreleri arasındaki ilişki incelenmiş, çalışmaya dahil edilen 108 CD hastası denek ve kontrol grubu arasında PT, APTT, TT, INR, Fg ve D-dimer için anlamlı farklılıklar bulunmuş ve D-dimer ekspresyonunun seviyesinin, CDAI değerlendirmek için umut verici yeni bir belirteç olabileceği sonucuna varılmıştır (Zhang ve diğerleri, 2017). Goodwin ve diğerleri (2011) tarafından protein kayıplı enteropatisi olan 15 köpek ve 30 kontrol ile yapılan bir çalışma PLE'li köpeklerin sağlıklı köpeklerle karşılaştırıldığında hiper-pıhtılaşma olduğunu göstermektedir fakat bu çalışmadaki köpeklerin hiçbirinin d-dimer ölçümü önemli derecede yüksek bulunmazken ve yalnızca 4/12 köpek şüpheli aralıkta sonuçlar saptanmıştır. Normal D-dimer sonuçları, bu köpeklerde gerçek negatif veya yanlış negatif sonuçlar verebilir. Yanlış negatifler, kanin D-dimer'e karşı içsel bir test hassasiyeti eksikliğinden kaynaklanabilir. Bir başka çalışmada gastrik dilatasyon-volvulusu (GDV) olan köpeklerde trombositler, protrombin zamanı (PT), aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT), fibrinojen, antitrombin (AT), protein C (PC), protein S (PS), D-dimer, plazma laktat konsantrasyonu ve inflamatuvar biyobelirteçler (C-reaktif protein, beyaz kan hücresi (WBC) sayısı, lenfosit ve nötrofil sayıları) GDV'li 20 köpekte değerlendirilmiştir. Ameliyattan sonra ölen köpeklerde, hayatta kalanlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek plazma laktat konsantrasyonu, pıhtılaşma süreleri ve D-dimer konsantrasyonunun yanı sıra daha düşük fibrinojen konsantrasyonu ve PC ve AT

aktivitesi bulunmuştur (Verschoof ve diğerleri, 2015). Giardiazis’li köpeklerde yapılan başka bir çalışmada ise sağlıklı köpeklerde D-dimer aralığı $<0,1$ mg/L iken giardiazisli köpeklerde, D-dimer konsantrasyonları sırasıyla sağlıklı köpeklerden ($p<0.05$ ve $p<0.01$) daha yüksek bulunmuştur (Haydardedeoğlu ve diğerleri, 2018). Doğal olarak köpek parvoviral (CPV) enterite sahip köpeklerin laboratuvarında hiper pıhtılaşma kanıtı olup olmadığını belirlemek amacıyla CPV enteritli 9 köpekle yapılan diğer bir çalışmada ölçülebilir bir D-dimer konsantrasyonu bulunamamıştır (Otto ve diğerleri, 2000). Bizim çalışmamızda ortalama $\pm$ standart hata yönünden D-dimer seviyelerinde (mg/dL) kontrol grubu ($24,86\pm5,11$) ile parvoviral enteritis grubu ($181,9\pm12,31$), miksamatöz ko-infeksiyöz grup ($207,1\pm18,19$) ($p<0,01$) ve Distemper virüs grubu ($217,8\pm13,34$) arasında fark ($p<0,001$) saptanmış ve anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz veriler D-dimerin GI inflamasyonda da artabileceği yönündedir. Bunu destekler mahiyette Feng ve diğerlerinin (2022) belirttiği gibi bağırsak inflamasyonu olan SpA’lı hastalara benzer şekilde, D-dimer artışı bu tez çalışmamızda infeksiyöz gruplarda değişimi açıklayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Giderek artan sayıda çalışmada farklı etiyolojik nedenlere bağlı olarak bağırsak bütünlüğü bozulan insan ve köpeklerde bağırsak mikrobiyotasında disbiyozis olduğu tespit edilmektedir. Bağırsak epitel bariyeri, bağışıklık sistemini mikrobiyota ve toksinlerin aşırı uyarılmasına karşı koruyan ilk savunma hattı görevini görür. Isı stresi, bakteriyel enfeksiyonlar, viral enfeksiyonlar, kimyasal nedenler, iskemi, mikotoksinlere maruz kalma ve otoimmün hastalıkların çoğu, bakteriyel translokasyona izin veren bir bağırsak bariyeri disfonksiyonu (sızıntılı bağırsak) ile ilişkilidir. Ölüm veya hastalık, bağırsak duvarından "sızan" mikrobiyal toksinlerin ve patojenlerin sistemik etkilerinden ve ardından inflamatuvar araçların üretimini içeren bağışıklık tepkisinden kaynaklanabilir. Sızıntılı bağırsak bu nedenle hem ciddi, hayatı tehdit eden bağırsak tıkanıklıklarına hem de kilo kaybına ve performansın düşmesine neden olan kronik hastalıklara yol açmaktadır (Celi ve diğerleri, 2017).

GI işlevsellik biyobelirteçlerinin geliştirilmesi, bağırsak bariyerini, işlevselliğini ve GI mikrobiyotanın ekolojisini etkileyen olayları anlamayı ilerletmek için çok önemlidir. Başlıca makro ve mikro besinlerin sindirim ve emilim mekanizmalarına ilişkin bilgiler oldukça ileri düzeydeyken, literatürde GI geçirgenliğin biyobelirteçleri, GI bariyer işlevi, bağırsak endokrin sistemi için biyobelirteçler veya faydalı mikrobiyotaların, metabolitlerinin işlevsel varlığının bir göstergesi olan biyobelirteçler ile ilgili olarak büyük bir boşluk bulunmaktadır (Celi ve diğerleri, 2017).

Daha hassas ve spesifik olan bir dizi yeni izleme biyobelirteçlerinin geliştirilmesi klinik olarak önemlidir. Artan kanıtlar, bağırsak bariyerindeki hasarın, inflamatuvar süreçleri tetikleyen ve CD aktivitesi ile yakından ilişkili olan epitelyal geçirgenliği arttırdığını göstermektedir (Salim ve Söderholm, 2011). D-laktat (D-LA), insan GI sisteminde bulunan birçok mikroflora tarafından salınan bir üründür. Bu nedenle, kan D-LA seviyesindeki bir artış, bağırsak mukozasının geçirgenliğindeki bir artışı yansıtır (Liu ve diğerleri, 2016). Yani dolaşımdaki D-LA seviyeleri bağırsak mukozasındaki hasarın derecesini ortaya koyabilir. DAO sadece intestinal villus epitel hücrelerinde sentezlenir. Hasarlı mukozal hücreler, serum konsantrasyonunu artıran DAO'yu serbest bırakır. DAO aktivitesinin kanda stabil olduğu göz

önüne alındığında, kandaki DAO konsantrasyonu zamanında intestinal kavitenin hasarını ve restorasyonunu yansıtabilir (Manzotti ve diğerleri, 2016). Kandaki yüksek D-LA ve DAO konsantrasyonu, anormal bağırsak bariyeri işleviyle sıkı bir şekilde bağlantılıdır, bu da bunların CD aktivitesini izlemek için hassas ve doğru belirteçler olarak kullanılabileceği anlamına gelir (Takiishi ve diğerleri, 2017). Bir çalışma, CD hastalarında serum D-LA ve DAO seviyelerinin normal kontrol grubundan belirgin şekilde yüksek olduğunu ve tedaviden sonra düştüğünü gözlemlemiştir (Kong ve diğerleri, 2015).

Yaptığımız çalışmada, DAO için kontrol grubu ile parvoviral enteritis ve Corona virüs grupları arasında, zonulin için kontrol grubu ile Distemper virüs, parvoviral enteritis ve miksamatoz ko-infeksiyöz grup arasında, laktat için kontrol grubu ile parvoviral enteritis, Corona virüs, giardiazis, Distemper virüs ve non-infeksiyöz grup arasında ve son olarak D-dimer için kontrol grubu ile parvoviral enteritis, Distemper virüs ve miksamatoz ko-infeksiyöz grup arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiş ve farklı etiyolojik nedenlerle yükselen bu değerlerin intestinal permeabilitenin artışı yansıttığı düşünülmüştür.

Erken tanı, prognoz ve komplikasyonların öngörülebilmesi ve olguların risk kategorilerine ayrılması amacıyla kullanılan biyobelirteçler klinik kullanımda oldukça yararlıdır. Bu konuda farklı etiyolojik nedenlerle oluşan gastrointestinal inflamasyonda diamin oksidaz, zonulin, laktat ve D-dimer'in sızıntılı bağırsağın tespitinde diyagnostik biyobelirteçler olarak rutinde kullanımının, teşhis ve sağaltım protokolleri konusunda fayda sağlayacağı düşünüldüğünden, analiz sonuçlarının bu bağlamda değerlendirilmesi çalışmamızın ana hedefi olmuştur. Sızıntılı bağırsağın erken teşhisi ile olumlu anlamda değişebilecek hasta prognozu hem bu biyobelirteçlerin önemini ortaya koyacak hem de GI hastalıklara bakış açısını değiştirebilecektir.

KAYNAKLAR

- Ahlmark, A. (1944). Studies on the histaminolytic power of plasma with special reference to pregnancy. *Acta Physiology Scand*, 9(28), 1-107.
- Akimoto, T., Takada, M., Ichihara, T., Kuroda, Y. (2006). Molecular analysis for differential diagnosis of small bowel obstruction: expression of proinflammatory cytokines and diamine oxidase activity. *International Journal of Biomedical Science*, 2(2),160-5.
- Algya, K.M., Cross, T.L., Leuck, K.N., Kastner, M.E., Baba, T., Lye, L., ..., Swanson, S.K. (2018). Apparent total tract macronutrient digestibility, serum chemistry, urinalysis, and fecal characteristics, metabolites and microbiota of adult dogs fed extruded, mildly cooked, and raw diets. *Journal of Animal Science*, 96, 3670–3683. doi: 10.1093/jas/sky235
- Ali, R.A.R., Zaharuddin, L., Chan, S.-N., Wong, Z., Ngiu, C.S., Mokhtar, N.M. (2018). Sa1838—The clinical and circulating inflammatory cytokines effects of probiotic containing lactobacillus and bifidobacterium strains in patients with colorectal cancer: a randomized double blind controlled trial. *Gastroenterology*, 154, S414. doi: 10.1016/S0016-5085(18)31661-5
- Allenspach, K., House, A., Smith, K., McNeill, F.M., Hendricks, A., Elson-Riggins, J., ..., Suchodolski, J.S. (2010). Evaluation of mucosal bacteria and histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in German shepherd dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Microbiology*, 146(3-4), 326–335. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.05.025
- AlShawaqfeh, M.K., Wajid, B., Minamoto, Y., Markel, M., Lidbury, J.A., Steiner, J.M., ..., Suchodolski, J.S. (2017). A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(11). doi: 10.1093/femsec/fix136
- American Animal Hospital Association. (2011). Raw Protein Diet. Erişim adresi: [www.aaha.org/about-aaha/aaha-position-statements/raw-protein diet/](http://www.aaha.org/about-aaha/aaha-position-statements/raw-protein-diet/) (Erişim tarihi: 12 Nisan 2019).

- American Veterinary Medical Association. (2012). Raw or Undercooked Animal-Source Protein in Cat And Dog Diets. Erişim adresi: www.avma.org/resources-tools/avma-policies/raw-or-undercooked-animal-source-protein-cat-and-dog-diets (Erişim tarih: 12 Aralık 2017).
- Anderson, D.R. ve Wells, P.S. (2000). D-dimer for the diagnosis of venous thromboembolism. *Current Opinion in Hematology*, 7(5), 296–301. doi: 10.1097/00062752-200009000-00007
- Ariake, K., Ohkusa, T., Sakurazawa, T., Kumagai, J., Eishi, Y., Hoshi, S., Yajima, T. (2000). Roles of mucosal bacteria and succinic acid in colitis caused by dextran sulfate sodium in mice. *Journal of Medical and Dental Sciences*, 47 (4), 233-241.
- Arrieta, M.C., Bistritz, L., Meddings, J.B. (2006). Alterations in intestinal permeability. *Gut*, 55(10), 1512–1520. doi: 10.1136/gut.2005.085373
- Arrieta, M.C., Madsen, K., Doyle, J., Meddings, J. (2009). Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse. *Gut*, 58(1), 41-8. doi: 10.1136/gut.2008.150888
- Aura, A. M., Niemi, P., Mattila, I., Niemelä, K., Smeds, A., Tamminen, T., ..., Poutanen, K. (2013). Release of small phenolic compounds from brewer's spent grain and its lignin fractions by human intestinal microbiota in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 9744–9753. doi: 10.1021/jf4024195
- Azad, A.K.M., Ali, M.A., Akter, S., Rahman, J., Ahmed, M. (2014). Isolation and characterization of pectin extracted from lemon pomace during ripening. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2, 30–35. doi: 10.11648/j.jfns.20140202.12
- Bardsley, W.G., Crabbe, M.J.C., Scott, I.V. (1974). The amine oxidases of human placenta and pregnancy plasma. *Biochemical Journal*, 139,169-181.
- Bardsley, W.G., Hill, C.M., Loble, R.W. (1976). A reinvestigation of the substrate specificity of pig kidney diamine oxidase. *Biochemistry Journal*, 117, 169- 176.

