

PERANAN VARIASI GENETIK DAN DISFUNGSI
RINTANGAN USUS DALAM PESAKIT PENYAKIT
RADANG USUS YANG DIRAWAT DENGAN
VEDOLIZUMAB




NURUL AQILAH BINTI SHAHABUDIN

UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA

| | | | |
|---|--|-----------------|----------------------------------|
|  | UKM-SPKPPP-PT(PdP)-05-AK04-BO07 | No. Semakan: 02 | Tarikh Kuat Kuasa: 27/01/2026 |
| | BORANG DAN SENARAI SEMAK PENYERAHAN TESIS/DISERTASI SELEPAS PEMBETULAN FORM AND CHECKLIST OF AMENDED THESIS/DISSERTATION SUBMISSION | | |

F. KELULUSAN DEKAN/PENGARAH / APPROVAL FROM DEAN/DIRECTOR

| | | |
|---|--|--------------------------------|
| Tandatangan: <i>Signature</i> |  | Tarikh: 25/1/26 <i>Date</i> |
| Nama dan Cap Rasmi: <i>Name and Official Stamp</i> | PROFESOR DATO' DR MARINA MAT BAKI MD (UKM), MS ORL-HNS (UKM), PhD (UCL) Dekan Fakulti Perubatan Pakar Perunding Kanan ORL-HNS Universiti Kebangsaan Malaysia | |

**G. PERAKUAN TESIS/ DISERTASI SARJANA / DOKTOR FALSFAH
(CERTIFICATION OF MASTER'S / DOCTORAL THESIS / DISSERTATION)**

| Nama penuh pengarang <i>(Author's Full Name)</i> | NURUL AQILAH BINTI SHAHABUDIN | | |
|--|---|---|-----------|
| No. Pendaftaran Pelajar <i>(Student's Registration No.)</i> | P110710 | Sesi Akademik <i>(Academic Session)</i> | 2025/2026 |
| Tajuk Tesis / Disertasi <i>(Thesis / Dissertation Title)</i> | PERANAN VARIASI GENETIK DAN DISFUNGSI RINTANGAN USUS DALAM PESAKIT PENYAKIT RADANG USUS YANG DIRAWAT DENGAN VEDOLIZUMAB | | |
| Semua tesis/disertasi dan penerbitan berkaitan hasil penyelidikan pelajar adalah tertakluk kepada Dasar Harta Intelek Universiti Kebangsaan Malaysia. <i>All theses/ dissertations and publications relating to the research work of a student are subject to the Intellectual Property Policy of Universiti Kebangsaan Malaysia.</i> | | | |
| Saya mengaku bahawa tahap akses tesis/disertasi ini sebagai (*Tandakan ✓ dalam kotak bagi maklumat yang berkaitan; tandakan satu (1) kotak di bawah sahaja): <i>I hereby declare the level of access for this thesis/dissertation as follows (tick ✓ the relevant box below; tick only one option).</i> | | | |
| Pilihan Tahap Akses <i>Access Level Selection</i> | | Tafsiran Tahap Akses Tesis/Disertasi <i>Definition of Thesis/Dissertation Access Level</i> | |
| <input type="checkbox"/> | RAHSIA (CONFIDENTIAL) | Mengandungi maklumat rahsia sepertimana yang diperuntukan bawah Akta Rahsia Rasmi 1972. <i>Contains classified information as stipulated under the Official Secrets Act 1972.</i> | |
| <input checked="" type="checkbox"/> | TERHAD (RESTRICTED) | Mengandungi maklumat yang hanya boleh diakses oleh pihak yang mempunyai kebenaran atau keperluan tertentu untuk mengetahuinya yang ditentukan oleh organisasi/ badan di mana penyelidikan dijalankan. <i>Contains information that may only be accessed by parties with specific authorization</i> | |



UKM-SPKPPP-PT(PdP)-05-AK04-BO07

No. Semakan: 02

Tarikh Kuat Kuasa:
27/01/2026**BORANG DAN SENARAI SEMAK PENYERAHAN TESIS/DISERTASI
SELEPAS PEMBETULAN
FORM AND CHECKLIST OF AMENDED THESIS/DISSERTATION
SUBMISSION**

| | | |
|--------------------------|--|---|
| <input type="checkbox"/> | AKSES TERBUKA (OPEN ACCESS) | <p><i>or a defined need to know, as determined by the organization or body where the research is conducted.</i></p> <p>Tesis/disertasi versi akhir dalam format PDF yang boleh diakses secara percuma secara dalam talian dan bebas dari isu hak cipta dan pelesenan <i>The final version of the thesis/dissertation in PDF format that is freely accessible online and free from copyright and licensing issues.</i></p> <p>Kementerian Pendidikan Tinggi melalui surat bertarikh 27 Mac 2025 memutuskan bahawa kebenaran akses tesis / disertasi dalam borang serahan akses terbuka ditentukan oleh penyelia (bukan pelajar). <i>The Ministry of Higher Education, through a letter dated 27 March 2025, has decided that permission for thesis / dissertation access in the open access submission form shall be determined by the supervisor (not the student).</i></p> |
| <input type="checkbox"/> | EMBARGO | <p>Tempoh masa di mana akses kepada tesis/disertasi disekat (ditutup) selama dua (2) tahun atas sebab-sebab tertentu sebagai contoh kerahsiaan atau hak cipta. Tesis/disertasi akan berstatus akses terbuka selepas tamat tempoh <i>embargo</i>. <i>The period during which access to the thesis/dissertation is restricted for two (2) years due to specific reasons, such as confidentiality or copyright. The thesis/dissertation will be granted open-access status upon the expiry of the embargo period.</i></p> |

PENGESAHAN PELAJAR (STUDENT VERIFICATION)

PENGESAHAN PENYELIA (SUPERVISOR VERIFICATION)


TANDATANGAN PELAJAR
(STUDENT'S SIGNATURE)
TANDATANGAN PENYELIA / Pengerusi JK SISWAZAH
(SUPERVISOR'S / CHAIRPERSON SUPERVISION
COMMITTEE SIGNATURE)Nama Pelajar (Student name):
No. Pendaftaran Pelajar
(Student's Registration No.)NURUL AQILAH BINTI SHAHABUDIN
P110710Tarikh:
(Date) 06 MEI 2026Nama Penyelia /
Pengerusi JK Siswazah :
(Supervisor's / Chairperson
Supervision Committee
Name)PROF. DR. NORFILZA MOHD MOKHTAR
Vice President
Research
Management and Science UniversityTarikh: 14 MEI 2026
(Date)

PERANAN VARIASI GENETIK DAN DISFUNGSI RINTANGAN USUS DALAM
PESAKIT PENYAKIT RADANG USUS YANG DIRAWAT DENGAN
VEDOLIZUMAB

NURUL AQILAH BINTI SHAHABUDIN

TESIS YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMPEROLEH
IJAZAH SARJANA SAINS PERUBATAN

FAKULTI PERUBATAN
UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
KUALA LUMPUR

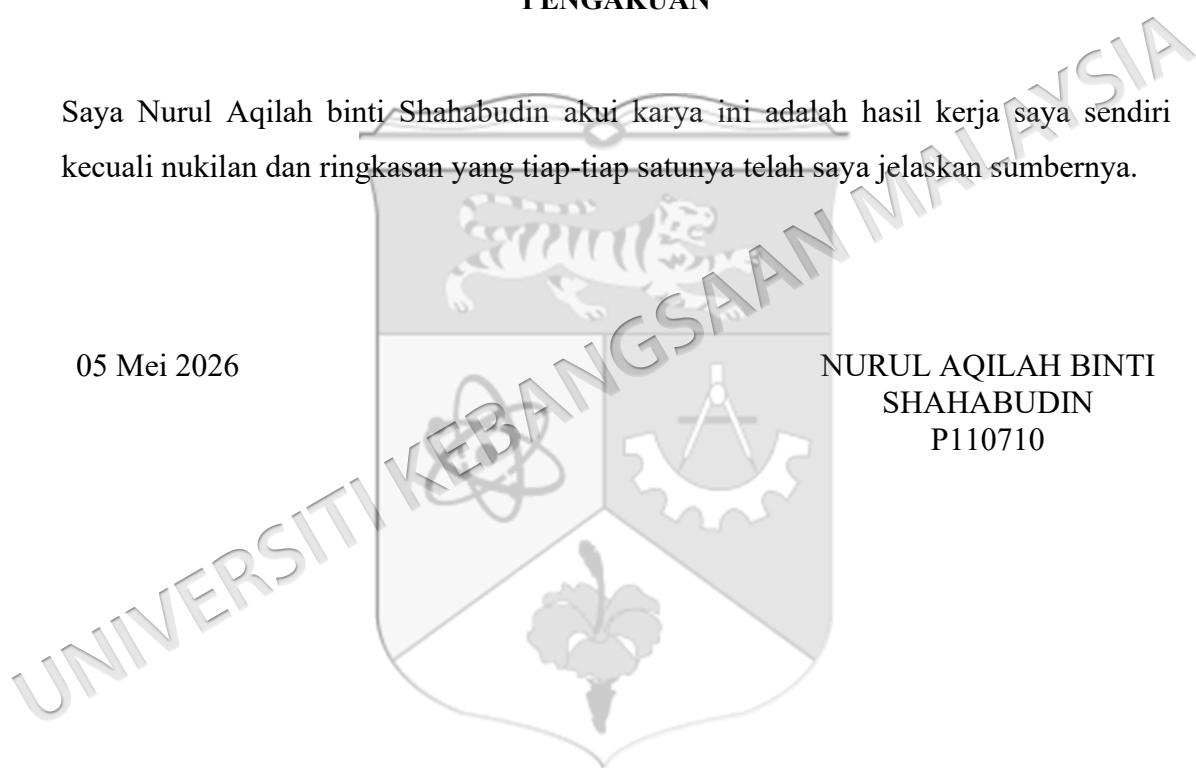
2026

PENGAKUAN

Saya Nurul Aqilah binti Shahabudin akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

05 Mei 2026

NURUL AQILAH BINTI
SHAHABUDIN
P110710



PENGHARGAAN

Pertama sekali saya ingin memanjatkan kesyukuran tidak terhingga kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpah kurnia dan pertolonganNya sepanjang tempoh saya menyiapkan kajian ini di makmal dan penulisan disertasi. Setinggi penghargaan saya ucapkan kepada penyelia utama saya, Prof Dr Norfilza Mohd Mokhtar atas penolongan dan bantuan beliau dalam membimbing saya sepanjang kajian serta banyak memberi kata-kata semangat kepada saya untuk menyiapkan kajian ini. Penghargaan tidak terhingga kepada penyelia bersama, Prof. Dr Raja Affendi Raja Ali atas pertolongan dalam memahami kajian, perbincangan untuk penambahbaikan dan kata-kata nasihat yang diberi kepada saya sepanjang kajian ini.

Jutaan terima kasih diucapkan kepada pihak Kementerian Pengajian Tinggi kerana telah memberi geran penyelidikan (FRGS/1/2020/SKK0/UKM/01/2) yang memberi peluang kepada untuk saya menjalankan penyelidikan di UKM. Saya juga ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada kakitangan kesihatan di Unit Endoskopi, Hospital Canselor Tuanku Mukhriz, Pusat Perubatan UKM, atas pertolongan bagi mendapatkan sampel daripada pesakit untuk kajian saya. Di sini, saya ingin menzahirkan penghargaan kepada kakitangan Jabatan Fisiologi, Jabatan Anatomi, Jabatan Mikrobiologi dan Jabatan Biokimia, Fakulti Perubatan UKM yang membantu saya sepanjang penyelidikan dengan memberi tunjuk ajar dan pertolongan dengan bahan-bahan makmal berserta alatan yang digunakan sepanjang kajian ini. Dengan bantuan dan bimbingan mereka, saya berjaya menjalankan kajian ini dengan lancar.

