

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL ÜLSERATİF KOLİT MODELİNDE
ÇİNKO PİKOLİNATIN KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gonca HAN

Enstitü Anabilim Dalı: Fizyoloji

Tez DANIŞMANI: Doç. Dr. Sevil ARABACI TAMER

NİSAN-2025

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL ÜLSERATİF KOLİT MODELİNDE
ÇİNKO PİKOLİNATIN KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gonca HAN

Enstitü Anabilim Dalı: Fizyoloji

“Bu tez 10/04/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

JÜRİ ÜYESİ	KANAATİ	İMZA
Prof. Dr. Cahit BAĞCI		
Prof. Dr. Berrak ÇAĞLAYAN YEĞEN		
Doç. Dr. Sevil ARABACI TAMER		

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 01.11.2023 tarih ve 27 sayılı karar ile onay alınarak hazırlanmıştır. Bu tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu, planlama aşamasından yazım aşamasına kadar hiçbir etik dışı davranışta bulunmadığımı, tezdeki tüm bilgileri akademik ve etik kurallara uygun şekilde elde ettiğimi, tez çalışması sırasında edinilmiş bilgi ve yorumlara uygun kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine eklediğimi, ayrıca tez çalışması ve yazımı sürecinde patent ve telif haklarını ihlal etmediğimi beyan ederim.

10/04/2025

Gonca HAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca gece gündüz fark etmeksizin, çalışmamın her aşamasında sabır, ilgi ve desteğini hissettiğim, bilgi ve tecrübelerini cömertçe paylaşıp bana yol gösteren, teşvik ve yönlendirmeleri sayesinde ilerleyebildiğim bu süreçte, kendisiyle çalışmanın bir ayrıcalık olduğunu hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Sevil ARABACI TAMER'e,

Bu süreçte beni, değerli akademik rehberliğiyle gelişimime büyük katkı sağlayan Sayın Doç. Dr. Sevil ARABACI TAMER ile çalışma ayrıcalığına yönlendiren ve desteğini her zaman hissettiren gerek akademik gerekse idari konularda yol göstericiliğiyle sürecimi kolaylaştıran kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Cahit BAĞCI'ya,

Tez çalışmamın histolojik bulguların elde edilmesine katkı sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Feriha Ercan ve Dr. Rana Taşdemir'e, moleküler bulguların elde edilmesine katkı sağlayan Doç. Dr. Gamze GÜNEY ESKİLER'e, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Fadime KÖSE ve Kaan Furkan HAMARAT'a,

Bu noktaya ulaşmamda en büyük takdiri ve derin saygıyı hak eden, elde ettiğim tüm başarıların gerçek mimarı olan ve her daim her şeyiyle örnek aldığım sevgili annem Dilek GÖKMEN'e,

Moral, motivasyon ve teşvik konusunda bana yardımcı olan, bu yolculukta sundukları samimiyet, destek ve iş birliği için, birlikte çalışmaktan keyif aldığım Sakarya İŞKUR Çalışma İlişkileri servisindeki tüm arkadaşlarıma,

Tüm renkleri, neşeleri ve azimleri ile her şeyi öğrenme heyecanlarından ilham aldığım, tezimin kontrol aşamasında minicik elleriyle bana yardımcı olan ikiz kızlarım İnci Karen ve Bengü Liva'ya,

Teşekkürlerimi en içten dileklerimle sunarım.

Bu tez Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2024-26-62-13 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	xiv
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İNFLAMATUVAR BAĞIRSAK HASTALIKLARI	4
2.2. ÜLSERATİF KOLİT	8
2.2.1. Ülseratif Kolit Epidemiyolojisi	10
2.2.2. Ülseratif Kolit Etiyolojisi	11
2.2.3. Ülseratif Kolit Fizyopatolojisi.....	12
2.2.4. Ülseratif Kolit Risk Faktörleri	15
2.3. KOLONUN KORUYUCU MEKANİZMALARI	16
2.4. BAĞIRSAK GEÇİRGENLİĞİ VE ÜLSERATİF KOLİT	17
2.4.1. Bağırsak Geçirgenliği ve Sıkı Bağlantı Proteinleri	18
2.5. DENEYSEL KOLİT MODELLERİ	19
2.5.1. Asetik Asit Kolit Modeli	19
2.5.2. Trinitrobenzen Sülfonik Asit Kolit Modeli.....	20
2.5.3. Dekstran Sodyum Sülfat Kolit Modeli.....	20
2.5.4. Dinitroklorobenzen Kolit Modeli.....	21
2.5.5. Oksazolon Kolit Modeli	21
2.6. İZ ELEMENTLER	21
2.6.1. Çinko	22
2.6.1.1. Çinkonun fizyolojik etkileri	24
2.6.1.2. Vücutta çinko Emilimi, dağılımı ve atılımı	25
2.6.2. Çinko Pikolinat	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. DENEY HAYVANLARI VE DENEY PROTOKOLLERİ.....	28
3.1.1. Deney Prosedürü	28
3.1.2. Deney Grupları.....	29
3.1.3. Kolit Modeli Oluşturulması	31

3.2. DENEY GRUPLARINDA DEĞERLENDİRME	
PARAMETRELERİ...	32
3.2.1. Kolon Dokusunda Makroskobik Düzeyde Hasar Değerlendirilmesi...	32
3.2.2. Dışkı Kıvamı Tayini.....	32
3.2.3. Kolon Ödemi Değerlendirmesi	33
3.2.4. Çinko Ölçümü	33
3.2.5. Kolon Dokusunda Oksidan/Antioksidan Parametrelerin Değerlendirilmesi.....	34
3.2.6. Kolon Dokusunda Miyeloperoksidaz (MPO) Aktivitesinin Ölçümü...	34
3.2.7. Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testi İle Sitokin Tayini	35
3.2.7.1. Numunelerin hazırlanması	35
3.2.7.2. Tümör Nekroz Faktörü- α ölçüm prosedürü	35
3.2.7.3. İnterlökin-6 ölçüm prosedürü.....	36
3.2.8. Kantitatif Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) ile Gen Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi	36
3.2.8.1. RNA izolasyonu ve konsantrasyon tayini	37
3.2.8.2. cDNA sentezi ve qRT-PCR analizi.....	37
3.2.9. Histopatolojik İncelemeler	38
3.2.9.1. Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyama.....	38
3.2.9.2. Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama	38
3.2.10. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRMELER	39
4.1.1. Makroskobik Hasarın Değerlendirilmesi Ve Skorlanması	39
4.1.2. Deney Gruplarında Dışkı Skor Değerleri	41
4.2. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA ÖDEM DEĞERLENDİRMESİ.....	42
4.3. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN SERUM ÇİNKO DÜZEYİ	43
4.4. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA MALONDİALDEHİT (MDA) VE GLUTATYON (GSH) DÜZEYLERİ	44
4.5. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA MİYELOPEROKSİDAZ (MPO) AKTİVİTESİ	46

4.6. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN SERUM TNF- α VE IL-6 DÜZEYLERİ	47
4.7. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA TNF- α VE IL-6 SEVİYELERİ.....	48
4.8. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA OKLUDİN-1, KLOİDİN-1 VE ZONULA OKLUDENS mRNA EKSPRESYONLARI	49
4.9. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMELER.....	51
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇ	64
KAYNAKÇA	65
EKLER.....	89
ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

KISALTMA VE SİMGELER

AA	: Asetik asit
CAT	: katalaz
CDH-1	: E-kaderin
CH	: Crohn hastalığı
CRP	: C-reaktif protein
DNCB	: Dinitroklorobenzen
DSS	: Dekstran sodyum sülfat
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
ECM-1	: Hücre Dışı Matris Proteini 1
GI	: Gastrointestinal
GNA12	: G Protein Alfa 12 Alt Birimi
GSH	: Glutasyon
HNF-4A	: Hepatosit Nükleer Faktör 4 Alfa
H&E	: Hematoksilen ve eozin
IFN-γ	: İnterferon gama
IL	: İnterlökin
İBH	: İnflamatuvar bağırsak hastalığı
ip	: İntraperitoneal
LAMB-1	: Laminin Beta 1 Alt Birimi
MDA	: Malondialdehit

MPO	: Miyeloperoksidaz
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NOD2	: Nükleotid 5 bağlama oligomerizasyon domain 2
NSA�İ	: Nonsteroid antiinflamatuvar ajanlar
OCTN-2	: Organik Katyon/Karnitin Taşıyıcısı 2
OK	: Oral kontraseptifler
PA	: Pikolinik asit
PAS	: Periyodik Asit Schiff
PE-60	: Polietilen kateter
RCS	: Reaktif karbonil türleri
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SF	: Serum fizyolojik
Th	: Yardımcı T h�creti
TJ	: Sıkı Bağlantılar
TLR	: Toll-benzeri reseptörler
TNBS	: 2,4,6-Trinitrobenzen sülfonik asit
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
�K	: Ülseratif kolit
ZnT	: Çinko taşıyıcı
ZO	: Zonula okludens

ŞEKİLLER

Şekil 1. Ülseratif kolit hastalığı etiyolojisi, belirtileri, tanı yöntemleri ve komplikasyonları.....	9
Şekil 2. Ülseratif kolit şiddeti için Montreal sınıflaması	10
Şekil 3. Ülseratif kolit fizyopatolojisi.....	15
Şekil 4. Deney akış şeması.	29
Şekil 5. Deney gruplarına ait makroskopik skor değerlendirmeleri.	40
Şekil 6. Deney gruplarının dışkı skorlamaları.	41
Şekil 7. Deney gruplarında kolon ödem skoru grafiği.	42
Şekil 8. Deney gruplarının serumlarında çinko seviyesi ölçümü.	43
Şekil 9. Deney gruplarının kolon dokularındaki malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri.	45
Şekil 10. Deney gruplarının kolon dokularındaki miyeloperoksidaz (MPO) düzeyleri.	46
Şekil 11. Deney gruplarının serum örneklerinde TNF- α ve IL-6 seviyeleri.....	47
Şekil 12. Deney gruplarının kolon dokusu örneklerinde TNF- α ve IL-6 seviyeleri..	48
Şekil 13. Deney gruplarında sıkı bağlantı proteinlerinden Okludin-1 (A), Klodin-1 (B), Zonula Okludens (C) seviyeleri.....	50
Şekil 14. Deney gruplarında histopatolojik skora.....	51

TABLÖLAR

Tablo 1. Farklı gıdaların içeriğindeki çinko düzeyleri	24
---	----



RESİMLER

Resim 1. Sıçanlara intraperitoneal enjeksiyon uygulaması.	29
Resim 2. Sıçanlara intragastrik madde uygulaması.	30
Resim 3. Asetik asit uygulayarak ülseratif kolit oluşturma işlemi	31
Resim 4. Refleks kontrolü ile anestezi derinliğinin takibi ve intrakardiyak kan alma aşaması	32
Resim 5. Deney gruplarının temsili makroskobik görüntüleri.	39
Resim 6. Deney gruplarında hematoksilen ve eozin ile boyanmış kolon dokularının temsili ışık mikroyrafları ve deney gruplarının kolon dokularında histolojik skorlama.	52
Resim 7. Deney gruplarında periyodik asit schiff ile boyanmış kolon dokularının temsili ışık mikroyrafları.....	53

EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onay Formu	89
--	----



ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Çinko eksikliği, bağırsak sağlığını olumsuz etkilemekte ve ülseratif kolitin semptomlarını kötüleştirebilmektedir. İnsanlarda çinko emiliminin çinkoyu pikolinik asit ile kompleksleştirerek artırılabilceği önerilmiştir. Ancak, çinko pikolinatın kolit tedavisi veya önlenmesi üzerine etkilerine literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan kolit modelinde çinko pikolinat takviyesinin kolit hasarına karşı koruyucu etkisini incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Sprague Dawley erkek sıçanlar (n=35) rastgele kontrol, kolit, kolit + çinko, kolit + çinko pikolinat ve kolit + sülfasalazin olmak üzere beş gruba ayrıldı. Kolit oluşturmak için; 24 saatlik açlığı takiben sıçanlara asetik asit (AA) uygulandı. AA uygulaması ile kolit modeli indüksiyonundan 10 gün önce her gün olmak üzere (10 doz) tedavi ajanları veya serum fizyolojik (SF) uygulandı. SF veya AA uygulanmasından 24 saat sonra anestezide alınan (ksilazin:10 mg/kg; ketamin:50 mg/kg, i.p) sıçanlardan intrakardiyak kan alınarak deney sonlandırıldı.

BULGULAR: SF ön tedavisi uygulanan kolit grubunun dışkı, makroskobik hasar ve kolon ödem skoru kontrol grubuna kıyasla yükseldi ($p<0,01-0,001$). Malondialdehit (MDA), miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, zonula okludens mRNA ekspresyonu, TNF- α ve IL-6 seviyeleri ve histopatolojik skor seviyesi kontrol grubuna göre artış gösterirken ($p<0,01-0,001$); çinko, antioksidan glutatyon (GSH) içeriği, okludin-1 ve kloudin-1 mRNA seviyesi azaldı ($p<0,01-0,001$). Çinko veya çinko pikolinat ön tedavi uygulaması dışkı skoru, makroskobik hasar skoru, MDA, MPO, TNF- α ve IL-6 seviyelerini ve histopatolojik hasarı SF ön tedavisi uygulanan kolit grubuna göre baskımlarken ($p<0,05-0,001$), GSH, okludin-1 ve kloudin-1 seviyelerini ise arttırmıştır ($p<0,05-0,001$).

SONUÇ: Sıçanlarda AA ile indüklenen ÜK modelinde çinko veya çinko pikolinat ön tedavisi kolon dokusunda oluşan oksidan hasarı ve inflamasyonu baskılamış, bariyer geçirgenliğini korumuştur.

Anahtar kelimeler: Çinko, Çinko Pikolinat, İnflamasyon, Oksidan Hasar, Ülseratif Kolit

SUMMARY

Investigation Of The Protective Effects Of Zinc Picolinate In An Experimental Model Of Ulcerative Colitis

INTRODUCTION AND AIM: Zinc deficiency negatively affects gut health and can worsen the symptoms of ulcerative colitis. It has been suggested that zinc absorption in humans can be enhanced by complexing zinc with picolinic acid. However, there is no literature on the effects of zinc picolinate in the treatment or prevention of colitis. The aim of this study is to investigate the protective effect of zinc picolinate supplementation against colitis damage in an experimentally induced colitis model in rats.

MATERIALS AND METHODS: Sprague Dawley male rats (n=35) were randomly divided into five groups: control, colitis, colitis + zinc, colitis + zinc picolinate, and colitis + sulfasalazine. To induce colitis, the rats were fasted for 24 hours and then administered acetic acid (AA). Starting 10 days prior to AA administration, the treatment agents or saline (SF) were administered once daily for a total of 10 doses. Twenty-four hours after the administration of SF or AA, the rats were anesthetized (xylazine: 10 mg/kg; ketamine: 50 mg/kg, i.p.), and intracardiac blood samples were collected to terminate the experiment.

RESULTS: In the colitis group pretreated with physiological saline (PS), fecal score, macroscopic damage score, and colon edema score were significantly higher compared to the control group ($p<0.01-0.001$). Malondialdehyde (MDA) levels, myeloperoxidase (MPO) activity, zonula occludens mRNA expression, TNF- α , IL-6 levels, and histopathological scores increased compared to the control group ($p<0.01-0.001$), while zinc levels, antioxidant glutathione (GSH) content, occludin-1, and claudin-1 mRNA expression decreased ($p<0.01-0.001$). Pretreatment with zinc or zinc picolinate suppressed fecal score, macroscopic damage score, MDA, MPO, TNF- α , IL-6 levels, and histopathological damage compared to the colitis group pretreated

with PS ($p<0.05-0.001$), while increasing GSH, occludin, and claudin-1 levels ($p<0.05-0.001$).

CONCLUSION: In the ulcerative colitis model induced by AA in rats, pretreatment with zinc or zinc picolinate suppressed oxidative damage and inflammation in the colon tissue while preserving barrier permeability.

Keywords: Inflammation, Oxidant Damage, Ulcerative Colitis, Zinc, Zinc Picolinate



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Ülseratif kolit (ÜK), bağırsak kolonunu etkileyen kronik inflamatuvar bir hastalıktır (Ungaro, Mehandru, Allen, Peyrin-Biroulet and Colombel 2017). Hastalığın yaygınlığı coğrafi bölgelere bağlı olarak önemli farklılıklar göstermekte ve dünya genelinde artma eğilimi sergilemektedir. Epidemiyolojik araştırmalara göre, ÜK'nin insidansı 100.000 kişide ABD'de 8,8 ile 12 arasında, uzak doğu ülkelerinde 1,18 iken en düşük insidans Türkiye'de 0,74 olarak kaydedilmiştir (Zhao et al 2023). Etiyolojisi tam olarak belirlenmemiş olmasına rağmen, hastalığın gelişimine katkıda bulunan faktörler arasında genetik yatkınlık, çevresel faktörler, bağışıklık sisteminde bozukluklar, epitel bariyer hasarları, mikrobiyota dengesizliği ve malnütrisyon yer almaktadır (Li et al 2022).

ÜK, sessiz bir başlangıç ve uzun bir hastalık seyrine sahip olmasının yanı sıra aktif ve gerileyen dönemler olarak değişken evrelere sahiptir (Zhao et al 2023). En sık karşılaşılan klinik belirtileri arasında ishal, karın ağrısı ve krampları, kanlı dışkı, ateş, halsizlik, yorgunluk, tenesmus, iştah ve kilo kaybı bulunmaktadır (Wangchuk, Yeshe and Loukas 2024).

ÜK hastalığında oksidatif hasar, mukozal doku hasarı, antioksidan kapasitede azalış ve intestinal inflamasyon olduğu bilinmektedir (Kruidenier et al 2003). Hastalığın oluşumuyla birlikte artan inflamasyon, sitokin ve akut faz proteinlerinde, gastrointestinal (GI) geçirgenlikte, proteaz ve oksijen radikallerinde ve lökotrienlerde artışa sebep olur (Köseler 2016).

Oksidatif stres sürecinde reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS), düşük ve orta konsantrasyonlarda, mitojenik yanıt veya enfeksiyöz ajanlara karşı savunma dahil olmak üzere sinyalleşme molekülleri olarak görev yaparlar (Neurath et al 2001). Ancak aşırı ROS ve RNS üretimi veya etkisiz bir şekilde temizlenmeleri oksidatif ve nitrozatif streslere yol açar. Bu durum, inflamatuvar yanıtı değiştirebilir, lipid ve/veya protein yapısal değişikliklerine, DNA hasarına, apoptoza veya

kanserojenik hücre dönüşümüne yol açabilir (Neurath et al 2001). İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında (İBH) serbest radikaller yüksek düzeylerde üretilmektedir. Artan serbest radikaller bağırsak bariyerine zarar vererek inflamatuvar sinyal yollarını tetikleyebilir ve iltihaplanmanın daha da artmasına neden olabilir (Muro et al 2024).

ÜK gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarında, bağırsak bariyerinin korunması kritik öneme sahiptir (Martini, Krug, Siegmund, Neurath and Becker 2017). Zonula okludens (ZO-1), okludin, klaudin-1 ve klaudin-2 gibi önemli sıkı bağlantı proteinleri, mukozal denge ve bağırsak geçirgenliğinin kontrolü ile bağırsak iltihabının gelişiminde etkilidir. Bağırsak bariyerinin işlevi bozulduğunda, bağırsak geçirgenliği artar ve zararlı bakterilerle birlikte aşırı toksik maddeler kolona sızarak inflamasyona yol açar. Sıkı bağlantıların mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, İBH'de değişmiş bariyer fonksiyonlarının altında yatan mekanizmalar hakkında yeni bakış açıları sağlayacaktır (Ivanov, Nusrat and Parkos 2004).

Çinko, insan vücudu için önemli bir eser elementtir. Sağlıklı bir vücudun büyüme ve gelişim basamaklarında günlük çinko alımına ihtiyaç vardır (Al-Khafaji, Brito and Bin 2022). Çünkü mitotik hücre bölünmesi, protein üretimi, bağışıklık yanıtları ve DNA ile RNA sentezi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde kritik rollere sahiptir (Kawahara, Kato-Negishi and Tanaka, 2023). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarında ishal, ostomiler ve sıvı kaybı gibi belirtilerden kaynaklı çinko başta olmak üzere eser element metabolizması değişmektedir (Barollo et al 2005, Sarıkaya 2022). ÜK hastalarında çinko konsantrasyonlarının önemli ölçüde düşük olduğu ve serum çinko konsantrasyonunun inflamatuvar bağırsak hastalığı aktivitesi, endoskopi skorları ve immün beslenme parametreleriyle ilişkili olduğu belirtilmiştir (Omatsu et al 2025). Yapılan çalışmalarda çinko takviyesinin bağışıklık sistemini destekleyerek enfeksiyonlardan kaynaklanan ölüm riskini azaltabileceği düşünülmektedir (Akdeniz, Kınık, Yerlikaya ve Akan 2016).

Pikolinik asit (PA) kan serumu, anne sütü, pankreas suyu ve mide homojenatları gibi çeşitli biyolojik ortamlarda tanımlanmıştır. Diyet içeriğindeki minerallerinin pikolinik asit ile birleştirildiğinde, vücut tarafından daha iyi bir emilime sahip olduğu gözlemlenmiştir (Kucukbay, Yazici and Gunduz 2006). Deneysel çalışmalarda pikolinik asit takviyesinin çinko absorpsiyonunu belirgin şekilde artırdığı

gözlemlenmiştir (Evans, Johnson and Johnson 1981). Klinik bulgulara ise; sağlıklı bireyde üç farklı çinko formunun oral uygulaması sonrası çinko emilimi karşılaştırılmış ve dört haftanın sonunda saç, idrar ve eritrosit çinko seviyeleri değerlendirilmiştir. Çinko pikolinat uygulaması ile çinko düzeyinin önemli ölçüde yükseldiği görülmüş ve insanlarda çinko emiliminin çinkoyu pikolinik asit ile kompleksleştirerek artırılabilirliği önerilmiştir (Barrie, Wright and Pizzorno 1987).

