

RESEARCH ARTICLE

J Res Vet Med. 2024; 43 (2) 102-107

DOI:10.30782/jrv.m.1563880

Sıçan İleumunda Kapsaisin Neden Olduğu Morfometrik Değişikliklerin, IGF-I ve IGF-IR Ekspresyonlarının İncelenmesi

 Ender Deniz ASMAZ^{1 2}

¹Boston University, Department of Electrical&Computer Engineering, Biomedical Engineering Graduate Medical Sciences, Boston, MA 02215, USA

²Ankara Medipol University, School Of Medicine, Department Of Basic Medical Sciences, Department Of Histology And Embryology

Received 09-10-2024 Accepted 27-11-2024

Özet

Bu çalışma kapsaisin uygulaması sonrası ileumdaki histomorfolojik değişiklik ve endokrin, parakrin, otokrin etkiler yoluyla hücre- sel büyümeyi, farklılaşmayı ve apoptozu düzenlemede rol alan IGFI ve onun reseptörü olan IGFI-R'nün ifadesi araştırılmıştır. 21 günlük Sprague-Dawley sıçan Kontrol gurubu ve Kapsaisin alan tedavi grubu olarak 2'ye ayrıldı. Tedavi grubuna 20 gün boyunca deri altında 0,5mg/kg Kapsaisin uygulandı. Deney sonunda ileumlar toplanarak dokular immünohistokimya (IGF-I-IGF-IR) ve morfometrik analizlerle değerlendirildi. Tedavi gruplarının sindirimi destekleyen parametrelerinden villus yüksekliği, kript derinliği, total mukozal kalınlığı, villus/kript oranı, yüzey emilim alanı istatistiki olarak arttı. Ayrıca kriptlerde ve düz kas tabakasında IGF-I ve IGFI-R'nün ifadesinde artış belirlendi. Ancak yüzey epitelinde kontrol grubuna göre herhangi bir istatistiki önem tespit edilmedi. Histomorfolojik parametrelerdeki artış ve hücrelerin mitotik olarak en yoğun olduğu kript bezlerinde görülen IGF-I ve reseptörünün ifadesinde artış Kapsaisin IGF-I ve IGF-IR etki mekanizmasını etkilediği ve tedavinin sindirim sisteminde besin emilimini ve yararlanımını destekleyerek bağırsak morfolojisini olumlu yönde etkilediği sonucuna vardık.

Anahtar kelimeler: İleum, IGF-I, IGF-IR, Kapsaisin.

Investigation of Capsaicin-Induced Morphometric Changes, IGF-I and IGF-IR Expressions in Rat Ileum

Abstract

This study investigated the histomorphological changes in the ileum after capsaicin application and the expression of IGFI and its receptor IGFI-R, which play a role in regulating cellular growth, differentiation and apoptosis through endocrine, paracrine and autocrine effects. 21-day-old Sprague-Dawley rats were divided into 2 groups as the Control group and the Capsaicin-receiving treatment group. 0.5mg/kg Capsaicin was applied subcutaneously to the treatment group for 20 days. At the end of the experiment, the ileums were collected and the tissues were evaluated with immunohistochemistry (IGF-I, IGF-IR) and morphometric analyses. The parameters supporting digestion in the treatment groups, such as villus height, crypt depth, total mucosal thickness, villus/crypt ratio, and surface absorption area, increased statistically. In addition, an increase in the expression of IGF-I and IGF-IR was determined in the crypts and smooth muscle layer. However, no statistical significance was detected in the surface epithelium compared to the control group. The increase in histomorphological parameters and the increase in the expression of IGF-I and its receptor seen in the crypt glands where the cells are mitotically densest lead to the conclusion that capsaicin affects the mechanism of action of IGF-I and IGF-IR and that the treatment positively affects intestinal morphology by supporting nutrient absorption and utilization in the digestive system.

Keywords: Ileum, IGF-I, IGF-IR, Capsaicin.