- Barry, K.A., Middelbos, I.S., Vester Boler, B.M., Dowd, S.E., Suchodolski, J.S., Henrissat, B., ..., Swanson, K.S. (2012) Effects of dietary fiber on the feline gastrointestinal metagenome. *Journal of Proteome Research*, 11(12), 5924–5933. doi: 10.1021/pr3006809
- Baumgart, M., Dogan, B., Rishniw, M., Weitzman, G., Bosworth, B., Yantiss, R., ... , Simpson, K.W. (2007). Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. *The ISME Journal*, 1(5), 403–418. doi: 10.1038/ismej.2007.52
- Baylin, S.B. ve Luk, G.D. (1981). Diamine oxidase (histaminase) activity in human disease; in Morris DR, Marton LJ (eds): Polyamines in Biology and Medicine. New York, Dekker, pp 377-388.
- Baylin, S.B., Rosenstein, B.J., Marton, L.J., Lockwood, D.H. (1980). Age-related abnormalities of circulating polyamines and diamine oxidase activity in cystic fibrosis heterozygotes and homozygotes. *Pediatric Research*, 14, 921-925.
- Benno, Y., Nakao, H., Uchida, K., Mitsuoka, T. (1992). Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 54, 703–706. doi: 10.1292/jvms.54.703
- Berckmans, D. (2014). Precision livestock farming technologies for welfare management in intensive livestock systems. *OIE Revue Scientifique et Technique*, 33(1), 189-196. doi: 10.20506/rst.33.1.2273.
- Bermudez Sanchez, S., Pilla, R., Sarawichitr, B., Gramenzi, A., Marsilio, F., Steiner, J.M., ..., Suchodolski, J.S. (2020). Fecal microbiota in client-owned obese dogs changes after weight loss with a high-fiber-high-protein diet. *PeerJ*, 8, e9706. doi: 10.7717/peerj.9706
- Bick, R.L. ve Baker, W.F. (1992). Diagnostic efficacy of the D-dimer assay in disseminated intravascular coagulation (DIC). *Thrombosis Research*, 65, 785–90. doi: 10.1016/0049-3848(92)90116-r
- Bischoff, S.C. (2011). 'Gut health': a new objective in medicine?, *BMC Medicine*, 9(1), 24. doi:10.1186/1741-7015-9-24

- Bischoff, S.C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J.D., Serino, M., ..., Wells J. (2014). Intestinal permeability -- a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*, 14, 189. doi: 10.1186/s12876-014-0189-7
- Blake, A.B., Guard, B.C., Honneffer, J.B., Lidbury, J.A., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S. (2019). Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease. *PLoS One*, 14(10), e0224454. doi:10.1371/journal.pone.0224454
- Boudry, G. (2005). The Ussing chamber technique to evaluate alternatives to in-feed antibiotics for young pigs. *Animal Research*, 54, 219-230.
- Bragg, L.E., Thompson, J.S., West, W.W. (1991). Intestinal diamine oxidase levels reflect ischemic injury. *The Journal of Surgical Research*, 50, 228-233. doi: 10.1016/0022-4804(91)90183-m
- Bresciani, F., Minamoto, Y., Suchodolski, J. S., Galiazzo, G., Vecchiato, C.G., Pinna, C., ..., Pietra, M. (2018). Effect of an extruded animal protein-free diet on fecal microbiota of dogs with food-responsive enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32, 1903–1910. doi: 10.1111/jvim.
- Brew, O. ve Sullivan, M. (2001). Localisation of mRNAs for diamine oxidase and histamine receptors H1 and H2, at the feto-maternal interface of human pregnancy. *Inflammation Research*, 50, 449–452. doi: 10.1007/PL00000269
- Brew, O., Lakasing, L., Sullivan, M. (2007). Differential Activity of Histidine Decarboxylase in Normal and Pre-eclamptic Placentae. *Placenta*, 28, 585–587. doi: 10.1016/j.plasenta.2006.05.003
- Bustos, D., Pons, S., Pernas, J.C., Gonzalez, H., Caldarini, M.I., Ogawa, K., De Paulo, J.A. (1994). Fecal lactate and short-bowel syndrome. *Digestive Diseases and Sciences*, 39(11), 2315–9. doi: 10.1007/BF02087644
- Butowski, C.F., Thomas, T.G., Young, W., Cave, N.J., McKenzie, C.M., Rosendale, D.I., ..., Bermingham, E.N. (2019). Addition of plant dietary fibre to a raw red meat high protein, high fat diet, alters the faecal bacteriome and organic acid profiles of the domestic cat (*Felis catus*). *PLoS One*, 14, e0216072. doi: 10.1371/journal.pone.0216072

- Cai, C., Li, W., Chen, J., Li, X., Chen, S. (2012). Diamine oxidase as a marker for diagnosis of superior mesenteric arterial occlusion. *Hepatogastroenterology*, 59, 155–158. doi: 10.5754/hge11226
- Cai, J., Chen, H., Weng, M., Jiang, S., Gao, J. (2019). Diagnostic and Clinical Significance of Serum Levels of D-Lactate and Diamine Oxidase in Patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology Research and Practice*, 8536952. doi: 10.1155/2019/8536952
- Caldin, M., Furlanello, T., Lubas, G. (1998). Sensitivity and specificity of citrated plasma FDPs and D-dimer in the diagnosis of disseminated intravascular coagulation (DIC) in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12(3), 236.
- Caldin, M., Furlanello, T., Lubas, G. (2000). Validation of an immunoturbidimetric D-dimer assay in canine citrated plasma. *Veterinary Clinic Pathology*, 29(2), 51–4.
- Calverley, D. ve Liebman, H.A. (2000). Disseminated intravascular coagulation. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al, editors. Hematology: basic principles and practice. 3rd edition. New York: Churchill Livingstone, pp. 1983–95.
- Cardona, F., Andres-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F.J., Queipo-Ortuno, M.I. (2013). Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24, 1415–1422. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.05.001
- Celi, P., Cowieson, A.J., Fru-Nji, F., Steinert, R.E., Klünter, A.M., Verlhac, V. (2017). Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: new opportunities for sustainable animal production. *Animal Feed Science and Technology*, 234, 88-100. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.09.012
- Celi, P., Verlhac, V. Calvo, E.P. Schmeisser, J. Klünter, A.M. (2019). Biomarkers of gastrointestinal functionality in animal nutrition and health. *Animal Feed Science Technology*, 250, 9-31. doi: [10.1016/j.anifeedsci.2018.07.012](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.012)
- Centers for Disease Control and Prevention (2017). Pet Food Safety. Erişim adresi: https://www.cdc.gov/healthypets/publications/pet-food-safety.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Ffeatures%2Fpet-food-safety%2Findex.html (Erişim tarihi: 30 Ocak 2019).

- Chen, J., Tellez, G., Richards, J.D., Escobar, J. (2015). Identification of potential biomarkers for gut barrier failure in broiler chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 2, 14. doi: 10.3389/fvets.2015.00014
- Chen, Z., Bordieanu, B., Kesavan, R., Lesner, N.P., Venigalla, S.S.K., Shelton, S.D., ..., Mishra, P. (2023). Lactate metabolism is essential in early-onset mitochondrial myopathy. *Science Advances*, 9, 1. doi: 10.1126/sciadv.add3216
- Cheng, C., Wei, H., Xu, C., Xie, X., Jiang, S., Peng, J. (2018). Maternal soluble fiber diet during pregnancy changes the intestinal microbiota, improves growth performance, and reduces intestinal permeability in piglets. *Applied and Environmental Microbiology*, 84, e01047-18. doi: 10.1128/AEM.01047-18
- Chung, W.S.F., Meijerink, M., Zeuner, B., Holck, J., Louis, P., Meyer, A.S., ..., Duncan, S.H. (2017). Prebiotic potential of pectin and pectic oligosaccharides to promote anti-inflammatory commensal bacteria in the human colon. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(11). doi: 10.1093/femsec/fix127
- Chung, W.S.F., Walker, A.W., Vermeiren, J., Sheridan, P.O., Bosscher, D., Garcia-Campayo, V., Duncan, S.H. (2019). Impact of carbohydrate substrate complexity on the diversity of the human colonic microbiota. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(1), fiy201. doi: 10.1093/femsec/fiy201
- Clayburgh, D.R., Shen, L., Turner, J.R. (2004). A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease. *Laboratory Investigation; A journal of Technical Methods and Pathology*, 84(3), 282-91. doi:10.1038/labinvest.3700050.
- Clemente, M.G., De Virgiliis, S., Kang, J.S., Macatagney, R., Musu, M.P., Di Pierro, ..., Fasano, A. (2003). Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut*, 52(2), 218-23. doi:10.1136/gut.52.2.218.
- Corazza, G.R., Falsca, A., Strocchi, A., Rossi, C.A., Gasbarrini, G. (1988). Decreased plasma postheparin diamine oxidase levels in celiac disease. *Digestive Disease Science*, 33, 956-961.

- Corda, M., Pellegrini, M., Rinaldi, A. (1984). Diamine oxidase from horse kidney: Ionic strength dependence of stability and activity. *Internal Journal of Biochemistry*, 33, 303-310.
- Craven, M., Egan, C.E., Dowd, S.E., McDonough, S.P., Dogan, B., Denkers, E.Y., ..., Simpson, K.W. (2012). Inflammation drives dysbiosis and bacterial invasion in murine models of ileal Crohn's disease. *PLoS One*, 7(7), e41594. doi: 10.1371/journal.pone.0041594
- Craven, M., Mansfield, C.S., Simpson, K.W. (2011). Granulomatous colitis of boxer dogs. The Veterinary Clinics of North America. *Small Animal Practice*, 41 (2), 433–445. doi: 10.1016/j.cvsm.2011.01.003
- Crenn, P., Messing, B., Cynober, L. (2008). Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clinical Nutrition*, 27(3), 328-339. doi: 10.1016/j.clnu.2008.02.005
- Çakmaz, R., Büyükaşık, O., Kahramansoy, N., Erkol, H., Çöl, C., Boran, Ç., Buğdayci, G. (2013). A combination of plasma DAO and citrulline levels as a potential marker for acute mesenteric ischemia. *The Libyan Journal of Medicine*, 8(1), 20596. doi: 10.3402/ljm.v8i0.20596
- D'Agostino, L., Ciacci, C., Daniele, B., Vittoria Barone, M., Sollazzo, R., Mazzacca, G. (1987). Postheparin plasma diamine oxidase in subjects with small bowel atrophy. *Digestive Disease Science*, 32, 313-317.
- Damms-Machado, A., Louis, S., Schnitzer, A., Volynets, V., Rings, A., Basrai, M., Bischoff, S.C. (2017). Gut permeability is related to body weight, fatty liver disease, and insulin resistance in obese individuals undergoing weight reduction. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 105(1), 127–135. doi: 10.3945/ajcn.116.131110
- Danese, S., Papa, A., Saibeni, S., Repici, A., Malesci, A., Vecchi, M. (2007). Inflammation and coagulation in inflammatory bowel disease: The clot thickens. *The American Journal of Gastroenterology*, 102(1), 174– 186. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00943.x

- Danielle, B. ve Quaroni, A. (1990). Polarized secretion of diamine oxidase by intestinal epithelial cells and its stimulation by heparin. *Gastroenterology*, 99, 1675-1687. doi: 10.1016/0016-5085(90)90474-f
- David, L.A., Maurice, C.F., Carmody, R.N., Gootenberg, D.B., Button, J.E., Wolfe, B.E., ..., Turnbaugh, P.J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505, 559–563. doi: 10.1038/nature12820
- Davin, R., Manzanilla, E.G., Klasing, K.C., Perez, J.F. (2012). Evolution of zinc, iron, and copper concentrations along the gastrointestinal tract of piglets weaned with or without in-feed high doses of zinc oxide compared to unweaned littermates. *Journal of Animal Science*, 90 (4), 248-250. doi: 10.2527/jas.53999
- Davin, R., Manzanilla, E.G., Klasing, K.C., Perez, J.F. (2013). Effect of weaning and in-feed high doses of zinc oxide on zinc levels in different body compartments of piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl.)*, 97 (1), 6-12. doi: 10.1111/jpn.12046
- de Godoy, M.R., Kerr, K.R., Fahey, G.C.Jr. (2013). Alternative dietary fiber sources in companion animal nutrition. *Nutrients*, 5, 3099–3117. doi: 10.3390/nu5083099
- de Souza, E.L., de Albuquerque, T.M.R., dos Santos, A.S., Massa, N.M.L., de Brito Alves, J.L. (2019). Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 1645–1659. doi: 10.1080/10408398.2018.1425285
- Derrien, M. ve van Hylckama Vlieg, J.E.T. (2015). Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends Microbiology*, 23, 354–366. doi: 10.1016/j.tim.2015.03.002
- Desai, A.R., Musil, K.M., Carr, A.P., Hill, J.E. (2009). Characterization and quantification of feline fecal microbiota using cpn60 sequence-based methods and investigation of animal-to-animal variation in microbial population structure. *Veterinary Microbiology*, 137, 120–128. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.12.019