Çinko eksikliği, bağırsak sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yapabilmekte ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarının semptomlarını kötüleştirebilmektedir. Bu nedenle bazı çalışmalar, çinko takviyelerinin kolit semptomlarını hafifletebileceğini veya koruyucu bir rol oynayabileceğini öne sürmüştür (Wapnir 2000). Ancak, çinko pikolinatın ülseratif kolit üzerine etkilerine literatürde rastlanmamıştır. Çalışmamızın amacı sıçanlarda asetik asit ile oluşturulan ülseratif kolit modelinde çinko pikolinat takviyesinin, ÜK nedeniyle meydana gelen kolon hasarına, inflamasyona, oksidatif hasara ve bağırsak bariyer geçirgenliğine karşı koruyucu etkisini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNFLAMATUVAR BAĞIRSAK HASTALIKLARI

İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (İBH), kronik veya tekrarlayan inflamatuvar bağırsak hastalıklarını ifade eder ve başlıca ülseratif kolit (ÜK) ve Crohn hastalığını (CH) içerir (Huong et al 2024). Her iki hastalık da esas olarak gastrointestinal sistemi etkileyen ve farklı klinik semptomlara neden olan karmaşık bir patoloji geliştirir (Kim et al 2023). Bununla birlikte, bu hastalıklar gastrointestinal tutulum desenleri, iltihabın derinlikleri, çevre organlara etkileri, endoskopik, histolojik ve radyografik özellikleri açısından farklı fenotiplere sahiptir. İBH, 2017'de tahmini dünya çapında 6,5 milyondan fazla kişide yaygınlığı olan küresel bir hastalık olarak ortaya çıkmıştır (GBD 2017 Inflammatory Bowel Disease Collaborators et al. 2020).

İBH prevalansı, coğrafi bölgelere, ırka ve etnik kökene göre değişmekle birlikte küresel düzeyde artmaktadır (GBD 2017 Inflammatory Bowel Disease Collaborators, 2020).

Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da, İBH görülme oranı diğer bölgelere göre yüksektir (Flynn and Eisenstein 2019, Mak, Zhao, Ng and Burisch 2020). Son yıllarda Asya ve Doğu Avrupa bölgelerinde de İBH insidansında belirgin bir artış gözlenmiştir.

Raporlara göre Türkiye'de 2,6/100000 kişinin İBH hastalığına sahip olduğu belirtilmektedir (Buran 2017).

İBH her yaş grubunda görülmesine rağmen genellikle 30'lu yaşlarda belirmekte olup, yaşlılık döneminde hastalığın görülme sıklığında artış olur (Anuk 2023). Cinsiyete göre sınıflandırılan İBH küresel insidans oranları benzer olsada, Rochester Epidemiology Project'ten elde edilen verileri kullanan bir çalışmada, CH'ında kadın cinsiyetinin hafif bir baskınlığı, ÜK'de ise erkek cinsiyetinin hafif bir baskınlığı olduğu tespit edilmiştir (Shivashankar, Tremaine, Harmsen and Loftus 2017). Bu durum,

hormonal faktörlerin hastalık ifadesinde potansiyel bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Etiyolojisi tam olarak bilinmeyen İBH'nin gelişimi ile genetik, immunolojik, çevresel ve mikrobiyal faktörler ilişkilendirilmektedir (Park, Park, Lee, Park and Cheon 2021). İBH'ye sahip olan hastaların birinci derece akrabalarında, sağlıklı nüfusa kıyasla, İBH gelişme riski beş kat daha yüksek görülebilmektedir (Orholm et al 1991). İBH teşhisi konmuş iki ebeveynin çocuğunda gözlenen risk %30'un üzerindedir (Halme et al 2006). Monozigotik ikizlerde ÜK'nin uyum oranının yaklaşık %16, dizigotik ikizlerde ise yaklaşık %4 olduğu bildirilmiştir. Ancak, homozigot ikizler için uyum %50'den daha yüksek bir orana ulaşmadığı ve bununda İBH'nin patogenezinde çevresel nedenlerin öneminden kaynaklandığı bildirilmiştir. Genetik yatkınlık, İBH'nin patogenezinde önemli bir faktör olsada, İBH'nin insidansı diyet, yaşam tarzı ve endüstrileşme değişiklikleri ile paralel olarak artış gösterdiğinden son yıllarda çevresel etkilerin İBH riskine daha fazla katkıda bulunduğu kabul edilmektedir (Shouval and Rufo 2017).

Sigara, beslenme alışkanlıkları, ilaç kullanımı, coğrafi konum, sosyal koşullar, stres, bağırsak mikrobiyotası, değişmiş bağırsak geçirgenliği ve apendektomi gibi faktörler, İBH için ana çevresel risk faktörleridir (Danese, Sans and Fiocchi 2004). Ayrıca tütün dumanı, psikolojik stres, antibiyotik kullanımı veya doymuş yağ asitleri (SFA), rafine şeker ve azalmış antioksidan alımı gibi belirli gıda bileşenleri, oksidatif stresin oluşumunda ve dolayısıyla İBH üzerinde inflamatuvar bir etkiye sahip olabilir (Jarmakiewicz-Czaja, Ferenc, Sokal-Dembowska and Filip 2024).

İBH'nin çevresel faktörleri arasında en yaygın olarak sigara kullanımı görülmektedir (Johnson, Cosnes and Mansfield 2005). Sigara kullanımı ile bağırsak inflamasyonu arasındaki ilişkide immün cevabın düzenlenmesi, sitokin seviyelerinde değişiklik, mukus kompozisyonundaki değişiklikler, vasküler ve protrombotik etkiler, bağırsak geçirgenliğinde meydana gelen değişiklikler gibi potansiyel nedenler bildirilmiştir. Sigara kullanımı, ÜK ve CH üzerinde zıt etkiler oluşturmakta olup bu durum, İBH türlerinde farklı patojenik etmenlerin varlığını göstermektedir (Thomas, Rhodes and Green 1998). Sigara kullanımı, CH için bilinen bir risk faktörü olarak hastalığın nüks sıklığını ve cerrahi müdahale gerekliliğini artırmakta; bırakılması ise hastalık

prognozunda iyileşme sağlamakta iken sigara kullanımının bırakılması, ÜK hastalığı riskinde bir artışa neden olabilmekte ve ÜK için koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir (Cottone et al 1994, Harries, Baird and Rhodes 1982).

Beslenme alışkanlıkları başta mikrobiyota olmak üzere birçok fizyolojik mekanizmayı etkilemektedir (Beam, Clinger and Hao 2021, Yan et al 2022). Diyet antiijenlerinin, İBH'nin immünolojik yanıtında veya aktivasyonunda tetikleyici olduğuna inanılmaktadır (Sakamoto et al 2005). Batı tipi beslenme (yüksek yağ ve karbonhidrat, düşük lif içeren) ile İBH arasında da ilişki tespit edilmiştir (Dağlı 2014). Margarin ve hayvansal yağların kullanımı hem CH hem de ÜK riskini artırmaktadır (Hou, Abraham and El-Serag 2011). Bununla birlikte, batı tipi beslenme modeliyle işlenmiş gıda tüketiminin artması, bu gıdalarda kullanılan çeşitli gıda katkı maddelerinin tüketiminde de artışa sebep olmuştur (Bekar ve Ayaz 2023). İşlenmiş besinlerde sıkça kullanılan özellikle emülgatörler ve kıvam artırıcılar, intestinal bariyer fonksiyonunu bozarak, intestinal geçirgenliği artırarak ve fekal mikrobiyota kompozisyonunu değiştirerek İBH'nin gelişimi için risk oluşturabileceği düşünülmektedir.

Oral kontraseptifler (OK) ve nonsteroid antiinflamatuvar ajanlar (NSAİİ) da İBH ile bağlantılı diğer çevresel etkenler arasında yer almaktadır (Timmer, Sutherland and Martin 1998). İBH'ye dair yapılan epidemiyolojik araştırmalar, hastalığın evrimi boyunca bir dizi çevresel faktörü belirlemiş olsa da hâlâ araştırılmış ve tanımlanmış olmayan çevresel etkenlerin bulunduğu düşünülmektedir (Ho et al 2019).

Klinik ve deneysel veriler, disbiyozun İBH patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Nishida et al 2018). İBH durumunda, bağırsaktaki yararlı bakterilerin (*Bifidobacteria*, *Lactobacilli*, *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* gibi) azaldığı, aynı zamanda patojenik bakterilerin (invaziv *Escherichia coli*, *Mycobacterium avium paratuberculosis* gibi) arttığı bildirilmiştir (Ng et al 2013). CH ve ÜK hastalarında yapılan birçok çalışma, inflamasyonlu ve sağlam bölgelerde incelenen bağırsak florasında, sağlıklı bireylere kıyasla fekal mikrobiyom çeşitliliğinde azalma olduğunu ortaya koymuştur (Andoh et al 2011).

Bağırsak epitel bariyerinin bütünlüğü, tight junction, desmosom ve adherans junction gibi bağlantılar aracılığıyla sağlanır (Geremia, Biancheri, Allan, Corazza and Di Sabatino 2014). Mukus tabakası, mukozayı korumak amacıyla dış epitel yüzeyini örter

ve mikroorganizmaların bağırsağa giriş yeteneğini azaltır. ÜK ve CH'de mukozada geçirgenliğin artış gösterdiği belirlenmiştir (Baumgard and Carding 2007). Bu geçirgenlik artışında, epitelden immün sisteme geçen antijenler inflamatuvar süreci başlatarak TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin artışına sebep olur (Lee, Kwon and Cho 2018). Artan mukozal geçirgenlik sonucunda, bağırsak bakteri florasının antijenleri sürekli olarak mukozal immün sistemi aktive eder. İntestinal makrofajlar ve CD4+ T hücrelerinden kaynaklanan IL-6 ve IL-6 reseptörü üretimi, makrofaj migrasyon inhibitör faktör aracılığıyla artar (Atreya and Naurath 2005). Sonuç olarak, mukozada artmış sitokinler bağırsak fibroblastlarından matriks parçalayıcı enzimlerin salınmasına ve hücrel bağlantıların kopmasına, buna bağlı olarak da ülserasyonlara neden olur (Macdonald and Monteleone 2000).

İBH'de inflamasyonu başlatan mekanizmalar çoklu ve spesifik olmayan etmenlere dayanır (Geremia et al 2014). GI kanalda bağışıklık olaylarının gerçekleştiği bölge mukozanın lamina propria tabakasıdır. Bir yabancı maddenin bağışıklık yanıtını başlatabilmesi için bu alana ulaşması gereklidir. Luminal toksinler ve enfeksiyöz ajanlar, genetik olarak hassas bireylerde mukozal bariyeri geçerek inflamasyonu başlatır. İBH vakalarında ve onların birinci dereceden yakınlarında mukozal geçirgenliğin arttığına dair veriler bulunmaktadır

Temel patofizyolojik mekanizma yardımcı T (timus) hücreleri olan 'yardımcı T1' ve 'yardımcı T2' aktivitesinde bir bozukluk veya proinflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , interferon gama, tromboksan A2, lökotrien B4) ile antiinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 reseptör A, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, prostaglandin A2 ve TNF bağlayıcı proteinler) arasındaki dengeyi bozan bir durumdur (Plevy 2002). Lamina propriyaya ulaşan antijenler, antijen sunan hücreler tarafından değerlendirilerek T lenfositlere sunulur (Wallace, Zheng, Kanazawa and Shih 2014). Naif T hücreleri (Th0), çeşitli sitokinlerin uyarılması sonucunda T yardımcı hücre tiplerine (Th1, Th2, Th17) farklılaşır. Th1 hücreleri, IL-12 etkisiyle uyarılır ve tipik olarak yüksek miktarda interferon- γ (IFN- γ), TNF- α ve IL-12 salgılar. IFN- γ , doku makrofajlarını aktive eder, ek TNF- α üretir, bu da epitelyal hücre apoptozuna ve stromal hücrelerin miyofibroblastlara farklılaşmasına yol açar.

Th1 hücreleri, inflamatuvar yanıtta aşırı artış göstererek proinflamatuvar sitokinleri salgılar; Th2 hücreleri ise inflamasyonu azaltan antiinflamatuvar sitokinleri üretir (Liu et al 2001, Shih and Targan 2008). İBH’de proinflamatuvar sitokinlerin dengesiz üretimi belirgin bir özelliktir. Th1 lenfosit sitokinlerinin sürekli salınması hastalığın ilerlemesine katkıda bulunur. CH ve ÜK durumlarında proinflamatuvar sitokin genleri aşırı derecede ifade edilir, bu da mukozal mononükleer hücrelerin IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi sitokinleri salgılamasına yol açar.

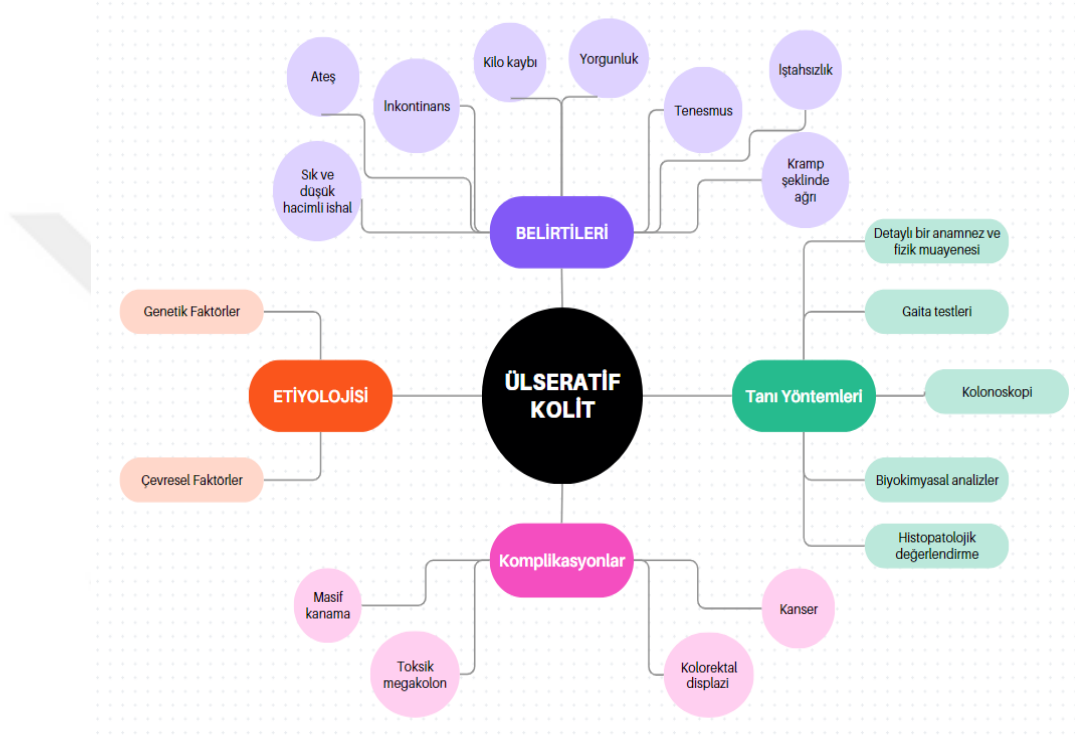
2.2. ÜLSERATİF KOLİT

ÜK, remisyon ve nüks dönemleri ile karakterize kronik bir inflamatuvar bağırsak hastalığıdır (Knezevic, Janjic, Lecic, Todorovic ve Damjanov 2024). Çoğunlukla rektumda tutulum gösteren ÜK lezyonları mukoza ve submukoza ile sınırlı kalır. ÜK’nın ilk ortaya çıkışı yaşamın ikinci veya üçüncü on yılında görülürken, elli ile seksen yaşları arasında ikinci bir atak yapmaktadır. Semptomları arasında sık ve kanlı dışkılama, gece bağırsak hareketleri ve alt karın ağrısı yer alır.

Kolik tarzında karın ağrısına, tenesmus ve inkontinans gibi durumlar da eşlik eder (Baumgart and Sandborn 2007) (Şekil 1). Belirtiler genellikle kademeli olarak başlar ve birkaç hafta içinde ciddi bir düzeye ulaşabilir. Hastalarda ateş, halsizlik ve kilo kaybı gibi sistemik belirtiler de gözlenebilir. Ayrıca, kan kaybı nedeniyle kronik hastalık anemisi, otoimmün hemolitik anemi veya demir eksikliği anemisi gibi durumlar ortaya çıkabilir, bu da nefes darlığı ve çarpıntı gibi klinik belirtilere yol açabilir. Sistemik belirtilerin varlığı ve şiddeti, bağırsak hastalığının klinik şiddetiyle ilişkilidir.

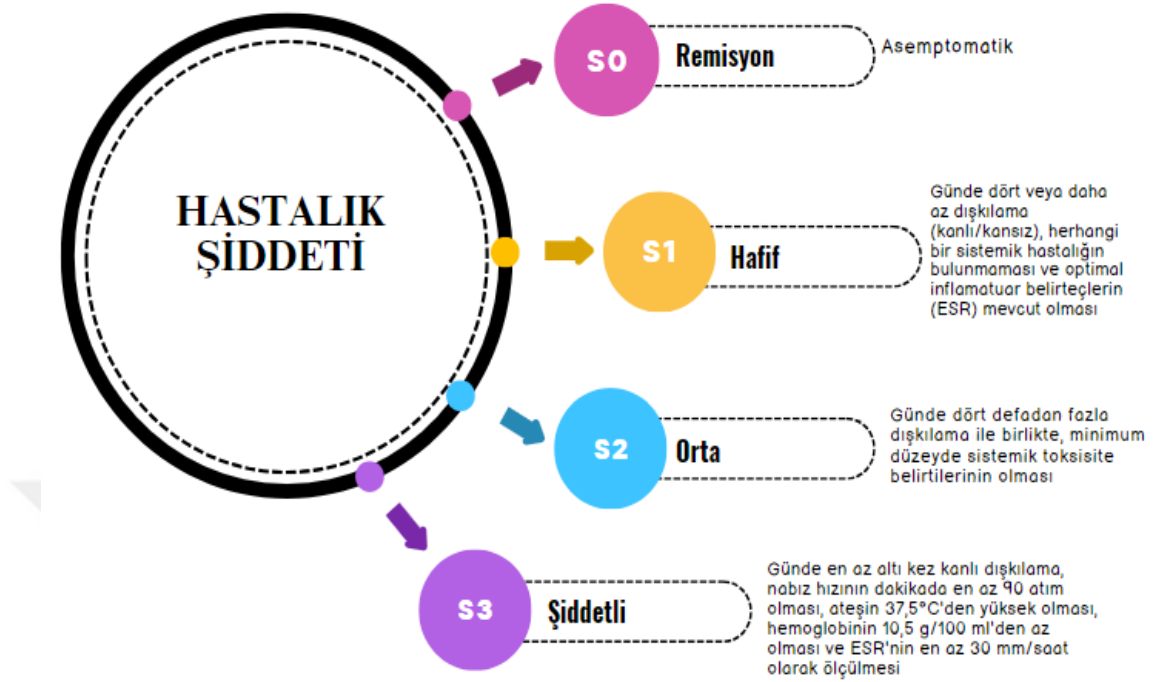
ÜK teşhis yöntemleri, hastalığın yaygınlığını, aktivitesini ve özel komplikasyonlarını belirlemek amacıyla kullanılır (Kaenkumchorn and Wahbeh 2020). Detaylı bir anamnez ve fizik muayenesinin ardından gaita testleri, biyokimyasal analizler, üst ve alt GI sistem endoskopik muayenesi, bunu takiben histopatolojik değerlendirme ile tanı konur. ÜK teşhisi için en değerli araç, kolonoskopi ve işlem sırasında alınan biyopsi örneklerinin histopatolojik olarak incelenmesidir.

Hastalığın tanımı MS 300'lere kadar uzanmasına rağmen, hastalık literatürde ilk kez 1859 yılında Sir Samuel Wilks tarafından "basit idiyopatik kolit" olarak tanımlanmış ancak hastalığın klinik ve patolojik özellikleri 1875 yılında Wilks ve Moxon tarafından ortaya konulmuştur (Wilks and Moxon 1875, De Dombal 1968, Kirsner 2001). Hawkins, 1909'da hastalığın aralıklı veya kronik seyredebileceğini ve bazen ilk atakta bile ölümcül olabileceğini belirtmiştir (Hawkins 1909).



Şekil 1. Ülseratif kolit hastalığı etiyolojisi, belirtileri, tanı yöntemleri ve komplikasyonları

Hastaların takibinde klinik aktivitenin değerlendirilmesi için çeşitli sınıflama ve skorelama sistemleri bulunmaktadır (Pabla and Schwartz 2020). En yaygın kullanılanlar arasında Truelove-Witts Sınıflaması, Montreal Sınıflaması (hastalık şiddeti ve yaygınlığına göre) (Şekil 2) ve Mayo Skoru yer almaktadır. ÜK'nin klinik özellikleri ve doğal seyri genellikle inflamasyonun derecesiyle ilişkilidir (Satsangi, Silverberg, Vermeire and Colombel 2006). Satsangi ve ark. (2006)'ın çalışmasında montreal sınıflamasına göre, inflamasyon rektumla sınırlıysa bu durum proktit olarak adlandırılır. Sigmoid kolonun anal sınırın 15-20 cm ötesine uzanması proktosigmoidit olarak tanımlanır. Sol taraflı kolit ve pankolit ise, özellikle splenik fleksuraya kadar ve ötesindeki inflamasyonu ifade eder.



Şekil 2. Ülseratif kolit şiddeti için Montreal sınıflaması
(Satsangi et al (2006)'dan değiştirilerek kullanılmıştır.)