Giriş

Acı biberin, MÖ 7000'den beri dünya çapında gıda ve ilaç-

ları tatlandırma, koruma konusunda uzun bir geçmişi vardır. Acı biberin başlıca aktif bileşiği olan kapsaisin (KAP), baharatlılık hissi verir ve ağrı, iltihap ve kanser tedavisi de

* Corresponding author: Ender Deniz ASMAZ, E-mail adresi: ender.asmaz@ankamedipol.edu.tr, Boston University, Department of Electrical&Computer Engineering, Biomedical Engineering Graduate Medical Sciences, Boston, MA 02215, USA

dahil olmak üzere insan organizmasında sayısız faydalı rolü belirlenmiştir (1).

KAP, antioksidan, obezite karşıtı, ağrıyı hafifletici ve iltihap önleyici etkiler de dahil olmak üzere geniş kapsamlı güçlü biyolojik özellikler göstermiştir (2). Bununla birlikte, son çalışmalar KAP'nin düşük dozlarda aktivite gösterdiğini ancak yüksek dozlarda yan etkilere sahip olma eğiliminde olduğunu ortaya koymaktadır. KAP sürekli olarak yüksek seviyelerde tüketildiğinde, insanlar günlük yaşamlarında mide ekşimesi, ishal, ağrı ve diğer semptomlar gibi bazı rahatsız edici gastrointestinal (GI) semptomlar hissedebilirler (3). Bu nedenle, KAP alımının GI etkileri giderek daha fazla ilgi görmektedir.

Keskinliği nedeniyle, yüksek doz KAP gastrik asit üretimini engelleyebilir, gastrik iltihaplanmaya neden olarak GI mukozasına zarar verebilir, bağırsak bariyerinde yapısal değişikliklere neden olabilir ve ayrıca bunun gibi pek çok GI sistem semptomlarına neden olabilir (4-12). Bununla birlikte, KAP üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, KAP'nin dozajı ve süresi ve araştırma deneklerinin türleri ve karakterizasyonu nedeniyle farklılık göstermektedir. Bu da KAP'nin spesifik GI etkilerini doğrulamayı zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, KAP alımının GI sağlığı üzerindeki etkilerini belirlemek için tek tip ve net deneysel modeller ve değerlendirme kriterleri bulunmamaktadır.

Buna karşın mevcut araştırmalar KAP'nin GI sağlığı üzerindeki etkilerini açıklamayı amaçlamaktadır. Farelerde doku iltihabı, histopatolojik hasar ve serum GI nöropeptit seviyelerinin KAP'ın farklı dozlarıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, KAP'nin kısa zincirli yağ asitlerini (SCFA'lar) ve bağırsak mikrobiyotasının bileşimini düzenleyip düzenlemediğini belirlemek için bir korelasyon analizi yapılmıştır ve bu KAP tüketimini GI sağlığı ile ilişkilendirmiştir. Çalışmada KAP'nin GI sağlığı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için farelere üç dozda intragastrik olarak KAP uygulanmış ve 40 mg/kg KAP uygulamasının farelerde GI sistemi üzerinde önemli olumsuz etkilere sahip olmadığını, 60 ve 80 mg/kg KAP'nin ise GI dokularına zarar vererek ve anti-inflamatuar sitokin (IL-10) seviyelerini azaltarak GI hasarına neden olduğunu bildirilmiştir (13). Sindirim sistemi ile ilişkili büyüme faktörlerinden IGF-I (İnsülin benzeri büyüme faktörü -I), endokrin, parakrin ve otokrin etkiler yoluyla hücreSEL büyümeyi, farklılaşmayı ve apoptozu düzenlemede önemli bir rol oynar. IGF-I etkisi, IGF-I peptit hormonu, hücre yüzeyi IGF-I reseptörleri (IGF-IR) ve IGF-I'in reseptörüne bağlanmasını düzenleyen altı, iyi karakterize edilmiş IGF bağlayıcı protein (IGFBPs 1-6) içeren karmaşık bir sistem tarafından kontrol edi-

lir (14,15). Sunulan çalışmalarda farelere intraperitoneal IGF-I uygulamasını bağırsak kript derinliğini arttırdığı (34) sıçanlara 14 günlük parenteral IGF-I uygulamasının ise, kript derinliğini ve villus yüksekliğini %30 oranında artırdığı (35), ve oral yolla IGF-I alımının ince bağırsak ağırlığı, DNA içeriği, protein içeriği ve ince bağırsaktaki villus yüksekliği endekslerini artırdığı bildirilmiştir (33).