Saya juga ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada ibu bapa saya kerana banyak memberi kata-kata semangat dan meringankan beban sepanjang kajian. Tanpa doa dan pertolongan daripada mereka, sudah pasti pengajian saya di universiti ini tidak akan terjadi dan mereka adalah insan yang banyak bersama dengan saya. Terima kasih juga kepada sumber kekuatan saya, Tan Wei Hoe kerana tidak pernah putus memberi kata-kata semangat dan sokongan kepada saya sepanjang perjalanan ini. Terima kasih kepada rakan-rakan seperjuangan saya, Derrick Low, Haziq, Atiqah, Maryam, Nadirah, Izyan, Syahidah, Staphanie, Hidayah, dan Hanis yang banyak memberi kata-kata semangat dan menolong saya sepanjang pengajian saya dari awal hingga akhir. Dengan berkat doa dan kasih sayang mereka, saya dapat menjalankan kajian ini dengan lancar. Tidak lupa juga penghargaan kepada sahabat saya iaitu Aida, Hariz, Akmal, Aidid berserta ramai lagi yang sentiasa menyokong, membantu ketika susah dan bersama saya sepanjang pengajian saya dan tanpa mereka, disertasi ini tidak lengkap. Saya bersyukur dengan kehadiran mereka semua dan sangatlah menghargai semua yang menolong saya dan memberi sokongan ketika saya hampir berputus asa dan dengan ini, saya berterima kasih.

ABSTRAK

Rawatan anti-integrin merupakan salah satu rawatan pilihan untuk penyakit radang usus (IBD). Vedolizumab (VDZ) merupakan antibodi monoklonal IgG1 yang dihumanisasikan yang bertindak menghalang lekatan leukosit kepada endotelium dengan mensasar terhadap integrin- $\alpha 4\beta 7$. Pada masa ini, sebilangan besar pesakit IBD sedang menerima terapi VDZ secara intensif, namun tidak semua daripada mereka menunjukkan peningkatan terapeutik yang ketara. Peratusan tinggi rintangan terhadap terapi VDZ mungkin disebabkan oleh disfungsi rintangan usus. Kajian ini bertujuan untuk menyiasat peranan rintangan usus pada pesakit IBD yang menerima terapi VDZ. Satu kajian kohort prospektif telah dijalankan di Pusat Perubatan Universiti Kebangsaan Malaysia di Kuala Lumpur terhadap pesakit IBD yang menerima terapi VDZ dipantau, dengan pemeriksaan endoskopi yang konsisten dalam tempoh tiga dan enam bulan. Biopsi kolon telah diambil daripada 25 pesakit IBD (14 kolitis ulseratif (UC), 11 penyakit Crohn (CD)), dengan penambahan sampel pada tempoh tiga dan enam bulan selepas rawatan daripada 11 pesakit (termasuk responden dan bukan responden), dengan sepuluh individu dengan mukosa usus yang sihat sebagai kumpulan kawalan. Berdasarkan statistik demografi, 44% daripada pesakit berbangsa India, diikuti dengan 28% Melayu dan 28% Cina. Analisis qPCR gen rintangan usus menunjukkan individu yang memberikan respons secara efektif kepada rawatan VDZ menunjukkan peningkatan 5.94 kali ganda dalam ekspresi *CLDN8* berbanding dengan kumpulan kawalan ($p < 0.05$). Sebaliknya, pesakit yang tidak memberi respons menunjukkan penurunan signifikan ekspresi *CLDN8* sebanyak 0.18 kali ganda berbanding dengan kumpulan kawalan ($p < 0.05$). Walau bagaimanapun, tidak ada perbezaan yang signifikan secara statistik dalam ekspresi *MUC1* dan *OCN* antara semua kumpulan dengan kumpulan kawalan. Kajian perubahan ultrastruktur kompleks sambungan apical mendedahkan bahawa lebar jurang persimpangan ketat (TJ) dan persimpangan jarak (GJ) adalah lebih luas secara signifikan dalam pesakit yang tidak memberi respons pada 462.67 nm dan 603 nm masing-masing, berbanding dengan pesakit memberi respons pada 325.67 nm dan 365 nm masing-masing ($p < 0.05$). Kajian mendapati keluasan desmosom tidak berbeza secara signifikan di antara semua kumpulan. Penjujukan sasaran mendapati jumlah keseluruhan mutasi di 51 kawasan intron, 7 ekson, dan 40 kawasan tidak translasi (UTR) di dalam semua sampel. Mutasi frameshift jarang dikesan, tetapi mutasi missense dan sinonim menunjukkan taburan yang hampir sama antara pra-rawatan VDZ dan pos-rawatan VDZ. Walau bagaimanapun, pesakit yang tidak memberi respons VDZ mempunyai mutasi sinonim pada dua lokus gen *CLDN2* (rs762830328 dan rs368168388). Kajian kebolehtelapan rintangan usus melalui analisis ujian rintangan menunjukkan kepekatan zarah nano perak yang melepasi rintangan usus adalah lebih tinggi secara signifikan dalam tempoh 24 jam dan 48 jam pada pesakit tidak memberi respons VDZ selepas rawatan berbanding kumpulan sebelum rawatan dan kumpulan kawalan ($p < 0.05$). Ini menunjukkan kehadiran kebocoran usus pada pesakit ini. Secara keseluruhan, kajian ini berjaya menunjukkan bahawa tindak balas suboptimal yang diperhatikan terhadap VDZ mungkin berkait rapat dengan disfungsi rintangan usus. Perkaitan ini disahkan oleh perubahan dalam ekspresi gen utama rintangan usus, perubahan ultrastruktur yang nyata, dan bukti rintangan usus yang terjejas.

**THE ROLE OF GENETIC VARIANTS AND INTESTINAL BARRIER
DYSFUNCTION IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE PATIENTS
TREATED WITH VEDOLIZUMAB**

ABSTRACT

Anti-integrin therapy is one of the current treatment options for inflammatory bowel disease (IBD). Vedolizumab (VDZ) is a humanised monoclonal IgG1 antibody that blocks leukocyte adhesion to the endothelium by targeting $\alpha 4\beta 7$ -integrin. Currently, a large number of IBD patients are receiving intensive VDZ therapy, yet not all of them exhibit significant therapeutic improvement. The high percentage of VDZ treatment resistance may be due to intestinal barrier dysfunction. This study aimed to investigate the roles of the intestinal barrier in patients with IBD undergoing VDZ therapy. A prospective cohort study was conducted at Universiti Kebangsaan Malaysia Medical Centre in Kuala Lumpur, where individuals with IBD receiving VDZ therapy were followed up with consistent endoscopic examinations every three and six months. Colonic biopsies were obtained from 25 IBD patients (14 ulcerative colitis (UC), 11 Crohn's disease (CD)), with additional sample at three- and six-months post-treatment from 11 patients (both responders and non-responders), along with a control group of ten individuals with healthy colorectal mucosa. The demographic statistics showed that 44% of all patients were Indian, followed by 28% Malay and 28% Chinese. According to qPCR analysis of intestinal barrier genes, those who responded effectively to Vedolizumab treatment had a 5.94-fold higher levels of *claudin 8 (CLDN8)* than the control group ($p < 0.05$). On the other hand, non-responders showed a significant 0.18-fold decrease in *CLDN8* expression compared to the control group ($p < 0.05$). However, there was no statistically significant difference was noted in the expression of *mucin 1 (MUC1)* and *occludin (OCLN)* between all of the groups and the control. The study of the apical junctional complexes' ultrastructural changes revealed that the tight junctions and gap junctions (GJ) gap width were significantly wider in non-responders at 462.67 nm and 603 nm respectively, than in responders at 325.67 nm and 365 nm, respectively ($p < 0.05$). There was no significant differences in the gap width of desmosomes between groups. Targeted sequencing discovered mutations in 51 intronic, 7 exonic, and 40 untranslated regions (UTR) across all samples. The prevalence of missense and synonymous mutations was similar between pre-treatment and post-treatment VDZ, although frameshift mutations were extremely rare. It was discovered that non-responders VDZ had synonymous mutations in two *CLDN2* gene loci (rs762830328 and rs368168388). The study of intestinal barrier permeability showed that a significantly higher concentration of nano silver particles passed through the barrier obtained from non-responder post-treatment VDZ for 24 hours and 48 hours than in pre-treatment and control ($p < 0.05$). This implies the presence of leaky gut. Overall, our study managed to show that the observed suboptimal response to VDZ may be intricately linked to intestinal barrier dysfunction. This association is validated by concomitant alterations in the expression patterns of key intestinal barrier genes, apparent ultrastructural changes, and the evidence of a compromised gut barrier.

KANDUNGAN

| | | Halaman |
|--------------------------|--|----------------|
| PENGAKUAN | | ii |
| PENGHARGAAN | | iii |
| ABSTRAK | | iv |
| ABSTRACT | | v |
| KANDUNGAN | | vi |
| SENARAI JADUAL | | x |
| SENARAI ILUSTRASI | | xi |
| SENARAI SINGKATAN | | xiv |
| | | |
| BAB I | Pengenalan | |
| 1.1 | Pendahuluan | 1 |
| 1.2 | Permasalahan Kajian | 3 |
| 1.3 | Objektif Kajian | 4 |
| | 1.3.1 Objektif Umum | 4 |
| | 1.3.2 Objektif Khusus | 4 |
| 1.4 | Hipotesis Kajian | 5 |
| | | |
| BAB II | ULASAN KEPUSTAKAAN | |
| 2.1 | Penyakit Radang Usus (IBD) | 6 |
| | 2.1.1 Kadar kelaziman IBD pada peringkat global, Asia dan Malaysia | 8 |
| | 2.1.2 Kaedah-kaedah rawatan semasa terhadap pengurusan IBD | 15 |
| | 2.1.3 Etiologi dan faktor-faktor mempengaruhi keberkesanan rawatan IBD | 16 |
| 2.2 | Kaedah rawatan anti-integrin | 21 |
| | 2.2.1 Integrin $\alpha 4\beta 7$ | 22 |
| | 2.2.2 Terapi anti-integrin untuk penyakit IBD | 23 |
| 2.3 | Vedolizumab | 24 |
| | 2.3.1 Mekanisme vedolizumab | 24 |
| 2.4 | Vedolizumab dan fungsi penghalang usus | 27 |
| | 2.4.1 Fungsi rintangan usus | 27 |

| | | |
|------------------------------|--|----|
| 2.5 | Patofisiologi IBD terhadap rintangan usus | 33 |
| 2.5.1 | Perkaitan antara vedolizumab dan rintangan usus | 34 |
| BAB III KAEDAH KAJIAN | | |
| 3.1 | Pendahuluan | 38 |
| 3.2 | Penentuan Saiz Sampel | 39 |
| 3.3 | Kaedah pengekstrakan jumlah dan penilaian kualiti RNA dari sampel tisu biopsi | 40 |
| 3.3.1 | Radas | 40 |
| 3.3.2 | Bahan | 40 |
| 3.3.3 | Penyediaan bahan | 40 |
| 3.3.4 | Kaedah histologi | 42 |
| 3.3.5 | Prosedur pengekstrakan RNA total dari sampel tisu | 44 |
| 3.3.6 | Penentuan Kualiti dan Ketulenan RNA Total | 45 |
| 3.4 | Kaedah pengekspresan gen | 46 |
| 3.4.1 | Sintesis Bebenang Tunggal Komplimentari DNA (cDNA) | 46 |
| 3.4.2 | Pengesahan Kehadiran Bebenang Tunggal Komplimentari DNA | 47 |
| 3.4.3 | Tindak Balas Berantai Polimerase Kuantitatif Masa Nyata untuk Menentukan Pengekspresan Gen | 48 |
| 3.5 | Persediaan dan pemeriksaan sampel mikroskop elektron transmisi | 49 |
| 3.5.1 | Radas | 49 |
| 3.5.2 | Bahan kimia | 49 |
| 3.5.3 | Penyediaan sampel | 49 |
| 3.5.4 | Pewarnaan toluidina biru pada tisu | 50 |
| 3.5.5 | Pemerhatian struktur tisu pada mikroskop elektron transmisi (TEM) | 50 |
| 3.6 | Analisis asai penghalang (<i>Barrier Assay</i>) | 51 |
| 3.6.1 | Penyediaan tisu sampel | 51 |
| 3.6.2 | Penyediaan campuran zarah nano perak | 51 |
| 3.7 | Kaedah pengekstrakan jumlah DNA dari sampel tisu biopsi | 51 |
| 3.7.1 | Radas | 51 |
| 3.7.2 | Bahan | 52 |
| 3.7.3 | Penyediaan bahan | 52 |
| 3.7.4 | Penyediaan dan Pengekstrakan Jumlah DNA | 53 |
| 3.7.5 | Elektroforesis Gel Agaros | 53 |
| 3.8 | Penjjukan generasi hadapan (NGS) | 53 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.8.1 | Kuantifikasi dan kualifikasi DNA genomik | 53 |
| 3.8.2 | Pembinaan perpustakaan DNA (<i>DNA Library Construction</i>) | 54 |
| 3.8.3 | Prosedur Penjujukan DNA yang disasarkan | 54 |
| 3.8.4 | Analisis Bioinformatik | 54 |
| 3.9 | Analisis statistik | 55 |