ÜK tanısı almış bireylerde hastalığın teşhisini koymak ve ayrıca tutulumun boyutu ile hastalığın şiddetini belirlemek için kullanılan ana görüntüleme yöntemi endoskopik muayenedir (Marchioni Beery and Kane 2014). Gelişmiş endoskopik yöntemler arasında yüksek çözünürlüklü endoskopi, kromoendoskopi ve endomikroskopi bulunmaktadır (Kiesslich ve Neurath 2017). Bu teknikler kullanılarak kolonik mukoza ve submukozal vasküler yapı detaylı bir şekilde değerlendirilebilir. ÜK'li hastaların endoskopik bulgularında vasküler izlerin kaybı, mukozada konjesyon, hiperemi yer alır (Leighton et al 2006). Ayrıca mukozada granülleşme, peteşiler, eksuda, ödem, erozyon, dokunarak frajilite olması ve spontan kanamalar da gözlemlenebilir.

2.2.1. Ülseratif Kolit Epidemiyolojisi

ÜK'nin görülme sıklığı, coğrafi bölgelere göre belirgin farklılıklar göstermekte olup, dünya genelinde giderek artan bir eğilim sergilemektedir (Zhao et al 2023). Epidemiyolojik çalışmalar, ÜK'nin insidansının ülkeden ülkeye değiştiğini ortaya

koymaktadır. Örneğin, ABD’de her 100.000 kişi başına düşen vaka sayısının 8,8 ile 12 arasında olduğu belirlenmiştir. Avrupa ülkeleri arasında ise Danimarka’da ÜK insidansının 100.000 kişide 16,8, İzlanda’da ise 16,5 olduğu saptanmıştır. Buna karşılık, Doğu Avrupa ülkelerinden Romanya’da ÜK insidansı oldukça düşük seviyelerde seyretmekte olup, 100.000 kişide yalnızca 0,97 olarak rapor edilmiştir. Benzer şekilde, Türkiye’de yapılan araştırmalarda, ülkemizdeki insidansın 100.000 kişide 0,74 olduğu belirlenmiş ve bu oran en düşük değerlerden biri olarak kaydedilmiştir. Asya kıtasında da ÜK insidansının değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Örneğin, Çin’de gerçekleştirilen bir çalışmada hastalığın görülme sıklığının 100.000 kişide 1,18 olduğu tespit edilmiştir. ÜK’de cinsiyet dağılımı eşit olup, kadın ve erkek oranı 1/1’dir. (Yaman 2020).

Hastalığın sıklığı 20-30 yaş ile 50-70 yaş arasında iki ayrı alevlenme safhasına sahiptir. (Başer, Aksoy, Fidancı, Satılmış ve Cankurtaran 2020). Vakaların yaklaşık %20-25’inde ilk atak hafif düzeyde, %50-75’inde orta düzeyde ve %10-20’sinde ağır düzeyde seyir gösterir (Ertuğrul İ. Yolcu ÖF. Cesur S. et al. İnflamatuvar barsak hastalıkları aktivitesi ile serum neopterin düzeyi arasındaki ilişki (Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2007).

2.2.2. Ülseratif Kolit Etiyolojisi

ÜK'nin kesin patogenezinin belirsizliği korunmakla birlikte, immün yanıt düzensizliği, kusurlu epitel bariyerleri ve genetik yatkınlık gibi faktörlerle yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir (Yang et al 2025).

ÜK’nin etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılmamış olsada, genetik yatkınlığı olan bireylerde belirli çevresel faktörlerin etkisiyle hastalığın ortaya çıkabileceği gözlemlenmiştir (Adams and Bornemann 2013). ÜK hastalarının birinci derece akrabalarında hastalık görülme oranı %7-12 aralığında tespit edilmiştir (Orholm et al 1991, Halme et al 2002). ÜK ile bağlantılı olan gen, Organik Katyon/Karnitin Taşıyıcısı 2 (OCTN-2), Hücre Dışı Matris Proteini 1 (ECM-1), E-kaderin (CDH-1), Hepatosit Nükleer Faktör 4 Alfa (HNF-4A), Laminin Beta 1 Alt Birimi (LAMB-1) ve G Protein Alfa 12 Alt Birimi (GNA12) gibi epitelyal bariyer genleri ile ilişkilidir (Anderson et al 2011). ÜK etiyopatogenezinde mukozal savunma disfonksiyonu, apoptoz, otofaji, Th1 ve Th17 yardımcı T hücre diferansiyasyonu gibi faktörlerin rol

oynadığı belirlenmiş ve araştırmalarda kromozomal bölgelerle ya da lokuslarla ilişkilendirilmiştir (Thompson and Lees 2011). Belirlenen en belirgin ilişki, 16. kromozomun perisentromerik bölgesinde bulunan nükleotid 5 bağlama oligomerizasyon domain 2 (NOD2) geni ve proteinine aittir (Andres and Friedman 1999, Hanauer 2006).

ÜK patogeneğinde sigara kullanımı, beslenme alışkanlıkları, uyku düzeni, ilaç kullanımı, psikolojik etmenler gibi çeşitli çevresel faktörlerin rol oynadığı belirlenmiştir (Boyko, Perera, Koepsell, Keane and Inui 1988, Mahid et al 2006). Sigara kullanımı, ÜK gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilmemektedir; hatta bazı çalışmalar, sigaranın ÜK gelişimini azaltabileceğini göstermektedir. Sigara içinde bulunan nikotinin, Th2 hücre fonksiyonunu baskılayıcı bir etkisi olduğu düşünülmektedir (Ardizzone ve Bianchi Porro 2005).

ÜK gelişimi ile ilişkilendirilen diğer bir faktör de beslenmedir (Geerling et al 2000, Ng et al 2013). Yapılan bir çalışmada; yüksek oranda yağ, yağ asidi, şeker içeren ürünler ve aşırı et tüketiminin ÜK gelişim riskini artırdığı belirlenmiştir (Hou et al 2011). Beslenmede sebze ve meyveye dayalı bir diyetin, antioksidan etkisi ve yüksek lif içeriği nedeniyle reaktif oksijen moleküllerini temizleyerek ÜK üzerinde koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur (Ananthakrishnan et al 2013).

Hastalığın en kritik risk etkenlerinden biri, değişen bağırsak mikrobiyotasıdır (Porter, Kalla and Ho 2020). Eksojen tetikleyicilerin süreçte etkili olduğu düşünülse de İBH şu aşamada bağırsaklardaki endojen kommensal mikrobiyotaya uygun olmayan bir bağışıklık tepkisi olarak kabul edilmektedir (Ungaro et al 2017). ÜK hastalarında, bağışıklık sistemi normalde olması gereken sınırları aşan güçlü bir inflamatuvar yanıt oluşturur ve bu durumu dengeleyen kontrol mekanizmaları zayıflar (Knights, Lassen and Xavier 2013). Hastalığın gelişiminde hem hücresel hem de humoral bağışıklık sistemleri önemli bir rol oynar.

2.2.3. Ülseratif Kolit Fizyopatolojisi

ÜK'nin patofizyolojisi karmaşıktır ve tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Kobayashi et al 2020). Bağırsak bariyeri, güçlü inflamatuvar mediyatörler ve lamina

propriadaki hücreler tarafından zarar görebilir, bu da bariyerin daha da bozulmasına yol açarak hastalığın kronikleşmesine neden olabilir. Bu nedenle, bağırsak bariyerinin korunması tedavide öncelikli hedef olmalıdır ve bu hedef farklı yaklaşımlarla gerçekleştirilebilir. Tedavi yöntemleri ya epitel hücre tabakasını ya da lamina propriadaki inflamatuvar hücreleri hedef alabilir. Her iki yaklaşım da bağırsak bariyerinin onarılmasını sağlayarak hastalığın klinik olarak düzelmesine katkıda bulunabilir. Ayrıca, sıkı bağlantı (tight junction) proteinlerinin anormal şekilde üretilmesi, bağırsak bariyerinin bozulmasına yol açarak ÜK'nin gelişimine katkıda bulunabilir.

Epitel bariyer, mukozal bağışıklık sisteminin en öncelikli savunma hattı olarak görev yapar (Shan et al 2013, De Palma, Collins, Bercik and Verdu 2014). Bağışıklık hücreleri ile bağırsak lümeninde bulunan mikroorganizmalar arasında fiziksel bir engel oluşturarak, zararlı patojenlerin dokuya geçişini önler. Ayrıca, antimikrobiyal peptitlerin sentezlenmesini sağlayarak mikroplara karşı ek bir koruma mekanizması sunar. Bağırsak bariyeri, hücrel ve lümenal olmak üzere iki ana kısımdan oluşmaktadır. Lümenal kısımdaki etkileşim yoğun bir şekilde enzimler, yüksek asit içeren safra salgıları, pankreas ve mide salgıları, viskoz mukus tabakası, mikrobiyota ve bağırsak motilitesiyle birlikte oluşan bağırsak bariyeri, patojen parçalara karşı ilk savunma mekanizmasını gerçekleştirir. Hücrel bölümde, goblet hücrelerini, M hücrelerini, enterokromafin hücrelere benzeyen hücreleri içerir ve aynı zamanda %80'i enterositlerden oluşan epitel hücreleriyle bağırsak bariyerini dış ortamdan ayıran bir yapıdır (Van der Flier and Clevers 2009). ÜK hastalığına sahip bireylerde, goblet hücre sayısında azalma ve kalın mukus tabakasının kolonda incilmesiyle ilişkilendirilen bir durumda, mukozal ve epitel yüzeyde bakteri yoğunluğunun arttığı ifade edilmiştir (Pullan et al 1994).

Bağırsak sistemi, aynı anda iki farklı görevi etkili bir şekilde düzenlemek zorundadır; bir yandan seçici geçirgenlik göstererek vücuda gerekli besin öğelerini emerken diğer yandan lümeninde bulunan antijenlerin, mikroorganizmaların ve lümenal proinflamatuvar sitokinlerin girişini engelleyerek bağırsakta bir bariyer oluşturup homeostazı korur (Aydoğan Avşar 2019). Bağırsak bariyeri; beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, stres faktörleri, belirli bakteriler gibi çeşitli etkilere nedeniyle değişebilir (Bischoff et al 2014). Bağırsak homeostazının bozulması;

epitelyum bütünlüğünün zarar görmesine, geçirgenliğin artmasına ve bu şekilde mikroorganizmaların mukoza tabakasına geçişine neden olmaktadır (Fidan 2016).

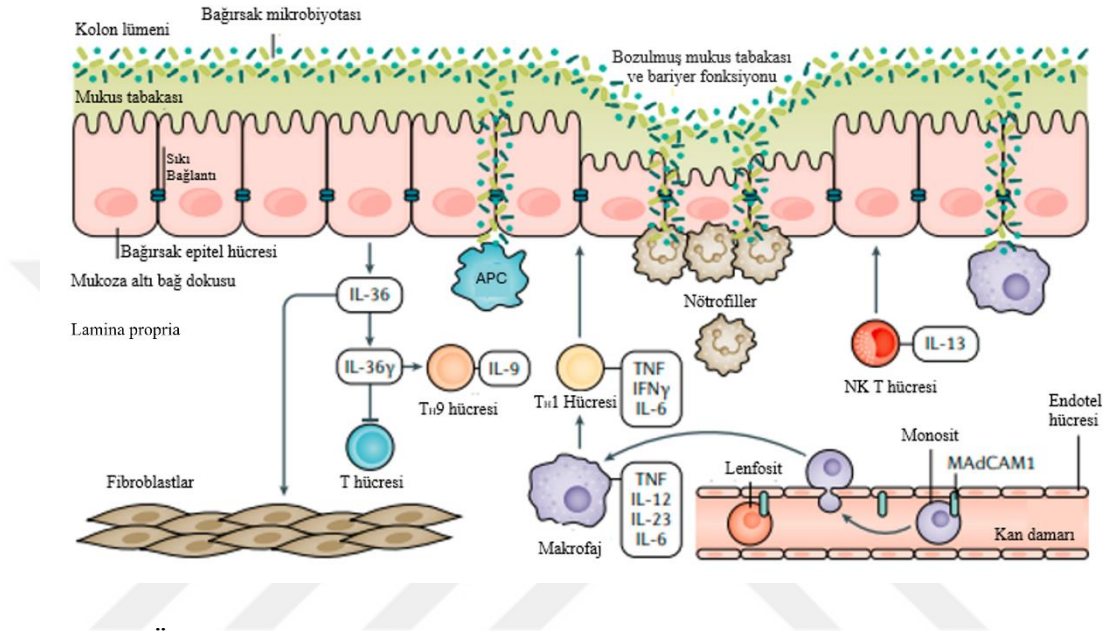
Epitelyum hasarı, mukozanın içindeki patojenlere karşı geçirgenliğini artırır, bu da bağırsak bağışıklık sisteminin uyarılmasına yol açar (Heller et al 2005, Eckmann et al 2012). Antijenler, doğal bağışıklık sistemi hücreleri olan makrofaj ve dendritik hücreler aracılığıyla T hücrelerine sunulur, buna bağlı olarak adaptif bağışıklık sistemi aktive olur (Hart et al 2005). ÜK hastalarında aktif ve olgun dendritik hücre sayısı artmıştır. Bu hücrelerin uyarıcı kapasitesi, hastalığın şiddeti ile ilişkilidir. Bu nedenle dendritik hücreler, inflamasyonun başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar.

Dendritik hücreler, çeşitli Toll-benzeri reseptörlere (TLR) sahiptir (Du and Ha 2020). TLR'ler, patojen tanıma desenleri ile ilişkilendirilmiş transkripsiyon faktörleri olan NF-kB gibi bir dizi transkripsiyon faktörünü aktive ederek inflamatuvar kaskadları başlatırlar. Bu inflamatuvar kaskadlarda, TNF- α , interlökin (IL) 12 ve 23 gibi proinflamatuvar sitokinler üretilir. Bu sitokinlerin önemli görevlerinden biri, lenfosit aktivasyonu ve çoğalmasını destekleyen intrasellüler proteinlere mesaj iletimini sağlamaktır, örneğin Janus kinaz (JAK).

ÜK patogenezi açısından, düzenleyici T hücreleri (Treg) ile yardımcı T hücreleri (Th), özellikle Th2, arasındaki dengesizlikten kaynaklanan adaptif immün sistem disregülasyonu da önemli bir faktördür (Briskin et al 1997). Th2 yanıtı, kolon mukozasındaki IL-13 gibi birçok sitokin salgılayan doğal öldürücü T hücrelerini aktive eder, bu da epitelyal hücrelerin apoptozunu uyarır ve zonula okludensin bozulmasına neden olur. Dolaşım sisteminden gelen lökositler de inflame mukozaya göç eder ve inflamatuvar yanıtın artmasına sebep olur. Bu etki, damarların vasküler endotelyumunun adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttıran sitokinlerin katkısıyla mümkündür (Şekil 3).

ÜK hastalığının oluşumu ve sürecin devam etmesinde rol oynayan mekanizma basamaklarının incelendiği çalışmalarda; sitokinlerin, oksijen kaynaklı reaktif oksijen türleri (ROS), nitrojen kaynaklı reaktif nitrojen türleri (RNS), reaktif karbonil türleri (RCS) gibi serbest radikal türevlerinin ve lipooksijenaz gibi maddelerin mukozal yıkımda belirli görevler üstlendiği bildirilmektedir (Stenson et al 2003, Soufli, Toumi, Rafa and Touil-Boukoffa 2016).

ÜK, aktif dönemler ve remisyonlarla seyreden ömür boyu devam eden kronik inflamatuvar bir hastalıktır (Sajadinejad, Asgari, Molavi, Kalantari and Adibi 2012). Aktif faz sırasında ÜK’de, M1 tipi makrofajlar epitel bariyerini bozar ve TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinleri serbest bırakır ve aşırı iltihaplanmaya katkıda bulunur (Chen et al 2025).



Şekil 3. Ülseratif kolit fizyopatolojisi.

(Kobayashi et al., (2020)’den değiştirilerek kullanılmıştır.)

2.2.4. Ülseratif Kolit Risk Faktörleri

Hastalığın gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biri, bağırsak mikrobiyotasında meydana gelen değişikliklerdir (Porter et al 2020). Değişen mikrobiyotanın etkisi olarak, iltihap artırıcı özellikteki *Enterobacteriaceae* ve *Fusobacteriaceae* familyalarında artış gözlemlenirken, koruyucu etkiye sahip olan *Ruminococcaceae* ve *Lachnospiraceae* familyalarında ise azalma tespit edilmiştir (Duvallat, Gibbons, Gurry, Irizarry and Alm 2017).

Dünya genelinde ÜK ile bağlantılı diğer önemli risk faktörleri, bağırsak mikrobiyotasını ve dolayısıyla bağırsak bağışıklık tepkisini etkileyen etmenleri kapsamaktadır (Kobayashi et al 2020). Bu faktörler arasında antibiyotiklerin kullanımı, gıda katkı maddelerinin yaygın tüketimi gibi beslenme alışkanlıklarındaki değişimler ve psikiyatrik rahatsızlıklar bulunmaktadır. Bağırsak-beyin bağlantısı oldukça karmaşıktır ve ÜK hastalığının ilerleyişinde psikiyatrik rahatsızlıkların bazı

etkileri muhtemelen bağırsak mikrobiyotası üzerinden ortaya çıkmaktadır. Ancak bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sigara kullanıp bırakmış olmak, ülseratif kolit için önemli bir risk faktörüdür (Ananthakrishnan 2015). Sigara içmeyen bireyler, içenlere göre bu hastalığa yakalanma açısından daha yüksek risk taşır. Bununla birlikte, sigara içen bireyler hastalığa yakalandıklarında genellikle daha hafif bir seyir gösterirler.

Bir diğer risk faktörü olan diyet, ülseratif kolit riskini ve hastalığın gidişatını farklı yollarla etkileyebilir (Wark, Samocha-Bonet, Ghaly and Danta 2021). Öncelikle, diyetin bazı bileşenleri bağışıklık sistemini baskılayarak mikrobiyotayı değiştirebilir. Ayrıca, diyet tarzı bağırsak duvarının yapısını ve geçirgenliğini ve bağışıklık sistemini etkileyerek hastalığın seyrini değiştirebilir. Diyetin, bağırsak mukozasının koruyucu işlevini desteklemesi ve bağışıklık sistemiyle doğrudan etkileşime girmesi sayesinde, İBH'nin önlenmesi ve tedavisinde önemli bir yöntem olarak öne çıktığı görülmektedir.

2.3. KOLONUN KORUYUCU MEKANİZMALARI

Kolon, ışık mikroskobuyla kolayca görülebilen çeşitli katmanlardan meydana gelir (Ellis and Mahadevan 2014). Lümeniden itibaren bu katmanlar sırasıyla şunlardır: kolumnar mukozal tabaka, bazal membran, lamina propria, muskularis mukozal tabaka, submukoza, muskularis propria, iç sirküler tabaka, dış uzunlamasına tabaka (*tenya coli*) ve seroza. İleumdan farklı olarak, kolon düz ve dalgalı kıvrımlar içerir.

Bağırsak bariyeri, üç ana savunma bölgesinden oluşur (Aydoğan Avşar 2019). İlk bölüm, normal bağırsak florası ve mukus ile oluşan biyolojik bariyerdir. İkinci bölüm, bağırsak lenfoid dokusu (Gut Associated Lymphoid Tissue - GALT), efektör ve düzenleyici T hücreleri, IgA üreten B (plazma) hücreleri, konjenital lenfoid hücreleri ve lamina propria içindeki yerleşmiş makrofajlar ile dendritik hücrelerden oluşan immün bariyerdir. Üçüncü bölüm ise bağırsak epitel hücreleri ve kapiler endotel hücrelerinden meydana gelen mekanik bariyerdir. Mukus tabakası, bakterilerin bağırsakta karşılaştığı ilk fiziksel bariyerdir ve iki bölümden oluşur. Dış mukus tabakası, bağırsaktaki doğal mikroorganizmaların tutunmasına olanak tanıyarak bağırsak mikrobiyotası için bir yaşam alanı sunar. İç mukus tabakası ise bakterilerin epitelden geçişine izin vermez.

Bağırsağın mukozal yüzeyinde yaşamak üzere uyum sağlamış anaerobik mikroorganizmalar mikrobiyotayı meydana getirmektedir (Buddington and Sangild 2011). Bağırsak bakterilerinin %90'ından fazlası *Firmicutes* (*Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* ve *Ruminococcus*) ile *Bacteroidetes* (*Prevotella* ve *Bacteroides*) tarafından oluşturulmaktadır (Çimen, Polat ve Ekici 2020).

Bağırsak mukozal yüzeyinde bulunan ve patojenlere karşı koruyucu bir rol üstlenen mukus tabakası, çeşitli bileşenlerden oluşur ve büyük glikoproteinler olan musin içerir (Johansson and Hansson 2016). Bu mukus, çoğunlukla goblet hücreleri tarafından üretilir ve birçok immünomodülatör molekül içerir.

ÜK'de musinin sentezi, salgılanması ve ekspresyonunda değişiklikler gözlemlenmiştir (Dorofeyev, Vasilenko, Rassokhina ve Kondratiuk 2013). ÜK'de goblet hücrelerinde musin miktarında bir azalma da bildirilmiştir (Podolsky 1991).

Bağırsaktaki mikrobiyota çeşitliliği, yaş, beslenme alışkanlıkları, stres, alkol, sigara, egzersiz ve antibiyotik kullanımı gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Lozupone, Stombaugh, Gordon, Jansson and Knight 2012). Bu faktörler mikrobiyota kompozisyonunda değişikliklere yol açarak, bağırsak bariyerinin bozulmasına, bağışıklık sisteminin aktive olmasına ve doku hasarına sebep olmaktadır. Dolayısıyla, bağırsak mikrobiyotasının dengesi, hücrelerin çoğalmasını, metabolizmayı, inflamasyonu, bağışıklık sistemini ve beyin-bağırsak ilişkisinin korunmasını sağlamak açısından kritik bir öneme sahiptir (Espín, González-Sarriás and Tomás-Barberán 2017).