Son çalışmalar, 14 gün boyunca 20 mg/kg KAP dozunda oral uygulamanın sıçanlarda gastrik ve jejunal mukozal dokularda belirgin inflamatuvar hücre infiltrasyonuna ve hücre vakuollerine neden olduğunu ortaya koymuştur (23). Bununla birlikte, KAP'nin diğer GI dokularını etkileyip etkilemediği bilinmemektedir. KAP alımının GI sağlığı üzerindeki etkileri için hala net bir deneysel model ve değerlendirme kriteri yoktur.

Bu çalışmanın amacı, düşük doz KAP uygulamasının ileum mukoza epitelinde neden olabileceği morfometrik değişikliklerin belirlenmesini yanı sıra IGFI sinyal yolağının düşük doz KAP tedavisi alan sıçan ileumu üzerindeki etki mekanizmasında herhangi bir rolü olup olmadığını araştırmaktır

Materyal ve Metot

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deneysel Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezinden alınan 21 günlük Sprague-Dawley dişi sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar çalışma boyunca kontrollü laboratuvar koşullarında tutuldu.

Etik Standartlara Uygunluk

Deneysel protokolleri Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanım Komitesi tarafından onaylandı ve Ulusal Sağlık Enstitüsü Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu'na (karar no: 08.06.2005/2) uygun olarak ilerlendi.

Deneysel Prosedür

Sıçanlar 10 hayvandan oluşan 2 gruba ayrıldı. 1. grup Kontrol grubu İkinci grup ise; KAP deney grubu (0,5 mg/kg/gün-20gün sc.) (10% etanol, 10% Tween 80 ve 80% distile sudan oluşan bir çözücüde hazırlanan KAP'ın (Sigma Chemical Co. Solventi). 20 günlük uygulama sonunda hayvanlar sodyum pentobarbital enjeksiyonu ile ötenazi edildi ve karın duvarları açıldı. İleumun 2 cm'lik bir kısmı çıkarıldı ve %10 tamponlu formaldehit ile fikse edildi. Doku örnekleri rutin histolojik prosedürlere göre parafin bloklara gömüldü. Beş mikrometre kalınlığında kesitler kesildi ve bir kısmı mormometrik analiz için bir kısmı ise IGF-I ve IGF-IR lokalizasyonu belirlemek üzere ayrıldı.

Morfometrik Analizler

Morfometrik analiz için alınan kesitler Crossman'ın modifiye edilen üçlü boyasıyla boyandı (16). Villus yüksekliği, kript derinliği, villus/kript oranı, toplam mukozal kalınlık, villus yüzeyi emilim alanı ölçüldü ve mikrograflandı (17). Villus emici yüzey alanı şu formül kullanılarak hesaplandı: Villus emici yüzey alanı = $(2 \pi) \times (\text{ortalama villus genişliği}/2) \times \text{villus yüksekliği}$ (18).

Immunohistokimya

Standart streptavidin-biyotin peroksidaz kompleksi tekniği ImpPRESS reaktif kiti (MP 7405, MP 7801) kullanılarak gerçekleştirildi. Kesitler üreticinin firmanın önerdiği şekilde 1:100 IGF-I primer antikoru (G-17) (sc-1422, Santa Cruz, CA, ABD) ve IGF-IR primer antikoru (C-20) Santa Cruz sc: 713 CA, ABD) ile 4°C'de gece boyunca inkübe edildi. Numuneler PBS ile yeniden yıkandı ve oda sıcaklığında 30 dakika boyunca ImmPRESS reaktifi (IGF-1 için anti-goat MP-7405 ve IGF-IR için anti-rabbit MP-7401) ile inkübe edildi. Son olarak görüntüleme için 3,3'-diaminobenzidin (DAB) kullanıldı ve hematoksilin ile karşıt boyama yapıldı. Kesitler ksilol ile temizlendi ve entellan ile kaplandı (19).