BAB IV HASIL KAJIAN

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1 | Data demografi pesakit | 56 |
| 4.2 | Histopatologi sampel tisu radang usus | 59 |
| 4.3 | Kualiti, kuantiti dan integriti RNA bagi sampel tisu radang usus | 60 |
| 4.4 | Keberkesanan amplifikasi asai gen | 64 |
| 4.5 | Perbandingan ekspresi gen berkaitan gen penghalang melalui analisis tindakbalas berantai polimerase (RT-qPCR) dalam pesakit radang usus sebelum dan selepas rawatan | 66 |
| 4.5.1 | Relatif ekspresi gen <i>MUC1</i> , <i>CLDN8</i> dan <i>OCN</i> pada tisu kolon pesakit IBD sebelum menjalani rawatan Vedolizumab (VDZ) | 66 |
| 4.6 | Perbandingan perubahan ultrastruktur kompleks sambungan apikal berkaitan inflamasi melalui analisis mikroskop elektron transmisi dalam pesakit radang usus sebelum dan selepas rawatan | 74 |
| 4.7 | Perbandingan tahap kebolehtelapan penghalang usus berkaitan inflamasi melalui analisis ujian penghalang dalam pesakit radang usus sebelum dan selepas intervensi | 78 |
| 4.8 | Penjujukan sasaran gen penghalang usus | 81 |
| 4.8.1 | Penilaian prestasi pengayaan sasaran | 81 |
| 4.8.2 | Ringkasan varian yang dikenal pasti dalam gen berkaitan dengan penghalang usus | 81 |
| 4.8.3 | Taburan Varian Somatik Gen Berkaitan Penghalang Usus Mengikut Kumpulan | 84 |
| 4.8.4 | Taburan Varian Somatik Gen Berkaitan Penghalang Usus Mengikut Kumpulan | 85 |

BAB V PERBINCANGAN

BAB VI KESIMPULAN

| | | |
|-----|--|----|
| 6.1 | Rumusan | 93 |
| 6.2 | Limitasi kajian dan cadangan kajian lanjut | 93 |

RUJUKAN**95****LAMPIRAN**

| | | |
|------------|--|-----|
| Lampiran A | Kelulusan Etika Menjalankan Penyelidikan Di Universiti Kebangsaan Malaysia | 109 |
| Lampiran B | Borang Keizinan Pesakit | 110 |
| Lampiran C | Risalah Maklumat Bagi Rujukan Pesakit | 111 |
| Lampiran D | Persidangan | 113 |



SENARAI JADUAL

| No. Jadual | | Halaman |
|-------------------|--|----------------|
| Jadual 2.1 | Terapi Anti-Integrin untuk Penyakit Radang Usus | 23 |
| Jadual 3.1 | Ciri kemasukan dan eksklusi bagi saringan subjek dalam kajian | 38 |
| Jadual 3.2 | Larutan dan masa rendaman tisu | 42 |
| Jadual 3.3 | Proses nyahparafin, pewarnaan H&E dan dehidrasi tisu paraffin | 43 |
| Jadual 3.4 | Kriteria histologi untuk menentukan tisu radang usus | 44 |
| Jadual 3.5 | Penyediaan campuran penghapusan genomik DNA | 46 |
| Jadual 3.6 | Penyediaan campuran transkripsi-bebalik | 46 |
| Jadual 3.7 | Senarai jujukan primer untuk gen berkait rintangan usus yang dikaji | 47 |
| Jadual 3.8 | Senarai program/perisian dalam talian yang digunakan untuk anotasi varian genomik | 55 |
| Jadual 4.1 | Butiran klinikal dan demografi bagi semua pesakit IBD. Semua data dinyatakan sebagai n kecuali yang dinyatakan dalam jadual. UC, kolitis ulseratif; CD, penyakit Crohn; n , bilangan. Indeks aktiviti penyakit; HBI dan SCCAI sebelum rawatan dengan terapi biologi. | 57 |
| Jadual 4.2 | Kepekatan dan ketulenan RNA bagi sampel tisu normal usus besar | 60 |
| Jadual 4.3 | Kepekatan dan ketulenan RNA bagi sampel tisu radang usus | 60 |
| Jadual 4.4 | Senarai polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) gen <i>CLDN2</i> yang dikesan dalam kumpulan bukan responden terhadap rawatan VDZ yang berbeza daripada kumpulan responden dan kumpulan kawalan. | 85 |
| Jadual 4.5 | Senarai varian somatik (InDel) gen <i>CLDN2</i> yang dikesan dalam kumpulan bukan responden terhadap rawatan VDZ yang berbeza daripada kumpulan responden dan kumpulan kawalan | 85 |

SENARAI ILUSTRASI

| No. Rajah | | Halaman |
|-----------|--|---------|
| Rajah 2.1 | Mekanisme integrin dalam migrasi leukosit ke tapak keradangan. | 22 |
| Rajah 2.2 | Mekanisme potensi tindakan vedolizumab dalam mengurangkan keradangan patologi pada penyakit radang usus. | 23 |
| Rajah 4.1 | Keratan rentas sampel tisu biopsi menggunakan pewarnaan H&E di bawah magnifikasi x100. (A) Tisu biopsi kumpulan kolitis ulseratif. (B) Tisu biopsi kumpulan penyakit Crohn. | 59 |
| Rajah 4.2 | Kepekatan dan ketulen RNA dari satu sampel tisu kolon. Satu sampel RNA dari kumpulan kawalan dengan kepekatan yang tinggi sebanyak 153.18 ng/ μ l dan nisbah 260/280 pada 2.09 dan sampel ini diterima untuk kajian qPCR. | 62 |
| Rajah 4.3 | Imej jalur gel untuk cDNA. Imej jalur gel diperhatikan menggunakan <i>Gel</i> (A) Sampel PCR menggunakan primer <i>GAPDH</i> dengan saiz 88bp dan tetangga RNA 50 bp digunakan sebagai rujukan bagi penentuan sampel. Terdapat enam sampel yang dikaji dan kesemua sampel menunjukkan saiz primer pada 88bp dan diterima untuk kajian qPCR seterusnya. Satu jalur cerah menandakan bahawa terdapat sampel cDNA. (B) Sampel PCR menggunakan primer dengan saiz 104 bp dan tetangga RNA 100 bp digunakan sebagai rujukan atau penanda. Tujuh sampel dikaji dan kesemua sampel menunjukkan jalur cerah maka diterima untuk kajian qPCR seterusnya. bp | 63 |
| Rajah 4.4 | Lengkungan piawaian nilai R^2 bagi gen (A) <i>MUC1</i> , (B) <i>CLDN8</i> . (C) <i>OCN</i> dan (D) <i>GAPDH</i> | 65 |
| Rajah 4.5 | Carta bar yang memaparkan ekspresi relatif gen penghalang usus (<i>MUC1</i> , <i>CLDN8</i> dan <i>OCN</i>) dalam pra-rawatan VDZ pesakit IBD. (a) Ekspresi relatif gen penghalang usus <i>MUC1</i> , <i>CLDN8</i> dan <i>OCN</i> dalam pra-rawatan VDZ bagi kesemua pesakit. (b) Ekspresi relatif gen penghalang usus <i>MUC1</i> , <i>CLDN8</i> dan <i>OCN</i> dalam pra-rawatan VDZ (3 bulan; n = 10) (c) Ekspresi relatif gen penghalang usus <i>MUC1</i> , <i>CLDN8</i> dan <i>OCN</i> dalam pra-rawatan VDZ (6 bulan; n = 15). Nilai dinyatakan sebagai min \pm SEM (** p < 0.01). | 68 |
| Rajah 4.6 | Carta bar yang memaparkan ekspresi relatif gen penghalang usus (<i>MUC1</i> , <i>CLDN8</i> dan <i>OCN</i>) dalam pasca-rawatan VDZ pesakit IBD. (a) Ekspresi gen penghalang usus dalam pasca-rawatan bagi kumpulan bukan responden kepada VDZ berbanding kumpulan kawalan. (b) Ekspresi gen penghalang | |

usus dalam pasca-rawatan bagi kumpulan bukan responden kepada VDZ berbanding kumpulan kawalan selepas 3 bulan. (c) Ekspresi gen penghalang usus dalam pasca-rawatan bagi kumpulan bukan responden kepada VDZ berbanding kumpulan kawalan selepas 6 bulan. (d) Ekspresi gen penghalang usus dalam pasca-rawatan VDZ untuk kumpulan responden berbanding kumpulan kawalan. (e) Ekspresi gen penghalang usus dalam pasca-rawatan bagi kumpulan responden kepada VDZ berbanding kumpulan kawalan selepas 3 bulan. (f) Ekspresi gen penghalang usus dalam pasca-rawatan bagi kumpulan responden kepada VDZ berbanding kumpulan kawalan selepas 6 bulan. Nilai dinyatakan sebagai $\text{min} \pm \text{SEM}$. * menunjukkan perbezaan signifikan pada $p < 0.05$, *** untuk $p < 0.001$ dan **** untuk $p < 0.0001$

73

Rajah 4.7 Imej wakil keratan semi-nipis biopsi kolon yang diwarnakan dengan toluidine biru menunjukkan fungsi spesifik penghadang usus dari pesakit IBD. Imej histologi biopsi penghalang mukosa usus dalam pesakit IBD di bawah pemeriksaan mikroskop cahaya. (a) Kumpulan kawalan yang menunjukkan kelenjar usus dengan epitelium (anak panah; 100x) (b) Kumpulan pra-rawatan IBD, keratan silang radang usus dengan krip yang melebar mengandungi mukus serta kolitis kronik berbanding dengan kumpulan kawalan (anak panah; 100x) (c) Bukan responden VDZ, kolitis kronik dengan displasia gred tinggi (anak panah; x200) (d) Responden VDZ, keratan longitudinal dengan infiltrasi sel radang (f) (x100).

74

Rajah 4.8 Imej TEM bagi kompleks simpangan (JC) dalam IBD (a) Kawalan (b) Pra-rawatan IBD (c) Pasca-rawatan bukan responden VDZ (d) Pasca-rawatan responden VDZ. Keputusan ditunjukkan sebagai purata daripada 10 sampel.

75

Rajah 4.9 Carta bar yang memaparkan lebar persimpangan kompleks termasuklah persimpangan ketat (TJ), persimpangan jarak (GJ) dan desmosom pesakit IBD. (a) Lebar jurang persimpangan ketat (TJ) pesakit IBD. (b) Lebar desmosom pesakit IBD. (c) Persimpangan jarak (GJ) pesakit IBD. Nilai dipersembahkan sebagai min (purata) daripada jumlah sampel, $n = 10$ (**** $p < 0.0001$).

77

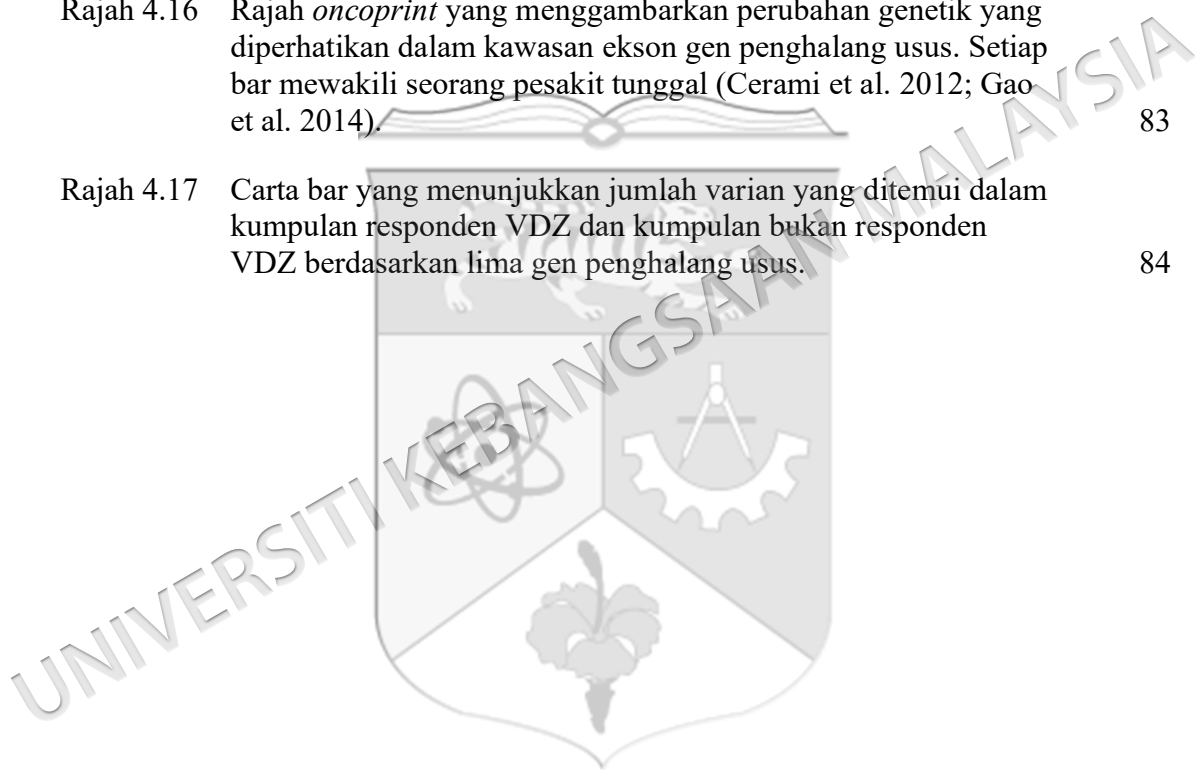
Rajah 4.10 Graf garisan yang memaparkan graf kalibrasi untuk analisis in full please Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) menggunakan elemen jisim langkah, Ag

78

Rajah 4.11 Carta bar yang memaparkan kepekatan zarah nano perak pesakit IBD dalam kumpulan responden VDZ. Nilai dinyatakan sebagai $\text{min} \pm \text{SEM}$ ($p < 0.05$).