2.4. BAĞIRSAK GEÇİRGENLİĞİ VE ÜLSERATİF KOLİT

Gastrointestinal sistemin yüzeyini kaplayan epitel doku, seçici geçirgenliği olan bir bariyer görevi görür (Nusrat, Turner and Madara 2000). Bağırsak bariyer fonksiyonu, hücre dışı bariyer bileşenlerinin ve mukozanın dokular ile bağırsak lümeni arasındaki değişimi engelleyebilme kapasitesi olarak tanımlanmaktadır (Johansson et al 2008). Ayrıca bağırsak; GI mukoza, immün algılama ve besinlerin emilimi gibi birçok işlevi olan yarı geçirgen bir bariyerdur.

Lümen ile bağırsak mukozası arasındaki bariyer olan bağırsak epiteli, sürekli olarak gıda ve mikroplara maruz kalır ve mikrobiyal saldırılara karşı ilk savunma hattı işlevi

görür (Lassen and Xavier 2018). Mikrobiyal homeostazinin bozulması ve bağırsak mukozal bariyerinin zarar görmesi, bağırsak duvarında inflamatuvar tepkimeleri, ROS birikimini ve mitokondriyal bozuklukları büyük ölçüde tetikler; bu da sonuç olarak patogeneze ve İBH'nin ilerlemesine neden olur (Ke, Shao, Xu, Chen and Liu 2017).

2.4.1. Bağırsak Geçirgenliği ve Sıkı Bağlantı Proteinleri

Bağırsak bariyerinin sürekli bütünlüğünü koruyan en kritik yapılar, iki lateral enterosit arasında bulunan hücreler arası protein iskeletleridir (Groschwitz and Hogan 2009). Bu iskeletler, yapısal proteinlerden oluşan intersellüler bağlantı alanlarıdır ve sıkı bağlantılar, tutucu bağlantılar ve desmozomlar olmak üzere üç ana bağlantı türünden oluşmaktadır.

Tutucu bağlantılar, desmozomlarla birlikte aktin ve miyozin ile ilişkili olarak sıkı adezyon bağları oluşturur ((Fasano and Shea-Donohue 2005, Steed, Balda and Matter 2010). Sıkı bağlantılar ise okludin, klaudin ve zonulin proteinlerinden oluşan daha karmaşık bir protein iskeletidir. Özellikle makromoleküllerin parasellüler geçişinden sorumlu olduğundan, self-olmayan antijenlere karşı tolerans ve immün yanıt arasındaki dengeyi sağlar. Sıkı bağlantılar hem lümendeki dış faktörlere hem de vücuttaki iç faktörlere karşı duyarlı olan dinamik bir yapıdır.

Aşırı immün tepkiler, bağırsak epitel hücrelerinde anormal sıkı bağlantılara (TJ'ler) yol açabilir ve öncelikle TJ proteinlerinin değişen hücre içi dağılımı ve ekspresyonu nedeniyle bariyer fonksiyonunun bozulmasına neden olabilir (Yang et al 2025). Bağırsak bariyeri hasar gördüğünde, mikrobiyota dengesizlikleri bir dizi bağışıklık tepkisini tetikleyebilir, TJ ve bariyer fonksiyonlarını daha da bozabilir, böylece bağırsak iltihabını şiddetlendirebilir.

Bağırsak geçirgenliğinin düzenlenmesinde bağırsaktaki sıkı bağlantılara TNF- α ve IFN- γ sitokinlerinin etkileri üzerine kapsamlı araştırmalar gerçekleştirilmiştir. TNF- α 'nın bağırsak bariyer fonksiyonunu bozarak İBH, graft-versus-host hastalığı (GVHH) ve çölyak hastalığı gibi çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Sturgeon and Fasano 2016).

Bağırsak bariyerindeki geçirgenlik artışı enterosit hasarı, sıkı bağlantı proteinlerinin kaybı veya fonksiyonel bozulmalar nedeniyle gerçekleşebilir (Thuijls, Derikx, Wijck and Zimmermann 2010).

İBH'ye bakıldığında, klaudin-1 etkinliğinde bir azalma gözlemlenmektedir (Kucharzik, Walsh, Chen, Parkos ve Nusrat 2001, Bürgel et al 2002). Bu hastalıklarla ilişkili diyare durumunun ise klaudin, Okludin ve Zonula Okludens-3'ün internalizasyon etkinliği ile bağırsak geçirgenliğinin artışı sonucunda meydana geldiği belirtilmektedir.

2.5. DENEYSEL KOLİT MODELLERİ

Deneysel kolit modelleri sıklıkla asetik asit (AA), 2,4,6-trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), dekstran sülfat sodyum (DSS), dinitroklorobenzen (DNCB) ve oksazolon gibi kimyasal ajanlar kullanılarak indüklenmektedir (Randhawa, Singh, Singh and Jaggi 2014).

2.5.1. Asetik Asit Kolit Modeli

İntrarektal olarak verilen seyreltilmiş asetik asit ile oluşturulan kolit modeli, ÜK'yı taklit ederek mukozal epitelde hasar oluşturmaktadır (Low, Nguyen and Mizoguchi 2013). AA ile indüklenen ÜK, insan ÜK'sına benzerlik gösteren, yüksek oranda tekrarlanabilen ve yaygın olarak kullanılan bir modeldir (Da Costa Melo, Almeida, De Oliveira Campos, De Oliveira and Oliveira 2021). AA modeliyle ilgili ilk rapor, MacPherson ve Pfeiffer tarafından yapılmıştır. Bu raporda, sıçanlara rektal yolla %10-50 AA uygulandığı, ardından lümenin 10 saniye boyunca bu şekilde tutulduğu ve üç kez 0.5 ml fizyolojik tuzlu su ile bağırsak lümeninin yıkandığı belirtilmiştir (MacPherson and Pfeiffer 1978). İntrarektal olarak uygulanan AA çözeltisi, bağırsak dokusunda artan nötrofil infiltrasyonu, masif mukozal ve submukozal tabakaların nekrozu, vasküler dilatasyon, ödem ve submukozal ülserasyon ile karakterize edilen, transmural olmayan inflamasyona yol açar. AA ile oluşturulan kolit modelinde rektal bir kateter aracılığıyla uygulanan asetik asidin etkisi 4 saat içinde başlamakta olup 7 gün boyunca devam edebilmektedir (Qin et al 2011). İlk aşamada mukoza epitelinde

nekroz ve ödem gözlemlenmektedir. Mukoza ve submukozada oluşan inflamasyonun ardından diğer inflamatuvar hücre ve mediatörlerin katılımıyla doku hasarı şiddetlenir.

2.5.2. Trinitrobenzen Sülfonik Asit Kolit Modeli

Trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS), etanol ile birlikte intrarektal olarak uygulanan, oksitleyici bir nitroaril bileşiği olan ajandır (Antoniou et al 2016). TNBS, kolon dokusunda yüksek miyeloperoksidaz aktivitesi ile karakterize edilen nötrofilik infiltrasyon, mukozal permeabilitede artış ve kolonik epitelde hasar oluşturmaktadır. Ayrıca, kolon proteinlerini ana bağışıklık sistemine karşı immünojen hale getirir ve bir mukozal bağışıklık tepkisini başlatır (Kiesler, Fuss and Strober 2015).

TNBS ile indüklenen kolit modeli, hastalığın immünolojik yönlerinin incelenmesinde, sitokin salınımı, oral tolerans mekanizmaları ve potansiyel immünoterapilerin etkilerinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte TNBS kullanımı insan bağırsağındaki duruma benzeyen bir kolit oluşturabilme yeteneği ve deneysel periyodun kısa olmasından dolayı araştırmacılar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir (Jurjus, Khoury and Reimund 2004).

2.5.3. Dekstran Sodyum Sülfat Kolit Modeli

Dekstran sodyum sülfat (DSS), $C_6H_7Na_3O_{14}S_3$ kimyasal formülüne sahip, suda çözünebilen, negatif yüklü sülfatlanmış bir polisakkarittir (Barnett and Fraser 2011). Kolit modeli oluşturmak için genellikle 40-50 kDa molekül ağırlığındaki DSS tercih edilmektedir. Farelerde ve sıçanlarda bağırsak iltihabı ve kolorektal kanser araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

DSS uygulaması, bağırsak epitelinde lamina propria ve submukozal bölgelerde hasar oluşturmakta, hasarlı alanda lümen antijenlerine ve enterik bakterilere maruz kalarak inflamasyon oluşumu görülmektedir (Low et al 2013).

DSS kolit modelinde temel lezyon, epitel tabakanın bozulmasıyla ilgili olduğundan, yaralanma sırasında veya sonrasında epitel tabakasının bütünlüğünü koruyan veya yeniden yapılanmasını sağlayan faktörlerin incelendiği çalışmalarda tercih edilmektedir (Kiesler et al 2015).

2.5.4. Dinitroklorobenzen Kolit Modeli

Dinitroklorobenzen sülfonik asit, bir hapten ajandır ve gecikmiş tip duyarlılık reaksiyonunu tetikler (Goyal, Rana, Ahlawat, Bijjem and Kumar 2014). Dinitroklorobenzen sülfonik asit rektal yolla kolona uygulandığında ortaya çıkan ülserasyonlar, kript abseleri ve granülosit infiltrasyonu oluşturmaktadır. Semptomları ÜK'ya benzer bir tablo sergiler. Bu model, akut etkili olup kronik etki gösterebilmesi için sürekli antijen uygulanması gerektirir.

2.5.5. Oksalozon Kolit Modeli

Oksalozon kolit modelinin hem morfoloji açısından hem de immünopatogenez açısından insan ÜK'sına benzemektedir (Kiesler et al 2015). Oksalozonun tek bir dozunun rektum içine verilmesi, distal kolonun mukozasında akut yüzeysel inflamasyona neden olur. Bu durum, lenfosit ve nötrofillerin infiltrasyonu, lamina propria ödemi ve ülserasyonlarla karakterizedir.

2.6. İZ ELEMENTLER

İz elementler, insan ve hayvan dokularında miligramdan (mg) nanograma (ng) kadar değişen aralıklarda bulunan maddeler olarak tanımlanmaktadır (Akday ve ark 2020). Bakır (Cu) ve çinko (Zn) başta olmak üzere mangan (Mn), demir (Fe), molibden (Mo), bizmut (Bi), kobalt (Co) ve selenyum (Se) gibi iz elementler, canlı büyümesi için zorunludur ve mikrobelerin olarak adlandırılmaktadır. Bu unsurlarla birlikte kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), nikel (Ni), civa (Hg) ve arsenik (As) gibi iz elementler, yaşayan organizmalar için toksik etkilidir.

Canlıların yaşamı için gerekli olan eser elementlerin fonksiyonlarını anlamak amacıyla dokular ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonlarını belirlemeye yönelik birçok çalışma gerçekleştirilmiştir (Akday ve ark 2020). Bu çalışmalarda eser elementlerin, enzimlerin bağlanma bölgeleri için diğer elementler veya metalloproteinlerle rekabet ederek enzimatik reaksiyonları hem inhibe etme hem de aktive etme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca eser elementlerin hücre membranlarının geçirgenliğini

etkileme ve diğer mekanizmalar aracılığıyla çeşitli biyolojik süreçlerde önemli rol oynadığına dair kanıtlar bulunmuştur.

2.6.1. Çinko

Çinko, insan vücudunda en bol bulunan ikinci eser elementtir ve çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerde görev alır (Örüm 2024). Çinko, insan vücudunda sentezlenemeyen ve vücuttaki seviyesinin korunması için dışarıdan alınması gereken bir elementtir (Stiles, Ferrao and Mehta 2024). Vücutta çinko birçok yapıda yer almaktadır. Örneğin, her on proteinden biri çinko içeren bir proteindir ve 300'den fazla enzim ile 1000'den fazla transkripsiyon faktörü, aktiviteleri için çinkoya bağımlıdır. Bu nedenle, protein sentezi, nükleik asit metabolizması (DNA sentezi dahil), gen transkripsiyonu, hücre çoğalması ve farklılaşması ve mitoz gibi birçok hücresel süreçte çinko esansiyel bir mikro besindir.

İnsan vücudundaki çinkonun yaklaşık %57'si iskelet kaslarında, %29'u ise kemiklerde bulunur (Belgemen ve Akar 2024). İnsan vücudundaki toplam çinko miktarı 2-4 gram arasında değişir ve plazma konsantrasyonu 12-16 μM 'dir (Rheingold, Raval, Gordon and Hardigan 2023). Ulusal Bilimler Akademisi'ne göre, günlük önerilen alım miktarı yetişkin erkekler için 11 mg/gün ve yetişkin kadınlar için 8 mg/gün'dür. Çinko takviyesi alırken toksik sınırları aşmaktan kaçınılmalıdır, çünkü aşırı alım birçok istenmeyen sağlık sorunlarına yol açabilir (Doğan 2020). Bir kerede 1-2 gram çinko sülfat alımı akut zehirlenmeye yol açarken; bir haftadan uzun süre boyunca günde 150 mg'dan fazla çinko kullanımı kronik zehirlenmeye yol açabilir.

Çinko homeostazı, çinko eksikliği ve bu durumla ilişkili hastalıklar son yıllarda dikkat çekmektedir (Maywald, Wessels ve Rink 2017). Dr. Prasad (2008), insanda çinko eksikliğinin varlığını ilk kez 1963'te kanıtlamıştır. Çinko eksikliği ilk keşfedildiğinde, nadir bir hastalık olduğu düşünülmüştür. Ancak, çinko eksikliği oldukça yaygındır ve dünya genelinde etkilenen iki milyar insan olduğu öngörülmektedir. Ayrıca, endüstriyel ülkeler, özellikle yaşlı nüfus, çinko eksikliğinden daha çok etkilenmektedir. Bununla birlikte, çinko durumu, bağışıklık durumu (enfeksiyon, inflamatuvar koşullar) yanı sıra diyet, emilim ve gastrointestinal sistem ve böbrekler aracılığıyla koruma mekanizmaları tarafından büyük ölçüde etkilenir (Prasad 2008).

Çinko düzeyi serum veya plazmada, saçta ve idrarda çinko atılımına bakılarak belirlenmektedir (King, Cousins and Zinc 2020). Çinko eksikliğinin başlangıç belirtileri spesifik olmamakla birlikte, hastanın geçmiş çinko düzeyi hakkında bilgi alınmadıkça eksikliğini öngörmek zordur (Maret and Sandstead 2006). Çinko eksikliğine maruziyet süresi ve şiddeti arttıkça, genital sistem gelişimi bozuklukları ve hipogonadizm, gebelikte düşük ve doğuştan anomaliler, ishal, zatürre ve diğer enfeksiyonlarla ilişkilendirilen yüksek ölüm riski gibi etkiler ortaya çıkar.

Çinko eksikliği çeşitli mekanizmaları etkilemektedir. Bağışıklık sisteminde görev alan ve enzim sistemleri için gerekli olan çinkonun eksikliği veya aşırılığı, bağışıklık hücre sayılarını ve aktivitelerini ciddi şekilde etkileyebilir (Umut, Bilgin ve İzci 2022). Hem çinko eksikliği hem de çinko fazlalığı oksidatif stres oluşumuna katkıda bulunabilir (Lee 2018). Ayrıca çinko eksikliğinin mukozal bariyerde bozulmalara da yol açtığı bilinmektedir (Zhong, McClain, Cave, Kang and Zhou 2010). Çinko homeostazisinde bir düzensizlik bulunması, bağırsak sağlığını olumsuz etkileyerek İBH ve irritabl bağırsak sendromu gibi bağırsak hastalıklarının gelişmesine katkıda bulunabilir (Wan and Zhang 2022).

Çinko, birçok gıdada bol miktarda bulunan bir elementtir (Akdeniz, Kınık, Yerlikaya ve Akan 2016). Örneğin, bir porsiyon ıstiridye yüksek miktarda çinko içerir. Çinko içeren diğer faydalı besinler arasında kırmızı et, tavuk, deniz kabukluları, fasulye, fındık, tam tahıllar, zenginleştirilmiş kahvaltılık tahıl ürünleri ve süt ürünleri bulunmaktadır. Çinkonun vücut tarafından kullanılabilirliği, hayvansal protein içeren gıdalarda bitkisel protein içerenlere kıyasla daha kolaydır. Çünkü et, süt ve deniz ürünleri, çinko emilimini artıran bazı amino asitleri (örneğin sistein ve metiyonin) içerir, bu da çinkonun vücutta daha etkili bir şekilde kullanılmasına katkıda bulunur. Ayrıca, fitatlar çinko emilimini azaltan bir madde olup tahıl ürünleri, baklagiller ve bazı diğer ürünlerde bulunur. Bu nedenle, tüm tahıl ürünlerinde ve bitkisel proteinlerde bulunan çinko, vücutta daha az emilime uğrar. Mayalanmış tahıl ekmeği gibi mayalı gıdalarda ise, mayaların enzimatik aktivitelerinden dolayı çinko oranı yüksektir. Bu da mayalı besinleri vücut için daha etkili bir çinko kaynağı yapar (Tablo 1).

Çinko için diyet önerilerinde farklılıklar bulunmaktadır (Stiles et al 2024). Bu konudaki veriler, günlük yaklaşık 7,4 mg çinko önerisi şeklindedir. ABD'de öneriler

arasında günlük 15 mg, 11 mg ve sırasıyla 19 yaş ve üzeri erkek ve kadınlar için günlük 11 mg ve 8 mg bulunmaktadır. İngiltere'de ise bir erkek için önerilen miktar 9,5 mg/gün, bir kadın için ise 7 mg/gündür. İngiltere Sağlık Bakanlığı, çinko alımının günlük 25 mg'yi aşmaması gerektiğini bildirmiştir.

Tablo 1. Farklı gıdaların içeriğindeki çinko düzeyleri (Kahraman 2011).

BESİN TÜRÜ	ÇİNKO MİKTARI (mg/100g-mL)
İstiridye	87,1
Pirinç	1,0
Nohut	1,0
Hindi Eti	2,5
Tavuk Eti	0,9
Sığır Eti	4,9
Yoğurt	0,9
İnek Sütü	0,3
Keçi Sütü	0,3
Koyun Sütü	0,5-0,7

2.6.1.1. Çinkonun fizyolojik etkileri

Çinko, tüm hücrelerin fonksiyonu ve büyümesi için hayati öneme sahiptir (Rheingold et al 2023). Çinko, gen ekspresyonu, enzimatik kataliz, hormonal depolama, doku tamiri, DNA replikasyonu, transkripsiyon ve protein sentezi gibi bir dizi işlem için gereken bir geçiş metalidir (Örüm 2024). Özellikle, çinkonun inflamasyon ve bağışıklık sistemi üzerinde önemli bir modülatör olduğu; oksidatif strese korunmada antioksidan aktiviteleri aracılığıyla metabolik homeostazın sürdürülmesine yardımcı olduğu belirlenmiştir (Wessels, Maywald and Rink 2020, Jarosz, Olbert, Wyszogrodzka, Młyniec and Librowski 2021).

Çinko, immün sistemin önemli bir hücresi olan T hücresi olgunlaşmasında kritik bir rol oynayan peptit hormon timulin sentezi için gereken bir kofaktördür (Akpınar ve ark 2024). Çinko, birçok enzimin kofaktörü olmanın yanı sıra fagositik hücrelerin

üretiminde de önemli bir işleve sahiptir. Aynı zamanda çinko eksikliği, T ve B hücrelerinin gelişimini ve işlevlerini olumsuz yönde etkiler, bu da antikor üretiminin azalmasına neden olur (Acarkan 2015). Ayrıca çinko, C vitamini gibi doğrudan antiviral özellikler taşır ve hem adaptif hem de doğal bağışıklık yanıtları için kritik bir öneme sahiptir. Bu önemli etkisi, çinkonun bakteriyel ve viral enfeksiyon hastalıklarına karşı önemli bir destek sağladığını gösterir. Yapılan çalışmalarda çinko eksikliğinin IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflatuvar sitokinlerin salınımını artırdığı, T ve B lenfositlerinin sayısını azaltarak bağışıklık sistemini bozduğu ve enfeksiyonlara yatkınlığı arttırdığı belirlenmiştir (Rheingold et al 2023, Jarmakiewicz-Czaja, Ferenc, Sokal-Dembowska and Filip 2024).

2.6.1.2. Vücutta çinko Emilimi, dağılımı ve atılımı

İnsanların çinko dengesini düzenleme ana mekanizmaları, duodenum ve jejunum gibi ince bağırsak bölümlerinden çinkonun emilimi ve dışkıyla atılmasıdır (Yatkın, Gültekin, Albayrak ve Arslan 2022). Çinkonun vücuttaki homeostazı, enterositlerin apikal ve bazolateral membranlarında bulunan taşıyıcılar aracılığıyla bağırsakta emilim yoluyla kontrol edilir (Jarmakiewicz-Czaja et al 2024).

Çinko emilim işlemi başlıca ince bağırsağın proksimal kısmında, distal duodenumda ve proksimal jejunumda meydana gelir (Stiles et al 2024). Zn²⁺ iyonlarının enterosit içine girişi, duodenum ve jejunumda ZIP4 ve/veya ZnT5B aracılığıyla gerçekleşir. Enterositte çinko alımında potansiyel olarak rol oynayan başka bir transmembran iyon taşıyıcısı divalent metal taşıyıcı-1'dir (DMT-1). Kullanılan taşıyıcıdan bağımsız olarak, Zn⁺² iyonları enterosit içinde olduğunda, ZnT1 (çinko taşıyıcı 1) çinkoyu enterositte portal kana taşır. Buradan bu iyonlar, amino asitler ve sitrat gibi ligandlara bağlanarak, hepatik portal damar boyunca taşınır. Böylece absorbe edilen çinko, ince bağırsağın bazolateral membranından portal dolaşım aracılığıyla karaciğere ulaşır.