Kesitler iki bağımsız gözlemci tarafından aşağıdaki puanlama sistemi kullanılarak değerlendirildi: 0, immün reaksiyon yok; 1, zayıf immün reaksiyon; 2, orta derecede immün reaksiyon; 3, güçlü immün reaksiyon (20).

İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS Statistics version 22 (Statistical Package for Social Science, IBM SPSS, Chicago, U.S.A.) programı kullanılarak yapıldı. İki grubun sayısal verileri arasındaki farkın analizinde Mann-Whitney U Testi kullanılarak yapıldı.

Bulgular

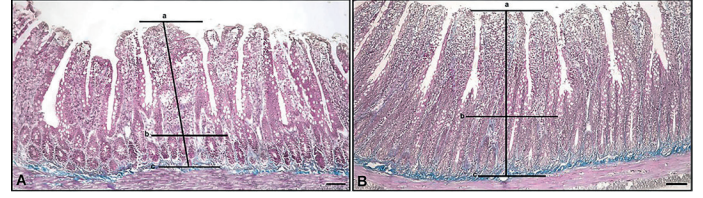
Thirty-Morfometrik bulgular

KAP tedavi grubunda kontrol grubuna göre villus yüksekliği ($p<0,05$), kript derinliği ($p<0,05$), toplam mukozal kalınlık ($p<0,05$), villus/kript oranı ($p<0,05$) ve villus yüzey emilim alanı ($p<0,05$) daha yüksek belirlendi (Şekil 1, Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol gruplarının ve deney grubunun villus yüksekliği, kript derinliği, villus/kript oranı, total mukozal kalınlığı ve villus yüzey emilim alanının morfometrik analizi.

Gruplar	N	Villus yüksekliği (Ort±SE)	Kript derinliği (Ort±SE)	Total mukozal kalınlık (Ort ±SE)	Villus /Kript (Ort ±SE)	Yüzey emilim alanı (Ort ±SE)
Kontrol A	10	1009,02±17,1 ^a	546,5±28,5 ^a	2117,7±48,7 ^a	1,84 ^a	1,30±0,3 ^a
KAP	10	1226,65±35,5 ^b	571,5± 23,9 ^b	2267,7 ± 41,5 ^b	2,14 ^b	1,47±0,03 ^b
<i>P</i> değeri		0,21	0,039	0,004	0,028	0,33

Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel anlamlılığı gösterir (^{a,b})

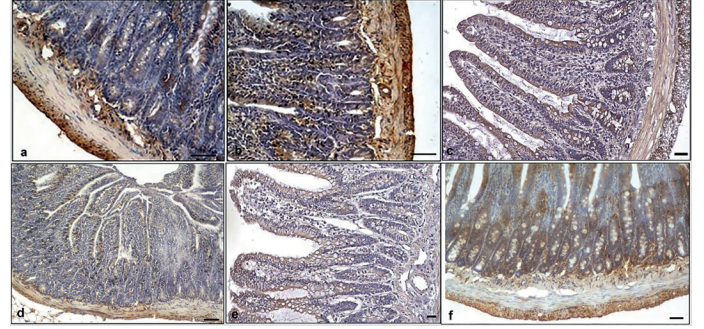


Şekil 1. İleum mukozasının morfometrik analizi (A) Kontrol grubu (B) KAP tedavi grubu a-b:villus yüksekliği, a-c: total mukozal kalınlık, b-c: kript derinliği. Crossman's triple staining (Bar: 100 µm)

Immunohistokimyasal Bulgular

IGF-I immunoreaktivitesi

İleumda, tüm gruptaki villus epitel hücrelerinde orta düzeyde immünreaksiyon belirlendi. Kript epitel hücrelerinin kontrol grubunda hafif bir reaksiyon, KAP tedavi grubunda ise orta düzeyde bir reaksiyon belirlendi. IGF-I kontrol grubu kas tabakası deney grubuna göre daha düşük bir ifade gösterdi. Deney grubunun sirküler kas tabakasında orta düzeyde reaksiyon gösterirken, longitudinal kas tabakasında ifade daha güçlüydü (Şekil 2, Tablo 2) ($p<0,001$).