- Dhingra, D., Michael, M., Raiput, H., Patil, R.T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49, 255–266. doi: 10.1007/s13197-011-0365-5
- Dieryck, I., de Backere, J., Paeshuyse, J. (2022). Effect of hatching system and prophylactic antibiotic use on serum levels of intestinal health biomarker diamine oxidase in broilers at an early age. *Animal*, 16, 100493. doi: 10.1016/j.animal.2022.100493
- Dietert, R.R. ve Silbergeld, E.K. (2015). Biomarkers for the 21st century: listening to the microbiome. *Toxicological Sciences*, 144(2), 208-216. doi: 10.1093/toxsci/kfv013
- Dinan, T.G. ve Cryan, J.F. (2017). The microbiome-gut-brain axis in health and disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 46(1), 77-89. doi: 10.1016/j.gtc.2016.09.007
- Dinesh, N., Slovak, J.E., Kogan, C., Kopper, J.J. (2022). Preliminary evaluation of serum zonulin in canine chronic enteropathies. *The Journal of Small Animal Practice*, 63(9), 679-685. doi:10.1111/jsap.13506.
- Dowling, R.H. (1990). Polyamines in intestinal adaptation and disease. *Digestion*, 46(2), 331-344. doi: 10.1159/000200406
- Drago, S., El Asmar, R., Di Pierro, M., Clemente M.G., Tripathi, A., Sapone, A., ..., Fasano, A. (2009). Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 41(4), 408-19. doi:10.1080/00365520500235334.
- El Asmar, R., Panigrahi, P., Bamford, P., Berti, I., Not, T., Coppa, G.V., ..., Fasano, A. (2002). Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*, 123(5), 1607-15. doi:10.1053/gast.2002.36578
- Enko, D., Meinitzer, A., Mangge, H., Kriegshäuser, G., Halwachs-Baumann, G., Reininghaus, E.Z., ..., Schnedl, W.J. (2016). Concomitant prevalence of low serum diamine oxidase activity and carbohydrate malabsorption, *Canadian Journal Gastroenterology Hepatology*, 4893501. doi.org/10.1155/2016/4893501

- Esmael, A., Talaat, M., Egila, H., Eltoukhy, K. (2020). Mitochondrial dysfunction and serum lactate as a biomarker for the progression and disability in MS and its correlation with the radiological findings. *Neurological Research*, 43(7), 582-590. doi: 10.1080/01616412.2021.1893567
- Ewaschuk, J.B., Naylor, J.M., Zello, G.A. (2005). D-lactate in human and ruminant metabolism. *The Journal of Nutrition*, 135(7), 1619–25. doi: 10.1093/jn/135.7.1619
- Fall, P.J. ve Szerlip, H.M. (2005). Lactic acidosis: from sour milk to septic shock. *Journal of Intensive Care Medicine*, 20, 255–71. doi: 10.1177/0885066605278644
- Farquhar, M.G. ve Palade, G.E. (1963). Junctional complexes in various epithelia. *The Journal of Cell Biology*, 17(2), 375-412. doi: 10.1083/jcb.17.2.375.
- Fasano, A. (2008). Physiological, pathological, and therapeutic implications of zonulin mediated intestinal barrier modulation: living life on the edge of the wall. *The American Journal of Pathology*, 173(5), 1243–1252. doi:10.2353/ajpath.2008.080192
- Fasano, A. (2011). Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiological Reviews*, 91(1), 151-75. doi:10.1152/physrev.00003.2008.
- Fasano, A. (2012a). Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10, 1096–1100. doi: 10.1016/j.cgh.2012.08.012
- Fasano, A. (2012b). Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1258, 25–33. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06538.x
- Fasano, A. ve Nataro, J.P. (2004). Intestinal epithelial tight junctions as targets for enteric bacteria-derived toxins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(6), 795-807. doi:10.1016/j.addr.2003.10.045.

- Fasano, A. ve Shea-Donohue, T. (2005). Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. *Nature Clinical Practice. Gastroenterology and Hepatology*, 2(9), 416-22. doi: 10.1038/ncpgasthep0259.
- Fasano, A., Uzzau, S., Fiore, C., Margaretten, K. (1997). The enterotoxic effect of zonula occludens toxin on rabbit small intestine involves the paracellular pathway. *Gastroenterology*, 112, 839–846. doi: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041245
- Feng, J., Li, J., Li, Y., Jin, Y., Du, F., Chen, X. (2022). Elevated serum d-dimer may reflect the presence of gut inflammation in spondyloarthritis. *Frontiers*, 8, 2021. doi: 10.3389/fmed.2021.816422
- Fleming, T.P., Ghassemifar, M.R., Sheth, B. (2000). Junctional complexes in the early mammalian embryo. *Seminars in Reproductive Medicine*, 18(2), 185- 93. doi:10.1055/s-2000-12557.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London: Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization.
- Food and Drug Administration (2018). Get the Facts! Raw Pet Food Diets can be Dangerous to You and Your Pet. Erişim adresi: <https://www.fda.gov/animalveterinary/resourcesforyou/animalhealthliteracy/ucm373757.htm> (Erişim tarihi:12 Nisan 2019).
- Forsythe, P., Kunze, W., Bienenstock, J. (2016). Microbes or fecal phrenology: What do we know about the microbiota-gut-brain axis? *BMC Medicine*, 14, 58. doi: 10.1186/s12916-016-0604-8
- Foster, M.L., Dowd, S.E., Stephenson, C., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S. (2013). Characterization of the fungal microbiome (mycobiome) in fecal samples from dogs. *Veterinary Medicine International*, 658373. doi: 10.1155/2013/658373

- Frank, D.N., St Amand, A.L., Feldman, R.A., Boedeker, E.C., Harpaz, N., Pace, N.R. (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104 (34), 13780–13785. doi: 10.1073/pnas.0706625104
- Fredriksson-Ahomaa, M., Heikkilä, T., Pernu, N., Kovanen, S., Hielm-Bjorkman, A., Kivisto, R. (2017). Raw meat-based diets in dogs and cats. *Veterinary Science*, 4,33. doi: 10.3390/vetsci4030033
- Freeman, L.M., Chandler, M.L., Hamper, B.A., Weeth, L.P. (2013). Current knowledge about the risks and benefits of raw meat-based diets for dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 243, 1549–1558. doi: 10.2460/javma.243.11.1549
- Funaoka, H., Kanda, T., Fujii, H. (2010). Intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) as a new biomarker for intestinal diseases. Rinsho byori. *The Japanese journal of clinical pathology*, 58(2), 162-168.
- Furness, J.B. ve Cottrell, J.J. (2017). Signalling from the gut lumen. *Animal Production Science*, 57(11), 2175-2187.
- Furness, J.B., Rivera, L.R., Cho, H.J., Bravo, D.M., Callaghan, B. (2013). The gut as a sensory organ. *Nature reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 10(12), 729-740. doi: 10.1038/nrgastro.2013.180
- Furuse, M., Fujita, K., Hiiragi, T., Fujimoto, K., Tsukita, S. (1998). Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *The Journal of Cell Biology*, 141(7), 1539-50. doi: 10.1083/jcb.141.7.1539.
- Furuse, M., Hirase, T., Itoh, M., Nagafuchi, A., Yonemura, S., Tsukita, S. (1993). Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *The Journal of Cell Biology*, 123(6), 1777-88. doi:10.1083/jcb.123.6.1777.
- Gahl, W.A. ve Pitot, H.C. (1981). Clinical aspects of polyamines in nonneoplastic conditions; in Morris DR, Marton LJ (eds): Polyamines in Biology and Medicine. New York, Dekker, chap 18.

- Garcia-Lafuente, A., Antolin, M., Guarner, F., Crespo, E., Malagelada, J. (2001). Modulation of colonic barrier function by the composition of the commensal flora in the rat. *Gut*, 48(4), 503–507. doi:10.1136/gut.48.4.503
- García-Martín, E., Navarro-Muñoz, S., Amo, G., Rodriguez, C., Serrador, M., Alonso-Navarro, H., ..., García-Ruiz, R. (2022). Increased serum diamine oxidase activity in nonallergic patients with migraine. *European Journal of Clinical Investigation*, 52, e13757.
- Garcia-Mazcorro, J.F., Suchodolski, J.S., Jones, K.R., Clark-Price, S.C., Dowd, S.E., Minamoto, Y., ..., Dossin, O. (2012). Effect of the proton pump inhibitor omeprazole on the gastrointestinal bacterial microbiota of healthy dogs. *FEMS Microbiology Ecology*, 80(3), 624–636. doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01331.x
- German, A.J., Day, M.J., Ruaux, C.G., Steiner, J.M., Williams, D.A., Hall, E.J. (2003). Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(1), 33–43. doi: 10.1892/0891-6640(2003)017<0033:codait>2.3.co;2
- Gerner, E.W. ve Meyskens Jr., F.L. (2004). Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. *Nature Reviews Cancer*, 4(10), 781–792. doi: 10.1038/nrc1454
- Gibson, G. R., Probert, H.M., van Loo, J.A.E., Rastall, R.A., Roberfroid, M.B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17, 259–275. doi: 10.1079/nrr200479
- Gibson, G.R. ve Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal Nutrition*, 125, 1401–1412. doi: 10.1093/jn/125.6.1401
- Gibson, G.R., Rastall, R.A., Scott, K.P., Tuohy, K.M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., ..., Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *IFIS Functional Foods Bulletin*, 7, 1–19. doi: 10.1616/1476-2137.15880

- Gilani, S., Howarth, G.S., Kiteessa, S.M., Forder, R.E.A., Tran, C.D., Hughes, R.J. (2016). New biomarkers for intestinal permeability induced by lipopolysaccharide in chickens. *Animal Production Science*, 56(12), 1984-1997.
- Gilliland, S.E. (1990). Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 7(1–2), 175–88. doi: 10.1111/j.1574-6968.1990.tb04887.x.
- Glanemann, B., Schönenbrücher, H., Bridger, N., Abdulmawjood, A., Neiger, R., Bülte, M. (2008). Detection of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis-specific DNA by PCR in intestinal biopsies of dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(5), 1090–1094. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0147.x
- Gomes, A.C., Bueno, A.A., de Souza, R.G.M., Mota, J.F. (2014). Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutrition Journal*, 13, 60. doi: 10.1186/1475-2891-13-60
- Goodwin, L.V., Goggs, R., Chan, D.L., Allenspach, K. (2011). Hypercoagulability in dogs with protein-losing enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(2), 273-277. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.0683.x
- Goto, T., Matsubara, T., Yoshizawa, Y., Sasaya, S., Nemoto, H., Sanada, Y., ..., Kouchi, Y. (2011). Diamine oxidase as blood biomarker in rats and humans to GI tract toxicity of fluorouracil anti-cancer drugs. *Gan Kagaku Ryoho Cancer Chemotherapy*, 38, 765–769.
- Griffin, A., Callan, M.B., Giger, U. (2002). Clinical experience with a point-of-care D-dimer test in dogs with disseminated intravascular coagulation, thromboembolism and internal hemorrhage. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16, 376.
- Gross, G., Jacobs, D.M., Peters, S., Possemiers, S., van Duynhoven, J., Vaughan, E.E., van de Wiele, T. (2010). In vitro bioconversion of polyphenols from black tea and red wine/grape juice by human intestinal microbiota displays strong interindividual variability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10236–10246. doi: 10.1021/jf101475m
- Grzeskowiak, L., Endo, A., Beasley, S., Salminen, S. (2015). Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. *Anaerobe*, 34, 14–23. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.04.002

- Gupta, M., Kaul, S., Dhar, M.K. (2018). Identification and characterization of some putative genes involved in arabinoxylan biosynthesis in *Plantago ovata*. *Biotech*, 8, 266. doi: 10.1007/s13205-018-1289-9 Gut, 55(10),1512-20. doi:10.1136/gut.2005.085373
- Hałasa, M., Maciejewska, D., Baśkiewicz-Hałasa, M., Machaliński, B., Safranow, K., Stachowska, E. (2017). Oral supplementation with bovine colostrum decreases, intestinal permeability and stool concentrations of zonulin in athletes. *Nutrients*, 9, 370. doi: 10.3390/nu9040370
- Hamada, Y., Shinohara, Y., Yano, M., Yamamoto, M., Yoshio, M., Satake, K., ..., Usami, M. (2013). Effect of the menstrual cycle on serum diamine oxidase levels in healthy women. *Clinical Biochemistry*, 46, 99–102. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.10.013
- Hancock, M.R. (2002). Mitochondrial dysfunction and the role of the non-specialist laboratory. *Annals of Clinical Biochemistry*, 39(5), 456-63. doi: 10.1258/000456302320314467
- Handl, S., Dowd, S.E., Garcia-Mazcorro, J.F., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S. (2011). Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. *FEMS Microbiology Ecology*, 76(2), 301–310. doi: 10.1111/j.1574-6941.2011.01058.x
- Haydardedeoğlu, A.E., Ural, K., Orman, A., Ural, D.A. (2018). D-dimer levels as a procoagulative marker in association with disease progress during giardiasis in dogs. *Revista MVZ Córdoba*, 23(2), 6718-6728. doi: 10.21897/rmvz.1348
- Herstad, H.K., Nesheim, B.B., L'Abée-Lund, T., Larsen, S., Skancke, E. (2010). Effects of a probiotic intervention in acute canine gastroenteritis--a controlled clinical trial. *Journal of Small Animal Practice*, 51(1), 34–38. doi: 10.1111/j.1748-5827.2009.00853.x
- Herstad, K.M.V., Gajardo, K., Bakke, A.M., Moe, L., Ludvigsen, J., Rudi, K. (2017). A diet change from dry food to beef induces reversible changes on the faecal microbiota in healthy, adult client-owned dogs. *BMC Veterinary Research*. 13,147. doi: 10.17221/1941-vetmed