79

- Rajah 4.12 Carta bar yang memaparkan kepekatan zarah nano perak pesakit IBD dalam kumpulan bukan responden VDZ. Nilai dinyatakan sebagai $\text{min} \pm \text{SEM}$ ($p < 0.05$). 80
- Rajah 4.13 Carta pai menggambarkan taburan keseluruhan varian merentasi semua sampel. 81
- Rajah 4.14 Graf bar menunjukkan bilangan varian InDel dan SNP yang ditemui dalam setiap gen berkaitan penghalang usus. 82
- Rajah 4.15 Carta bar yang menunjukkan pelbagai perubahan somatik yang ditemui dalam kawasan eksonik merentasi semua sampel. $n=7$, mutasi *missense* ditemui dalam *CLDN2*. 83
- Rajah 4.16 Rajah *oncoprint* yang menggambarkan perubahan genetik yang diperhatikan dalam kawasan ekson gen penghalang usus. Setiap bar mewakili seorang pesakit tunggal (Cerami et al. 2012; Gao et al. 2014). 83
- Rajah 4.17 Carta bar yang menunjukkan jumlah varian yang ditemui dalam kumpulan responden VDZ dan kumpulan bukan responden VDZ berdasarkan lima gen penghalang usus. 84



SENARAI SINGKATAN

| | |
|-------|---|
| % | Peratus |
| AJs | Persimpangan lekatan |
| CD | Penyakit Crohn |
| cDNA | Asid deoksiribonukleik lengkap |
| CLDN2 | Claudin 2 |
| CLDN3 | Claudin 3 |
| CLDN4 | Claudin 4 |
| CLDN5 | Claudin 5 |
| CLDN8 | Claudin 8 |
| DNA | Asid deoksiribonukleik |
| gDNA | Asid deoksiribonukleik genomik |
| GJs | Persimpangan jarak |
| IBD | Penyakit radang usus |
| InDel | Pemadaman sisipan |
| L | Liter |
| M | Molar |
| MUC1 | Mucin 1 |
| mg | Milligram |
| mL | Milimeter |
| mm | Milimeter |
| mM | Milimolar |
| ng | Nanogram |
| OCLN | Occludin |
| PPUKM | Pusat Perubatan Universiti Kebangsaan Malaysia |
| qPCR | Tindak balas berantai polimerase kuantitatif masa nyata |

| | |
|-------|----------------------------------|
| RNA | Asid ribonukleik |
| RNAse | Ribonuklease |
| rpm | Revolusi per minit |
| RT | Enzim transkriptase berbalik |
| SEM | Sisihan ralat piawai |
| SNPs | Polimorfisme nukleotida tunggal |
| TBE | Tris/Borate/EDTA |
| TBS | Larutan Tris-bufer |
| TJs | Persimpangan ketat |
| Treg | Sel T |
| UC | Kolitis ulseratif |
| UKM | Universiti Kebangsaan Malaysia |
| UTR | Kawasan yang tidak diterjemahkan |
| V | Voltage |
| VDZ | Vedolizumab |
| °C | Darjah Celcius |
| A | Alpha |
| β | Beta |
| μg | Mikrogram |
| μL | Mikrometer |
| μM | Mikromolar |
| μg/ml | mikrogram per milliliter |
| μg/ul | Mikrogram per mikroliter |

BAB I

PENGENALAN

1.1 PENDAHULUAN

Penyakit radang usus (*inflammatory bowel disease*) (IBD) semakin meningkat di seluruh dunia, termasuk di negara Malaysia. Ia merupakan keradangan kronik dalam sistem gastrousus, yang biasanya berkembang antara dekad kedua dan keempat kehidupan (Jarmakiewicz-Czaja et al. 2023). Ia juga merupakan penyakit keradangan yang dicirikan oleh disfungsi imunologi yang disebabkan oleh interaksi kompleks antara pembolehubah genetik dan persekitaran, diet yang tidak seimbang, penggunaan alkohol, tekanan hidup, kekurangan tidur, dan juga disbiosis usus (Haneishi et al. 2023). Kambuhan kronik dan remisi keradangan gastrointestinal merupakan ciri-ciri IBD (Pisani et al. 2022). Penyakit Crohn (CD) dan kolitis ulseratif (UC) adalah dua gangguan yang berbeza dengan patofisiologi, tanda, simptom, komplikasi, perjalanan penyakit, dan pendekatan rawatan yang berbeza (Kotla et al. 2023).

Kes IBD semakin meningkat di seluruh dunia, tetapi prevalens dan insiden IBD berbeza secara ketara antara negara dan kawasan, termasuk Malaysia (Mokhtar et al. 2019; Ng et al. 2017). Penyakit IBD dilihat sebagai penyakit yang jarang berlaku serta data mengenai insiden, kliniko-epidemiologi, dan sosiodemografi IBD di Malaysia adalah terhad. Insiden tahunan IBD di Malaysia dilaporkan sebanyak 0.94 bagi setiap 100,000 tahun-orang (Ng, Tang, et al. 2013). Kajian pertama bagi kadar prevalens IBD di Malaysia pada tahun 2015 menunjukkan insiden IBD sebanyak 0.68 bagi setiap 100,000 tahun-orang (Hilmi et al. 2015). Selain itu, trend kejadian IBD juga menunjukkan peningkatan sepanjang dua dekad yang lalu (0.07 meningkat kepada 0.69 bagi setiap 100,000 tahun-orang). Kadar prevalens IBD menunjukkan variasi berdasarkan etnik, bahkan dalam sempadan satu negara. Malaysia merupakan contoh

utama negara yang terdiri daripada pelbagai etnik, di mana Melayu, Cina, dan India hidup bersama. Sub-populasi India menunjukkan kadar prevalens tertinggi iaitu 73.4 bagi setiap 100,000, diikuti oleh Melayu dengan 24.8 bagi setiap 100,000, dan Cina dengan 14.6 bagi setiap 100,000 (Mokhtar et al. 2019).

Intervensi terapeutik dan strategi semasa kebanyakannya tertumpu kepada simptom individu IBD, dengan penekanan terhadap pemulihan epitelium mukosa, homeostasis rintangan, atau disbiosis usus yang terhad (Kotla et al. 2023). Imunosupresan dan biologi telah lama diketahui mempunyai beberapa kelemahan, seperti ketahanan terapeutik, kesan sampingan berkaitan dadah, penindasan imunologi yang teruk, dan kebimbangan keselamatan dalam jangka masa yang panjang (Ashton et al. 2019; Shmidt et al. 2018; Yeshe et al. 2020). Rawatan biologi pertama yang digunakan untuk merawat IBD adalah agen anti-tumor nekrosis faktor (TNF), seperti infliximab dan adalimumab (Park et al. 2015). Cara rawatan IBD telah berubah secara drastik kerana keberkesanan ubat-ubat ini dalam menetapkan dan mengekalkan remisi pada sebahagian besar pesakit. Walau bagaimanapun, tidak semua pesakit bertindak balas atau bertoleransi terhadap dadah anti-TNF (Cui et al. 2021). Seseengah orang mungkin tidak bertindak balas sama sekali, manakala yang lain mungkin menjadi kurang responsif dari masa ke semasa serta mengalami konsekuensi negatif yang memaksa mereka untuk berhenti (Khoury et al. 2019). Oleh itu, pesakit yang tidak bertindak balas atau tidak bertoleransi terhadap rawatan anti-TNF memerlukan rawatan tambahan.

Baru-baru ini, Pentadbiran Makanan dan Ubatan Amerika Syarikat telah meluluskan Vedolizumab (VDZ), sebagai terapi anti-penempelan yang biasanya digunakan untuk merawat IBD secara biologi (Crooks et al. 2020). Sandborn et al. (2013) mendapati bahawa rawatan VDZ secara signifikan meningkatkan simptom klinikal CD dan UC (Sandborn et al. 2013). Beberapa orang tidak mendapat manfaat daripada terapi induksi, walaupun penyelidikan menunjukkan bahawa sehingga 50% pesakit IBD yang dirawat bertindak balas dengan baik terhadap rawatan ini (Favale et al. 2019).

Fungsi rintangan usus memainkan peranan penting dalam IBD (Schoultz et al. 2019). Namun, masih belum jelas bagaimana pemulihan homeostasis mukosa sebagai respons kepada keadaan keradangan dibantu oleh rintangan usus yang sihat. Rintangan usus mempertahankan tuan rumah dari mikroorganisma usus, antigennya makanan, dan toksin yang hadir dalam saluran pencernaan (Gieryńska et al. 2022). Sistem pertahanan fizikal yang berkaitan dengan permukaan mukosa, kompleks simpangan yang menghubungkan sel epitelium yang bersebelahan, dan sel-sel sistem keimunan penyusuaian dan turunannya semuanya bekerja secara sinergi untuk mengekalkan penghalang dalam keadaan yang utuh (Chaplin 2010). Walau bagaimanapun, beberapa faktor, termasuk kecenderungan genetik, diet Barat, antibiotik, alkohol, gangguan ritma sirkadian, tekanan psikologi, dan penuaan boleh mempengaruhi integriti rintangan usus (Martel et al. 2022). Gangguan yang berpanjangan terhadap rintangan usus boleh menyebabkan translokasi komponen mikroba ke dalam badan, yang boleh menyebabkan keradangan usus yang tersebar luas (Fukui 2016). Patofisiologi IBD mungkin melibatkan keradangan yang berterusan pada mukosa usus, kecederaan epitel, dan disbiosis usus, yang akhirnya menyebabkan peningkatan kebolehan penembusan usus yang mengakibatkan usus bocor. Justeru itu, ini boleh mengakibatkan kehilangan respons terhadap VDZ.

1.2 PERMASALAHAN KAJIAN

Walaupun terdapat kemajuan dalam terapi seperti VDZ, yang menghalakan laluan imunologi usus, sebahagian besar pesakit IBD menunjukkan tindak balas rawatan yang tidak memuaskan. Peranan dan pengaruh fungsi rintangan usus dalam konteks terapi VDZ masih kurang difahami, menimbulkan kesenjangan kritikal dalam mengoptimalkan strategi pengurusan IBD.

Rintangan usus berperanan penting sebagai mekanisme pertahanan utama menentang antigen lumen, patogen, dan mengekalkan homeostasis usus. Gangguan dalam penghalang ini, yang diperhatikan dalam patofisiologi IBD, mungkin memberi sumbangan yang besar kepada penghalang rawatan atau keberkesanan yang berkurangan pada VDZ. Walau bagaimanapun, impak spesifik dan mekanisme bagaimana gangguan fungsi rintangan usus mempengaruhi respons VDZ masih tidak jelas, memerlukan penyelidikan menyeluruh.

Kajian terkini mengakui sifat multifaktorial gangguan rintangan usus dalam IBD, melibatkan kecenderungan genetik, disbiosis, pemicu alam sekitar, dan pengawalan imun yang terganggu. Namun, penerokaan menyeluruh yang menghubungkan faktor-faktor ini dengan hasil rawatan VDZ dalam konteks integriti rintangan usus masih kurang.