Şekil 2. İleumda IGF-I ve IGF-IR immunreaksiyonu (a) Kontrol grubu zayıf IGF-I ekspresyonu (b) KAP tedavi grubunda orta düzeyde IGF-I ekspresyonu (c) Deney grubu yüzey epitel hücrelerinde orta, kript hücrelerinde güçlü IGF-I immünreaksiyonu (d) Kontrol grubu zayıf IGF-IR ekspresyonu (e) Deney grubu yüzey epitel hücrelerinde orta, kript hücrelerinde güçlü IGF-IR immünreaksiyonu (f) Deney grubu yüzey epitel hücrelerinde orta, kript hücrelerinde güçlü IGF-I immünreaksiyonu. (Bar: 100 µm -50µm).

Tablo 2. Yüzey epitelinde, kriptlerde, sirküler ve longitudinal kaslarda IGF-I ifadesi.

IGF-I	Kontrol	KAP	<i>P</i>
Yüzey epiteli	2,00±0,22 ^a	2,12±0,11 ^a	-
Kript derinliği	0,81±0,21 ^a	2,58±0,17 ^b	0,001
Sirküler kas	1,21±0,23 ^a	2,44±0,15 ^b	0,001
Longitudinal Kas	1,48±0,18 ^a	2,62±0,23 ^b	0,001

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel anlamlılığı gösterir (^{a,b})

IGF-IR immunoreaktivitesi

İleumun villus epitel hücrelerinde orta şiddette bir reaksiyon gözlemlendi. Kriptlerde ise kontrol grubundaki reaktivite düşük gözlenirken KAP tedavi grubunda güçlü bir immunoreaktivite gözlemlendi. Kas tabakasında ise IGF-I immunreaksiyonuna benzer bir ekspresyon belirlendi. IGF-IR ifadesi sirküler kas tabakasında orta düzeyde ekspresyon olurken,

longitudinal kas tabakasında güçlüydü (Şekil 2, Tablo 3) ($p<0,05$, $p<0,001$).

Tablo 3. Yüzey epitelinde, kriptlerde, sirküler ve longitudinal kaslarda IGF-IR ifadesi.

IGF-IR	Kontrol	KAP	P
Yüzey epiteli	2,35±0,23 ^a	2,44±0,24 ^a	-
Kript derinliği	0,90±0,26 ^a	2,62±0,19 ^b	0,001
Sirküler kas	1,80±0,16 ^a	2,25±0,27 ^b	0,042
Longitudinal Kas	1,96±0,15 ^a	2,62±0,05 ^b	0,001

Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel anlamlılığı gösterir (^{a,b})

Tartışma

KAP'nin düşük dozlarda anti-obezite, ağrı kesici, antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler gibi çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Ancak, KAP sürekli olarak yüksek seviyelerde tüketildiğinde, kişiler mide ekşimesi, ishal, ağrı ve diğer semptomlar gibi GI rahatsızlıkları yaşayabilir. Bu nedenle, KAP alımının GI etkileri giderek daha fazla ilgi görmektedir. Önceki çalışmalarda insanlarda ortalama KAP tüketimini günlük ortalama kişi başına 30-150 mg, farelerde ise 8-37 mg/kg şeklinde ortaya konmuştur (21,22). Sunulan çalışmada düşük doz KAP uygulamasının sıçan ileumundaki etkileri histolojik olarak değerlendirilmiş ve düşük doz KAP uygulamasının sindirimi destekleyici parametrelerinde olumlu etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Sindirim sistemi organlarının genel yapısını oluşturan villusların boyunda ve villus boyuyla direkt olarak ilişkili olan ve mitotik aktivitelerin yoğunlukta olduğu kript bezlerinin derinliğinde istatistiki olarak bir artış gözlenmiştir.