- Higashi, T., Tokuda, S., Kitajiri, S., Masuda, S., Nakamura, H., Oda, Y., Furuse, M. (2013). Analysis of the *angulin* proteins LSR, ILDR1 and ILDR2–tricellulin recruitment, epithelial barrier function and implication in deafness pathogenesis. *Journal of Cell Science*, 126(4), 966–77. doi:10.1242/jcs.116442.
- Honzawa, Y., Nakase, H., Matsuura, M., Chiba, T. (2011). Clinical significance of serum diamine oxidase activity in inflammatory bowel disease: Importance of evaluation of small intestinal permeability. *Inflammatory Bowel Diseases*, E23–E25. doi: 10.1002/ibd.21588
- Horan, J.T. ve Francis, C.W. (2001). Fibrin degradation products, fibrin monomer and soluble fibrin in disseminated intravascular coagulation. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 27(6), 657–66. doi: 10.1055/s-2001-18870
- Hou, Y., Wang, L., Zhang, W., Yang, Z., Ding, B., Zhu, H., ..., Wu, G. (2012). Protective effects of n-acetylcysteine on intestinal functions of piglets challenged with lipopolysaccharide. *Amino Acids*, 43(3), 1233–1242. doi: 10.1007/s00726-011-1191-9
- Huang, Y.L., Chassard, C., Hausmann, M., von Itzstein, M., Hennet, T. (2015). Sialic acid catabolism drives intestinal inflammation and microbial dysbiosis in mice. *Nature Communications*, 25(6), 8141. doi: 10.1038/ncomms9141
- Ikenouchi, J., Furuse, M., Furuse, K., Sasaki, H., Tsukita, S., Tsukita, S. (2005). Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *The Journal of Cell Biology*, 171(6), 939–45. doi:10.1083/jcb.200510043.
- Iktor, P., Shida, O., Tsukagoshi, N., Udaka, S. (1989). Screening for raw starch digesting bacteria. *Agric Bioolgy. Chemistry*. 53, 53–60. doi: 10.1271/bbb1961.53.53
- Izquierdo-Casas, J., Comas-Basté, O., Latorre-Moratalla, M.L., Lorente-Gascón, M., Duelo, A., Vidal-Carou, M.C., Soler-Singla, L. (2018). Low serum diamine oxidase (DAO) activity levels in patients with migraine. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 74, 93–99. doi: 10.1007/s13105-017-0571-3

- Izquierdo-Casas, J., Comas-Basté, O., Latorre-Moratalla, M.L., Lorente-Gascón, M., Duelo, A., Soler-Singla, L., Vidal-Carou, M.C. (2019). Diamine oxidase (DAO) supplement reduces headache in episodic migraine patients with DAO deficiency: A randomized double-blind trial. *Clinical Nutrition*, 38, 152–158. doi: 10.1016/j.clnu.2018.01.013
- Jackson, M.I. ve Jewell, D.E. (2018). Balance of saccharolysis and proteolysis underpins improvements in stool quality induced by adding a fiber bundle containing bound polyphenols to either hydrolyzed meat or grain-rich foods. *Gut Microbes*, 30, 1–23. doi: 10.1080/19490976.2018
- Janeczko, S., Atwater, D., Bogel, E., Greiter-Wilke, A., Gerold, A., Baumgart, M. (2008). The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. *Veterinary Microbiology*, 128(1-2), 178–193. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.10.014
- Jeffery, N.D., Barker, A.K., Alcott, C.J., Levine, J.M., Meren, I., Wengert, J., ..., Suchodolski, J.S. The association of specific constituents of the fecal microbiota with immune-mediated brain disease in dogs. (2017). *PLoS One*. 12(1), e0170589. doi: 10.1371/journal.pone.0170589
- Jenkins, T.A., Nguyen, J.C., Polglaze, K.E., Bertrand, P.P. (2016). Influence of Tryptophan and Serotonin on Mood and Cognition with a Possible Role of the Gut-Brain Axis. *Nutrients*, 8, 56. doi: 10.3390/nu8010056
- Ji, B. ve Nielsen, J. (2015). From next-generation sequencing to systematic modeling of the gut microbiome. *Frontiers in Genetics*, 6, 219. doi: 10.3389/fgene.2015.00219
- Jia, J., Frantz, N., Khoo, C., Gibson, G.R., Rastall, R.A., McCartney, A.L. (2010). Investigation of the faecal microbiota associated with canine chronic diarrhoea. *FEMS Microbiology Ecology*, 71(2), 304–312. doi: 10.1111/j.1574-6941.2009.00812.x

- Jiang, T., Gao, X., Wu, C., Tian, F., Lei, Q., Bi, J., ..., Wang, X. (2016). Apple-Derived pectin modulates gut microbiota, improves gut barrier function, and attenuates metabolic endotoxemia in rats with diet-induced obesity. *Nutrients*, 8, 126. doi: 10.3390/nu8030126
- John-Baptiste, A., Huang, W., Kindt, E., Wu, A., Vitsky, A., Scott, W., ..., Ramaiah, S.K. (2012). Evaluation of Potential Gastrointestinal Biomarkers in a PAK4 Inhibitor-treated Preclinical Toxicity Model to Address Unmonitored Gastrointestinal Toxicity. *Toxicologic Pathology*, 40, 482–490. doi: 10.1177/0192623311432289
- Johnson, R.W. (2012). Fueling the immune response: what's the cost?, Patience J.F. (Ed.), *Feed Efficiency in Swine*, (pp. 211-223) Wageningen Academic Publishers, Wageningen.
- Jugan, M.C., Rudinsky, A.J., Parker, V.J., Gilor, C. (2017). Use of probiotics in small animal veterinary medicine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 50, 519–528. doi: 10.2460/javma.250.5.519
- Kamei, H., Hachisuka, T., Nakao, M., Takagi, K. (2005). Quick recovery of serum diamine oxidase activity in patients undergoing total gastrectomy by oral enteral nutrition. *American Journal of Surgery*, 189, 38–43. doi: 10.1016/j.amjsurg.2004.03.015
- Kapeller-Adler, R. (1944). Investigations on the activity of the histaminase in normal and toxemic pregnancy. *Biochemical Journal*, 38, 270-274. doi: 10.1042/bj0380270
- Karabulut, K.U., Narci, H., Gul, M., Dundar, Z.D., Cander, B., Girisgin, A.S., Erdem, S. (2013). Diamine oxidase in diagnosis of acute mesenteric ischemia. *The American Journal of Emergency Medicine*, 31, 309–312. doi: 10.1016/j.ajem.2012.07.029
- Kashiha, M.A., Bahr, C., Ott, S., Moons, C.P.H., Niewold, T.A., Tuytens, F., Berckmans, D. (2014). Automatic monitoring of pig locomotion using image analysis. *Livestock Science*, 159, 141-148.

- Kathrani, A., Holder, A., Catchpole, B., Alvarez, L., Simpson, K., Werling, D., Allenspach, K. (2012). TLR5 risk-associated haplotype for canine inflammatory bowel disease confers hyper-responsiveness to flagellin. *PLoS One*, 7(1), e30117. doi: 10.1371/journal.pone.0030117
- Kelley, R.L., Minikhiem, D., Kiely, B., O'Mahony, L., O'Sullivan, D., Boileau, T., Park, J.S. (2009). Clinical benefits of probiotic canine-derived *Bifidobacterium animalis* strain AHC7 in dogs with acute idiopathic diarrhea. *Veterinary Therapeutics*, 10(3), 121–130.
- Kelly, J., Rudd, A., Lewis, R.R., Hunt, B.J. (2002). Plasma D-dimers in the diagnosis of venous thromboembolism. *Archives of Internal Medicine*, 162(7), 747–56.
- Kennedy, P.J., Cryan, J.F., Dinan, T.G., Clarke, G. (2014). Irritable bowel syndrome: A microbiome-gut-brain axis disorder?. *World Journal of Gastroenterology*, 20, 14105–14125. doi: 10.3748/wjg.v20.i39.14105
- Kerr, K.R., Vester Boler, B.M., Morris, C.L., Liu, K.J., Swanson, K.S. (2012). Apparent total tract energy and macronutrient digestibility and fecal fermentative end-product concentrations of domestic cats fed extruded, raw beef-based, and cooked beef-based diets. *Journal Animal Science*, 90, 515–522. doi: 10.2527/jas.2010-3266
- Khaleghi, S., Ju, J.M., Lamba, A., Murray, J.A. (2016). The potential utility of tight junction regulation in celiac disease: Focus on larazotide acetate. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 9, 37. doi: 10.1177/1756283X15616576
- Kieler, I.N., Ostro, M., Hugentobler, L., Puetz, L., Gilbert, L.M.T., Hansen, T., ..., Bjørnvad, R.C. (2019). Diabetic cats have decreased gut microbial diversity and a lack of butyrate producing bacteria. *Scientific Reports*, 9(1), 4822. doi: 10.1038/s41598-019-41195-0
- Kim, C.H., Kim, D., Ha, Y., Cho, K.D., Lee, B.H., Seo, I.W., ..., Chae, C. (2009). Expression of mucins and trefoil factor family protein-1 in the colon of pigs naturally infected with *Salmonella typhimurium*, *Journal of Comparative Pathology*, 140, 38-42.

- Kim, J., An, J.U., Kim, W., Lee, S., Cho, S. (2017). Differences in the gut microbiota of dogs (*Canis lupus familiaris*) fed a natural diet or a commercial feed revealed by the Illumina MiSeq platform. *Gut Pathology*, 9, 68. doi: 10.1186/s13099-017-0218-5
- Kim, Y.S. ve Ho, S.B. (2010). Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Current Gastroenterology Reports*, 12(5), 319-330. doi: 10.1007/s11894-010-0131-2.
- Klaus, D.A., Motal, M.C., Burger-Klepp, U., Marschalek, C., Schmidt, E.M., LebherzEichinger, D., ..., Roth, G.A. (2013). Increased plasma zonulin in patients with sepsis. *Biochemia Medica (Zagreb)*, 23(1), 107–111. doi: 10.11613/BM.2013.013
- Koenig, M.D. (2008). Presentation and Diagnosis of Mitochondrial Disorders in Children. *Pediatric Neurology*, 38(5), 305-313. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2007.12.001
- Kogut, M.H. ve Arsenault, R.J. (2016). Editorial: gut health: the new paradigm in food animal production. *Frontiers in Veterinary Science*, 3, 71. doi: 10.3389/fvets.2016.00071
- Kong W., Wang J., Ping X., Shen, J., Ni, X., Liu, F., ..., Li, Y. (2015). Biomarkers for assessing mucosal barrier dysfunction induced by chemotherapy: identifying a rapid and simple biomarker. *Clinical Laboratory*, 61(3-4), 371–378. doi: 10.7754/Clin.Lab.2014.140712.
- Koutsos, E.A., Calvert, C.C., Klasing, K.C. (2003). The effect of an acute phase response on tissue carotenoid levels of growing chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology – A*, 135(4), 635-646. doi: 10.1016/s1095-6433(03)00158-2
- Koutsos, E.A., Garcia Lopez, J.C., Klasing, K.C. (2006). Carotenoids from in ovo or dietary sources blunt systemic indices of the inflammatory response in growing chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Journal of Nutrition*, 136(4), 1027-1031. doi: 10.1093/jn/136.4.1027

- Kowlgi, N.G. ve Chhabra, L. (2015). D-lactic acidosis: An underrecognized complication of short bowel syndrome. *Gastroenterology Research and Practice*, 2015,476215. doi: 10.1155/2015/476215
- Kroneman, H., Nieuwenhuizen, W., Knot, E.A.R. (1990). Monoclonal antibody-based plasma assays for fibrin(ogen) and derivatives, and their clinical relevance. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 1, 91–111. doi: 10.1097/00001721-199003000-00012
- Kurundkar, A.R., Killingsworth, C.R., McIlwain, R.B., Timpa, J.G., Hartman, Y.E., He, D., ..., Maheshwari, A. (2010). Extracorporeal membrane oxygenation causes loss of intestinal epithelial barrier in the newborn piglet, *Pediatric Research*, 68, 128-133.
- Kutschera, M., Engst, W., Blaut, M., Braune, A. (2011). Isolation of catechin-converting human intestinal bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 111, 165–175. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05025.x
- Lages, P.C., Generoso, S.V., Correia, M.I.T.D. (2017). Postoperative symbiotic in patients with head and neck cancer: A double-blind randomised trial. *The British Journal of Nutrition*, 119, 190–195. doi: 10.1017/S0007114517003403
- Lagutchik, M.S., Ogilvie, G.K., Hackett, T.B., Wingfield, W.E. (2007). Increased lactate concentrations in III and injured dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 8(2), 117-127. doi: 10.1111/j.1476-4431.1998.tb00052.x
- Lallès, J.P. (2014). Intestinal alkaline phosphatase: novel functions and protective effects. *Nutrition Reviews*, 72(2), 82-94. doi: 10.1111/nure.12082
- Lammers, K.M., Lu, R., Brownley, J., Lu, B., Gerard, C., Thomas, K., ..., Fasano, A. (2008). Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology*, 135(1), 194-204.e3. doi:10.1053/j.gastro.2008.03.023.
- Laukoetter, M.G., Bruewer, M., Nusrat, A. (2006). Regulation of the intestinal epithelial barrier by the apical junctional complex. *Current Opinion in Gastroenterology*, 22(2), 85-9. doi:10.1097/01.mog.0000203864.48255.4f.