Çinko metabolizmasında kilit bir rol oynayan temel organ karaciğerdir (Halsted 1977). Çinko, ZIP14 aracılığıyla hepatositlere geçer. Kan, sinusoidlerden geçtikten sonra merkezi vene, ardından hepatik venlere ve nihayet sistemik dolaşıma yönlendirilir. Sistemik dolaşımdan gelen çinko iyonları, beyin, kas ve kemik gibi çeşitli vücut dokularına taşınır.

Çinkonun emilim hızı, cinsiyet, fizyolojik durum ve diyet bileşenlerine bağlı olarak değişir (David 1999, Shah and Sachdev 2001). Protein açısından zayıf diyetlerdeki kalsiyum, fosfor, demir ve bakır çinkonun emiliminde azalmaya yol açarken; protein açısından zengin diyetlerdeki EDTA, lizin, glisin, histidin ve sistein emilim oranını artırmaktadır.

Çinko atılımı genellikle vücuttan feçes yoluyla olmakla beraber idrar, ter ve safra yoluyla da küçük miktarlarda atılımı gerçekleşir (Saner 1999). Ancak sıcak iklimlerde terleme ile kaybedilen miktar önemli ölçüde artabilir. İdrarla atılan çinko miktarı günde 0,3-0,5 mg arasında değişirken, bu miktar obezite, *diabetes mellitus*, böbrek hastalığı, alkolik karaciğer hastalığı, uzun süreli açlık gibi durumlarda artabilir (Spencer, Osis, Kramer and Norris 1996).

Çinko, doğrudan bir antioksidan gibi çalışmaz, ancak dolaylı yollarla antioksidan etkiler gösterir. Örneğin, vücuttaki zararlı serbest radikalleri etkisiz hale getiren süperoksit dismutaz (SOD) enziminin çalışması için gereklidir. Ayrıca, hücreleri oksidatif strese karşı koruyan GSH üretimini artırarak dolaylı olarak savunma sistemine katkıda bulunur (Choi, Liu and Pan 2018, Jarmakiewicz-Czaja, Ferenc and Filip 2023). Güçlü bir endojen antioksidan olan SOD, süperoksit radikalini hidrojen peroksit ($H_2 O_2$) ve moleküler oksijene (O_2) dönüştürmekten sorumludur (Rampon, Volovitch, Joliot and Vriz 2018). Çinko, demir ve bakırın antagonisti olarak hareket eder ve bir iyon olarak, bu elementleri belirli bağlanma bölgelerinden uzaklaştırabilir ve bu şekilde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu azaltabilir (Jarmakiewicz-Czaja et al 2024).

İn vitro çalışmalar, çinkonun NF-kB aktivasyonunu, TNF- α ve IL-1 β üretimini azalttığını göstermiştir (Jarosz, Olbert, Wyszogrodzka, Młyniec and Librowski 2017). TNF- α 'ya maruz kalındığında bağırsak mukozasının bütünlüğünü korumak için hücre içi çinkonun kullanımının hayati olduğunu vurgulanmaktadır (Jarmakiewicz-Czaja et al 2024).

2.6.2. Çinko Pikolinat

Pikolinik asit, biyolojik ve kimyasal moleküler özellikleri nedeniyle büyük ilgi çeken bir piridin türevidir (Uğurlu 2018). Ayrıca nikotinik asit ve izonikotinik asidin altı üyeli halka yapılarına sahip bir izomeridir. Son yıllarda, piridin ve türevleri, farmasötik

ve diğ er endüstri alanlarında kullanılmaları nedeniyle araştırmalara konu olmuştur. Pikolinik asit, sindirim sırasında bağırsağı salgılanır ve esansiyel metallerin emilimine katkıda bulunur. Bu nedenle, vücudun şelatörü olarak hareket eder ve vücuttaki krom, çinko, mangan, bakır, demir ve molibden gibi elementlerin şelat ajanı olarak görev yapar.

Pikolinik asit, çinko ile birleşerek çinko pikolinatı oluşturur (Evans and Johnson 1980). Çinkonun vücut tarafından daha iyi emilmesine yardımcı olabilmektedir. Bu bileşik, çinko takviyelerinde kullanılan bir formdur. Çinko pikolinat takviyesi genellikle besin eksikliğı durumlarını düzeltmek veya çinko alımını artırmak amacıyla kullanılmaktadır (Erdoğıan 2020).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

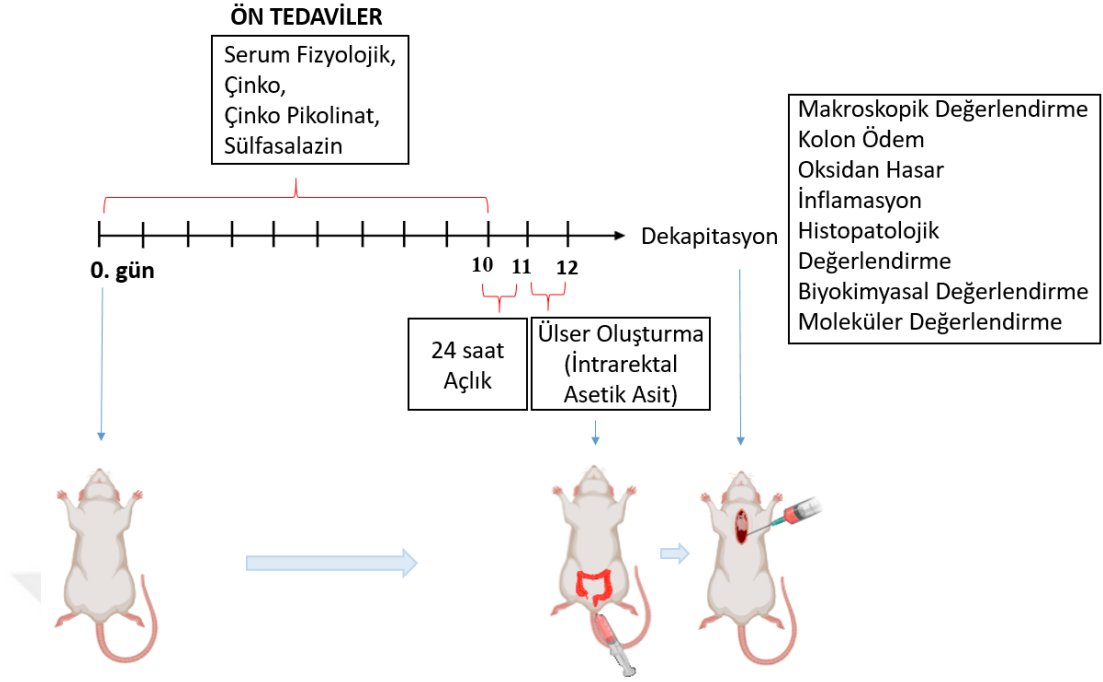
Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik onay alınan (onay numarası: 27.2023, onay yazısı ekte sunulmuştur) çalışmamız, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (proje numarası: 2024-26-62-13) tarafından finansal olarak desteklendi.

3.1. DENEY HAYVANLARI VE DENEY PROTOKOLLERİ

Çalışmada kullanılacak 12 haftalık Sprague Dawley (250-300 gr) erkek sıçanlar Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezinden (SÜDETAM) temin edilerek rastgele (her bir grupta 7 sıçan olacak şekilde, toplam 35 sıçan) 5 gruba ayrıldı. Sıçanlar, 22-24°C sıcaklıkta ve 12 saatlik ışık/karanlık döngüsüne sahip standart laboratuvar koşullarında barındırıldılar. Deney protokolüne göre belirli aralıklarla uygulanan açlık günleri haricinde, hayvanlara su ve yem (standart laboratuvar yemi) *ad libitum* olarak sunuldu.

3.1.1. Deney Prosedürü

Kolit gruplarına asetik asit (AA) (Sigma Aldrich, Cas No: 64-19-7) uygulaması ile kolit modeli indüksiyonundan 10 gün önce her gün olmak üzere (10 doz) çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, Merck), sülfasalazin (Sigma Aldrich, CAS: 599-79-1), çinko pikolinat (Sigma Aldrich, CDS003251-1G) ön tedavi ajanları veya serum fizyolojik uygulandı. Kolit indüksiyonundan 24 saat sonra tüm deney gruplarındaki hayvanlardan intrakardiyak kan alınarak hayvanlar dekapite edildi (Şekil 4).



Şekil 4. Deney akış şeması.

3.1.2. Deney Grupları

Kontrol Grubu (n=7): On gün boyunca intraperitoneal (i.p.) serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapıldıktan sonra, 24 saat açlığı takiben intrarektal olarak SF uygulandı (Resim 1). İntrarektal uygulamadan yirmi dört saat sonra sıçanlar dekapite edildi.



Resim 1. Sıçanlara intraperitonel enjeksiyon uygulaması.

Kolit Grubu (n=7): Sıçanlara çözücü olan serum fizyolojik on gün süreyle i.p. (10 doz) olarak uygulandı. Daha sonra sıçanlar kolit indüksiyonu prosedürüne tabi tutuldu. AA uygulamasından yirmi dört saat sonra sıçanlar dekapite edildi.

Kolit + Sülfasalazin Grubu (n=7): Pozitif kontrol olarak tasarlanan bu grupta sıçanlara 10 gün boyunca sülfasalazin (100 mg/kg, oral) verildi (Resim 2). 11. Gün kolit indüksiyonu uygulandı. Kolit indüksiyonundan yirmi dört saat sonra sıçanlar dekapite edildi.



Resim 2. Sıçanlara intragastrik madde uygulaması.

Kolit + Çinko Grubu (n=7): Kolit indüklenmeden on gün önce başlamak üzere sıçanlara her gün çinko uygulaması (i.p. olarak 6 mg /kg/gün) yapıldı. Daha sonra sıçanlar 11. gün kolit prosedürüne tabi tutuldu ve yirmi dört saat sonra dekapite edildi.

Kolit + Çinko Pikolinat Grubu (n=7): Sıçanlara on gün boyunca i.p. 6 mg/kg/gün çinko pikolinat uygulandı (10 doz). Daha sonra sıçanlara 11. gün kolit indüksiyonu gerçekleştirildi. AA uygulamasından yirmi dört saat sonra dekapite edildi.

3.1.3. Kolit Modeli Oluşturulması

Kolit uygulanacak gruptaki sıçanlara 24 saatlik açlık (suya erişimleri serbest) uygulandı. Ardından hafif eter anestezisi altında olan sıçanların kolonuna polietilen kateter (PE-60) ile anüsten 8 cm girilerek asetik asit çözeltisi (AA; 1 ml, tuzlu su içinde %5 v/v) intrarektal olarak verildi. Trendelenburg pozisyonunda 30 sn. bekledikten sonra üç kez 0.5 ml fizyolojik tuzlu su ile bağırsak lümeni yıkandı (Arabacı Tamer et al 2023). (Resim 3). Kontrol grubu sıçanları için AA yerine eşit hacimde serum fizyolojik uygulandı.

SF veya AA uygulanmasından 24 saat sonra tüm deney gruplarındaki hayvanlar anestezisi altına (ksilazin:10 mg/kg; ketamin:50 mg/kg, i.p) alınarak intrakardiyak kan alındı ve deney sonlandırıldı (Resim 4). Tüm grupların kolon dokularından makroskopik değerlendirme yapıldı. Biyokimyasal analizler için kan alınarak santrifüj yapıldı. Kolon dokusu serum fizyolojik ile nazikçe temizlendikten sonra biyokimyasal, moleküler ve histolojik analizler için uygun koşullarda saklandı.



Resim 3. Asetik asit uygulayarak ülseratif kolit oluşturma işlemi



Resim 4. Refleks kontrolü ile anestezi derinliğinin takibi ve intrakardiyak kan alma aşaması

3.2. DENEY GRUPLARINDA DEĞERLENDİRME PARAMETRELERİ

3.2.1. Kolon Dokusunda Makroskopik Düzeyde Hasar Değerlendirilmesi

Deney gruplarındaki sıçanlar sakrifiye edildikten sonra, kolon dokuları çıkarılarak serum fizyolojik ile nazıkçe temizlendi. Makroskopik değerlendirmeler yapılarak kolonlar fotoğraflandı.

Makroskopik hasar değerlendirmesinde 0 ile 5 arasında aşağıdaki ölçek kullanıldı:

0: hiç hasar yok; 1: ülser olmayan lokal hiperemi; 2: iltihap olmayan tek bir ülserasyon bölgesi; 3: iltihaplı tek bir ülserasyon bölgesi; 4: iltihaplı < 1 cm ülserasyon bölgeleri; 5: iltihaplı $\geq$ 1 cm ülserasyon bölgelerini temsil etmektedir (Fabia et al 1992).

3.2.2. Dışkı Kıvamı Tayini

ÜK hastalarında klinik ve laboratuvar bulgularında iyileşme gözlemlensede, kronik karın ağrısı, dışkılama alışkanlıklarında meydana gelen değişiklikler ve dışkı kıvamındaki farklılıklar, hastaların hastaneye başvurmaya devam etmesine neden olan yaygın şikâyetler arasında yer almaktadır (Okumuş 2019). Bu nedenle çalışmamızda

hastalık aktivasyonu ve bağırsak fonksiyonları ile ilişkisini değerlendirmek için dışkıının kalitesi 0 ile 3 arasında bir ölçek kullanılarak değerlendirildi.

0: normal dışkıyı; 1: hafif yumuşak dışkıyı; 2: çok yumuşak dışkıyı; 3: sulu dışkıyı temsil etmektedir (Arabacı Tamer et al 2023).

3.2.3. Kolon Ödemi Değerlendirmesi

Kolonoskopik incelemelerde, ÜK hastalarının tüm kolon mukozasında hiperemi ve ödem, yer yer yüzeysel milimetrik boyutlu ülserasyonlar ve vasküler patern kaybı gibi bulgular tespit edildi (Gümrah, Çetiner, Aksoy, Gençdal ve Yenice 2007). Bu nedenle, çalışmamızda alınan kolon örneklerinden 8 cm'lik kesimlerinin içindeki ilk 2 cm'lik proksimal kolon örneği alındı. Alınan kolon örneği, öncelikle kağıt havlu üzerinde fazla yüzey sıvısı emdirilerek tartıldı ve ıslak ağırlığı miligram cinsinden hassas terazide ölçüldü. Ardından örnekler, nem kaybının sağlanması ve sabit kütleye ulaşması amacıyla +37°C'de önceden ısıtılmış etüvde 24 saat boyunca kurutuldu (Yamada, Marshall, Specian and Grisham 1992, Appleyard and Wallace 1995). Bu sürenin sonunda örnekler tekrar tartılarak kuru ağırlığı elde edildi.

Islak ağırlık ile kuru ağırlık arasındaki fark hesaplanarak ülseratif kolit modelinde kolon ödeminin hastalık aktivitesi ile olası ilişkisi incelendi.

3.2.4. Çinko Ölçümü

Serumda çinko düzeyi, çinko iyonlarının belirli bir renk değişimi oluşturduğu kimyasal reaksiyonlara dayalı kolorimetrik analiz tekniği kullanılarak spektrofotometrik olarak değerlendirildi (Cat. No:E-BC-K137-M, Çin).

Deney prosedürü: ilk olarak tüm serumlar oda sıcaklığına getirildi. Her kuyu için 200 µl renk verici çalışma çözeltisi 2 µl renk verici ajan ve 198 µl tampon çözelti karıştırılarak hazırlandı. Standart eğri hazırlığı için; 1,54 mmol/L çinko standartı deiyonize su ile 0, 3,85, 7,7, 11,55, 15,4, 23,1, 30,08, 46,2 µmol/L seri konsantrasyonlara seyreltilti. 50 µl örnek ve 50 µl protein çöktürücü ajan karıştırılarak 13780×g'de 10 dakika (4 °C) santrifüj edildi. Standartlar ve örnekler kuyulara eşit hacimde (0,05 ml) yüklendi. Ardından her kuyuya 0,2 ml renk verici çalışma çözeltisi eklendi. Mikroplaka 5 dakika oda ısısında bekledikten sonra 570 nm'de çinko konsantrasyonu ölçüldü ve µmol/L cinsinden ifade edildi.

3.2.5. Kolon Dokusunda Oksidan/Antioksidan Parametrelerin

Değerlendirilmesi

Her hayvandan alınan kolon doku örneklerinde lipid peroksidasyonu ürünlerinin düzeyinin incelenmesi için malondialdehit (MDA) seviyeleri tiobarbitürik asit reaktif madde oluşumu gözlemlenerek değerlendirildi. Glutasyon (GSH) seviyeleri modifiye Ellman prosedürü kullanılarak ölçüldü. MDA ve GSH seviyelerinin analiz edilebilmesi amacıyla, her bir sıçandan alınan kolon doku örnekleri, doku homojenizatörü (JSR270) kullanılarak homojen bir hale getirildi. Bu işlem sırasında, hücresel bileşenlerin ayrıştırılmasını sağlamak için doku örnekleri %10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi ile muamele edildi. Elde edilen doku homojenatları, soğuk zincirin korunması amacıyla 4°C'de tutuldu ve 3000 devirde 15 dakika boyunca santrifüj edilerek süpernatant ve pellet kısımlarına ayrıldı. MDA seviyelerinin ölçülmesi için süpernatant fraksiyonları tiyobarbitürik asit ile reaksiyona sokularak reaktif madde oluşumu değerlendirildi. Reaksiyon sonucu meydana gelen renk değişimi, spektrofotometrik yöntem kullanılarak 535 nm dalga boyunda ölçülmüş olup, absorbans değerleri kaydedildi (Optizen POP UV-VIS). Elde edilen MDA konsantrasyonu, mmol/g doku birimiyle ifade edildi (Beuge and Aust 1978). GSH seviyelerinin belirlenmesinde ise spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Sonuçlar, gram doku başına mikromol cinsinden hesaplanarak sunuldu (Beutler 1975).

3.2.6. Kolon Dokusunda Miyeloperoksidaz (MPO) Aktivitesinin Ölçümü

Miyeloperoksidaz (MPO), ağırlıklı olarak polimorfonükleer lökositlerin azürofilik granüllerinde yer alan bir enzim olup, inflamasyon sürecinde dokulardaki nötrofil birikimini belirlemek amacıyla biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılmaktadır. MPO aktivitesinin tespiti, hidrojen peroksit (H_2O_2) aracılığıyla gerçekleşen o-dianizidin.2HCl oksidasyonunun spektrofotometrik ölçümü temel alınarak gerçekleştirildi. Bu analiz kapsamında, elde edilen doku örnekleri potasyum fosfat tamponu içerisinde homojenize edilerek hücresel bileşenlerin santrifüj yöntemiyle ayrıldı. Santrifüjleme işlemi sonrasında, örnekler %0,5 (w/v) heksadesiltrimetilamonyum bromür ve 10 mmol/l etilendiamintetraasetik asit (EDTA, Sigma) içeren 50 mmol/l K_2HPO_4 tamponu ile muamele edildi. Reaksiyon ürünlerinin optik yoğunluğu 460 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek

MPO aktivitesi değerlendirildi ve mmol/gr doku olarak ifade edildi (Bradley, Priebe, Christensen and Rothstein 1982).

3.2.7. Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Testi İle Sitokin Tayini

İnflamatuvar yanıtın değerlendirilmesi için kolon dokusu ve serum örneklerinde pro-inflamatuvar sitokinlerden tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α ; E0764Ra, Bioassay technology Laboratory) ve IL-6 (E0135Ra, Bioassay technology Laboratory) düzeyleri belirlendi. Ölçümler, üretici firmanın belirlediği protokollere uygun şekilde ticari ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kitleri kullanılarak gerçekleştirildi.

3.2.7.1. Numunelerin hazırlanması

ELISA analizlerinde kullanılacak kan örnekleri, serumun ayrıştırılması amacıyla 3.000 rpm hızında, +4 °C sıcaklıkta 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüjleme işlemi tamamlandıktan sonra üst faz dikkatlice ayrılarak deney aşamasına kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

Kolon dokusu örnekleri de ELISA analizlerinde kullanılmak üzere -80 °C'de saklandı. Deney sırasında, kolon doku örnekleri 0,1 M fosfat tamponu içerisinde homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar, hücresel bileşenlerin ayrıştırılması için 10.000 rpm hızında, +4 °C'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüjleme işlemi sonrasında üst faz dikkatlice ayrılarak toplam protein analizi için kullanıldı. Dokulardan elde edilen toplam protein miktarı, Bradford yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Kruger 2009).

3.2.7.2. Tümör Nekroz Faktörü- α ölçüm prosedürü

Analizler oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

Standart kuyucuklara 50 μ l standart çözelti eklendi. Numune kuyucuklarına öncelikle 40 μ l serum veya kolon örnekleri eklendi, ardından 10 μ l sıçan TNF- α antikoru ilave edildi. Daha sonra, boş kontrol kuyucuğu hariç olmak üzere, numune ve standart kuyucuklarına 50 μ l streptavidin-HRP eklendi. Karışım iyice homojen hale getirildikten sonra plaka kapatıcı ile kapatıldı. 37°C'de 60 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyonun ardından kapatıcı çıkarıldı ve plaka 5 kez yıkandı. Her yıkama aşamasında kuyucuklar 300 µl yıkama tamponu içinde 30 saniye ila 1 dakika bekletildi. Ardından her kuyucuğa sırasıyla 50 µl substrat çözeltisi A ve 50 µl substrat çözeltisi B eklendi. Plaka yeni bir kapatıcı ile örtüldü ve 37°C’de 10 dakika inkübe edildi.

Son olarak, her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi rengin hızla sarıya dönüştüğü gözlemlendi. Optik yoğunluk (OD) değerleri, mikrolaka okuyucusu 450 nm’ye ayarlanarak ölçüldü. Sonuçlar ng/L olarak ifade edildi.

3.2.7.3. İnterlökin-6 ölçüm prosedürü

Analizler oda sıcaklığında yapıldı.