Uzun süreli ve yüksek konsantrasyonda KAP uygulanması sensorik sinirlerden Substance P'nin salınımının tükenmesine ve sinirlerde desensitizasyon yaratarak ağrının ortadan kalkmasına, dolayısıyla nöyro toksisiteye sebep olur (24). KAP ağrı giderici etkisinin yanında, immun sistem, gastrointestinal, kardiovasküler ve solunum sistemleri olmak üzere pek çok sistem üzerine de etkilidir. KAP'ın etkisi dozuna, uygulama şekline, süresine ve dokuya göre değişmektedir (25,26). Son yıllarda fizyolojik ve farmakolojik etkilerinden dolayı, tıp alanı ve ilaç sanayinde de kullanımı yaygınlaşmıştır. KAP ayrıca, sindirim sistemi fonksiyonlarını arttırarak, sindirime ve toksinlerin atılımına yardımcı olur. Kolonda ve HCT-8 hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar KAP'ın barsak epitel hücrelerinde geçirgenliği arttırdığını makromoleküllerin ve iyonların geçişini kolaylaştırdığını bildirmiştir (27,28). Alkol ile deneysel olarak sıçanlarda oluşturulan gastrik lezyonlara karşı kapsaisin koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir (29).

IGF sistemi, gastrointestinal sistemde hücre çoğalması, sağ kalımı ve apoptozis için önde gelen endokrin, parakrin ve

otokrin düzenleyici eksen olarak görev yapar (30). Hem IGF-I hem de IGFI-R'in normal hücrelerde mitojenik ve antiapoptotik etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca İnsülin benzeri büyüme faktörü IGF-I'in bağırsak kriptlerinde radyasyon kaynaklı apoptozu engellediğini bildirmiştir (31,32). Bu durum IGF ifadesindeki artışın sindirim sistemini olumlu yönden desteklediğini düşündürmektedir. Çalışmamızda düşük doz KAP uygulamasının kript hücrelerinde IGFI ve IGFI-R'nün ifadesinin arttığını belirledik. İn vivo çalışmalarda IGF'nin bağırsak epitelindeki proliferatif etkilerini göstermek adına pek çok farklı deneysel model ile çalışmalar sunulmuştur. IGF-I'in yenidoğan domuzlara oral yoldan verilmesi, ince bağırsak ağırlığı, DNA içeriği, protein içeriği ve ince bağırsaktaki villus yüksekliğinin endekslerini artırmıştır (33). Başka bir çalışmada ise farelere intraperitoneal IGF-I uygulamasıyla kısa süreli bir tedaviden sonra bile bağırsak kript derinliğinde artış görülmüştür (34). Yetişkin sıçanlara 14 günlük parenteral IGF-I uygulaması, kript derinliğini ve villus yüksekliğini %30 oranında artırmıştır (29). Dolayısıyla sindirim sisteminde IGF ailesinin ifadesi sindirim sistemi parametrelerini olumlu yönden desteklemektedir. Çalışmamızda düşük doz KAP uygulamasının yüzey epitelinde IGF-I ve IGF-IR ifadelerini değiştirmede ancak kript derinliğinde ve iki katmanlı kas tabakası hücrelerinde tedavi sonrası ifadelerde artış olduğunu gösterdi. Epitel hücrelerinde IGF ailesinde bir değişiklik görülmemesinin uygulama süresi ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç

Sonuç olarak bu çalışmada düşük doz KAP uygulamasının sindirim sistemi parametrelerini (villus yüksekliği, kript derinliği, total mukozal kalınlık, villus/kript oranı, yüzey emilim alanı) arttığını ve gastrointestinal sistemde hücre çoğalması, sağ kalımı ve apoptozis için önemli bir büyüme faktörü olan IGF-I ve IGF-IR'nün ifadesinin arttığını belirledik. Bu ifadelerdeki artışın ve morfolojik olarak sindirim sistemini destekleyici parametrelerin artışı kullanılabilecek doz ve süreyle ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Dolayısıyla bu durumda Kapsaisin gösterdiği etkileri IGF-I ve IGF-IR etki mekanizmasını etkileyerek gösterdiği ve tedavinin sindirim sisteminde besin emilimini ve yararlanımını destekleyerek bağırsak morfolojisini olumlu yönde etkilediği sonucuna vardır.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK-TOVAG (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) 104 O 372 numaralı projeden sağlanan bütçe ile finanse edilmiştir.