- Lee, B., Moon, K.M., Kim, C.Y. (2018). Tight junction in the intestinal epithelium: its association with diseases and regulation by phytochemicals. *Journal of Immunology Research*, 2018, 2645465. doi: 10.1155/2018/2645465
- Lee, W.J. ve Hase, K. (2014). Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. *Nature Chemical Biology*, 10 (6), 416-424. doi: 10.1038/nchembio.1535
- Legge, M. ve Duff, G.B. (1981). Plasma diamine oxidase levels in pregnancy complicated by threatened abortion. *Journal of Clinical Pathology*, 34, 187–188. doi: 10.1136/jcp.34.2.187
- Lei, K., Li, Y.L., Yu, D.Y., Rajput, I.R., Li, W.F. (2013). Influence of dietary inclusion of *Bacillus licheniformis* on laying performance, egg quality, antioxidant enzyme activities, and intestinal barrier function of laying hens. *Poultry Science*, 92(9), 2389-2395. doi: 10.3382/ps.2012-02686
- Li, C., Gao, M., Zhang, W., Chen, C., Zhou, F., Hu, Z., Zeng, C. (2016). Zonulin Regulates Intestinal Permeability and Facilitates Enteric Bacteria Permeation in Coronary Artery Disease. *Science Reports*, 6, 29142. doi: 10.1038/srep29142
- Li, Q., Larouche-Lebel, E., Loughran, K.A., Huh, T.P., Suchodolski, J.S., Oyama, M.A. (2021). Gut dysbiosis and its associations with gut microbiota-derived metabolites in dogs with myxomatous mitral valve disease. *Microbial Systems*, 6(2), e00111-21. doi: 10.1128/mSystems.00111-21
- Li, Y., Zhang, H., Chen, Y.P., Yang, M.X., Zhang, L.L., Lu, Z.X., ..., Wang, T. (2015). *Bacillus amyloliquefaciens* supplementation alleviates immunological stress and intestinal damage in lipopolysaccharide-challenged broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 208, 119-131. doi: 10.3382/ps/pev124
- Liang, J., Tang, M., Wang, L., Huang, R., Fu, A., Zhou, J. (2021). Design and development of novel fasudil derivatives as potent antibreast cancer agent that improves intestinal flora and intestinal barrier function in rats. *Chemical Biology and Drug Design*, 98, 1065–1078. doi: 10.1111/cbdd.13963

- Lima, D.C., Souza, C.M.M., Nakamura, N., Mesa, D., de Oliveira, S.G., Félix, A.P. (2020). Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* C-3102 improves gut health indicators and fecal microbiota of dogs. *Animal Feed Science and Technology*, 270, 114672. doi: [10.1016/j.anifeedsci.2020.114672](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114672)
- Lin, C.W., Kirley, S.D., St Pierre, M. (1981). Tumor and placental histaminase. 1. Affinity chromatography purification and characterization of the placental enzyme. *Oncodev Biology Medicine*, 2, 267-280.
- Liu W., Wang X. H., Yang X. J., Zhang X. Y., Qi W. J. (2016). Intestinal barrier dysfunction and its related factors in patients with sepsis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 96(44), 3568–3572. doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.44.007
- Liu, J., Zhu, P., Peng, J., Li, K., Du, J., Gu, J., Ou, Y. (2007). Identification of disease-associated proteins by proteomic approach in ankylosing spondylitis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 357, 531–536. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.03.179
- Liu, N., Wang, J.Q., Jia, S.C., Chen, Y.K., Wang, J.P. (2018). Effect of yeast cell wall on the growth performance and gut health of broilers challenged with aflatoxin b1 and necrotic enteritis. *Poultry Science*, 97(2), 477–484. doi: 10.3382/ps/pex342
- Liu, S-Q. (2003). Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 83(2), 115–31. doi: 10.1016/s0168-1605(02)00366-5
- Liu, X., Cheng, Y., Shao, L., Ling, Z. (2020). Alterations of the Predominant Fecal Microbiota and Disruption of the Gut Mucosal Barrier in Patients with Early-Stage Colorectal Cancer. *BioMed Research International*, 2020, 2948282. doi: 10.1155/2020/2948282
- Liu, Y., Chen, F., Odle, J., Lin, X., Jacobi, S.K., Zhu, H., ..., Hou, Y. (2012). Fish oil enhances intestinal integrity and inhibits TLR4 and NOD2 signaling pathways in weaned pigs after LPS challenge. *The Journal of Nutrition*, 142(11), 2017–2024. doi: 10.3945/jn.112.164947

- Liu, Z., Li, C., Huang, M., Tong, C., Zhang, X., Wang, L., ..., Wang, J. (2015). Positive regulatory effects of perioperative probiotic treatment on postoperative liver complications after colorectal liver metastases surgery: A double-center and double-blind randomized clinical trial. *BMC Gastroenterology*, 15, 34. doi: 10.1186/s12876-015-0260-z
- Lorenz, I. (2004). Influence of D-lactate on metabolic acidosis and on prognosis in neonatal calves with diarrhoea. *Journal of Veterinary Medicine*, 51(9–10), 425–8. doi: 10.1111/j.1439-0442.2004.00662.
- Luckschander, N., Hall, J.A., Gaschen, F., Forster, U., Wenzlow, N., Hermann, P., ..., Welle, M. (2010). Activation of nuclear factor-kappaB in dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 133(2-4), 228–236. doi: 10.1016/j.vetimm.2009.08.014
- Luk, G.D., Bayless, T.M., Baylin, S.B. (1983). Plasma postheparin diamine oxidase sensitive provocative test for quantitating length of acute intestinal mucosal injury in the rat. *The Journal of Clinical Investigation*, 71(5), 1308–1315. doi: 10.1172/JCI110881
- Macfarlane, G.T., Macfarlane, S. (2012). Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *Journal of AOAC International*, 95(1), 50-60. doi: 10.5740/jaoacint.sge_macfarlane
- Macfarlane, S. ve Macfarlane, G.T. (2007). Regulation of short-chain fatty acid production, *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 67-72. doi: 10.1079/PNS2002207
- Madara, J.L. ve Pappenheimer, J.R. (1987). Structural basis for physiological regulations of paracellular pathways in intestinal epithelia. *The Journal of Membrane Biology*, 100(2), 149-64. doi:10.1007/BF02209147.
- Madara, J.L. ve Trier, J.S. (1980). Structural abnormalities of jejunal epithelial cell membranes in celiac sprue. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*, 43(3), 254-61.

- Madsen, L., Myrmel, L. S., Fjaere, E., Liaset, B., Kristiansen, K. (2017). Links between dietary protein sources, the gut microbiota, and obesity. *Frontier Physiology*, 8,1047. doi: 10.3389/fphys.2017.01047
- Magnuson, T., Jacobson, J.B., Stackpole, C.W. (1978). Relationship between intercellular permeability and junction organization in the preimplantation mouse embryo. *Developmental Biology*, 67(1), 214-24. doi:10.1016/0012-1606(78)90310-x
- Maintz, L. ve Novak, N. (2007). Histamine and histamine intolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85, 1185–1196. doi: 10.1093/ajcn/85.5.1185
- Malíčková, K., Francová, I., Lukáš, M., Kolář, M., Králíková, E., Bortlík, M., ..., Zima, T. (2017). Fecal zonulin is elevated in crohn's disease and in cigarette smokers. *Practical Laboratory Medicine*, 9, 39–44. doi: 10.1016/j.plabm.2017.09.001
- Manchester, A.C., Hill, S., Sabatino, B., Armentano, R., Carroll, M., Kessler, B., ..., Simpson, K.W. (2013). Association between granulomatous colitis in French Bulldogs and invasive *Escherichia coli* and response to fluoroquinolone antimicrobials. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(1), 56–61. doi: 10.1111/jvim.12020
- Manzotti G., Breda D., di Gioacchino M., Burastero S. E. (2016). Serum diamine oxidase activity in patients with histamine intolerance. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 29(1), 105–111. doi: 10.1177/0394632015617170
- Marchesi, J.R., Adams, D.H., Fava, F., Hermes, G.D.A., Hirschfield, G.M., Hold, G., ..., Hart A. (2015). The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*, 65(2), 330-339. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309990
- Markel, M., Berghoff, N., Unterer, S., Oliveira-Barros, L.M., Grellet, A., Allenspach, K., ..., Suchodolski, J.S. (2012). Characterization of fecal dysbiosis in dogs with chronic enteropathies and acute hemorrhagic diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 765–766.

- Marks, S.L., Rankin, S.C., Byrne, B.A., Weese, J.S. (2011). Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(6), 1095–208. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00821.x
- Martin, V.J., Leonard, M.M., Fiechtner, L., Fasano, A. (2016). Transitioning from descriptive to mechanistic understanding of the microbiome: the need for a prospective longitudinal approach to predicting disease. *The Journal of Pediatrics*, 179, 240–248. doi:10.1016/j.jpeds.2016.08.049
- Martinez, K.B., Leone, V., Chang, E.B. (2017). Western diets, gut dysbiosis, and metabolic diseases: are they linked? *Gut Microbes*, 8, 130–142. doi: 10.1080/19490976.2016.1270811
- Martin-Padura, I., Lostaglio, S., Schneemann, M., Williams, L., Romano, M., Fruscella, P., ..., Dejana, E. (1998). Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *The Journal of Cell Biology*, 142(1), 117-27. doi:10.1083/jcb.142.1.117.
- Matthews, S.G., Miller, A.L., Clapp, J., Plötz, T., Kyriazakis, I. (2016). Early detection of health and welfare compromises through automated detection of behavioural changes in pigs. *Veterinary Journal*, 217, 43-51. doi:10.1016/j.tvjl.2016.09.005
- Mavromatis, B.H. ve Kessler, C.M. (2001). D-dimer testing: the role of the clinical laboratory in the diagnosis of pulmonary embolism. *Journal of Clinical Pathology*, 54(9), 664–8. doi: 10.1136/jcp.54.9.664
- Mayeur, C., Gratadoux, J-J., Bridonneau, C., Chegiani, F., Larroque, B., Kapel, N., ..., Joly, F. (2013). Faecal D/L lactate ratio is a metabolic signature of microbiota imbalance in patients with short bowel syndrome. *PLoS One*, 8(1), e54335. doi: 10.1371/journal.pone.0054335
- Mazariegos, M.R., Tice, L.W., Hand, A.R. (1984). Alteration of tight junctional permeability in the rat parotid gland after isoproteranol stimulation. *The Journal of Cell Biology*, 98(5), 1865-77. doi:10.1083/jcb.98.5.1865.

- Mc Cormack, S.A. ve Johnson, L.R. (1991). Role of polyamines in gastrointestinal mucosal growth. *The American Journal of Physiology*, 260, G795-G806. doi: 10.1152/ajpgi.1991.260.6.G795
- McGrath, A.P., Hilmer, K.M., Collyer, C.A., Shepard, E.M., Elmore, B.O., Brown, D.E., ..., Guss, J.M. (2009). The structure and inhibition of human diamine oxidase. *Biochemistry*, 48(41), 9810–9822. doi: 10.1021/bi9014192
- McMahon, L.A., House, A.K., Catchpole, B., Elson-Riggins, J., Riddle, A., Smith, K., ..., Allenspach, K. (2010). Expression of Toll-like receptor 2 in duodenal biopsies from dogs with inflammatory bowel disease is associated with severity of disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 135(1-2), 158–163. doi: 10.1016/j.vetimm.2009.11.012
- McRorie, J. (2013). Clinical data support that psyllium is not fermented in the gut. *The American Journal of Gastroenterology*, 108, 1541. doi: 10.1038/ajg.2013.211
- Meineri, G., Martello, E., Atuahene, D., Miretti, S., Stefanon, B., Sandri, M., ..., Cocolin, L.S. (2022). Effects of *Saccharomyces Boulardii* supplementation on nutritional status, fecal parameters, microbiota, and mycobiota in breeding adult dogs. *Veterinary Sciences*, 9(8), 389. doi: 10.3390/vetsci9080389
- Mennigen, R., Bieganski, T., Elbers, A., Kusche, J. (1989). The histamine-diamine oxidase system and mucosal proliferation under the influence of aminoguanidine and seventy percent resection of the rat small intestine. *Agents Actions*, 27, 221-223. doi: 10.1007/BF02222245
- Mentula, S., Harmoinen, J., Heikkilä, M., Westermarck, E., Rautio, M., Huovinen, P., Könönen, E. (2005). Comparison between cultured small-intestinal and fecal microbiotas in beagle dogs. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4169–4175. doi: 10.1128/AEM.71.8.4169-4175.2005
- Meza-Velázquez, R., López-Márquez, F., Espinosa-Padilla, S., Rivera-Guillen, M., Ávila-Hernández, J., Rosales-González, M. (2017). Association of diamine oxidase and histamine N-methyltransferase polymorphisms with presence of mi-graine in a group of Mexican mothers of children with allergies. *Neurologia*, 32, 500–507. doi: 10.1016/j.nrl.2016.02.025