Standart kuyucuklara 50 µl standart çözelti ilave edildi. Numune kuyucuklarına öncelikle 40 µl serum veya kolon doku örneği eklendi, ardından 10 µl Rat IL-6 antikoru ilave edildi. Daha sonra, numune ve standart kuyucuklarına 50 µl streptavidin-HRP eklendi. Karışım iyice karıştırıldıktan sonra mikrolaka filmle kapatılarak 37°C’de 60 dakika boyunca inkübe edildi.

İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra film çıkarıldı ve mikrolaka 5 kez yıkandı. Her yıkama aşamasında kuyucuklar 300 µl yıkama tamponu içinde 30 saniye ila 1 dakika bekletildi.

Daha sonra her kuyucuğa sırasıyla 50 µl substrat çözeltisi A ve 50 µl substrat çözeltisi B eklendi. Mikrolaka, yeni bir yapışkan film ile kapatıldı ve 37°C’de 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında, her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi rengin sarıya dönüştüğü gözlemlendi. Optik yoğunluk (OD) ölçümleri, durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde yapıldı. Mikrolaka okuyucusu 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar kaydedildi. Sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi.

3.2.8. Kantitatif Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) ile Gen Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi

Moleküler analizler için kolon dokuları -80°C’de deney gününe kadar saklandı. Alınan kolon doku örneklerinde intestinal geçirgenliğin değerlendirilmesi için sıkı bağlantı proteinlerinden zonula okludens (occludens), oklidin-1 (occludin) ve klöidin (claudin-

1) mRNA ekspresyonları RT-PCR (Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi ile belirlendi.

3.2.8.1. RNA izolasyonu ve konsantrasyon tayini

Sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen kolon dokuları, steril koşullarda doku homojenizatörü (MTOPS SR30, Kore) kullanılarak homojenize edildi ve RNA izolasyonu, TRIzol/TRIGent® (Invitrogen) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. İşlemin başlangıcında, homojenizasyon sırasında doku numunelerine 800 µl TRIzol reaktifi eklenerek lizis sağlandı ve trifazik ayırım için kloroform kullanıldı. Numuneler, 4°C'de 12.000 x g'de 15 dakika santrifüj edilerek faz ayırımı gerçekleştirildi ve RNA içeren süpernatant dikkatlice ayrılarak izopropanol ile çöktürme işlemi uygulandı. Protokole uygun inkübasyon ve santrifügasyon sonrası elde edilen RNA peleti %75'lik etanol ile yıkanarak kurutuldu ve nükleaz içermeyen su içinde çözülerek çalışma için hazır hale getirildi. Elde edilen RNA'ların konsantrasyonu ve saflığı, Qubit 4 Fluorometer (Invitrogen™) cihazı kullanılarak belirlendi.

3.2.8.2. cDNA sentezi ve qRT-PCR analizi

RNA'ların konsantrasyon tayini sonrası, High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Reaksiyon için 0.2 ml'lik PCR tüplerine kit protokolüne uygun olarak 2 µl 10X RT buffer, 0.8 µl 25X dNTP mix, 2 µl 10X RT Random Primer ve 1 µl MultiScribe Reverse Transcriptase eklendi, total RNA ve nükleaz içermeyen su ile toplam hacim 20 µl olacak şekilde tamamlandı. Termal döngüler sonucunda sentezlenen cDNA'lar nükleaz içermeyen distile su ile dilüe edilerek Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırmaları Merkezi (SÜDETAM) Nano Tıp Araştırma Laboratuvarı'nda -20°C'de saklandı. Hücre-hücre bağlantılarında rol oynayan ve EMT sürecinin biyobelirteçleri olarak bilinen zonula okludens, okludin-1 ve klaudin-1 genlerine özgü primerler firma tarafından temin edildi ve TaqMan™ probuna uygun reaksiyon karışımı Master Mix, ilgili primer, nükleaz içermeyen su ve cDNA olacak şekilde hazırlandı. qRT-PCR koşulları optimize edilip her gen için siklus sayısı 40 olarak belirlenerek mRNA ekspresyon düzeyindeki değişimler Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR sistemi (Applied Biosystems, Foster City, CA) kullanılarak analiz edildi. Analizlerde *ACTB* (beta-aktin) internal kontrol geni olarak kullanıldı. Zonula okludens, okludin ve

klouidinin mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişimler Relative Expression Software Tool (REST) (2009 V2.0.13) programı kullanılarak değerlendirildi. Veriler, her bir grup için en az üç tekrar yapılarak analize tabi tutuldu.

3.2.9. Histopatolojik İncelemeler

Histopatolojik incelemeler için dokular, hematoksilen-eozin (H&E) ve periyodik asit-Schiff (PAS) boyaları ile boyanarak değerlendirildi. Tüm boyalı kesitler deney gruplarından habersiz deneyimli uzman tarafından incelendi. Histopatolojik hasar kriterleri, hasar/nekroz (0: yok, 1: lokalize, 2: orta, 3: şiddetli); submukozal ödem (0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli); inflamatuvar hücre infiltrasyonu (0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli); vaskülit (0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli); perforasyon (0: yok, 1: mevcut) olarak daha önce belirlenmiş kriterlere göre yapıldı ve maksimum skor 13 puan olarak belirlendi (Gué, Peeters, Depoortere, Vantrappen and Bueno 1997).

3.2.9.1. Hematoksilen ve Eozin (H&E) boyama

Deney sürecinin sonunda, kolon dokularından alınan örnekler, ışık mikroskopisi incelemeleri için %10 nötral tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Ardından yükselen alkol serilerinden geçirilerek (70%, 90%, 96%,100%) dehidrate edildi. Ksilen ile şeffaflaştırılan dokular parafine gömülerek bloklandı. Parafin doku bloklarından histopatolojik değerlendirmeler için yaklaşık 4-µm kalınlığında alındı (Leica RM2125RT, Wetzlar, Almanya). Kesitler hematoksilen ve eozin (H&E) boyası ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı.

3.2.9.2. Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama

Yaklaşık 4µm kalınlığındaki parafin kesitler yüzey mukusu ve goblet hücrelerinin değerlendirilmesi için periyodik asit Schiff (PAS) ile boyandı. Boyalı kesitler CCD (Charge-Coupled Device) kamera (Olympus DP 72, Tokyo, Japonya) eklentili fotomikroskop (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) altında incelendi ve fotoğraflandı.

3.2.10. İstatistiksel Analiz

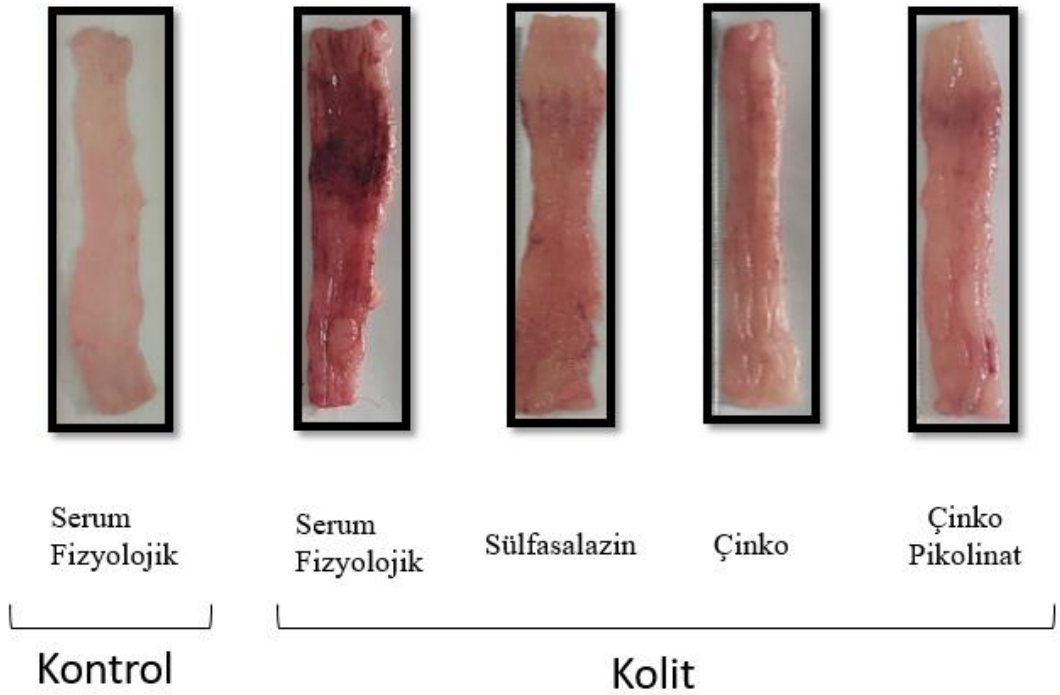
Deney grupları arasındaki istatistiksel anlamlılık düzeyini belirlemek için GraphPad Prism 8.3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testi ile desteklenen tek yönlü ANOVA analizi uygulandı. Tüm veriler, standart hata ile birlikte ortalama değerler olarak sunuldu. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA MAKROSKOBİK DEĞERLENDİRMELER

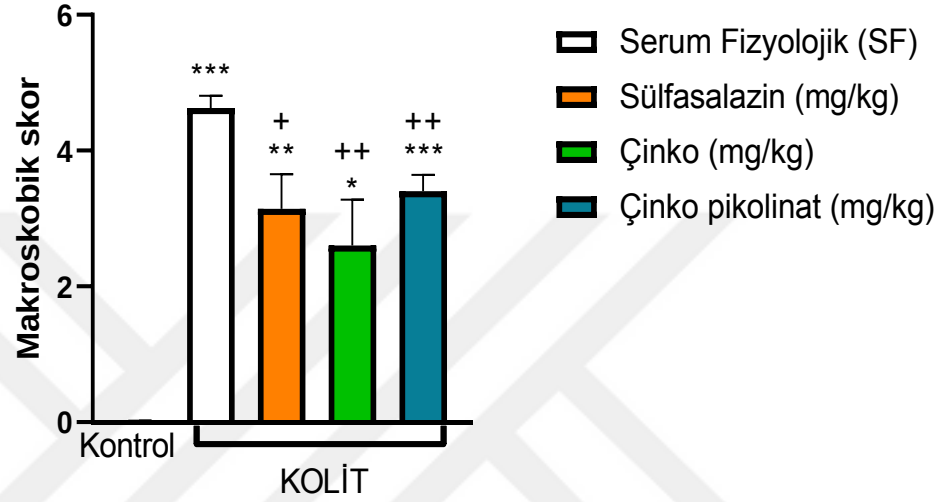
4.1.1. Makroskopik Hasarın Değerlendirilmesi Ve Skorlanması

Kontrol grubunda makroskopik olarak kolon dokusunda hasar görülmezken, serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubunda ülserli alanlar görüldü (Resim 5). Ön tedavi olarak sülfasalazin, çinko veya çinko pikolinat uygulanan gruplarda ülser alanların serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna göre çok daha az olduğu gözlemlendi.



Resim 5. Deney gruplarının temsili makroskopik görüntüleri.

Serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubunda makroskopik skor ($4,62 \pm 0,18$), kontrol grubuna ($0,01 \pm 0$) kıyasla anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$, Şekil 5). Serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna kıyasla, sülfasalazin ($3,14 \pm 0,5$), çinko ($2,6 \pm 0,67$) veya çinko pikolinat ($3,4 \pm 0,24$) ön tedavisi alan gruplarda makroskopik skorda anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($p < 0,05-0,01$).

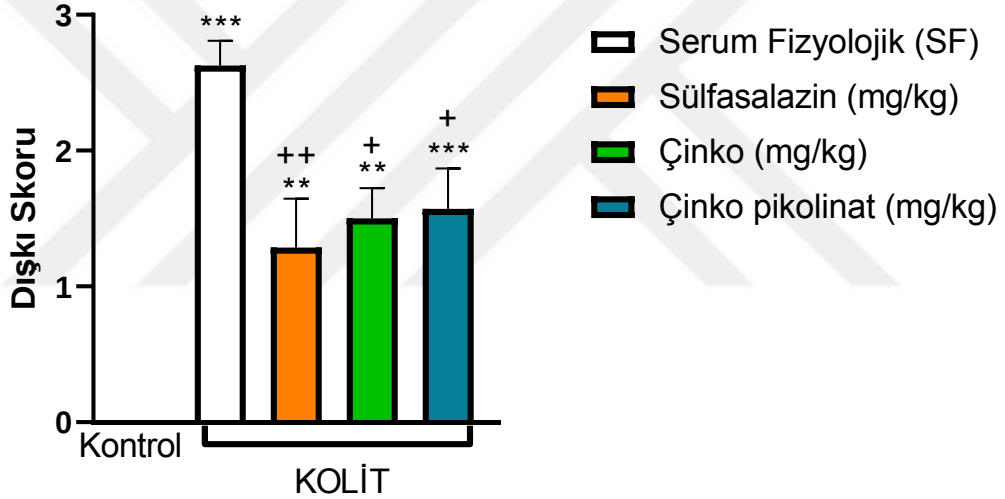


Şekil 5. Deney gruplarına ait makroskopik skor değerlendirmeleri.

(*: kontrole göre; $*p < 0,05$; $**p < 0,01$; $***p < 0,001$; +: kolite göre; $+p < 0,05$; $++p < 0,01$)

4.1.2. Deney Gruplarında Dışkı Skor Değerleri

Serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubu dışkı skoru ($2,62 \pm 0,18$), kontrol grubuna kıyasla (0 ± 0) anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$, Şekil 6). Sülfasalazin ($1,28 \pm 0,35$), çinko ($1,5 \pm 0,22$) veya çinko pikolinat ($1,57 \pm 0,29$) uygulaması yapılan ön tedavi gruplarında, dışkı skorlarında serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubuna göre belirgin azalmalar olduğu belirlendi. İstatistiksel olarak serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubu ile karşılaştırıldığında, dışkı skorunun sülfasalazin ($p < 0,01$), çinko ($p < 0,05$) veya çinko pikolinat ($p < 0,05$) ön tedavisi uygulanan gruplarda anlamlı derecede düşük olduğu görüldü.



Şekil 6. Deney gruplarının dışkı skorlamaları.

(*: kontrole göre; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; +: kolite göre; + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$)

4.2. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON ÖDEM DOKULARINDA ÖDEM DEĞERLENDİRMESİ

Serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubunda kolon ödem skorunun ($0,35 \pm 0,02$), kontrol grubuna ($0,19 \pm 0,03$) kıyasla anlamlı bir şekilde artış gösterdiği belirlendi ($p < 0,01$, Şekil 7). Sülfasalazin ($0,29 \pm 0,04$), çinko ($0,30 \pm 0,03$) veya çinko pikolinat ($0,30 \pm 0,03$) ön tedavi uygulaması yapılan gruplarda kolon ödem skorunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmedi.

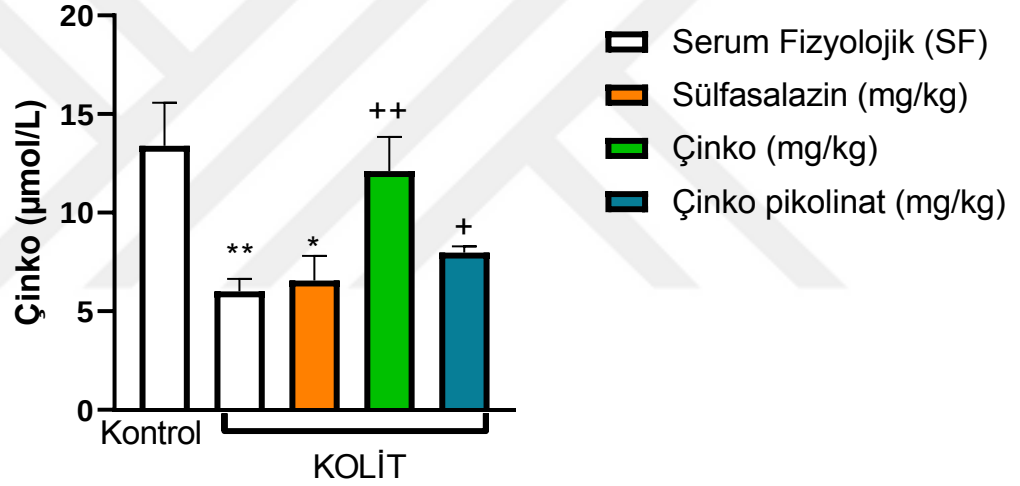


Şekil 7. Deney gruplarında kolon ödem skoru grafiği.

(*: kontrole göre; ** $p < 0,01$)

4.3. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN SERUM ÇİNKO DÜZEYİ

Kontrol grubuna ($13,40 \pm 2,18 \mu\text{mol/L}$) kıyasla, serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda çinko düzeyinin ($6,01 \pm 0,62 \mu\text{mol/L}$) anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi ($p<0,01$, Şekil 8). Çinko ($12,12 \pm 1,72 \mu\text{mol/L}$) veya çinko pikolinat ($7,970 \pm 0,317 \mu\text{mol/L}$) ön tedavisi uyguladığımız kolit grubunda, serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna göre çinko seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0,05-0,01$). Sülfasalazin ($6,56 \pm 1,24 \mu\text{mol/L}$) ön tedavi uygulanması neticesinde, serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubuna kıyasla çinko seviyesinde artma eğilimi olduğu görüldü ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.



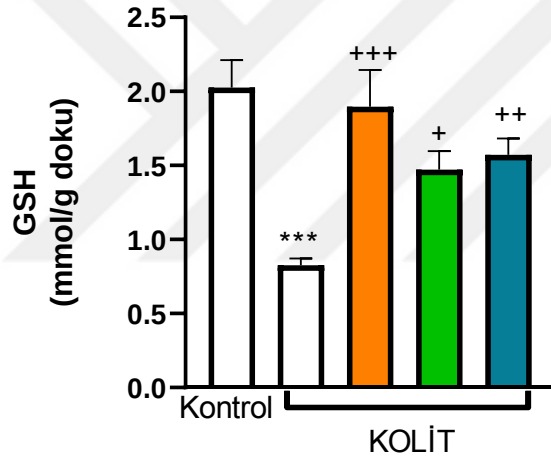
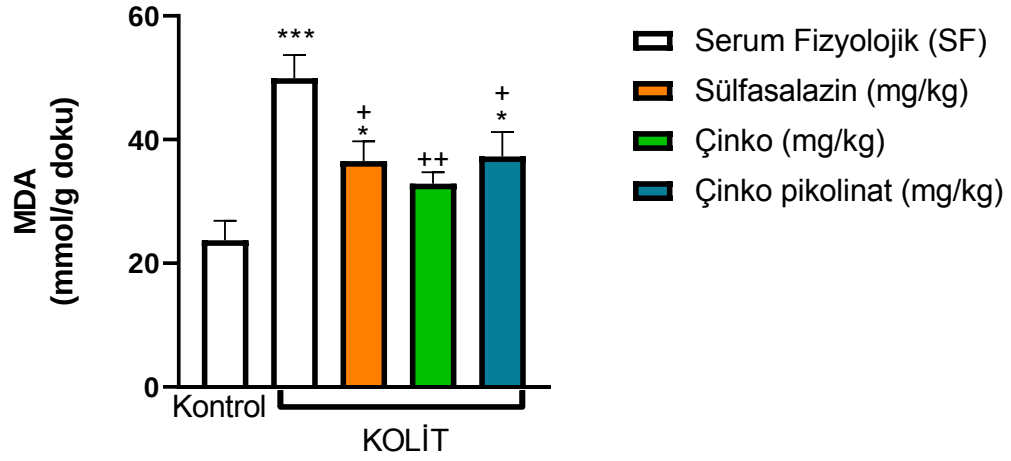
Şekil 8. Deney gruplarının serumlarında çinko seviyesi ölçümü.

(*: kontrole göre; * $p<0,05$; ** $p<0,01$; +: kolite göre; + $p<0,05$; ++ $p<0,01$)

4.4. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA MALONDİALDEHİT (MDA) VE GLUTATYON (GSH) DÜZEYLERİ

Kolon dokusunda malondialdehit (MDA) düzeyleri değerlendirildiğinde, serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda ($49,92 \pm 3,75$ mmol/g) kontrol grubuna ($23,74 \pm 3,11$ mmol/g) kıyasla belirgin bir artış gözlemlendi ($p<0,001$, Şekil 9). Sülfasalazin ($36,52 \pm 3,21$ mmol/g) ön tedavisi uygulanan deney grubunda, kolit grubuna kıyasla MDA düzeylerinde azalma meydana geldi ($p<0,05$). Çinko ($32,90 \pm 1,82$ mmol/g) ön tedavisi MDA düzeyinde, serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna kıyasla anlamlı bir düşüşe sebep oldu ($p<0,01$). Çinko pikolinat ön tedavisi uygulanan grupta ise MDA seviyelerinde anlamlı azalma ($37,27 \pm 3,97$ mmol/g) olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Antioksidan GSH düzeylerine kolon dokusunda baktığımızda, kontrol grubunda GSH düzeyleri diğer deney gruplarından yüksek bulunurken ($2,02 \pm 0,18$ mmol/g), serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubunda ($0,82 \pm 0,04$ mmol/g) kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,001$, Şekil 9). Sülfasalazin ön tedavisi ($1,89 \pm 0,24$ mmol/g) ile serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna kıyasla GSH düzeylerinde belirgin bir artış sağlandı ($p<0,001$). Serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubuna kıyaslandığında, çinko ($1,47 \pm 0,12$ mmol/g) veya çinko pikolinat ($1,57 \pm 0,11$ mmol/g) ön tedavisi uygulanan gruplarda kolonik GSH içeriğinin artış gösterdiği saptandı ($p<0,05-0,01$).