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Berrin

Zık'a çalışmanın yürütülmesinde verdiği sonsuz destek için teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Kaynaklar

- Richards BL, Whittle SL, Buchbinder R. Neuromodulators for pain management in rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;1:Cd008921.
- Srinivasan K. Biological activities of red pepper (*Capsicum annuum*) and its pungent principle Capsaicin :A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2016;56:1488–1500.
- Hammer J., Vogelsang H. Characterization of sensations induced by capsaicin in the upper gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol Motil*. 2007;19:279–287.
- Mozsik G., Vincze A., Szolcsanyi J. Four response stages of capsaicin-sensitive primary afferent neurons to capsaicin and its analog: Gastric acid secretion, gastric mucosal damage and protection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001;16:1093–1097.
- Lu M, Cao Y, Ho CT, Huang Q. Development of organogel-derived Capsaicin nanoemulsion with improved bioaccessibility and reduced gastric mucosa irritation. *J Agric Food Chem*. 2016;64:4735–4741.
- Lu M, Cao Y, Ho CT, Huang Q. The enhanced anti-obesity effect and reduced gastric mucosa irritation of capsaicin-loaded nanoemulsions. *Food Funct*. 2017;8:1803–1809.
- Han J, Zhang S, Liu X, Xiao C. Fabrication of capsaicin emulsions: Improving the stability of system and relieving the irritation to the gastrointestinal tract of rats. *J Sci Food Agric*. 2019;100:129–138.
- Tsukura Y, Mori M, Hirotsu Y, et al. Effects of capsaicin on cellular damage and monolayer permeability in human intestinal Caco-2 cells. *Biol Pharm Bull*. 2007;30:1982–1986.
- Umeda K, Ikenouchi J, Katahira-Tayama S, et al. ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight-junction strand formation. *Cell*. 2006;126:741–754.
- Drewes AM, Schipper KP, Dimcevski G, et al. Gut pain and hyperalgesia induced by capsaicin: A human experimental model. *Pain*. 2003;104:333–341.
- Van Avesaat M, Troost FJ, Westerterp-Plantenga MS, et al. Capsaicin-induced satiety is associated with gastrointestinal distress but not with the release of satiety hormones. *Am J Clin Nutr*. 2016;103:305–313.
- Van Wanrooij SJM, Wouters MM, Van Oudenhove L, et al. Sensitivity Testing in Irritable Bowel Syndrome With Rectal Capsaicin Stimulations: Role of TRPV1 Upregulation and Sensitization in Visceral Hypersensitivity? *Am J Gastroenterol*. 2014;109:99–109.
- Xiang Q, Tang X, Cui S, et al. Capsaicin, the Spicy Ingredient of Chili Peppers: Effects on Gastrointestinal Tract and Composition of Gut Microbiota at Various Dosages. *Foods*. 2022;25:686.
- Beattie J, Allan GJ, Lochrie JD, Flint DJ. Insulin-like growth factorbinding protein-5 (IGFBP-5): a critical member of the IGF axis. *Biochem J*. 2006;395:1–19.
- Denley A, Cosgrove LJ, Booker GW, Wallace JC, Forbes BE. Molecular interactions of the IGF system. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2005;16:421–439.
- Yesilbag D, Abdullahoglu E, Urkmez E, Acar A, Asmaz D, Kara M. Evaluation of the Effects of Different Natural Dietary Feed Additives on Performance and Intestinal Histomorphology in Quails. *J Hellenic Vet Med Soc*. 2022;73:4407–4416.
- Guler S, Asmaz D, Kayapınar NV, et al. Effects of dietary calcium, phosphorus and microbial phytase on intestinal morphology in laying hens. *Turk J Vet Anim Sci*. 2022;46:2:14.
- Asmaz ED, Yesilbag D, Odabasi F, Zık B. Synergistic effect of feed additives on cell proliferation and morphology in quail (*Coturnix coturnix Japonica*) duodenum. *J Hellenic Vet Med Soc*. 2022;73:4575–4582.
- Özgüden-Akkoç CG, Asmaz ED, İlhan T, Zık B. Düşük doz kapsaicin uygulanan sığırcıkların ovaryumlarında TGF-Beta 1'in immunohistokimyasal yerleşimi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*. 2018;15:238–246.
- Asmaz ED, Seyidoğlu N. The prevention role of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) on intestinal health. *Food Sci Hum Wellness*. 2022;11:1342–1346.
- Kwon Y. Estimation of dietary capsaicinoid exposure in Korea and assessment of its health effects. *Nutrients*. 2021;13:2461.
- Nair A., Morsy M.A., Jacob S. Dose translation between laboratory animals and human in preclinical and clinical phases of drug development. *Drug Dev Res*. 2018;79:373–382.
- Han J, Zhang S, Liu X, Xiao C. Fabrication of capsaicin emulsions: Improving the stability of system and relieving the irritation to the gastrointestinal tract of rats. *J Sci Food Agric*. 2019;100:129–138.
- Rashid MH, Inou M, Kondo S, Kawashima T, Bakoshi S, Ueda H. Novel Expression of Vanilloid Receptor 1 on Capsaicin-Insensitive Fibers Accounts for the Analgesic Effect of Capsaicin Cream in Neuropathic Pain. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;304:940–8.
- Toth B, Gannett P. Carcinogenicity of lifelong administration of capsaicin of hot pepper in mice. *In Vivo*. 1992;6:59–63.
- Toth B, Rogan E, Walker B. Tumorigenicity and Mutagenicity Studies with Capsaicin of Hot Peppers. *Anti-*