- Middelbos, I.S., Vester Boler, B.M., Qu, A. (2010). Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. *PLoS One*, 5, e9768. doi: 10.1371/journal.pone.0009768
- Minamoto, Y., Dhanani, N., Markel, M.E., Steiner, J.M., Suchodolski J.S. (2014). Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. *Veterinary Microbiology*, 174, 463-473. doi: [10.1016/j.vetmic.2014.10.005](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.10.005)
- Miyoshi, J., Miyamoto, H., Goji, T., Taniguchi, T., Tomonari, T., Sogabe, M., ..., Takayama, T. (2015). Serum diamine oxidase activity as a predictor of gastrointestinal toxicity and malnutrition due to anticancer drugs. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 30, 1582–1590. doi: 10.1111/jgh.13004
- Monagas, M., Urpi-Sarda, M., Sánchez-Patán, F., Llorach, R., Garrido, I., Gómez-Cordovés, C., ..., Bartolomé, B. (2010). Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food & Function*, 1, 233–253. doi: 10.1039/c0fo00132e
- Monreal, L., Angles, A.M., Monreal, M., Espada, Y., Monasterio, J. (1995). Changes in haemostasis in endurance horses: detection by highly sensitive ELISA tests. *Equine Veterinary Journal*, 18, 120–3.
- Montagnana, M., Danese, E., Lippi, G. (2018). Biochemical markers of acute intestinal ischemia: possibilities and limitations. *Annals of Translational Medicine*, 6, 341. doi:10.21037/atm.2018.07.22
- Mori, A., Goto, A., Kibe, R., Oda, H., Kataoka, Y., Sako, T. (2019). Comparison of the effects of four commercially available prescription diet regimens on the fecal microbiome in healthy dogs. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 81, 1783–1790. doi: 10.1292/jvms.19-0055
- Moussavi, A.R.H., Gilbert, R.O., Overton, T.R., Bauman, D.E., Butler, W.R. (2007). Effects of feeding fish meal and n-3 fatty acids on milk yield and metabolic responses in early lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 136-144.

- Nagahara, T., Ohno, K., Nagao, I., Nakagawa, T., Yokoyama, N., Ohmi, A., ..., Tsujimoto, H. (2021). Changes in the coagulation parameters in dogs with protein-losing enteropathy between before and after treatment. *Journal of Veterinary Medical Science*, 83(8), 1295-1302. doi: 10.1292/jvms.21-0137
- Namikawa, T., Fukudome, I., Kitagawa, H., Okabayashi, T., Kobayashi, M., Hanazaki, K. (2012). Plasma Diamine Oxidase Activity Is a Useful Biomarker for Evaluating Gastrointestinal Tract Toxicities during Chemotherapy with Oral Fluorouracil Anti-Cancer Drugs in Patients with Gastric Cancer. *Oncology*, 82, 147–152. doi: 10.1159/000336799
- Naran, R., Chen, G., Carpita, N.C. (2008). Novel rhamnogalacturonan I and arabinoxylan polysaccharides of flax seed mucilage. *Plant Physiology*. 148, 132–141. doi: 10.1104/pp.108.123513
- Nelson, O.L. ve Andreasen, C. (2002). The role of plasma D-dimer to detect thromboembolic disease in the dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16, 375.
- Niewold, T.A (2015). Chapter 9: intestinal health biomarkers in vivo. *Intestinal Health*, 219-228.
- Nikolaus, S., Schulte, B., Al-Massad, N., Thieme, F., Schulte, D.M., Bethge, J., ..., Schreiber, S. (2017). Increased tryptophan metabolism is associated with activity of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 153, 1504–1516. doi: 10.1053/j.gastro.2017.08.028
- Niwa, T., Nomura, T., Sugiyama, S., Miyazaki, T., Tsukushi, S., Tsutsui, S. (1997). The protein metabolite hypothesis, a model for the progression of renal failure: an oral adsorbent lowers indoxyl sulfate levels in undialyzed uremic patients. *Kidney International Supplements*, 62, 23–28.
- Noble, E.E., Hsu, T.M., Jones, R.B., Fodor, A.A., Goran, M.I., Kanoski, S.E. (2017). Early-life sugar consumption affects the rat microbiome independently of obesity. *Journal Nutrition*, 147, 20–28. doi: 10.3945/jn.116.238816

- Noskova, V., Bottalico, B., Olsson, H., Ehinger, A., Pilka, R., Casslén, B., Hansson, S.R. (2006). Histamine uptake by human endometrial cells expressing the organic cation transporter EMT and the vesicular monoamine transporter-2. *Molecular Human Reproduction*, 12, 483–489. doi: 10.1093/molehr/gah259
- Noverr, M.C. ve Huffnagle, G.B. (2005). The _microflora hypothesis of allergic diseases. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society Allergy and Clinical Immunology*, 35(12), 1511-20. doi:10.1111/j.1365-2222.2005.02379.x.
- Nylund, L., Nermes, M., Isolauri, E., Salminen, S., de Vos, W.M., Satokari, R. (2015). Severity of atopic disease inversely correlates with intestinal microbiota diversity and butyrate-producing bacteria. *Allergy*, 70, 241–244. doi: 10.1111/all.12549
- O'Mahony, S.M., Clarke, G., Borre, Y.E., Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2015). Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, 277, 32–48. doi: 10.1016/j.bbr.2014.07.027.
- Ohlsson, B., Roth, B., Larsson, E., Höglund, P. (2017). Calprotectin in serum and zonulin in serum and feces are elevated after introduction of a diet with lower carbohydrate content and higher fiber, fat and protein contents. *Biomedical Reports*, 6(4), 411–422. doi: 10.3892/br.2017.865
- Oliva, F., Cortese, L., Papparella, S., D'Agostino, L., Daniele, B., Perschino, A. (1997). Postheparin plasma diamine oxidase and its intestinal location in dog, *The European Journal of Comparative Gastroenterology*, 2, 3–6.
- Otto, C.M., Rieser, T.M., Brooks, M.B., Russell, M.W. (2000). Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217, 10. doi: 10.2460/javma.2000.217.1500
- Packer, R.A., Cohn, L.A., Wohlstadter, D.R., Shelton, G.D., Naylor, J.M., Zello, G.A., ..., O' Brien, D.P. (2005). D-lactic acidosis secondary to exocrine pancreatic insufficiency in a cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(1), 106–10. doi: 10.1892/0891-6640(2005)19<106:dastep>2.0.co;2

- Packey, C.D. ve Sartor, R.B. (2009). Commensal bacteria, traditional and opportunistic pathogens, dysbiosis and bacterial killing in inflammatory bowel diseases. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 22(3), 292–301. doi: 10.1097/QCO.0b013e32832a8a5d
- Palomino-Kobayashi, L. A., Ymana, B., Ruiz, J., Mayanga-Herrera, A., Ugarte-Gil, M.F., Pons, M.J. (2022). Zonulin, a marker of gut permeability, is associated with mortality in a cohort of hospitalised peruvian COVID-19 patients. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12-2022. doi: 10.3389/fcimb.2022.1000291
- Panasevich, M.R., Kerr, K.R., Dilger, R.N., Fahey, G.C.Jr., Guérin-Deremau, L., Lynch, G. L. (2015). Modulation of the faecal microbiome of healthy adult dogs by inclusion of potato fibre in the diet. *British Journal Nutrition*. 113, 125–133. doi: 10.1017/S0007114514003274
- Pavón, E.J., Muñoz, P., Lario, A., Longobardo, V., Carrascal, M., Abián, J., ..., Sola, R. (2006). Proteomic analysis of plasma from patients with systemic lupus erythematosus: Increased presence of haptoglobin $\alpha 2$ polypeptide chains over the $\alpha 1$ isoforms. *Proteomics*, 6, S282–S292.
- Pearce, S.C., Mani, V., Boddicker, R.L., Johnson, J.S., Weber, T.E., Ross, J.W., ..., Gabler, N.K. (2013). Heat stress reduces intestinal barrier integrity and favors intestinal glucose transport in growing pigs. *PLoS One*, 8, e70215. doi:10.1371/journal.pone.0070215
- Pilla, R., Guard, B.C., Steiner, J.M. (2019). Administration of a synbiotic containing *Enterococcus faecium* does not significantly alter fecal microbiota richness or diversity in dogs with and without food-responsive chronic enteropathy. *Frontier Veterinary Science*, 6,277. doi: 10.3389/fvets.2019.00277
- Pinna, C., Vecchiato, C. G., Bolduan, C., Grandi, M., Stefanelli, C., Windisch, W., ..., Biagi, G. (2018). Influence of dietary protein and fructooligosaccharides on fecal fermentative end-products, fecal bacterial populations and apparent total tract digestibility in dogs. *BMC Veterinary Research*, 14, 106–116. doi: 10.1186/s12917-018-1436-x

- Qinghong, L., Larouche-Lebel, E., Loughran, K.A., Huh, T.P., Suchodolski, J.S., Oyama, M.A. (2021). Metabolomics analysis reveals deranged energy metabolism and amino acid metabolic reprogramming in dogs with myxomatous mitral valve disease. *Journal of the American Heart Association*, 10, e018923. doi: 10.1161/JAHA.120.018923
- Queen, E.V., Marks, S.L., Farver, T.B. (2012). Prevalence of selected bacterial and parasitic agents in feces from diarrheic and healthy control cats from Northern California. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(1), 54–60. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00843.x
- Radostisis, O., Gay, C., Blood, D., Hinchcliff, K. (2000). *Veterinary Medicine: a Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*.
- Raithel, M., Ulrich, P., Hochberger, J., Hahn, E.G. (1998). Measurement of gut diamine oxidase activity: diamine oxidase as a new biologic marker of colorectal proliferation?. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 859, 262–266.
- Ramezani Ahmadi, A., Sadeghian, M., Alipour, M., Ahmadi Taheri, S., Rahmani, S., Abbasnezhad, A. (2020). The effects of probiotic/synbiotic on serum level of zonulin as a biomarker of intestinal permeability: A systematic review and meta-analysis. *Iran Journal of Public Health*, 49, 1222–1231. doi: 10.18502/ijph.v49i7.3575
- Reber, G., de Moerloose, P. (2000). D-dimer assays for the exclusion of venous thromboembolism. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 26(6), 619–24. doi: 10.1055/s-2000-13217
- Revel, J.P. ve Brown, S.S. (1976). Cell junctions in development with particular reference to the neural tube. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 40, 443-55. doi:10.1101/sqb.1976.040.01.042.
- Ritchie, L.E., Burke, K.F., Garcia-Mazcorro, J.F., Steiner, J.M., Suchodolski, J.S. (2010). Characterization of fecal microbiota in cats using universal 16S rRNA gene and group-specific primers for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. *Veterinary Microbiology*, 144(1-2), 140–146. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.12.045

- Robinson-White, A., Baylin, S.B., Olivecrona, T., Beaven, M.A. (1985). Binding of diamine oxidase activity to rat and guinea pig microvascular endothelial cells. Comparisons with lipoprotein lipase binding. *The Journal of Clinical Investigation*, 76, 93-100. doi:10.1172/JCI111983
- Rokkas, T., Vaja, S., Murphy, G.M., Dowling, R.H. (1990a). Postheparin plasma diamine oxidase in health and intestinal disease. *Gastroenterology*, 98, 1493-1501. doi: 10.1016/0016-5085(90)91081-g
- Rokkas, T., Vaja, S., Taylor, P., Murphy, G.M., Dowling, R.H. (1990b). Is the intestine the sole source of heparin-stimulated plasma diamine oxidase? Acute effects of jejunectomy, ileectomy and total enterectomy. *Digestion*, 46(2), 439-446. doi: 10.1159/000200419
- Rossi, G., Gavazza, A., Vincenzetti, S., Mangiaterra, S., Galosi, L., Marchegiani, A., ..., Cerquetella, M. (2021). Clinicopathological and fecal proteome evaluations in 16 dogs presenting chronic diarrhea associated with lymphangiectasia. *Veterinary Sciences*, 8(10), 242. doi: 10.3390/vetsci8100242
- Rossi, G., Pengo, G., Caldin, M., Palumbo Piccionello, A., Steiner, J.M., Cohen, N.D., ..., Suchodolski, J.S. (2014). Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One*, 9, e94699. doi: 10.1371/journal.pone.0094699
- Rul, F., Ben-Yahia, L., Chegdani, F., Wrzosek, L., Thomas, S., Noordine, M-L., ..., Thomas, M. (2011). Impact of the metabolic activity of *Streptococcus thermophilus* on the colon epithelium of gnotobiotic rats. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(12), 10288–96. doi: 10.1074/jbc.M110.168666
- Russell, W.R., Scobbie, L., Labat, A., Duthie, G.G. (2009). Selective bio-availability of phenolic acids from Scottish strawberries. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53, S85–S91. doi: 10.1002/mnfr.200800302.