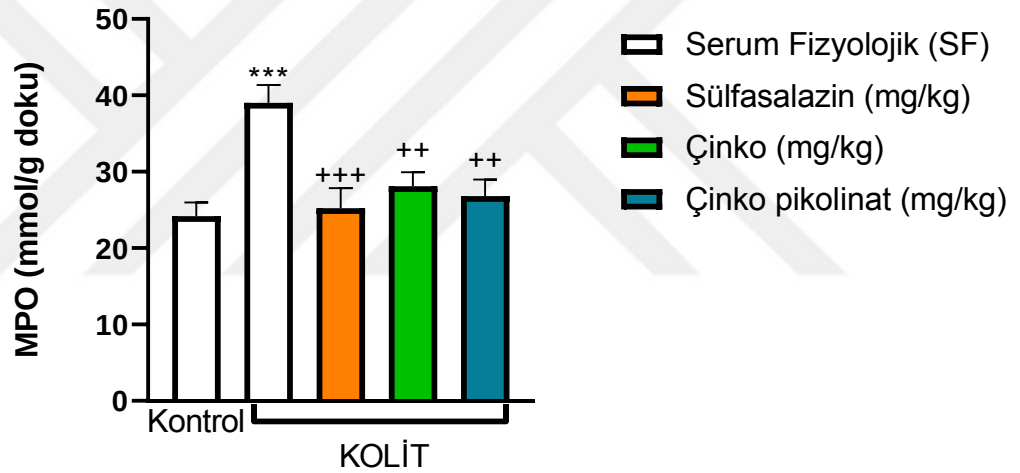


Şekil 9. Deney gruplarının kolon dokularındaki malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri.

(*: kontrole göre; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; +: kolite göre; + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$)

4.5. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA MİYELOPEROKSİDAZ (MPO) AKTİVİTESİ

Serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda ($39,03 \pm 2,33$ mmol/g), MPO düzeyleri kontrol grubuna ($24,9 \pm 1,8$ mmol/g) kıyasla anlamlı şekilde arttı ($p < 0,001$, Şekil 10). Sülfasalazin ön tedavisi ($25,22 \pm 2,63$ mmol/g) serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi ($p < 0,001$). Benzer şekilde çinko ($28,10 \pm 1,81$ mmol/g) veya çinko pikolinat ($26,8 \pm 2,12$ mmol/g) ön tedavisi serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubuna kıyasla MPO düzeylerinde düşüşe neden oldu ($p < 0,01$).



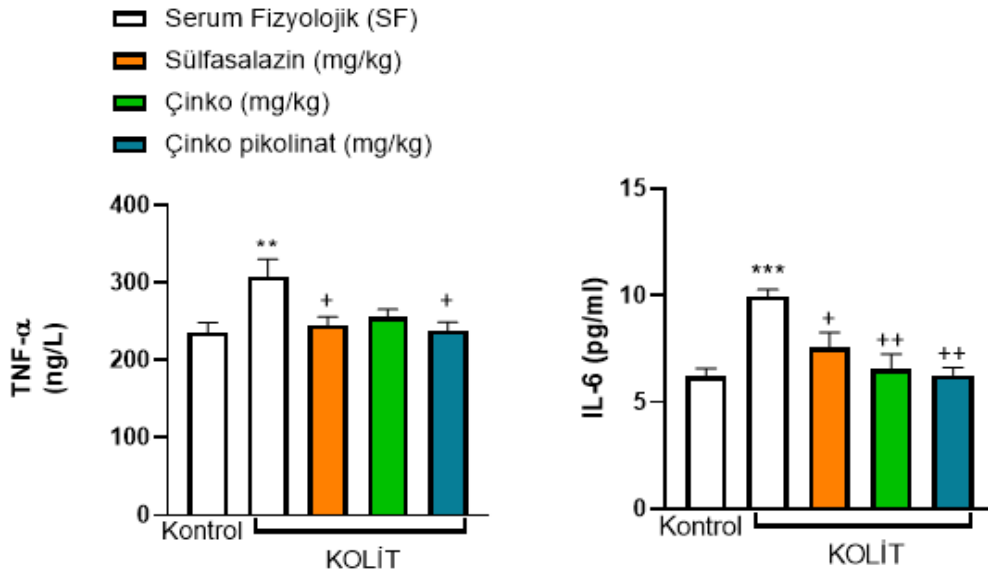
Şekil 10. Deney gruplarının kolon dokularındaki miyeloperoksidaz (MPO) düzeyleri.

(*: kontrole göre; *** $p < 0,001$; +: kolite göre; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$)

4.6. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN SERUM TNF- α VE IL-6 DÜZEYLERİ

Ülser oluşumu ile serumda proinflamatuvar sitokin olan TNF- α düzeyinde ($308,3 \pm 22,19$ ng/L), kontrol grubuna ($236,0 \pm 12,80$ ng/L) kıyasla anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0,01$, Şekil 11). Ön tedavi olarak sülfasalazin ($245,1 \pm 11,10$ ng/L) veya çinko pikolinat ($238,3 \pm 10,82$ ng/L) uygulandığında serum TNF- α düzeylerinde, serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubuna kıyasla azalma gözlemlendi ($p < 0,05$). Çinko ön tedavisi uygulanan grupta serum TNF- α düzeyinde ($256,4 \pm 9,31$ ng/L), serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubuna kıyasla düşüş gözlemlendi ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Serum IL-6 düzeylerinde serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda ($9,95 \pm 0,32$ pg/ml), kontrol grubuna ($6,22 \pm 0,35$ pg/ml) kıyasla anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0,001$, Şekil 11). Sülfasalazin ($7,58 \pm 0,69$ pg/ml), çinko ($6,58 \pm 0,67$ pg/ml) veya çinko pikolinat ($6,27 \pm 0,35$ pg/ml) ön tedavileri, IL-6 düzeylerinde serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma sağladı ($p < 0,05$ - $p < 0,01$).



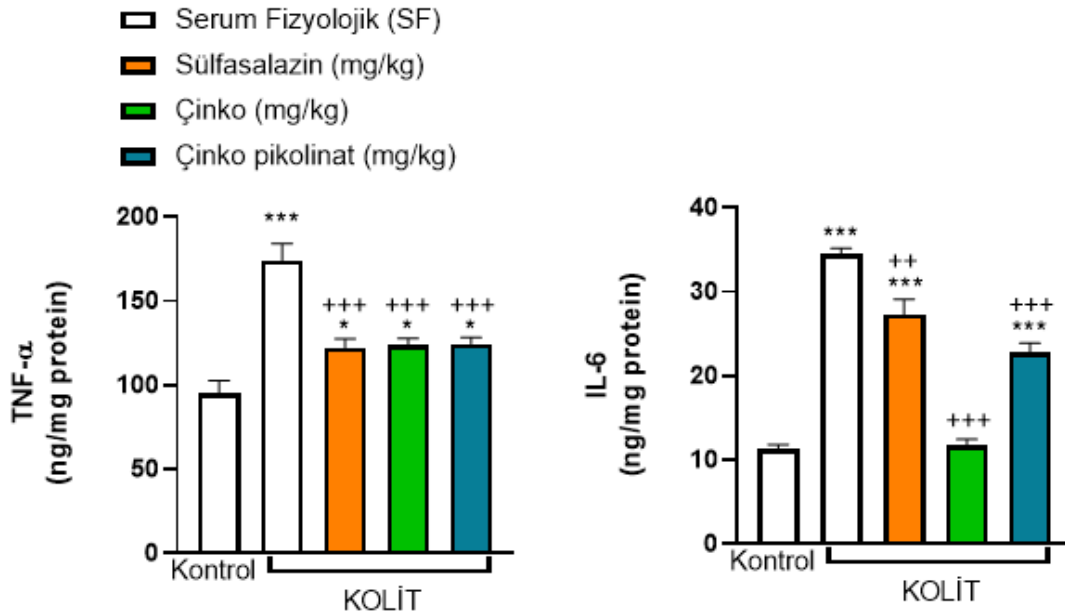
Şekil 11. Deney gruplarının serum örneklerinde TNF- α ve IL-6 seviyeleri.

(*: kontrole göre; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; +: kolite göre; + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$)

4.7. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA TNF- α VE IL-6 SEVİYELERİ

Serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda TNF- α düzeyinin ($174,2 \pm 10,05$ ng/mg), kontrol grubuna ($95,36 \pm 7,18$ ng/mg) kıyasla anlamlı bir şekilde artış gösterdiği belirlendi ($p < 0,001$, Şekil 12). Sülfasalazin ($122,2 \pm 5,41$ ng/mg), çinko ($124,2 \pm 3,49$ ng/mg) veya çinko pikolinat ($124,6 \pm 3,69$ ng/mg) ön tedavi uygulaması yapılan grupların kolon dokusunda TNF- α düzeylerinde serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubuna kıyasla anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p < 0,001$).

Kolon doku örneğinin IL-6 düzeyi serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubunda ($34,52 \pm 0,68$ ng/mg), kontrol grubuna ($11,32 \pm 0,48$ ng/mg) kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı bulundu ($p < 0,001$, Şekil 12). Sülfasalazin ($27,30 \pm 1,8$ ng/mg), çinko ($11,75 \pm 0,69$ ng/mg) veya çinko pikolinat ($22,86 \pm 1,02$ ng/mg) ön tedavi grupları, serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna göre IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe neden oldu ($p < 0,01-0,001$).



Şekil 12. Deney gruplarının kolon dokusu örneklerinde TNF- α ve IL-6 seviyeleri.

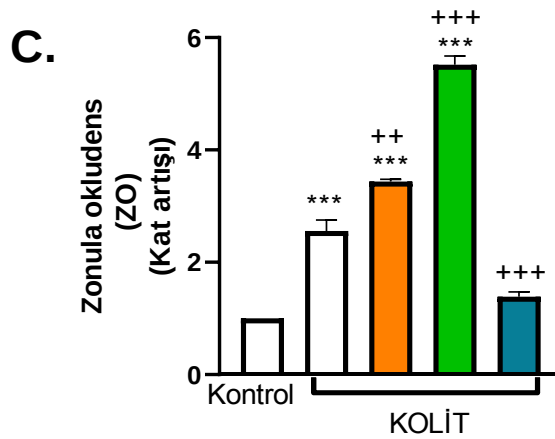
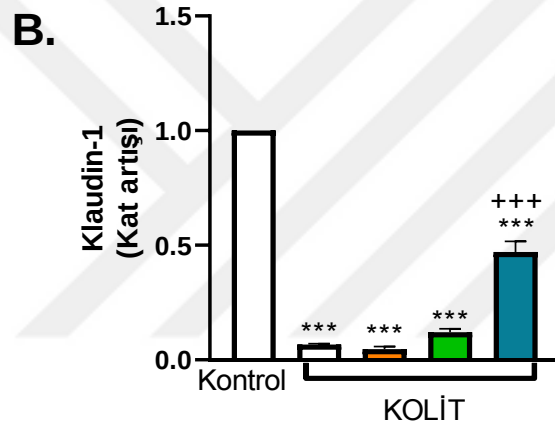
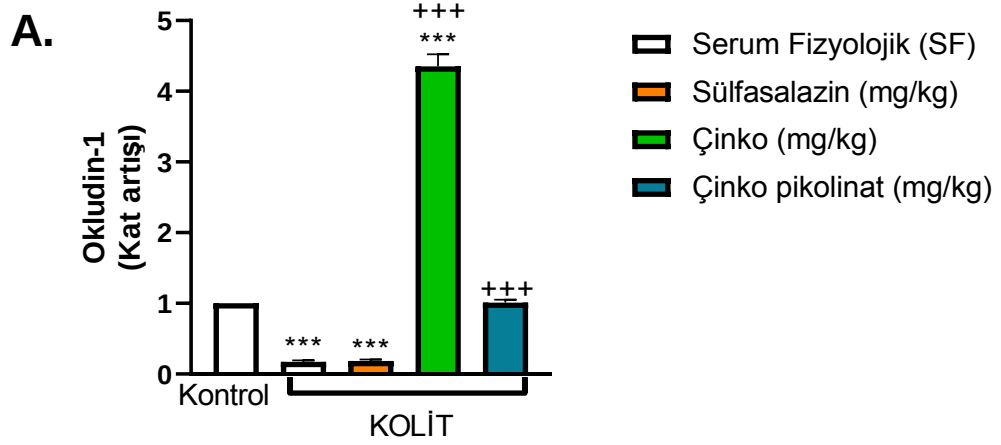
(*: kontrole göre; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; +: kolite göre; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$)

4.8. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA OKLUDİN-1, KLOİDİN-1 VE ZONULA OKLUDENS mRNA EKSPRESYONLARI

Serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda okludin-1 düzeyinin ($0,17 \pm 0,01$), kontrol grubuna (1 ± 0) kıyasla anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi ($p < 0,001$, Şekil 13A). Ön tedavi gruplarına çinko ($4,35 \pm 0,17$) uygulanması hem kontrol grubuna kıyasla hem de serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubuna kıyasla okludin-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış sağladı ($p < 0,001$). Çinko pikolinat ($1,01 \pm 0,04$) ön tedavisi uygulanan kolit grubunda da okludin-1 düzeyi serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı ($p < 0,001$). Sülfasalazin ($0,18 \pm 0,01$) ön tedavisi uyguladığımız kolit grubunda serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubuna göre okludin-1 düzeyindeki artış anlamlı bulunmadı.

Kloidin-1 düzeyi serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda ($0,06 \pm 0,003$), kontrol grubuna (1 ± 0) kıyasla anlamlı bir şekilde düşüş gösterdi ($p < 0,001$, Şekil 13B). Çinko pikolinat ($0,47 \pm 0,04$) uygulanması, serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubuna kıyasla kloidin-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış sağlarken ($p < 0,001$), çinko veya sülfasalazin ön tedavisi uyguladığımız kloidin-1 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artışa sebep olmadı.

Kolit grubunda zonula okludens düzeyinin ($2,55 \pm 0,19$), kontrol grubuna (1 ± 0) kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi ($p < 0,001$, Şekil 13C). Serum fizyolojik ön tedavisi verilen kolit grubu ile karşılaştırıldığında, çinko ($5,51 \pm 0,15$) veya sülfasalazin ($3,43 \pm 0,04$) ön tedavi uygulamaları zonula okludens -1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş gösterdi ($p < 0,05-0,01$). Bunların aksine çinko pikolinat ($1,38 \pm 0,08$) ön tedavisi uygulanan grupta zonula okludens düzeylerinde kolit grubuna kıyasla anlamlı bir azalma görüldü ($p < 0,001$).



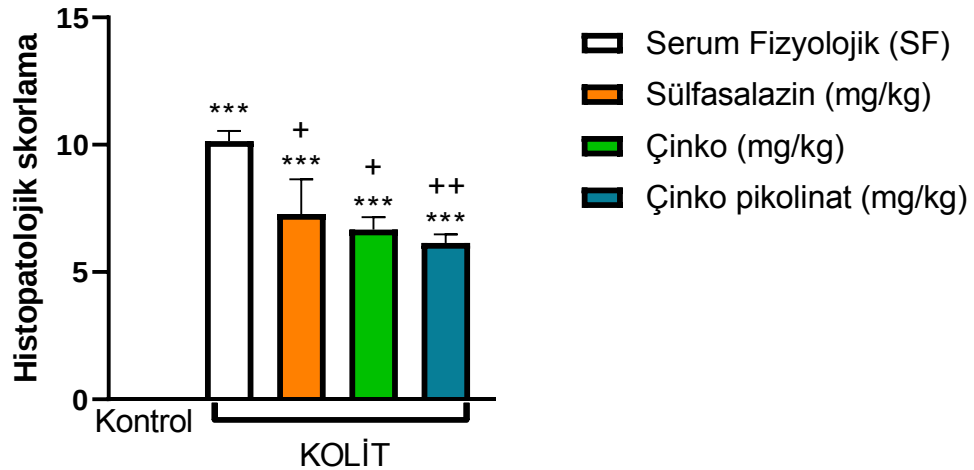
Şekil 13. Deney gruplarında sıkı bağlantı proteinlerinden Okcludin-1 (A), Kcludin-1 (B), Zonula Okcludens (C) seviyeleri.

(*: kontrole göre; ***p<0,001; +: kolite göre; ++p<0,01; +++p<0,001)

4.9. DENEY GRUPLARINDAKİ SIÇANLARIN KOLON DOKULARINDA HISTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

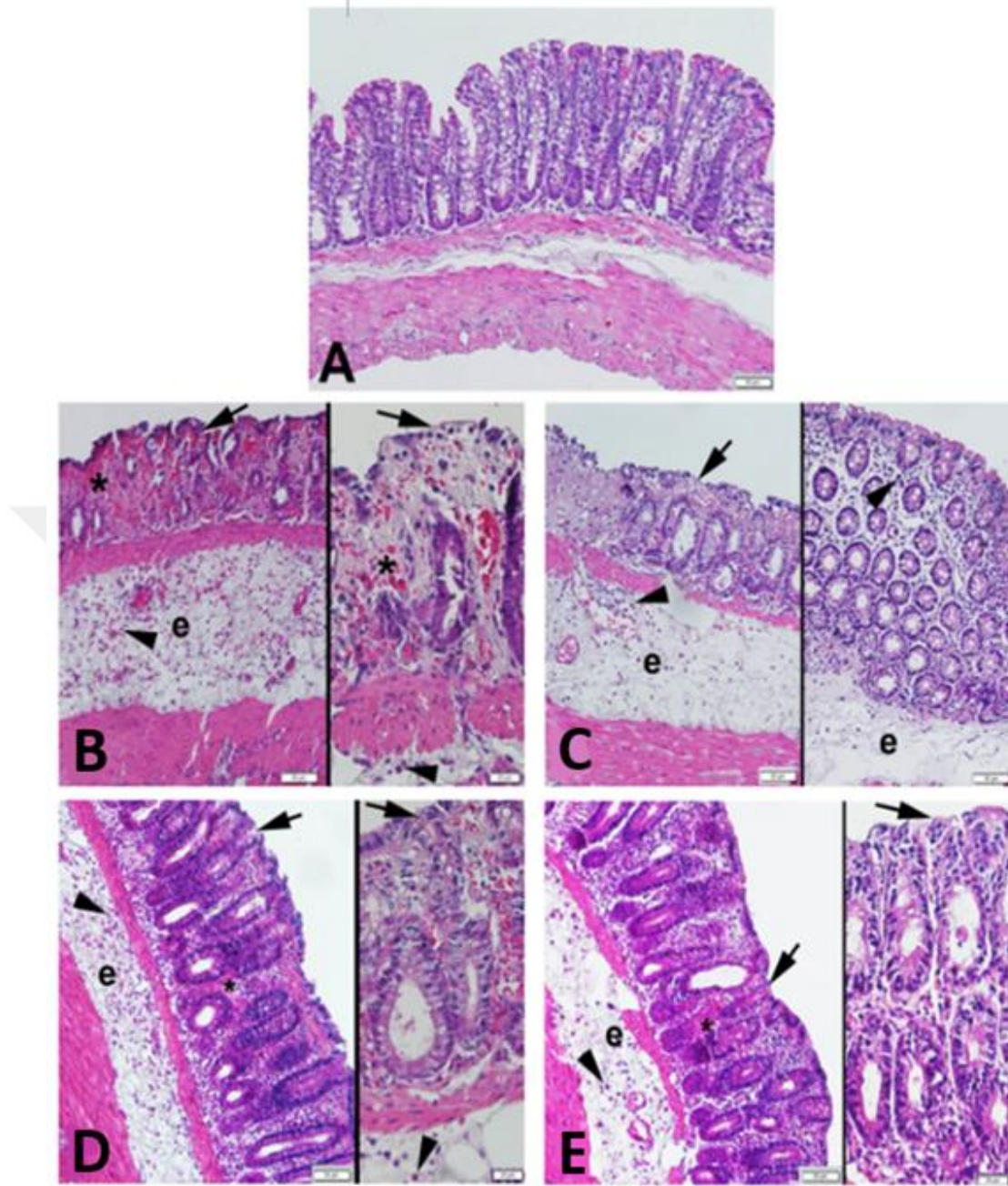
Kontrol grubunun kolon dokusunda düzgün epitel yüzeyi ve Lieberkühn kripti içeren düzenli kolon mukozası ve düzenli submukoza gözlemlendi. Serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubunda ise epitel ve Lieberkühn kriptlerinde yaygın kayıp, kanama, şiddetli inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vaskülit ve submukozal ödem gözlemlendi. Çinko, çinko pikolinat ve sülfasalazin ile ön tedavi edilen kolit gruplarında ise hafif-orta derecede epitel ve Lieberkühn kripti hasarı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, vaskülit ve submukozal ödem görüldü (Resim 6).

Serum fizyolojik ($10,14 \pm 0,4$), sülfasalazin ($7,28 \pm 1,35$), çinko ($6,66 \pm 0,49$) veya çinko pikolinat ($6,14 \pm 0,34$) ön tedavisi uygulanan kolit gruplarında, histopatolojik skorlar kontrol grubuna (0 ± 0) göre anlamlı şekilde arttı ($p < 0,001$, Şekil 14). Sülfasalazin ve çinko ön tedavisi, serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubuna kıyasla histopatolojik skorda azalma sağladı ($p < 0,05$). Çinko pikolinat ön tedavisinde ise, serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü ($p < 0,01$).



Şekil 14. Deney gruplarında histopatolojik skora.