- cancer Res. 1984;4:117-9.
26. Anuras S, Christiansen J, TEmpleman D. Effect of Capsaicin on Electrical Slow Waves in the Isolated Rat Colon. *Gut*. 1977;18:666-669.
 27. Jensen-Jaorlim E, Gajdzik L, Haberl I. Hot Spices Influence Permeability of Human Intestinal Epithelial Monolayers. *J Nutr*. 1998;128: 577-81.
 28. Uchida M, Yano S, Watanabe K. The Role of Capsaicin-Sensitive Afferent Nerves in Protective Effect of Capsaicin Against Ethanol-Induced Gastric Lesions in Rats. *Jpn J Pharmacol*. 1991;55:279-822.
 29. Kuemmerle JF. Insulin-like growth factors in the gastrointestinal tract and liver. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2012;409-423.
 30. Qiu W, Leibowitz B, Zhang L, Yu J. Growth factors protect intestinal stem cells from radiation-induced apoptosis by suppressing PUMA through the PI3K/AKT/p53 axis. *Oncogene*. 2010;29:1622–1632.
 31. Ramocki NM, Wilkins HR, Magness ST, et al. Insulin receptor substrate-1 deficiency promotes apoptosis in the putative intestinal crypt stem cell region, limits Apcmin/+ tumors, and regulates Sox9. *Endocrinology*. 2008;149:261–267.
 32. Burrin DG, Wester TJ, Davis TA, Amick S, Heath JP. Orally administered IGF-I increases intestinal mucosal growth in formula-fed neonatal pigs. *Am J Physiol*. 1996;270:R1085–R1091.
 33. Potten CS, Owen G, Hewitt D, et al. Stimulation and inhibition of proliferation in the small intestinal crypts of the mouse after in vivo administration of growth factors. *Gut*. 1995;36:864–873.
 34. Steeb CB, Trahair JE, Tomas FM, Read LC. Prolonged administration of IGF peptides enhances growth of gastrointestinal tissues in normal rats. *Am J Physiol*. 1994;266:G1090–G1098.