- Sáez-Lara, M.J., Robles-Sanchez, C., Ruiz-Ojeda, F.J., Plaza-Diaz, J., Gil, A. (2016). Effects of probiotics and synbiotics on obesity, insulin resistance syndrome, type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: A review of human clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 928. doi: 10.3390/ijms17060928
- Salim S. Y. ve Söderholm J. D. (2011). Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(1), 362–381. doi: 10.1002/ibd.21403.
- Salvo-Romero, E., Cotoner, C.A., Camacho, C.P., Bedmar, M.A., Vicario, M. (2015). The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas:Organo Oficial de la Sociedad Espanola de Patologia Digestiva*, 107(11), 686-96. doi:10.17235/reed.2015.3846/2015.
- Sanders, M.E., Merenstein, D.J., Reid, G., Gibson, G.R., Rastall, R.A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Gastroenterologic Hepatology*. 16, 605–616. doi: 10.1038/s41575-019-0173-3
- Sandholm, M., Vidovic, A., Puotunen-Reinert, A., Sankari, S., Nyholm, K., Rita, H. (1995). D-dimer improves the prognostic value of combined clinical and laboratory data in equine gastrointestinal colic., *Acta Veterinaria Scandinavica*, 36, 255–72. doi: 10.1186/BF03547694
- Sandri, M., Dal Monego, S., Conte, G., Sgorlon, S., Stefanon, B. (2017). Raw meat based diet influences faecal microbiome and end products of fermentation in healthy dogs. *BMC Veterinary Research*, 13, 65.
- Sapone, A., de Magistris, L., Pietzak, M., Clemente, M.G., Tripathi, A., Cucca, F., ..., Fasano, A. (2006). Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes*, 55(5), 1443-9. doi:10.2337/db05-1593.
- Sardet, C., Pisam, M., Maetz, J. (1979). The surface epithelium of teleostean fish gills. Cellular and junctional adaptations of the chloride cell in relation to salt adaptation. *Journal of Cell Biology*, 80(1), 96–117. doi: [10.1083/jcb.80.1.96](https://doi.org/10.1083/jcb.80.1.96)

- Sato, H. ve Koiwa, M. (2008). Fecal D- and L-lactate, succinate and volatile fatty acid levels, and relationships with fecal acidity and diarrhea in neonatal calves. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 79(2), 187–92. doi: 10.1292/jvms.68.973
- Sato, Y., Tanaka, Y., Imai, T., Okumura, N., Matsushashi, N., Takahashi, T., ..., Yoshida, K. (2022). Serum diamine oxidase activity derived from response to chemotherapy affects adverse events and serum amino acid levels. *Support Care Cancer*, 30, 9369–9377. doi: 10.1007/s00520-022-07362-2
- Sattler, J. ve Lorenz, W. (1990). Intestinal Diamine Oxidases and Enteral-Induced Histaminosis: Studies on Three Prognostic Variables in an Epidemiological Model. *Journal of Neural Transmission Supplement*, 32, 291–314. doi: 10.1007/978-3-7091-9113-2_39
- Sattler, J., Hafner, D., Klotter, H.J., Lorenz, W., Wagner, P.K. (1988). Food-induced histaminosis as an epidemiological problem: Plasma histamine elevation and haemodynamic alterations after oral histamine administration and blockade of diamine oxidase. *Agents Actions*, 23, 361-365.
- Schmidt, M., Unterer, S., Suchodolski, J.S., Honneffer, J.B., Guard, B.C., Lidbury, J.A., ..., Kölle, P. (2018). The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLoS One*, 13, 8. doi: 10.1371/journal.pone.0201279
- Schmidt, W.U., Sattler, J., Hesterberg, R., Roher, H.D., Zoedler, T., Sitter, H., Lorenz, W. (1990). Human intestinal diamine oxidase (DAO) activity in Crohn's disease: a new marker for disease assessment?. *Agents and Actions*, 30(1-2), 267-270. doi: 10.1007/BF01969057
- Schmitz, S. ve Suchodolski, J.S. (2016). Understanding the canine intestinal microbiota and its modification by pro-, pre- and synbiotics – what is the evidence? *Veterinary Medicine and Science*, 2, 71–94. doi: 10.1002/vms3.17
- Schwelberger, H.G. ve Bodner, E. (1997). Purification and characterization of diamine oxidase from porcine kidney and intestine. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1340, 152–164. doi: 10.1016/s0167-4838(97)00039-3

- Schwelberger, H.G., Dieplinger, H., Kohlwein, S.D. (1999). Diamine oxidase and catalase are expressed in the same cells but are present in different subcellular compartments in porcine kidney. *Inflammatory Research*, 8(1), 81–82.
- Scott-Moncrieff, J., Treadwell, N.G., McCullough, S.M., Brooks, M. (2001). Hemostatic abnormalitie in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 37(3), 220–7. doi: 10.5326/15473317-37-3-220
- Seo, J., Matthewman, L., Xia, D., Wilshaw, J., Chang, Y.M., Connolly, D.J. (2020). The gut microbiome in dogs with congestive heart failure: a pilot study. *Science Reports*, 10(1), 13777. doi: 10.1038/s41598-020-70826-0
- Sharkey, L.C. ve Wellman, M.L. (2015). Use of lactate in small animal clinical practice. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(3), 567–77. doi: 10.1016/j.cll.2015.05.006
- Sheedy, J.R., Wettenhall, R.E., Scanlon, D., Gooley, P.R., Lewis, D.P., McGregor, N., ..., Meirleir, K.L.D.E. (2009). Increased d-lactic acid intestinal bacteria in patients with chronic fatigue syndrome. *In Vivo*, 23(4), 621–8. pmid:19567398
- Shen, W., Gaskins, H.R., McIntosh, M.K. (2014). Influence of dietary fat on intestinal microbes, inflammation, barrier function and metabolic outcomes. *Journal Nutritional Biochemistry*, 25, 270–280. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.09.009
- Shimomura, Y. ve Sato, H. (2006). Fecal D- and L-lactate, succinate, and volatile fatty acid levels in young dairy calves. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 68(9), 973–7. doi: 10.1292/jvms.68.973
- Shindler, J.S. ve Bardsley, W.G. (1976). Human kidney diamine oxidase: Inhibition. studies. *Biochemical Pharmacology*, 25, 2689-2694.
- Sidelmann, J.J., Gram, J., Jespersen, J., Kluft, C. (2000). Fibrin clot formation and lysis: basic mechanisms. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 26(6), 605–18. doi: 10.1055/s-2000-13216.

- Simpson, K.W., Dogan, B., Rishniw, M., Goldstein, R.E., Klaessig, S., McDonough, P.L., ..., Schukken, Y.H. (2006). Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in boxer dogs. *Infection and Immunity*, 74(8), 4778–4792. doi: 10.1128/IAI.00067-06
- Sjaalstadt, O.V. (1967). Potentiation of aminoguanidine of the sensitivity of sheep to histamine given by mouth. Effect of aminoguanidine in urinary excretion of endogenous histamine. *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences*, 52, 319-330. doi: 10.1113/expphysiol.1967.sp001918
- Soares, I., Belote, B.L., Santin, E., DalPont G.C., Kogut, M.H. (2022). Morphological assessment and biomarkers of low-grade, chronic intestinal inflammation in production animals. *Animals*, 2(21), 3036. doi:10.3390/ani12213036
- Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L.G., Gratadoux, J.J., ..., Langella, P. (2008). *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(43), 16731–16736. doi: 10.1073/pnas.0804812105
- Sokol, H., Seksik, P., Furet, J.P., Firmesse, O., Nion-Larmurier, I., Beaugerie, L., ..., Doré, J. (2009). Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflammatory Bowel Diseases*, 15(8), 1183–1189. doi: 10.1002/ibd.20903
- Song, Z., Cheng, K., Zhang, L., Wang, T. (2017). Dietary supplementation of enzymatically treated *artemisia annua* could alleviate the intestinal inflammatory response in heat-stressed broilers. *Journal of Thermal Biology*, 69, 184–190. doi: 10.1016/j.jtherbio.2017.07.015
- Steinert, R.E., Feinle-Bisset, C., Geary, N., Beglinger, C. (2013). Digestive physiology of the pig symposium: secretion of gastrointestinal hormones and eating control. *Journal of Animal Science*, 91(5), 1963-1973. doi: 10.2527/jas.2012-6022
- Stiles, M.E. ve Holzapfel, W.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1–29. doi: 10.1016/s0168-1605(96)01233-0

- Stokol, T. (2003). Plasma D-dimer for the diagnosis of thromboembolic disorders in dogs. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 33(6), 1419-1435. doi: 10.1016/S0195-5616(03)00096-2
- Stokol, T., Brooks, M.B., Erb, H.N., Mauldin, G. (2000). D-dimer concentrations in healthy dogs and dogs with disseminated intravascular coagulation. *American Journal of Veterinary Research*, 61(4), 393–8. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.393
- Sturgeon, C. ve Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers*, 4(4), e1251384. doi:10.1080/21688370.2016.1251384.
- Suchodolski, J.S., Camacho, J., Steiner, J.M. (2008). Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, 66, 567–578. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x
- Suchodolski, J.S., Dowd, S.E., Wilke, V., Steiner, J.M., Jergens, A.E. (2012a) 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One*, 7(6), e39333. doi: 10.1371/journal.pone.0039333
- Suchodolski, J.S., Markel, M.E., Garcia-Mazcorro, J.F., Unterer, S., Heilmann, R.M., Dowd, S.E., ..., Toresson, L. (2012b). The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One*, 7(12), e51907. doi: 10.1371/journal.pone.0051907
- Suchodolski, J.S., Xenoulis, P.G., Paddock, C.G., Steiner, J.M., Jergens, A.E. (2010). Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Veterinary Microbiology*, 142, 394–400. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.11.002
- Sugawara, G., Nagino, M., Nishio, H., Ebata, T., Takagi, K., Asahara, T., ..., Nimura, Y. (2006). Perioperative synbiotic treatment to prevent postoperative infectious complications in biliary cancer surgery: A randomized controlled trial. *Annals of Surgery*, 244, 706–714. doi: 10.1097/01.sla.0000219039.20924.88

- Summers, S.C., Quimby, J.M., Isaiah, A., Suchodolski, J.S., Lunghofer, P.J., Gustafson, D.L. (2019). The fecal microbiome and serum concentrations of indoxyl sulfate and p-cresol sulfate in cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(2), 662-669. doi: 10.1111/jvim.15389
- Sunvold, G.D., Fahey, G.C., Merchen, N.R., Bourquin, L.D., Titgemeyer, E.C., Bauer, L.L., Reinhart, G.A. (1995b). Dietary fiber for cats: in vitro fermentation of selected fiber sources by cat fecal inoculum and in vivo utilization of diets containing selected fiber sources and their blends. *Journal of Animal Science*, 73, 2329–2339. doi: 10.2527/1995.7382329x
- Sunvold, G.D., Fahey, G.C., Merchen, N.R., Titgemeyer, E.C., Bourquin, L.D., Bauer, L.L., Reinhart, G.A. (1995a). Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. *Journal of Animal Science*, 73(4), 1099–1109. doi: 10.2527/1995.7341099x
- Swanson, K.S., Dowd, S.E., Suchodolski, J.S., Middelbos, I.S., Vester, B.M., Barry, K.A., ..., Fahey, G.C. Jr. (2011). Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *The ISME Journal*, 5, 639–649. doi: 10.1038/ismej.2010.162
- Swanson, K.S., Gibson, G.R., Hutkins, R., Reimer, R.A., Reid, G., Verbeke, K., ... , Sanders, M.E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews: Gastroenterology & Hepatology*, 17, 687. doi: 10.1038/s41575-020-0344-2.
- Swanson, K.S., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Chow, J., Wolf, B.W., ..., Fahey, G.C. (2002). Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. *The Journal of Nutrition*, 132(12), 3721–31. doi: 10.1093/jn/132.12.3721

- Swidsinski, A., Loening-Baucke, V., Vaneechoutte, M., Doerffel, Y. (2008). Active Crohn's disease and ulcerative colitis can be specifically diagnosed and monitored based on the biostructure of the fecal flora. *Inflammatory Bowel Diseases*, 14(2), 147–161. doi: 10.1002/ibd.20330
- Szymanska, E., Wierzbicka, A., Dadalski, M., Kierkus, J. (2021). Fecal zonulin as a noninvasive biomarker of intestinal permeability in pediatric patients with inflammatory bowel diseases—correlation with disease activity and fecal calprotectin. *Journal of Clinical Medicine*, 10(17), 3905. doi: 10.3390/jcm10173905
- Takiishi T., Fenner C. I. M., Camara N. O. S. (2017). Intestinal barrier and gut microbiota: shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers*, 5. doi: 10.1080/21688370.2017.1373208.
- Tanaka, Y., Takahashi, T., Yamaguchi, K., Osada, S., Shimokawa, T., Yoshida, K. (2016). Elemental diet plus glutamine for the prevention of mucositis in esophageal cancer patients receiving chemotherapy: A feasibility study. *Support Care Cancer*, 24, 933–941. doi: 10.1007/s00520-015-2864-9
- Thornalley, P.J. (1993). The glyoxalase system in health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 14(4), 287–371. doi: 10.1016/0098-2997(93)90002-u
- Tretter, L., Patocs, A., Chinopoulos, C. (2016). Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*, 1857 (8), 1086-1101. doi: 10.1016/j.bbabo.2016.03.012
- Tsukahara, T. ve Ushida, K. (2001). Organic acid profiles in feces of pigs with pathogenic or non-pathogenic diarrhea. *Journal of Veterinary Medical Science*, 63, 1351-1354.
- Tsunooka, N., Maeyama, K., Nakagawa, H., Doi, T., Horiuchi, A., Miyauchi, K., ..., Kawachi, K. (2006). Localization and changes of diamine oxidase during cardiopulmonary bypass in rabbits. *The Journal of Surgical Research*, 131(1), 58–63. doi: 10.1016/j.jss.2005.10.004