Kajian ini bertujuan untuk menangani kesenjangan ini dengan menyiasat secara sistematik korelasi antara integriti rintangan usus, disbiosis mikrob, dan keberkesanan VDZ pada pesakit IBD. Dengan menggunakan teknik analisis terkini dan penilaian klinikal yang disahkan, penyelidikan ini bertujuan untuk menerangkan mekanisme asas yang menentukan interaksi antara fungsi rintangan usus dan respons VDZ dalam kumpulan pesakit IBD.

Dengan menyelesaikan masalah ini, penyelidikan ini bermatlamat untuk memberikan wawasan yang penting terhadap penanda ramalan berpotensi, sasaran terapeutik, atau strategi rawatan yang dipersonalisasikan bagi memanfaatkan fungsi rintangan usus untuk mengoptimumkan keberkesanan VDZ dalam pengurusan IBD

1.3 OBJEKTIF KAJIAN

1.3.1 Objektif Umum

Menganalisis pengawalan gen yang berkaitan dengan rintangan usus dan fungsi rintangan pada pesakit IBD yang dirawat dengan terapi VDZ.

1.3.2 Objektif Khusus

- a) Menentukan ekspresi gen rintangan usus dalam pesakit yang tidak memberi respons berbanding dengan pesakit yang memberi respons terhadap rawatan VDZ.
- b) Menentukan perubahan ultrastruktur rintangan usus pesakit IBD yang tidak memberi respons berbanding dengan pesakit yang memberi respons terhadap rawatan VDZ.

c) Menjelaskan integriti dan kebolehtelapan fungsi rintangan usus dalam model ex vivo penyakit IBD.

d) Menentukan mutasi somatik gen terpilih yang berkaitan dengan fungsi rintangan usus dalam rawatan VDZ terhadap pesakit IBD.

1.4 HIPOTESIS KAJIAN

a) Pengekspresan gen rintangan usus dalam pesakit yang tidak memberi respons adalah berkurangan berbanding dengan pesakit yang memberi respons terhadap rawatan VDZ.

b) Perubahan persimpangan rintangan usus pesakit IBD yang tidak memberi respons adalah ketara berbanding dengan pesakit yang memberi respons terhadap rawatan VDZ.

c) Integriti dan kebolehtelapan fungsi rintangan usus adalah rendah dalam kalangan pesakit yang tidak memberi respons berbanding dengan pesakit yang memberi respons terhadap VDZ.

d) Mutasi somatik gen (*CLDN2*, *CLDN3*, *CLDN4*, dan *CLDN5*) berkaitan dengan fungsi rintangan usus dalam rawatan VDZ terhadap pesakit IBD

RUJUKAN

- Aamodt, G., Bengtson, M.-B. & Vatn, M. H. 2013. Can temperature explain the latitudinal gradient of ulcerative colitis? Cohort of Norway. *BMC Public Health* 13(1-8).
- Albert-Bayo, M., Paracuellos, I., González-Castro, A. M., Rodríguez-Urrutia, A., Rodríguez-Lagunas, M. J., Alonso-Cotoner, C., Santos, J. & Vicario, M. 2019. Intestinal mucosal mast cells: key modulators of barrier function and homeostasis. *Cells* 8(2): 135.
- Allais, L., De Smet, R., Verschuere, S., Talavera, K., Cuvelier, C. A. & Maes, T. 2016. Transient receptor potential channels in intestinal inflammation: what is the impact of cigarette smoking? *Pathobiology* 84(1): 1-15.
- Allais, L., Kerckhof, F. M., Verschuere, S., Bracke, K. R., De Smet, R., Laukens, D., Van Den Abbeele, P., De Vos, M., Boon, N. & Brusselle, G. G. 2016. Chronic cigarette smoke exposure induces microbial and inflammatory shifts and mucin changes in the murine gut. *Environmental microbiology* 18(5): 1352-1363.
- Ananthakrishnan, A. N. 2015. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 12(4): 205-217.
- Ananthakrishnan, A. N., Khalili, H., Konijeti, G. G., Higuchi, L. M., De Silva, P., Fuchs, C. S., Willett, W. C., Richter, J. M. & Chan, A. T. 2014. Long-term intake of dietary fat and risk of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut* 63(5): 776-784.
- Antoni, L., Nuding, S., Wehkamp, J. & Stange, E. F. 2014. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 20(5): 1165.
- Arumugam, P., Saha, K. & Nighot, P. 2025. Intestinal epithelial tight junction barrier regulation by novel pathways. *Inflammatory bowel diseases* 31(1): 259-271.
- Asakura, K., Nishiwaki, Y., Inoue, N., Hibi, T., Watanabe, M. & Takebayashi, T. 2009. Prevalence of ulcerative colitis and Crohn's disease in Japan. *Journal of gastroenterology* 44(659-665).
- Ashton, J. J., Green, Z., Kolimarala, V. & Beattie, R. M. 2019. Inflammatory bowel disease: long-term therapeutic challenges. *Expert review of gastroenterology & hepatology* 13(11): 1049-1063.
- Barbara, G., Barbaro, M. R., Fuschi, D., Palombo, M., Falangone, F., Cremon, C., Marasco, G. & Stanghellini, V. 2021. Inflammatory and microbiota-related regulation of the intestinal epithelial barrier. *Frontiers in nutrition* 8(718356).
- Becker, E., Dedden, M., Gall, C., Wiendl, M., Ekici, A. B., Schulz-Kuhnt, A., Schweda, A., Voskens, C., Hegazy, A. & Vitali, F. 2022. Residual homing of $\alpha 4\beta 7$ -expressing $\beta 1+$ PI16+ regulatory T cells with potent suppressive activity correlates with exposure-efficacy of vedolizumab. *Gut* 71(8): 1551-1566.
- Belei, O., Basaca, D.-G., Olariu, L., Pantea, M., Bozgan, D., Nanu, A., Sirbu, I., Mărginean, O. & Enătescu, I. 2024. The Interaction between Stress and Inflammatory Bowel Disease in Pediatric and Adult Patients. *Journal of clinical medicine* 13(5): 1361.
- Benchimol, E. I., Manuel, D. G., Guttman, A., Nguyen, G. C., Mojaverian, N., Quach, P. & Mack, D. R. 2014. Changing age demographics of inflammatory bowel disease in Ontario, Canada: a population-based cohort study of epidemiology trends. *Inflammatory bowel diseases* 20(10): 1761-1769.

- Bernstein, C. N., Singh, S., Graff, L. A., Walker, J. R., Miller, N. & Cheang, M. 2010. A prospective population-based study of triggers of symptomatic flares in IBD. *Official journal of the American College of Gastroenterology* | *ACG* 105(9): 1994-2002.
- Biedermann, L., Brülisauer, K., Zeitz, J., Frei, P., Scharl, M., Vavricka, S. R., Fried, M., Loessner, M. J., Rogler, G. & Schuppler, M. 2014. Smoking cessation alters intestinal microbiota: insights from quantitative investigations on human fecal samples using FISH. *Inflammatory bowel diseases* 20(9): 1496-1501.
- Biedermann, L., Fournier, N., Misselwitz, B., Frei, P., Zeitz, J., Manser, C. N., Pittet, V., Juillerat, P., Von Känel, R. & Fried, M. 2015. High rates of smoking especially in female Crohn's disease patients and low use of supportive measures to achieve smoking cessation—data from the Swiss IBD cohort study. *Journal of Crohn's and Colitis* 9(10): 819-829.
- Bitton, A., Dobkin, P. L., Edwardes, M. D., Sewitch, M. J., Meddings, J. B., Rawal, S., Cohen, A., Vermeire, S., Dufresne, L. & Franchimont, D. 2008. Predicting relapse in Crohn's disease: a biopsychosocial model. *Gut* 57(10): 1386-1392.
- Bitton, A., Vutcovici, M., Patenaude, V., Sewitch, M., Suissa, S. & Brassard, P. 2014. Epidemiology of inflammatory bowel disease in Quebec: recent trends. *Inflammatory bowel diseases* 20(10): 1770-1776.
- Bloomgren, G., Richman, S., Hotermans, C., Subramanyam, M., Goelz, S., Natarajan, A., Lee, S., Plavina, T., Scanlon, J. V. & Sandrock, A. 2012. Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *New England Journal of Medicine* 366(20): 1870-1880.
- Bonaz, B. L. & Bernstein, C. N. 2013. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 144(1): 36-49.
- Brennan, G. T., Melton, S. D., Spechler, S. J. & Feagins, L. A. 2017. Clinical implications of histologic abnormalities in ileocolonic biopsies of patients with Crohn's disease in remission. *Journal of Clinical Gastroenterology* 51(1): 43-48.
- Breugelmans, T., Oosterlinck, B., Arras, W., Ceuleers, H., De Man, J., Hold, G. L., De Winter, B. Y. & Smet, A. 2022. The role of mucins in gastrointestinal barrier function during health and disease. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* 7(5): 455-471.
- Bruewer, M., Utech, M., Ivanov, A. I., Hopkins, A. M., Parkos, C. A. & Nusrat, A. 2005. Interferon- γ induces internalization of epithelial tight junction proteins via a macropinocytosis-like process. *The FASEB Journal* 19(8): 923-933.
- Büning, C., Geissler, N., Prager, M., Sturm, A., Baumgart, D. C., Büttner, J., Bühner, S., Haas, V. & Lochs, H. 2012. Increased small intestinal permeability in ulcerative colitis: rather genetic than environmental and a risk factor for extensive disease? *Inflammatory bowel diseases* 18(10): 1932-1939.
- Burisch, J., Jess, T., Martinato, M., Lakatos, P. L. & ECCO-EpiCom. 2013. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *Journal of Crohn's and Colitis* 7(4): 322-337.
- Burisch, J., Pedersen, N., Cukovic-Cavka, S., Turk, N., Kaimakliotis, I., Duricova, D., Bortlik, M., Shonová, O., Vind, I. & Avnstrøm, S. 2014. Environmental factors in a population-based inception cohort of inflammatory bowel disease patients in Europe—An ECCO-EpiCom study. *Journal of Crohn's and Colitis* 8(7): 607-616.

- Büsch, K., Ludvigsson, J. F., Ekström-Smedby, K., Ekbom, A., Askling, J. & Neovius, M. 2014. Nationwide prevalence of inflammatory bowel disease in Sweden: a population-based register study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 39(1): 57-68.
- Camilleri, A., Madsen, K., Spiller, R., Van Meerveld, B. & Verne, G. 2012. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterology & Motility* 24(6): 503-512.
- Carpio, D., Barreiro-De Acosta, M., Echarri, A., Pereira, S., Castro, J., Ferreira, R., Lorenzo, A. & Group, E. 2015. Influence of urban/rural and coastal/inland environment on the prevalence, phenotype, and clinical course of inflammatory bowel disease patients from northwest of Spain: a cross-sectional study. *European journal of gastroenterology & hepatology* 27(9): 1030-1037.
- Chaplin, D. D. 2010. Overview of the immune response. *Journal of allergy and clinical immunology* 125(2): S3-S23.
- Chelakkot, C., Choi, Y., Kim, D.-K., Park, H. T., Ghim, J., Kwon, Y., Jeon, J., Kim, M.-S., Jee, Y.-K. & Gho, Y. S. 2018. Akkermansia muciniphila-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions. *Experimental & molecular medicine* 50(2): e450-e450.
- Chelakkot, C., Ghim, J. & Ryu, S. H. 2018. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Experimental & molecular medicine* 50(8): 1-9.
- Chen, C.-Y., Lee, K.-T., Tzu-Chi, L. C., Lai, W.-T. & Huang, Y.-B. 2013. Epidemiology and disease burden of ulcerative colitis in Taiwan: a nationwide population-based study. *Value in health regional issues* 2(1): 127-134.
- Chen, X., Xiang, X., Xia, W., Li, X., Wang, S., Ye, S., Tian, L., Zhao, L., Ai, F. & Shen, Z. 2023. Evolving trends and burden of inflammatory bowel disease in Asia, 1990–2019: A comprehensive analysis based on the global burden of disease study. *Journal of Epidemiology and Global Health* 13(4): 725-739.
- Cosnes, J., Gower-Rousseau, C., Seksik, P. & Cortot, A. 2011. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 140(6): 1785-1794. e1784.
- Coward, S., Clement, F., Williamson, T., Hazlewood, G., Ng, S., Heitman, S., Seow, C., Panaccione, R., Ghosh, S. & Kaplan, G. G. 2015. The rising burden of inflammatory bowel disease in North America from 2015 to 2025: A predictive model: 1959. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 110(S829).
- Crohn, B. B., Ginzburg, L. & Oppenheimer, G. D. 1932. Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. *Journal of the American Medical Association* 99(16): 1323-1329.
- Crooks, B., Barnes, T. & Limdi, J. K. 2020. Vedolizumab in the treatment of inflammatory bowel disease: evolving paradigms. *Drugs in Context* 9(
- Cui, G., Fan, Q., Li, Z., Goll, R. & Florholmen, J. 2021. Evaluation of anti-TNF therapeutic response in patients with inflammatory bowel disease: Current and novel biomarkers. *EBioMedicine* 66(
- Danese, S., Sandborn, W. J., Colombel, J.-F., Vermeire, S., Glover, S. C., Rimola, J., Siegelman, J., Jones, S., Bornstein, J. D. & Feagan, B. G. 2019. Endoscopic, radiologic, and histologic healing with vedolizumab in patients with active Crohn's disease. *Gastroenterology* 157(4): 1007-1018. e1007.

- Darfeuille-Michaud, A., Neut, C., Barnich, N., Lederman, E., Di Martino, P., Desreumaux, P., Gambiez, L., Joly, B., Cortot, A. & Colombel, J.-F. 1998. Presence of adherent *Escherichia coli* strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 115(6): 1405-1413.
- Declercq, C., Gower-Rousseau, C., Vernier-Massouille, G., Salleron, J., Baldé, M., Poirier, G., Lerebours, E., Dupas, J. L., Merle, V. & Marti, R. 2010. Mapping of inflammatory bowel disease in northern France: spatial variations and relation to affluence. *Inflammatory bowel diseases* 16(5): 807-812.
- Deng, Q., Tan, G., Deng, F. & Zhi, F. 2020. Genetic Variations at rs3129891 and rs77005575 are Associated With Reduced Expression of Enteric α -defensins in IBD Patients. *Journal of Clinical Gastroenterology* 54(6): e50-e55.
- Devkota, S. & Chang, E. B. 2015. Interactions between diet, bile acid metabolism, gut microbiota, and inflammatory bowel diseases. *Digestive diseases* 33(3): 351-356.
- Devriese, S. 2017. Treatment strategies for intestinal epithelial barrier dysfunction in inflammatory bowel disease. Ghent University.
- Dhar, P. & Mcauley, J. 2019. The role of the cell surface mucin MUC1 as a barrier to infection and regulator of inflammation. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 9(117).
- Dunleavy, K. A., Raffals, L. E. & Camilleri, M. 2023. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel disease: underpinning pathogenesis and therapeutics. *Digestive diseases and sciences* 68(12): 4306-4320.
- Favale, A., Onali, S., Caprioli, F., Pugliese, D., Armuzzi, A., Macaluso, F. S., Orlando, A., Viola, A., Fries, W. & Rispo, A. 2019. Comparative efficacy of vedolizumab and adalimumab in ulcerative colitis patients previously treated with infliximab. *Inflammatory bowel diseases* 25(11): 1805-1812.
- Feagan, B. G., Greenberg, G. R., Wild, G., Fedorak, R. N., Paré, P., McDonald, J. W., Cohen, A., Bitton, A., Baker, J. & Dubé, R. 2008. Treatment of active Crohn's disease with MLN0002, a humanized antibody to the $\alpha 4\beta 7$ integrin. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 6(12): 1370-1377.
- Feagan, B. G., Greenberg, G. R., Wild, G., Fedorak, R. N., Paré, P., McDonald, J. W., Dubé, R., Cohen, A., Steinhart, A. H. & Landau, S. 2005. Treatment of ulcerative colitis with a humanized antibody to the $\alpha 4\beta 7$ integrin. *New England Journal of Medicine* 352(24): 2499-2507.
- Feagan, B. G., Rutgeerts, P., Sands, B. E., Hanauer, S., Colombel, J.-F., Sandborn, W. J., Van Assche, G., Axler, J., Kim, H.-J. & Danese, S. 2013. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *New England Journal of Medicine* 369(8): 699-710.
- Fedyk, E. R., Wyant, T., Yang, L.-L., Csizmadia, V., Burke, K., Yang, H. & Kadambi, V. J. 2012. Exclusive antagonism of the $\alpha 4\beta 7$ integrin by vedolizumab confirms the gut-selectivity of this pathway in primates. *Inflammatory bowel diseases* 18(11): 2107-2119.
- Feller, M., Huwiler, K., Stephan, R., Altpeter, E., Shang, A., Furrer, H., Pfyffer, G. E., Jemmi, T., Baumgartner, A. & Egger, M. 2007. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet infectious diseases* 7(9): 607-613.
- Fukui, H. 2016. Increased intestinal permeability and decreased barrier function: does it really influence the risk of inflammation? *Inflammatory intestinal diseases* 1(3): 135-145.

- Ganapathy, A. S., Saha, K., Suchanec, E., Singh, V., Verma, A., Yochum, G., Koltun, W., Nighot, M., Ma, T. & Nighot, P. 2022. AP2M1 mediates autophagy-induced CLDN2 (claudin 2) degradation through endocytosis and interaction with LC3 and reduces intestinal epithelial tight junction permeability. *Autophagy* 18(9): 2086-2103.
- Gareb, B., Otten, A. T., Frijlink, H. W., Dijkstra, G. & Kosterink, J. G. 2020. local tumor necrosis factor- α inhibition in inflammatory bowel disease. *Pharmaceutics* 12(6): 539.
- Gearry, R. B., Richardson, A., Frampton, C. M., Collett, J. A., Burt, M. J., Chapman, B. A. & Barclay, M. L. 2006. High incidence of Crohn's disease in Canterbury, New Zealand: results of an epidemiologic study. *Inflammatory bowel diseases* 12(10): 936-943.
- Gieryńska, M., Szulc-Dąbrowska, L., Struzik, J., Mielcarska, M. B. & Gregorczyk-Zboroch, K. P. 2022. Integrity of the intestinal barrier: the involvement of epithelial cells and microbiota—a mutual relationship. *Animals* 12(2): 145.
- Groschwitz, K. R. & Hogan, S. P. 2009. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of allergy and clinical immunology* 124(1): 3-20.
- Haanstra, K. G., Hofman, S. O., Lopes Estêvão, D. M., Blezer, E. L., Bauer, J., Yang, L.-L., Wyant, T., Csizmadia, V., T Hart, B. A. & Fedyk, E. R. 2013. Antagonizing the $\alpha 4\beta 1$ integrin, but not $\alpha 4\beta 7$, inhibits leukocytic infiltration of the central nervous system in rhesus monkey experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Immunology* 190(5): 1961-1973.
- Haneishi, Y., Furuya, Y., Hasegawa, M., Picarelli, A., Rossi, M. & Miyamoto, J. 2023. Inflammatory bowel diseases and gut microbiota. *International journal of molecular sciences* 24(4): 3817.
- Heikkilä, K., Madsen, I. E., Nyberg, S. T., Fransson, E. I., Ahola, K., Alfredsson, L., Bjorner, J. B., Borritz, M., Burr, H. & Dragano, N. 2014. Job strain and the risk of inflammatory bowel diseases: individual-participant meta-analysis of 95 000 men and women. *PLoS One* 9(2): e88711.
- Hein, R., Köster, I., Bollschweiler, E. & Schubert, I. 2014. Prevalence of inflammatory bowel disease: estimates for 2010 and trends in Germany from a large insurance-based regional cohort. *Scandinavian journal of gastroenterology* 49(11): 1325-1335.
- Helander, H. F. & Fändriks, L. 2014. Surface area of the digestive tract—revisited. *Scandinavian journal of gastroenterology* 49(6): 681-689.
- Higuchi, L. M., Khalili, H., Chan, A. T., Richter, J. M., Bousvaros, A. & Fuchs, C. S. 2012. A prospective study of cigarette smoking and the risk of inflammatory bowel disease in women. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG* 107(9): 1399-1406.
- Hildebrand, H., Malmborg, P., Askling, J., Ekbom, A. & Montgomery, S. M. 2008. Early-life exposures associated with antibiotic use and risk of subsequent Crohn's disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 43(8): 961-966.
- Hilmi, I., Jaya, F., Chua, A., Heng, W. C., Singh, H. & Goh, K.-L. 2015. A first study on the incidence and prevalence of IBD in Malaysia—results from the Kinta Valley IBD Epidemiology Study. *Journal of Crohn's and Colitis* 9(5): 404-409.
- Hou, J. K., Abraham, B. & El-Serag, H. 2011. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG* 106(4): 563-573.

- Hviid, A., Svanström, H. & Frisch, M. 2011. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut* 60(1): 49-54.
- Ivanov, A. I., Nusrat, A. & Parkos, C. A. 2005. Endocytosis of the apical junctional complex: mechanisms and possible roles in regulation of epithelial barriers. *Bioessays* 27(4): 356-365.
- Jakobsson, H. E., Rodríguez-Piñero, A. M., Schütte, A., Ermund, A., Boysen, P., Bemark, M., Sommer, F., Bäckhed, F., Hansson, G. C. & Johansson, M. E. 2015. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. *EMBO reports* 16(2): 164-177.
- Jarmakiewicz-Czaja, S., Ferenc, K. & Filip, R. 2023. Antioxidants as protection against reactive oxidative stress in inflammatory bowel disease. *Metabolites* 13(4): 573.
- Johansson, M. E. & Hansson, G. C. 2016. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nature reviews immunology* 16(10): 639-649.
- Jung, Y. S., Han, M., Kim, W. H., Park, S. & Cheon, J. H. 2017. Incidence and clinical outcomes of inflammatory bowel disease in South Korea, 2011–2014: a nationwide population-based study. *Digestive diseases and sciences* 62(2102-2112).
- Kaminsky, L. W., Al-Sadi, R. & Ma, T. Y. 2021. IL-1 β and the intestinal epithelial tight junction barrier. *Frontiers in immunology* 12(767456).
- Kaplan, G. G. 2015. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 12(12): 720-727.
- Kaplan, G. G., Jackson, T., Sands, B. E., Frisch, M., Andersson, R. E. & Korzenik, J. 2008. The risk of developing Crohn's disease after an appendectomy: a meta-analysis. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG* 103(11): 2925-2931.
- Kappelman, M. D., Moore, K. R., Allen, J. K. & Cook, S. F. 2013. Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. *Digestive diseases and sciences* 58(519-525).
- Khoury, T. & Ilan, Y. 2019. Introducing patterns of variability for overcoming compensatory adaptation of the immune system to immunomodulatory agents: a novel method for improving clinical response to anti-TNF therapies. *Frontiers in immunology* 10(2726).
- Kim, D. Y., Furuta, G. T., Nguyen, N., Inage, E. & Masterson, J. C. 2019. Epithelial claudin proteins and their role in gastrointestinal diseases. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 68(5): 611-614.
- Kim, H. J., Hann, H. J., Hong, S. N., Kim, K. H., Ahn, I. M., Song, J. Y., Lee, S. H. & Ahn, H. S. 2015. Incidence and natural course of inflammatory bowel disease in Korea, 2006–2012: a nationwide population-based study. *Inflammatory bowel diseases* 21(3): 623-630.
- Kotla, N. G. & Rochev, Y. 2023. IBD disease-modifying therapies: insights from emerging therapeutics. *Trends in Molecular Medicine* 29(3): 241-253.
- Kuo, W.-T., Shen, L., Zuo, L., Shashikanth, N., Ong, M. L. D. M., Wu, L., Zha, J., Edelblum, K. L., Wang, Y. & Wang, Y. 2019. Inflammation-induced occludin downregulation limits epithelial apoptosis by suppressing caspase-3 expression. *Gastroenterology* 157(5): 1323-1337.
- Kvasnovsky, C. L., Aujla, U. & Bjarnason, I. 2015. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and exacerbations of inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 50(3): 255-263.