- Tufvesson, G. (1978a). Purification and properties of human amniotic fluid diamine oxidase. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 38, 463-472. doi: 10.1080/00365517809108452
- Tufvesson, G. (1978b). A comparison between diamine oxidase from human post-heparin blood serum, pregnancy blood serum and amniotic fluid. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 38, 473-476. doi: 10.1080/00365517809108453
- Tun, H.M., Brar, M.S., Khin, N., Jun, L., Hui, R.K., Dowd, S.E., Leung, F.C. (2012). Gene-centric metagenomics analysis of feline intestinal microbiome using 454 junior pyrosequencing. *Journal of Microbiology Methods*, 88, 369–376.
- Tungland, B.C. ve Meyer, D. (2002). Nondigestible oligo- and polysaccharides (dietary fiber): Their physiology and role in human health and food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 90–109. doi: 10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x
- Turner, J.R. (2006). Molecular basis of epithelial barrier regulation: from basic mechanisms to clinical application. *The American Journal of Pathology*, 169(6), 1901-9. doi:10.2353/ajpath.2006.060681.
- Turner, J.R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews, Immunology*, 9(11), 799-809. doi:10.1038/nri2653.
- Urbanová, L., Mišo, O., Nečasová, A., Filipejová, Z., Řeháková, K., Nečas, A. (2022). Use of selected biochemical indices in blood/peritoneal effusion in diagnostics of gastrointestinal tract damage in dogs. *Acta Veterinaria Brno*, 91, 157-162. doi: 10.2754/avb202291020157
- Usami, M., Miyoshit, M., Kanbara, Y., AoyaMat, M., Sakaki, H., Shuno, K., ..., Nomoto, K. (2011). Effects of Perioperative Synbiotic Treatment on Infectious Complications, Intestinal Integrity, and Fecal Flora and Organic Acids in Hepatic Surgery With or Without Cirrhosis. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 35, 317–328. doi: 10.1177/0148607110379813

- Valitutti, F. ve Fasano, A. (2019). Breaking Down Barriers: How understanding celiac disease pathogenesis informed the development of novel treatments. *Digestive Diseases and Sciences*, 64, 1748. doi: 10.1007/s10620-019-05646-y
- Vanuytsel, T., Vermeire, S., Cleynen, I. (2013). The role of haptoglobin and its related protein, zonulin, in inflammatory bowel disease. *Tissue Barriers*, 1(5), 27321. doi: 10.4161/tisb.27321
- Velicky, P., Windsperger, K., Petroczi, K., Pils, S., Reiter, B., Weiss, T., ..., Pollheimer, J. (2018). Pregnancy-associated diamine oxidase originates from extravillous trophoblasts and is decreased in early-onset preeclampsia. *Scientific Reports*, 8, 6342. doi: 10.1038/s41598-018-24652-0
- Verschoof, J., Moritz, A., Kramer, M., Bauer, N. (2015). Hemostatic variables, plasma lactate concentration, and inflammatory biomarkers in dogs with gastric dilatation-volvulus. *Tierärztliche Praxis*, 43(6), 389-98. doi: 10.15654/TPK-150284
- Vighi, G., Marcucci, F., Sensi, L., Di Cara, G., Frati, F. (2008). Allergy and the gastrointestinal system. *Clinical and Experimental Immunology*, 153(1), 3-6. doi: 10.1111/j.1365-2249.2008.03713.x
- Visser, J.T., Lammers, K., Hoogendijk, A., Boer, M.W., Brugman, S., Beijer-Liefers, S., ..., Rozing, J. (2010). Restoration of impaired intestinal barrier function by the hydrolysed casein diet contributes to the prevention of type 1 diabetes in the diabetes-prone BioBreeding rat. *Diabetologia*, 2621–2628. doi:10.1007/s00125-010-1903-9
- Vojdani, A., Vojdani, E., Kharrazian, D. (2017). Fluctuation of zonulin levels in blood vs stability of antibodies. *World Journal of Gastroenterology*, 23(31), 5669–5679. doi:10.3748/wjg.v23.i31.5669
- Vos, T., Barber, R.M., Bell, B., Bertozzi-Villa, A., Biryukov, S., Bolliger, I., ..., Murray, C.J.L. (2015). Global, regional and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, 386, 743–800. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60692-4

- Vos, T., Flaxman, A.D., Naghavi, M., Lozano, R., Michaud, C., Ezzati, M., ..., Memiş, Z.A. (2012). Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380, 2163–2196. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61729-2
- Wang, L., Zhou, J., Hou, Y., Yi, D., Ding, B., Xie, J., ..., Wu, G. (2017). N-Acetylcysteine supplementation alleviates intestinal injury in piglets infected by porcine epidemic diarrhea virus. *Amino Acids*, 49(12), 1931–1943. doi: 10.1007/s00726-017-2397-2
- Wang, S., Yang, J., Zhang, B., Wu, K., Yang, A., Li, C., ..., Qi, D. (2018). Deoxynivalenol impairs porcine intestinal host defense peptide expression in weaned piglets and IPEC-J2 cells. *Toxins*, 10(12), 541. doi: 10.3390/toxins10120541
- Wang, Y., Yang, Z., Zhou, Y., Tan, J., Sun, H., Sun, D., ..., Wei, H. (2022). Effects of different amino acid levels and a carvacrol–thymol blend on growth performance and intestinal health of weaned pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13, 22.
- Wang, Z.X., Huang, C.Y., Hua, Y.P., Huang, W.Q., Deng, L.H., Liu, K.X. (2014). exmedetomidine reduces intestinal and hepatic injury after hepatectomy with inflow occlusion under general an-aesthesia: A randomized controlled trial. *British Journal of Anaesthesia*, 112, 1055–1064. doi: 10.1093/bja/aeu132
- Watts, T., Berti, I., Sapone, A., Gerarduzzi, T., Not, T., Zielke, R., Fasano, A. (2005). Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(8), 2916–21. doi: 10.1073/pnas.0500178102.
- Weese, J.S. ve Martin, H. (2011). Assessment of commercial probiotic bacterial contents and label accuracy. *The Canadian Veterinary Journal*, 52, 43–46.

- Wernimont, S.M., Radosevich, J., Jackson, M.I., Ephraim, E., Badri1, D.V., MacLeay, J.M., ..., Suchodolski, J.S. (2020). The Effects of Nutrition on the Gastrointestinal Microbiome of Cats and Dogs: Impact on Health and Disease. *Frontier Microbiology*, 11-2020. doi: 10.3389/fmicb.2020.01266
- Willing, B.P. ve Van Kessel, A.G. (2010). Host pathways for recognition: establishing gastrointestinal microbiota as relevant in animal health and nutrition. *Livestock Science*, 133, 82-91.
- Wollin, A., Wang, X., Tso, P. (1998). Nutrients regulate diamine oxidase release from intestinal mucosa. *American Journal of Physiology*, 275(4), R969-975. doi: 10.1152/ajpregu.1998.275.4.R969
- Wolvekamp, M.C.J. ve Bruin, R.W.F. (1994). Diamine oxidase: An overview of historical, biochemical and functional aspects. *Digestive Diseases*, 12(1), 2–14. doi: 10.1159/000171432
- Wu, Q.J., Zhou, Y.M., Wu, Y.N., Zhang, L.L., Wang, T. (2013). The effects of natural and modified clinoptilolite on intestinal barrier function and immune response to LPS in broiler chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 153(1-2), 70-76. doi: 10.1016/j.vetimm.2013.02.006
- Xenoulis, P.G., Palculict, B., Allenspach, K., Steiner, J.M., Van House, A.M., Suchodolski, J.S. (2008). Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. *FEMS Microbiology Ecology*. 66(3), 579–589. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00556.x
- Xiao, L., Cui, T., Liu, S., Chen, B., Wang, Y., Yang, T., ..., Chen, J. (2019). Vitamin A supplementation improves the intestinal mucosal barrier and facilitates the expression of tight junction proteins in rats with diarrhea. *Nutrition*, 57, 97–108. doi: 10.1016/j.nut.2018.06.007
- Xiong, W., Ma, H., Zhang, Z., Jin, M., Wang, J., Xu, Y., Wang, Z. (2019). Icariin enhances intestinal barrier function by inhibiting NF-KB signaling pathways and modulating gut microbiota in a piglet model. *RSC Advances*, 9, 37947–37956. doi: 10.1039/C9RA07176H

- Xun, W., Shi, L., Zhou, H., Hou, G., Cao, T., Zhao, C. (2015). Effects of curcumin on growth performance, jejunal mucosal membrane integrity, morphology and immune status in weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*. *International Immunopharmacology*, 27(1), 46-52. doi: 10.1016/j.intimp.2015.04.038
- Yamada, M., Takahashi, N., Matsuda, Y., Sato, K., Yokoji, M., Sulijaya, B., ..., Maeda, T. (2018). A bacterial metabolite ameliorates periodontal pathogen-induced gingival epithelial barrier disruption via GPR40 signaling. *Scientific Reports*, 8, 9008. doi: 10.1038/s41598-018-27408-y
- Yang, X., Darko, K.O., Huang, Y., He, C., Yang, H., He, S., ..., Yin, Y. (2017). Resistant starch regulates gut microbiota: Structure, biochemistry and cell signalling. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 42, 306–318. doi: 10.1159/000477386
- Yegani, M. ve Korver, D.R. (2008). Factors affecting intestinal health in poultry. *Poultry Science*, 87(10), 2052-2063. doi:10.3382/ps.2008-00091
- Yi, D., Liu, W., Hou, Y., Wang, L., Zhao, D., Wu, T., ..., Wu, G. (2018). Establishment of a porcine model of indomethacin-induced intestinal injury. *Frontiers In Bioscience*, 23, 2166-2176.
- Yoseph, B.P., Klingensmith, N.J., Liang, Z., Breed, E.R., Burd, E.M., Mittal, R., ..., Coopersmith, C.M. (2016). Mechanisms of intestinal barrier dysfunction in sepsis. *Shock*, 46, 52. doi: 10.1097/SHK.0000000000000565
- Yu, Q.H. ve Yang, Q. (2009). Diversity of tight junctions (TJs) between gastrointestinal epithelial cells and their function in maintaining the mucosal barrier. *Cell Biology International*, 33(1), 78-82. doi:10.1016/j.cellbi.2008.09.007.
- Zaharuddin, L., Mokhtar, N.M., Nawawi, K.N.M., Ali, R.A.R. (2019). A randomized double-blind placebo-controlled trial of probiotics in post-surgical colorectal cancer. *BMC Gastroenterology*, 19, 131. doi: 10.1186/s12876-019-1047-4
- Zaletok, S., Alexandrova, N., Berdyskykh, N., Ignatenko, N., Gogol, S., Orlovsky, O., ..., Chekhun, V. (2004). Role of polyamines in the function of nuclear transcription factor NF-kappaB in breast cancer cells. *Experimental Oncology*, 26(3), 221–225.

- Zhang, J., Zhao, D., Yi, D., Wu, M., Chen, H., Wu, T., ..., Wu, G. (2019). Microarray analysis reveals the inhibition of intestinal expression of nutrient transporters in piglets infected with porcine epidemic diarrhea virus. *Scientific Reports*, 9, 19798. doi:10.1038/s41598-019-56391-1
- Zhang, L., Zhang, L., Zhan, X., Zeng, X., Zhou, L., Cao, G., ..., Yang, C. (2016). Effects of dietary supplementation of probiotic, clostridium butyricum, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with Escherichia coli k88. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7, 3. doi: 10.1186/s40104-016-0061-4
- Zhao, Q., Li, Y., Yu, B., Yang, P., Fan, L., Tan, B., Tian, Y. (2018). Effects of Preoperative Enteral Nutrition on Postoperative Recent Nutritional Status in Patients with Siewert II and III Adenocarcinoma of Esophagogastric Junction after Neoadjuvant Chemoradiotherapy. *Nutrition and Cancer*, 70, 895–903. doi: 10.1080/01635581.2018.1490780
- Zhao, W., Yuan, M., Li, P., Yan, H., Zhang, H., Liu, J. (2019). Short-chain fructo-oligosaccharides enhances intestinal barrier function by attenuating mucosa inflammation and altering colonic microbiota composition of weaning piglets. *Italian Journal of Animal Science*, 18, 976–986. doi:10.1080/1828051X.2019.1612286
- Zhou, S., Xu, C.D., Chen, S.N., Liu, W. (2006). Correlation of intestinal mucosal injury with serum diamine oxidase. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 44, 93–95.
- Ziese, A.L. ve Sucholdolski, J.S. (2021). Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 51(1), 155-169. doi: 10.1016/j.cvsm.2020.09.004
- Zmora, N., Zilberman-Schapira, G., Suez, J., Halpern, Z., Segal, E., and Elinav, E. (2018). Personalized gut mucosal colonization resistance to empiric probiotics is associated with unique host and microbiome features. *Cell*, 174, 1388–1405. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.041