- Kwak, M. S., Cha, J. M., Lee, H. H., Choi, Y. S., Seo, S. I., Ko, K. J., Park, D. I., Kim, S. H. & Kim, T. J. 2019. Emerging trends of inflammatory bowel disease in South Korea: a nationwide population-based study. *Journal of gastroenterology and hepatology* 34(6): 1018-1026.
- Lamb, C. A., Mansfield, J. C., Tew, G. W., Gibbons, D., Long, A. K., Irving, P., Diehl, L., Eastham-Anderson, J., Price, M. B. & O'boyle, G. 2017. α E β 7 integrin identifies subsets of pro-inflammatory colonic CD4⁺ T lymphocytes in ulcerative colitis. *Journal of Crohn's and Colitis* 11(5): 610-620.
- Landy, J., Ronde, E., English, N., Clark, S. K., Hart, A. L., Knight, S. C., Ciclitira, P. J. & Al-Hassi, H. O. 2016. Tight junctions in inflammatory bowel diseases and inflammatory bowel disease associated colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology* 22(11): 3117.
- Latella, G. & Papi, C. 2012. Crucial steps in the natural history of inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 18(29): 3790.
- Laukoetter, M. G., Nava, P. & Nusrat, A. 2008. Role of the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 14(3): 401.
- 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(1): 2645465.
- Li, F., Liu, X., Wang, W. & Zhang, D. 2015. Consumption of vegetables and fruit and the risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *European journal of gastroenterology & hepatology* 27(6): 623-630.
- Li, M., Zhao, J., Cao, M., Liu, R., Chen, G., Li, S., Xie, Y., Xie, J., Cheng, Y. & Huang, L. 2020. Mast cells-derived MiR-223 destroys intestinal barrier function by inhibition of CLDN8 expression in intestinal epithelial cells. *Biological research* 53(1): 12.
- Linton, M., Kroeker, K., Fedorak, D., Dieleman, L. & Fedorak, R. 2013. Prevalence of Epstein-Barr virus in a population of patients with inflammatory bowel disease: a prospective cohort study. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 38(10): 1248-1254.
- Lu, Z., Ding, L., Lu, Q. & Chen, Y. 2013. Claudins in intestines: Distribution and functional significance in health and diseases. *Tissue Barriers* 1: e24978.
- Lucendo, A. J., Hervías, D., Roncero, Ó., Lorente, R., Bouhmidi, A., Angueira, T., Verdejo, C., Salueña, I., González-Castillo, S. & Arias, Á. 2014. Epidemiology and temporal trends (2000–2012) of inflammatory bowel disease in adult patients in a central region of Spain. *European journal of gastroenterology & hepatology* 26(12): 1399-1407.
- Luther, J., Dave, M., Higgins, P. D. & Kao, J. Y. 2010. Association between *Helicobacter pylori* infection and inflammatory bowel disease: a meta-analysis and systematic review of the literature. *Inflammatory bowel diseases* 16(6): 1077-1084.
- Luzentales-Simpson, M., Pang, Y. C., Zhang, A., Sousa, J. A. & Sly, L. M. 2021. Vedolizumab: potential mechanisms of action for reducing pathological inflammation in inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9(612830).
- Mahid, S. S., Minor, K. S., Soto, R. E., Hornung, C. A. & Galandiuk, S. 2006. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clinic Proceedings*, hlm. 1462-1471.

- Mak, W. Y., Zhao, M., Ng, S. C. & Burisch, J. 2020. The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets west. *Journal of gastroenterology and hepatology* 35(3): 380-389.
- Martel, J., Chang, S.-H., Ko, Y.-F., Hwang, T.-L., Young, J. D. & Ojcius, D. M. 2022. Gut barrier disruption and chronic disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 33(4): 247-265.
- Mcauley, J. L., Linden, S. K., Png, C. W., King, R. M., Pennington, H. L., Gendler, S. J., Florin, T. H., Hill, G. R., Korolik, V. & Mcguckin, M. A. 2007. MUC1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection. *The Journal of clinical investigation* 117(8): 2313-2324.
- Michielan, A. & D'incà, R. 2015. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. *Mediators of inflammation* 2015(1): 628157.
- Mo, J., Ni, J., Zhang, M., Xu, Y., Li, Y., Karim, N. & Chen, W. 2022. Mulberry anthocyanins ameliorate DSS-induced ulcerative colitis by improving intestinal barrier function and modulating gut microbiota. *Antioxidants* 11(9): 1674.
- Mokhtar, N. M., Nawawi, K. N. M., Verasingam, J., Zhiqin, W., Sagap, I., Azman, Z. a. M., Mazlan, L., Hamid, H. A., Yaacob, N. Y. & Rose, I. M. 2019. A four-decade analysis of the incidence trends, sociodemographic and clinical characteristics of inflammatory bowel disease patients at single tertiary centre, Kuala Lumpur, Malaysia. *BMC Public Health* 19(1-10).
- Molodecky, N. A., Panaccione, R., Ghosh, S., Barkema, H. W., Kaplan, G. G. & Consortium, A. I. B. D. 2011. Challenges associated with identifying the environmental determinants of the inflammatory bowel diseases. *Inflammatory bowel diseases* 17(8): 1792-1799.
- Molodecky, N. A., Soon, S., Rabi, D. M., Ghali, W. A., Ferris, M., Chernoff, G., Benchimol, E. L., Panaccione, R., Ghosh, S. & Barkema, H. W. 2012. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 142(1): 46-54. e42.
- Moninuola, O. O., Milligan, W., Lochhead, P. & Khalili, H. 2018. Systematic review with meta-analysis: association between acetaminophen and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID s) and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis exacerbation. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 47(11): 1428-1439.
- Mouli, V. P. & Ananthkrishnan, A. N. 2014. vitamin D and inflammatory bowel diseases. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 39(2): 125-136.
- Mulder, D. J., Noble, A. J., Justinich, C. J. & Duffin, J. M. 2014. A tale of two diseases: the history of inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis* 8(5): 341-348.
- Muniz, L. R., Knosp, C. & Yeretssian, G. 2012. Intestinal antimicrobial peptides during homeostasis, infection, and disease. *Frontiers in immunology* 3(32484).
- Munyaka, P. M., Khafipour, E. & Ghia, J.-E. 2014. External influence of early childhood establishment of gut microbiota and subsequent health implications. *Frontiers in pediatrics* 2(109).
- Murakami, Y., Nishiwaki, Y., Oba, M. S., Asakura, K., Ohfuji, S., Fukushima, W., Suzuki, Y. & Nakamura, Y. 2019. Estimated prevalence of ulcerative colitis and Crohn's disease in Japan in 2014: an analysis of a nationwide survey. *Journal of gastroenterology* 54(1070-1077).

- Nalle, S. & Turner, J. 2015. Intestinal barrier loss as a critical pathogenic link between inflammatory bowel disease and graft-versus-host disease. *Mucosal immunology* 8(4): 720-730.
- Nazareth, N., Magro, F., Machado, E., Ribeiro, T. G., Martinho, A., Rodrigues, P., Alves, R., Macedo, G. N., Gracio, D. & Coelho, R. 2015. Prevalence of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis and Escherichia coli in blood samples from patients with inflammatory bowel disease. *Medical microbiology and immunology* 204(681-692).
- Ng, S. C., Bernstein, C. N., Vatn, M. H., Lakatos, P. L., Loftus, E. V., Tysk, C., O'morain, C., Moum, B. & Colombel, J.-F. 2013. Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. *Gut* 62(4): 630-649.
- Ng, S. C., Kaplan, G., Banerjee, R., Wei, S.-C., Tang, W., Zeng, Z., Chen, M.-H., Yang, H., De Silva, H. J. & Niriella, M. A. 2016. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease from 13 countries in Asia-pacific: results from the Asia-Pacific Crohn's and colitis epidemiologic study 2011-2013.
- Ng, S. C., Leung, W. K., Shi, H. Y., Li, M. K., Leung, C. M., Ng, C. K., Lo, F. H., Hui, Y. T., Tsang, S. W. & Chan, Y. K. 2016. Epidemiology of inflammatory bowel disease from 1981 to 2014: results from a territory-wide population-based registry in Hong Kong. *Inflammatory bowel diseases* 22(8): 1954-1960.
- Ng, S. C., Shi, H. Y., Hamidi, N., Underwood, F. E., Tang, W., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J. C. & Chan, F. K. 2017. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet* 390(10114): 2769-2778.
- Ng, S. C., Tang, W., Ching, J. Y., Wong, M., Chow, C. M., Hui, A., Wong, T., Leung, V. K., Tsang, S. W. & Yu, H. H. 2013. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-pacific Crohn's and colitis epidemiology study. *Gastroenterology* 145(1): 158-165. e152.
- Ng, S. C., Woodrow, S., Patel, N., Subhani, J. & Harbord, M. 2012. Role of genetic and environmental factors in British twins with inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases* 18(4): 725-736.
- Niu, J., Miao, J., Tang, Y., Nan, Q., Liu, Y., Yang, G., Dong, X., Huang, Q., Xia, S. & Wang, K. 2016. Identification of environmental factors associated with inflammatory bowel disease in a southwestern highland region of China: a nested case-control study. *PLoS One* 11(4): e0153524.
- Nusrat, A., Parkos, C., Verkade, P., Foley, C., Liang, T., Innis-Whitehouse, W., Eastburn, K. & Madara, J. 2000. Tight junctions are membrane microdomains. *Journal of cell science* 113(10): 1771-1781.
- O'brien, C. L., Pavli, P., Gordon, D. M. & Allison, G. E. 2014. Detection of bacterial DNA in lymph nodes of Crohn's disease patients using high throughput sequencing. *Gut* 63(10): 1596-1606.
- Oku, N., Sasabe, E., Ueta, E., Yamamoto, T. & Osaki, T. 2006. Tight junction protein claudin-1 enhances the invasive activity of oral squamous cell carcinoma cells by promoting cleavage of laminin-5 γ 2 chain via matrix metalloproteinase (MMP)-2 and membrane-type MMP-1. *Cancer research* 66(10): 5251-5257.
- Oligschlaeger, Y., Yadati, T., Houben, T., Condello Oliván, C. M. & Shiri-Sverdlov, R. 2019. Inflammatory bowel disease: a stressed "gut/feeling". *Cells* 8(7): 659.
- Otani, T. & Furuse, M. 2020. Tight junction structure and function revisited. *Trends in cell biology* 30(10): 805-817.

- Parikh, A., Fox, I., Leach, T., Xu, J., Scholz, C., Patella, M. & Feagan, B. G. 2013. Long-term clinical experience with vedolizumab in patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases* 19(8): 1691-1699.
- Park, S. C. & Jeon, Y. T. 2015. Current and emerging biologics for ulcerative colitis. *Gut and liver* 9(1): 18.
- Park, S. H., Kim, Y.-J., Rhee, K. H., Kim, Y.-H., Hong, S. N., Kim, K. H., Seo, S. I., Cha, J. M., Park, S. Y. & Jeong, S. K. 2019. A 30-year trend analysis in the epidemiology of inflammatory bowel disease in the Songpa-Kangdong District of Seoul, Korea in 1986–2015. *Journal of Crohn's and Colitis* 13(11): 1410-1417.
- Pelaseyed, T., Bergström, J. H., Gustafsson, J. K., Ermund, A., Birchenough, G. M., Schütte, A., Van Der Post, S., Svensson, F., Rodríguez-Piñero, A. M. & Nyström, E. E. 2014. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunological reviews* 260(1): 8-20.
- Pisani, A., Rausch, P., Bang, C., Ellul, S., Tabone, T., Marantidis Cordina, C., Zahra, G., Franke, A. & Ellul, P. 2022. Dysbiosis in the gut microbiota in patients with inflammatory bowel disease during remission. *Microbiology spectrum* 10(3): e00616-00622.
- Salim, S. a. Y. & Söderholm, J. D. 2011. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory bowel diseases* 17(1): 362-381.
- Salvo Romero, E., Alonso Cotoner, C., Pardo Camacho, C., Casado Bedmar, M. & Vicario, M. 2015. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Rev Esp Enferm Dig* 107(11): 686-696.
- Sandborn, W. J., Feagan, B. G., Rutgeerts, P., Hanauer, S., Colombel, J.-F., Sands, B. E., Lukas, M., Fedorak, R. N., Lee, S. & Bressler, B. 2013. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *New England Journal of Medicine* 369(8): 711-721.
- Sands, B. E., Cohen, R. D., Isaacs, K. L., Fedorak, R. N., Abhyankar, B., Sankoh, S. & Smyth, M. D. 2015. Sa1123 Infusion-related reactions with vedolizumab treatment in patients with UC or CD during the GEMINI 1 and GEMINI 2 clinical trials. *Gastroenterology* 148(4): S-232-S-233.
- Sands, B. E., Feagan, B. G., Rutgeerts, P., Colombel, J.-F., Sandborn, W. J., Sy, R., D'haens, G., Ben-Horin, S., Xu, J. & Rosario, M. 2014. Effects of vedolizumab induction therapy for patients with Crohn's disease in whom tumor necrosis factor antagonist treatment failed. *Gastroenterology* 147(3): 618-627. e613.
- Schleier, L., Wiendl, M., Heidbreder, K., Binder, M.-T., Atreya, R., Rath, T., Becker, E., Schulz-Kuhnt, A., Stahl, A. & Schulze, L. L. 2020. Non-classical monocyte homing to the gut via $\alpha 4\beta 7$ integrin mediates macrophage-dependent intestinal wound healing. *Gut* 69(2): 252-263.
- Schnur, S. 2024. Establishment of an in vitro model for the simulation of inflammatory bowel disease as an alternative to animal experimentation.
- Schoultz, I. & Keita, Å. V. 2019. Cellular and molecular therapeutic targets in inflammatory bowel disease—focusing on intestinal barrier function. *Cells* 8(2): 193.
- Shen, B., Blake, A., Lasch, K., Smyth, M. & Bhayat, F. 2019. Vedolizumab use in patients with inflammatory bowel diseases undergoing surgery: clinical trials and post-marketing experience. *Gastroenterology Report* 7(5): 322-330.

- Shields, M. 2007. Smoking bans: influence on smoking prevalence. *Health Reports* 18(3): 9.
- Shivashankar, R., Tremaine, W., Harmsen, S., Zinsmeister, A. & Loftus, E. 2014. Updated Incidence and Prevalence of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis in Olmsted County, Minnesota (1970-2010): ACG IBD Research Award: 1687. *Official journal of the American College of Gastroenterology* | ACG 109(S499).
- Shmidt, E., Kochhar, G., Hartke, J., Chilukuri, P., Meserve, J., Chaudrey, K., Koliani-Pace, J. L., Hirten, R., Faleck, D. & Barocas, M. 2018. Predictors and management of loss of response to vedolizumab in inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases* 24(11): 2461-2467.
- Shouval, D. S. & Rufo, P. A. 2017. The role of environmental factors in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases: a review. *JAMA pediatrics* 171(10): 999-1005.
- Sipponen, T., Turunen, U., Lautenschlager, I., Nieminen, U., Arola, J. & Halme, L. 2011. Human herpesvirus 6 and cytomegalovirus in ileocolonic mucosa in inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of gastroenterology* 46(11): 1324-1333.
- Sjöberg, D., Holmström, T., Larsson, M., Nielsen, A.-L., Holmquist, L., Ekbom, A. & Rönnblom, A. 2013. Incidence and natural history of ulcerative colitis in the Uppsala Region of Sweden 2005–2009—results from the IBD Cohort of the Uppsala Region (ICURE). *Journal of Crohn's and Colitis* 7(9): e351-e357.
- Söderman, J., Norén, E., Christiansson, M., Bragde, H., Thiébaud, R., Hugot, J.-P., Tysk, C., O'morain, C. A., Gassull, M. & Finkel, Y. 2013. Analysis of single nucleotide polymorphisms in the region of CLDN2-MORC4 in relation to inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG* 19(30): 4935.
- Soler, D., Chapman, T., Yang, L.-L., Wyant, T., Egan, R. & Fedyk, E. R. 2009. The binding specificity and selective antagonism of vedolizumab, an anti- $\alpha 4\beta 7$ integrin therapeutic antibody in development for inflammatory bowel diseases. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 330(3): 864-875.
- Song, C., Yang, J., Ye, W., Zhang, Y., Tang, C., Li, X., Zhou, X. & Xie, Y. 2019. Urban-rural environmental exposure during childhood and subsequent risk of inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *Expert review of gastroenterology & hepatology* 13(6): 591-602.
- Sood, A., Singh, A., Sudhakar, R., Midha, V., Mahajan, R., Mehta, V., Gupta, Y. K. & Kaur, K. 2020. Exclusive enteral nutrition for induction of remission in anti-tumor necrosis factor refractory adult Crohn's disease: the Indian experience. *Intestinal research* 18(2): 184.
- Stone, M. A., Mayberry, J. F. & Baker, R. 2003. Prevalence and management of inflammatory bowel disease: a cross-sectional study from central England. *European journal of gastroenterology & hepatology* 15(12): 1275-1280.
- Turner, J. R. 2009. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature reviews immunology* 9(11): 799-809.
- Usami, Y., Chiba, H., Nakayama, F., Ueda, J., Matsuda, Y., Sawada, N., Komori, T., Ito, A. & Yokozaki, H. 2006. Reduced expression of claudin-7 correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Human pathology* 37(5): 569-577.
- Utech, M., Ivanov, A. I., Samarin, S. N., Bruewer, M., Turner, J. R., Mrsny, R. J., Parkos, C. A. & Nusrat, A. 2005. Mechanism of IFN- γ -induced endocytosis of tight

- junction proteins: myosin II-dependent vacuolarization of the apical plasma membrane. *Molecular biology of the cell* 16(10): 5040-5052.
- Van Der Sloot, K. W., Amini, M., Peters, V., Dijkstra, G. & Alizadeh, B. Z. 2017. Inflammatory bowel diseases: review of known environmental protective and risk factors involved. *Inflammatory bowel diseases* 23(9): 1499-1509.
- Van Der Sluis, M., De Koning, B. A., De Bruijn, A. C., Velcich, A., Meijerink, J. P., Van Goudoever, J. B., Büller, H. A., Dekker, J., Van Seuningen, I. & Renes, I. B. 2006. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 131(1): 117-129.
- Vancamelbeke, M. & Vermeire, S. 2017. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert review of gastroenterology & hepatology* 11(9): 821-834.
- Vcev, A., Pezerovic, D., Jovanovic, Z., Nakic, D., Vcev, I. & Majnarić, L. 2015. A retrospective, case-control study on traditional environmental risk factors in inflammatory bowel disease in Vukovar-Srijem County, north-eastern Croatia, 2010. *Wiener Klinische Wochenschrift* 127(345-354).
- Veit, L. E., Maranda, L. & Nwosu, B. U. 2015. The nondietary determinants of vitamin D status in pediatric inflammatory bowel disease. *Nutrition* 31(7-8): 994-999.
- Veny, M., Garrido, A., Bassolas-Molina, H., Masamunt, M., Esteller, M., Arroyes, M., Corraliza, A., Tristán, E., Fernández-Clotet, A. & Ordás, I. 2019. Unravelling vedolizumab mechanism of action in ulcerative colitis. *JOURNAL OF CROHNS & COLITIS*, hlm. S40-S40.
- Verstockt, B. 2019. PREDICTING OUTCOME OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASES, A MULTI-OMICS APPROACH. KU Leuven.
- Villanacci, V., Del Sordo, R., Lanzarotto, F., Ricci, C., Sidoni, A., Manenti, S., Mino, S., Bugatti, M. & Bassotti, G. 2024. Claudin-2: A marker for a better evaluation of histological mucosal healing in inflammatory bowel diseases. *Digestive and Liver Disease*
- Wang, H., Chao, K., Ng, S. C., Bai, A. H., Yu, Q., Yu, J., Li, M., Cui, Y., Chen, M. & Hu, J.-F. 2016. Pro-inflammatory miR-223 mediates the cross-talk between the IL23 pathway and the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *Genome biology* 17(1-15).
- Wang, K., Li, M. & Hakonarson, H. 2010. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic acids research* 38(16): e164-e164.
- Wang, Z., Mandell, K. J., Parkos, C. A., Mrsny, R. J. & Nusrat, A. 2005. The second loop of occludin is required for suppression of Raf1-induced tumor growth. *Oncogene* 24(27): 4412-4420.
- Waters, C. N., Zalasiewicz, J., Summerhayes, C., Barnosky, A. D., Poirier, C., Gałuszka, A., Cearreta, A., Edgeworth, M., Ellis, E. C. & Ellis, M. 2016. The Anthropocene is functionally and stratigraphically distinct from the Holocene. *Science* 351(6269): aad2622.
- Wei, S.-C., Lin, M.-H., Tung, C.-C., Weng, M.-T., Kuo, J.-S., Shieh, M.-J., Wang, C.-Y., Ho, W.-C., Wong, J.-M. & Chen, P.-C. 2013. A nationwide population-based study of the inflammatory bowel diseases between 1998 and 2008 in Taiwan. *BMC gastroenterology* 13(1-6).
- Wilks, S. & Moxon, W. 1889. *Lectures on pathological anatomy*. Longmans, Green.

- Wu, X.-W., Ji, H.-Z., Yang, M.-F., Wu, L. & Wang, F.-Y. 2015. Helicobacter pylori infection and inflammatory bowel disease in Asians: a meta-analysis. *World journal of gastroenterology: WJG* 21(15): 4750.
- Wyant, T., Leach, T., Sankoh, S., Wang, Y., Paolino, J., Pasetti, M. F., Feagan, B. G. & Parikh, A. 2015. Vedolizumab affects antibody responses to immunisation selectively in the gastrointestinal tract: randomised controlled trial results. *Gut* 64(1): 77-83.
- Wyant, T., Yang, L. & Fedyk, E. 2013. In vitro assessment of the effects of vedolizumab binding on peripheral blood lymphocytes. *MAbs*, hlm. 842-850.
- Yamamoto-Furusho, J. K., Mendivil-Rangel, E. J. & Fonseca-Camarillo, G. 2012. Differential expression of occludin in patients with ulcerative colitis and healthy controls. *Inflammatory bowel diseases* 18(10): E1999-E1999.
- Yang, S.-K., Yun, S., Kim, J.-H., Park, J. Y., Kim, H. Y., Kim, Y.-H., Chang, D. K., Kim, J. S., Song, I. S. & Park, J. B. 2008. Epidemiology of inflammatory bowel disease in the Songpa-Kangdong district, Seoul, Korea, 1986–2005: a KASID study. *Inflammatory bowel diseases* 14(4): 542-549.
- Yang, S. K., Hong, W. S., Min, Y. I., Kim, H. Y., Yoo, J. Y., Rhee, P. L., Rhee, J. C., Chang, D. K., Song, I. S. & Jung, S. A. 2000. Incidence and prevalence of ulcerative colitis in the Songpa-Kangdong District, Seoul, Korea, 1986–1997. *Journal of gastroenterology and hepatology* 15(9): 1037-1042.
- Yen, H.-H., Weng, M.-T., Tung, C.-C., Wang, Y.-T., Chang, Y. T., Chang, C.-H., Shieh, M.-J., Wong, J.-M. & Wei, S.-C. 2019. Epidemiological trend in inflammatory bowel disease in Taiwan from 2001 to 2015: a nationwide populationbased study. *Intestinal research* 17(1): 54.
- Yeshi, K., Ruscher, R., Hunter, L., Daly, N. L., Loukas, A. & Wangchuk, P. 2020. Revisiting inflammatory bowel disease: pathology, treatments, challenges and emerging therapeutics including drug leads from natural products. *Journal of clinical medicine* 9(5): 1273.
- Yu, L. C.-H., Wang, J.-T., Wei, S.-C. & Ni, Y.-H. 2012. Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier function: From physiology to pathology. *World journal of gastrointestinal pathophysiology* 3(1): 27.
- Yu, Y., Zhu, J., Mi, L.-Z., Walz, T., Sun, H., Chen, J. & Springer, T. A. 2012. Structural specializations of $\alpha 4\beta 7$, an integrin that mediates rolling adhesion. *Journal of Cell Biology* 196(1): 131-146.
- Zeissig, S., Rosati, E., Dowds, C. M., Aden, K., Bethge, J., Schulte, B., Pan, W. H., Mishra, N., Zuhayra, M. & Marx, M. 2019. Vedolizumab is associated with changes in innate rather than adaptive immunity in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 68(1): 25-39.
- Zhou, F., Hamza, T., Fleur, A. S., Zhang, Y., Yu, H., Chen, K., Heath, J. E., Chen, Y., Huang, H. & Feng, H. 2018. Mice with inflammatory bowel disease are susceptible to Clostridium difficile infection with severe disease outcomes. *Inflammatory bowel diseases* 24(3): 573-582.
- Zhuang, X., Chen, B., Huang, S., Han, J., Zhou, G., Xu, S., Chen, M., Zeng, Z. & Zhang, S. 2022. Hypermethylation of miR-145 promoter-mediated SOX9-CLDN8 pathway regulates intestinal mucosal barrier in Crohn's disease. *EBioMedicine* 76(
- Zundler, S., Schillinger, D., Fischer, A., Atreya, R., López-Posadas, R., Watson, A., Neufert, C., Atreya, I. & Neurath, M. F. 2017. Blockade of $\alpha E\beta 7$ integrin