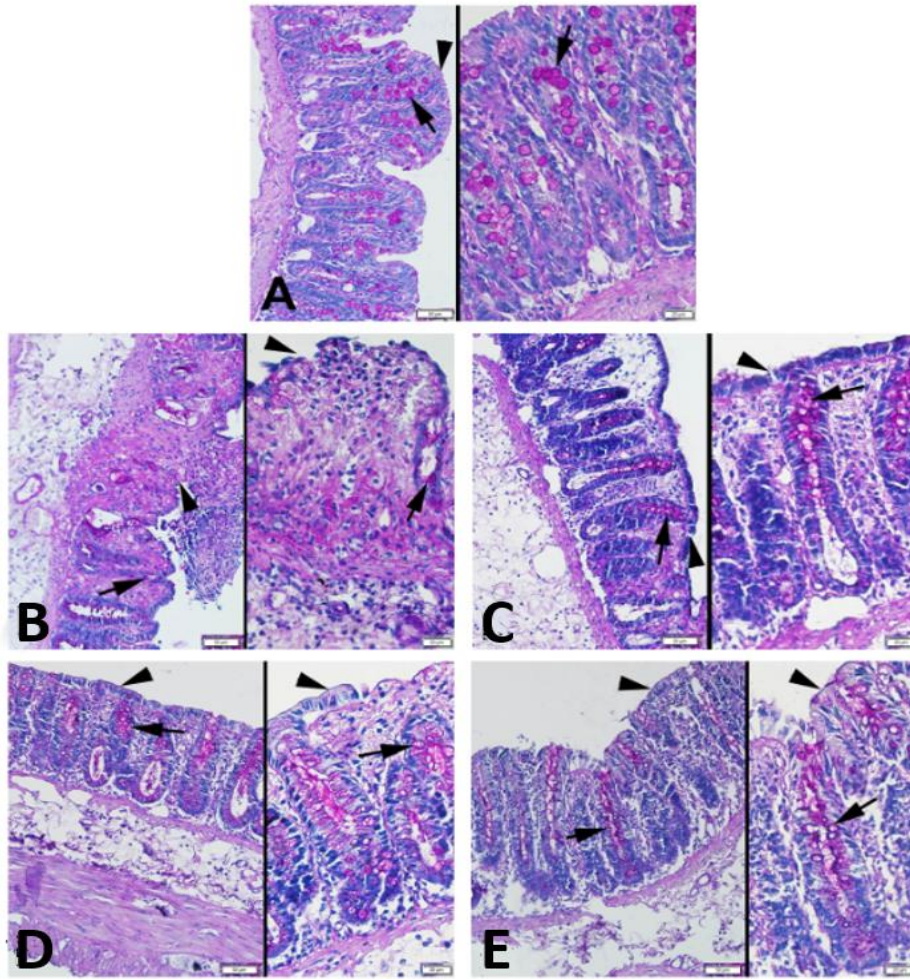
(*: kontrole göre; *** $p < 0,001$; +: kolite göre; + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$)



Resim 6. Deney gruplarında hematoksin ve eozin ile boyanmış kolon dokularının temsili ışık mikroyrafları ve deney gruplarının kolon dokularında histolojik skorlama.

(Kontrol (A) grubunda Lieberkühn kripti içeren normal mukoza ve submukoza. Asetik asit ile indüklenen serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubunda (B) yüzey epitelinde yaygın kayıp (ok), hasarlanmış mukozal bezler, kanama (*) şiddetli submukozal ödem (e) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı). Sülfasalazin (C), çinko (D) ve çinko pikolinat ön tedavisi alan (E) kolit gruplarında hafif ila orta derecede hasarlanmış epitelium (ok) ve Lieberkühn kriptleri, kanama (*), submukozal ödem (e) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı) görölmektedir. Ölçek çubukları: 50 µm, B, C ve E'deki küçük resimler: 20 µm)

Periyodik Asit Schiff (PAS) boyalı kesitlerde kontrol grubunda PAS pozitif yüzey mukusu ve Lieberkühn kriptlerinde çok sayıda goblet hücresi gözlemlendi. Bununla birlikte, AA ile indüklenen serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubunda PAS pozitif yüzey mukus miktarında ve goblet hücrelerinin sayısında ciddi azalma görüldü. Çinko, çinko pikolinat ve sülfasalazin ile ön tedavi edilen kolit gruplarında PAS pozitif boyanan yüzey mukusu ve Lieberkühn kriptlerinde goblet hücrelerinin sayısında oldukça artış olduğu görüldü (Resim 7).



Resim 7. Deney gruplarında periyodik asit schiff ile boyanmış kolon dokularının temsili ışık mikroyrafları.

(Kontrol (A) grubunda, PAS pozitif yüzey mukusu (ok başı) ve Lieberkühn kriptilerindeki çok sayıda goblet hücresi (ok) görülmektedir. Asetik asit ile indüklenen serum fizyolojik ön tedavisi alan kolit grubunda (B), PAS pozitif yüzey mukusunda (ok başı) ve goblet hücrelerinin (ok) sayısında ciddi azalma görülmektedir. Sülfasalazin (C), çinko (D) ve çinko pikolinat ön tedavisi alan (E) kolit gruplarında PAS pozitif boyanmış yüzey mukusunda (ok başı) ve Lieberkühn kriptilerindeki goblet hücrelerinin sayısında (ok) artış görülmektedir. Ölçek çubukları: 50 µm, küçük resimler: 20 µm)

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, asetik asit uygulamasıyla indüklenen ülseratif kolit modelinde ülser alanlarının oluştuğu, dışkı skorlarında ve makroskobik hasar derecelerinde anlamlı artışlar gözlemlendiği ve kolon ödemi geliştiği tespit edilmiştir. Kolit indüksiyonu sonrasında çinko ve GSH düzeylerinde azalış, bağırsak bariyerinin önemli bileşenleri olan okludin-1 ve kloudin-1 mRNA ekspresyon seviyelerinde belirgin bir düşüş olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, MPO aktivitesinde ve hem serum hem de kolon örneklerinde TNF- α ile IL-6 düzeylerinde artış saptanarak inflamatuvar yanıtın hem lokal hem de sistemik düzeyde aktive olduğu ortaya konmuştur. Uygulanan çinko pikolinat ön tedavisi, hipotezimiz doğrultusunda inflamasyon ve oksidatif hasarı baskılamıştır. Aynı zamanda, okludin-1 ve kloudin-1 düzeylerinde artışa neden olarak bağırsak bariyerinin korunmasına katkı sağladığını belirledik. Ancak, beklentimizin aksine, çinko pikolinat ön tedavisi serum çinko düzeylerinde artışa neden olmamıştır.

ÜK, rektum ve kolonun yaygın mukozal iltihaplanmasıyla tanımlanan kronik bir inflamatuvar bağırsak hastalığıdır (Eren et al 2024). Kolit hastalığının seyrinde alevlenmeler ve iyileşme süreçleri şeklinde dalgalanmalar görülmektedir. Hastalığın tedavisinde semptomların hafifletilmesi, yaşam kalitesinin yükseltilmesi ve komplikasyonların önlenmesi önemlidir (Gros and Kaplan 2023). Bu hedef doğrultusunda aminosalisilatlar, lokal ve sistemik steroidler ile bağışıklık baskılayıcılar kullanılmaktadır (Tsai et al 2022). Ayrıca siklosporinler, anti-tümör nekroz faktör tedavisi, nikotin, antibiyotikler, probiyotikler, omega-3 yağ asitleri (balık yağı) ve takrolimus (Garud and Peppercorn 2009) gibi yaklaşımların yanı sıra cerrahi müdahalede bir alternatif olarak değerlendirilmektedir (Øresland et al 2015). Patogenezin tam olarak anlaşılamaması nedeniyle tedavilere yanıt vermeyen hastalar şiddetli semptomlar geliştirebilir ve nihayetinde kolon ve rektumun cerrahi olarak çıkarılması (rezeksiyon) gerekebilir (Sarvestani et al 2021). Medikal tedavilerin yetersiz kaldığı pek çok hastalık gibi ülseratif kolitte de alternatif tedavi arayışı devam

etmektedir. Yapılan araştırmalarda özellikle antitümöral, antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip ajanlar daha fazla ilgi görmektedir (Yıldız 2024).

Çinko, immün sistemde monosit ve makrofajların gelişimi için gerekli olup, fagositoz ve proinflamatuvar sitokin üretimi gibi işlevleri düzenler. Ayrıca çinko, inflamatuvar süreçlerde antiinflamatuvar bir ajan olarak rol oynar (Prasad 2014). Bağışıklık sistemi üzerinde önemli bir rol oynadığı için çinko eksikliğinin, inflamasyon ve oksidatif stresle ilişkili çeşitli sinyal yollarını etkileyerek hastalık patofizyolojisini olumsuz şekilde etkilediği düşünülmektedir (Gîlcă-Blanariu, Diaconescu, Ciocoiu and Ștefănescu 2018). Bizim çalışmamızda da ülseratif kolit oluşturulan ve serum fizyolojik ön tedavi uygulanan grubun çinko seviyelerinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu belirledik. Çinko düzeyini belirlemek için en sık başvuru yöntemler serum veya plazma ölçümleridir. Serum çinko seviyelerinin normal aralığı 70-120 µg/dL arasında bulunur. Sabah aç karnına yapılan bu ölçümlerde çinko konsantrasyonunun 70 µg/dL'nin altında (<0,70 µg/mL) olması, patolojik bir duruma işaret eder ve orta düzeyde bir çinko eksikliği olduğunu gösterir (Wu 2006). İnflamatuvar bağırsak hastalığı bulunan çocuklar üzerinde yapılan çalışmada, serum çinko seviyesinin düşük (<70 g/dL) olduğu belirtilmektedir (Santucci, Alkhouri, Baker and Baker 2014). Serumda çinko değerinin 0,60 µg/ml düşük olması ise ciddi çinko eksikliği olarak kabul edilir (Yanagisawa 2004). Prospektif bir çalışmada, çinko eksikliği bulunan İBH hastalarında hastalığa bağlı morbidite (hastanede yatış, ameliyat, komplikasyonlar) riskinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Çinko seviyelerinin normalleşmesinin ise morbiditeye bağlı sonuçlarda iyileşme sağladığı ortaya konmuştur (Siva, Rubin, Gulotta, Wroblewski and Pekow 2017). İBH'de çinko eksikliğinin yaygınlığına ilişkin yapılan sistematik bir incelemede hastalarda çinko eksikliği prevalansının %15 ile %40 arasında değiştiği saptanmıştır. Bu eksikliğin, diyet kısıtlamaları ve ince bağırsakta çinko emiliminin bozulması gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Kojima, Yano, Maeda, Iwata ve Goto 2020). Çinko takviyesinin ÜK hastalarında klinik iyileşmeyi destekleyebileceğine dair kanıtlar da bulunmaktadır. Örneğin, çinko glukonat takviyesi yapılan ÜK hastalarında beslenme durumunun iyileştiği ve klinik sonuçların olumlu etkilendiği gösterilmiştir (Prasad 2019). Sturniolo, Di Leo, Ferronato, D'Odorico ve D'Inca'ya göre (2001), çinko takviyesinin bağırsak bariyeri geçirgenliğini önemli ölçüde azaltabileceğini

göstermiştir. Bizim çalışmamızda da kolit oluşumuna bağlı olarak düşen çinko seviyesinin çinko ön tedavisi uygulanan kolit grubunda artış gösterdiği belirlendi.

Hayvan modelleri ve translasyonel çalışmalar, serum çinko konsantrasyonlarındaki azalmanın, epitelyal bariyerin zayıflaması, değişen mukozal bağışıklık ve artan proinflamatuvar sitokinler gibi çeşitli patofizyolojik mekanizmalar aracılığıyla inflamasyonu artırabileceğini göstermiştir (Gîlcă-Blanariu et al 2018). Pikolinik asidin, çinkoyu daha kolay emilebilen bir forma dönüştürerek bağırsak lümeninde rol oynadığı öne sürülmüştür (Evans and Johnson 1980). Bu yüzden, vücutta bir şelatör olarak işlev gördüğü ve krom, çinko, mangan, bakır, demir ve molibden gibi elementleri bağlayıcı bir ajan olarak görev yaptığı belirtilmiştir (Uğurlu 2018). Egzersiz uygulanan sıçanlarda çinko pikolinat takviyesinin glikoz ve lipid metabolizması ile çinko taşıyıcıları üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada; çinko pikolinat takviyesinin glikoz, kolesterol ve trigliserit düzeylerinde düşüşe neden olduğu ve çinko taşıyıcılarının kapasitesini artırdığı bulunmuştur (Tel 2017). Yüksek demir içeren diyetle beslenen sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada; pikolinik asit (200 ppm) eklenmiş ve çinko absorpsiyonunun belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir (Evans and Johnson 1981). On beş sağlıklı gönüllüde dört hafta boyunca oral üç farklı çinko formu uygulandığında saç, idrar ve eritrosit çinko seviyelerinin özellikle çinko pikolinat ile önemli ölçüde yükseldiği görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, insanlarda çinko emiliminin çinkoyu pikolinik asit ile kompleksleştirerek artırılabilirliği önerilmiştir (Barrie et al 1987). Bizim çalışmamızda çinko pikolinat ön tedavisi, ülseratif kolit ile azalan çinko seviyesinde beklediğimiz anlamlı artışı göstermemiştir. Bu durum, çinko pikolinatın kolitli bireylerde çinko seviyesini artırmada beklenen düzeyde biyoyararlanım göstermediğini, deneysel ülseratif kolite bağlı gelişen çinko eksikliğini gidermede yeterli olmayabileceğini ve daha kapsamlı değerlendirmek için ek çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Deneysel kolit modelinde, asetik asit yaygın olarak tercih edilen bir ajandır (İspiroğlu, Kantarçeken, Çıralık ve Bülbüloğlu 2021). Literatür incelendiğinde, asetik asitle oluşturulan tüm hayvan modellerinde histopatolojik olarak ülser, ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve nekrozun görüldüğü tespit edilmiştir (Osafo, Obiri, Danquah, Essel ve Antwi 2019). Asetik asit ile indüklenen kolit modelinde kolon dokusunun

histolojik değeriendirilmesi sonucunda; submukozal ödem ve fokal ülserasyon, kriptlerde belirgin ve yaygın inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mukozal ve submukozal düzeyde yoğun inflamasyon, ciddi kanama görölmektedir (Uyar, Emlik ve Yaman 2018). Bizim çalışmamızda da kolit kaynaklı ülserli alanlar göröldü. Bununla birlikte makroskobik ve mikroskobik kolon hasarı tespit ettik. Epitel ve Lieberkühn kriptlerinde belirgin hasar, kanama, yoğun iltihap hücrelerinin birikimi, damar iltihabı ve submukozada ödem tespit edildi. Wistar sıçanlarında TNBS ile indüklenen ülseratif kolit modelinde çinko bazlı Schiff baz bileşigi (ZnSA) verilen gruplarda ödemin ve makroskobik hasarın azaldığı görölmüşür (Conner, Reglinski, Smith and Zeitlin 2017). Biz de çalışmamızda çinko veya çinko pikolinat uyguladığımız kolit gruplarında makroskobik hasarın azaldığını tespit ettik.

Sıçanlarda asetik asit ile oluşturulan ülseratif kolit, insan ülseratif koliti ile birebir aynı olmasa da kolon inflamasyonu, epitel hasarı, artmış damar geçirgenliği ve nötrofil birikimi gibi benzer patolojik özellikler göstermektedir (Güvenç ve Kutlu 2019). Deneysel bulgular asetik asit kaynaklı kolitin kolonik dokuda lipid peroksidasyon ve TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokin düzeylerini arttırdığını ortaya koymaktadır (Arabacı Tamer et al 2023). ÜK'daki inflamasyonun gelişiminde immünolojik mekanizmalar etkili olup, bu süreçte hem humoral hem de hücresele yolların devreye girdiğı bilinmektedir (Scott et al 1986). İmmün hücrelerin aktif hale gelmesi, aşırı miktarda sitokin ve inflamatuvar mediyatörlerin salınmasına neden olur. Bu da doku hasarına sebep olarak inflamasyonun daha da artmasına yol açar. ÜK patogeneğinde, proinflamatuvar sitokinlerin artmış ekspresyonu ve inflamatuvar yanıtın rolü birçok çalışmada vurgulanmaktadır. Özellikle IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-17 ve IL-23 gibi sitokinlerin mukozal dokuda yüksek seviyelerde bulunması, kronik inflamasyon ve epitel hasarının şiddetlenmesine neden olur (Neurath 2014). IL-17'nin artmış ekspresyonu, nötrofil infiltrasyonunu ve epitel bariyer bozukluğunu tetikleyerek hastalık aktivitesini artırırken, IL-23'ün Th17 hücrelerini aktive etmesi, kronik inflamatuvar süreci desteklemektedir (Uhlige et al 2014, Kobayashi et al 2017). Ayrıca, bağırsak mikrobiyotasındaki dengesizliklerin, bu sitokinlerin üretimini artırarak inflamatuvar yanıtı şiddetlendirdiğı bildirilmiştir (Nishida et al 2018). Bu bulgular, ÜK'de sitokin aracılı inflamatuvar mekanizmaların hastalık patogeneğindeki merkezi rolünü ortaya koymaktadır. İnflamasyona bağılı sitokin artışı Funakoshi ve ark.'ın

(1995) çalışmasında ÜK hastalarında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α seviyelerinin mukozal lezyonlarda belirgin şekilde arttığı, bu sitokinlerin hastalığın patogeneğinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. ÜK'li hastalarda kolon sitokinlerinin ağınlı in vivo olarak karakterize etmek için Guimbaud ve ark.'ın (1998) yaptığı çalışmada, 20 cm'lik bir kolon uzunluğu perfüze edilerek sitokin tayini yapılmış, endoskopik skor, lökosit sintigrafisi ve inflamasyonun sistemik belirteçleri eş zamanlı olarak ölçölmüş. ÜK'de dört proinflatuvar sitokin olan IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve IL-8 üretiminde artış olduğu belirlenmiştir. Bizde yaptığımız çalışmada, literatürle uyumlu olarak, serum fizyolojik ön tedavisi uygulanan kolit grubunda hem kolon dokularında hem serumda, TNF- α ve IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığını bulduk. Çinko eksikliği, vücutta oksidatif stres seviyelerinin yükselmesine ve inflamatuvar yanıtın artmasına yol açarak, proinflatuvar sitokinler olarak bilinen IL-6 ve TNF- α gibi moleküllerin üretiminin belirgin şekilde artmasına neden olur (Wessels et al 2017). Bu durum, bağışıklık sisteminin dengesinin bozulmasına ve inflamasyonla ilişkili süreçlerin şiddetlenmesine katkıda bulunabilmektedir (Şahin 2016). Çinko takviyesi IL-6, TNF- α ve C-reaktif protein (CRP) gibi sitokinlerin salınımını düşürerek antiinflamatuvar etki sağlar. COVID-19 da dahil olmak üzere birçok RNA virüsünde viral giriş ve replikasyonun engellenmesinde, aynı zamanda antiinflamatuvar etkisiyle sitokin fırtınasını önlemede ve mukosilier aktivitenin düzenlenmesinde rol oynar (Ceylan 2021). Bizde çalışmamızda çinko veya çinko pikolinat ön tedavisi verdiğimiz kolit grubunda, serum fizyolojik ön tedavisi uyguladığımız kolit grubuna kıyasla serum ve kolon dokularında TNF- α ve IL-6 seviyelerinin anlamlı olarak azaldığını dolayısıyla ülserle bağlı gelişen inflamasyonun baskılandığını belirledik.

Oksidatif stres, hücre içi veya dışı koşulların, reaktif oksijen türlerinin kimyasal ya da metabolik süreçlerle artışına neden olması sonucunda oluşur (Aksoy 2002). Oksidatif stres, ÜK'nin gelişiminde kritik bir etkidir. ÜK'li hastaların kolon mukozası biyopsilerinde, serbest oksijen radikallerinin ve oksidatif stresin arttığı, buna karşılık antioksidan savunma mekanizmalarının azaldığı belirtilmiştir (Karp and Koch 2006). ÜK hastalarından alınan kolonik biyopsiler, yüksek seviyede oksidatif hasar ve düşük antioksidan kapasitesi göstermiştir (Zaghloul, Elshal and Abdelmageed 2022). Oksidatif stres, aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi nedeniyle GSH ve katalaz (CAT) gibi antioksidan parametrelerin azalmasına sebep olmakta, hedef doku ve

hücrel proteinlerinde oksidatif stres reaksiyonları ve lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA seviyelerinde artışa yol açmaktadır (Kılınç, Kök and Erdal 2020). Bizim çalışmamızda kolit gelişimine bağlı olarak MDA seviyesi anlamlı bir artış gösterirken, antioksidan GSH içeriğinin azaldığı görüldü. MDA, hücrel ve hücre içi hasarı yansıtan lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak bilinir. Artan MDA seviyeleri, serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna bağlı doku hasarının bir göstergesi olarak değerlendirilir (Güvenç et al 2019). GSH, hücre içinde indirgenmiş formda yer alan ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) zararlı etkilerinin giderilmesinde hayati öneme sahip bir antioksidandır. Çinko, serbest radikallerin oluşumunu engelleme ve hücreleri oksidatif stresin zararlı etkilerinden koruma konusunda önemli bir rol oynar (Akdeniz ve ark 2016). Bu özelliği sayesinde, çinko hücrel hasarı önlemeye yardımcı olan ve organizmanın savunma mekanizmalarını destekleyen güçlü bir antioksidan olarak işlev görür. Ayrıca antioksidan özelliği sayesinde bağırsaklarda meydana gelen sindirim olayları sırasında serbest radikallerin neden olduğu hasarın önlenmesinde rol oynar (Akdeniz ve ark 2016). Gebelik süresince çinko verilen koyunlarda yapılan bir çalışmada plazma MDA düzeylerinin azaldığı, GSH düzeylerinin ise arttığı tespit edilmiştir (Atakişi 2005). Ayrıca, çinko eksikliği ve takviyesinin yüzme egzersizi yapan sıçanların kan ve doku malondialdehit ve GSH seviyeleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde çeşitli dokularda glutatyon seviyelerini artırdığı ve malondialdehit seviyelerini azalttığı gözlemlenmiştir (Ozturk et al 2003). Bu sonuçlar, çinko takviyesinin oksidatif stresin azaltılmasında ve antioksidan savunma mekanizmalarının güçlendirilmesinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) ile meme kanseri oluşturulmuş dişi sıçanlarda yapılan bir çalışmada çinko ve melatonin uygulamasının lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir (Mutlu ve Baltacı 2020). Sonuçlar, çinko ve melatonin kombinasyonunun plazma ve meme dokusunda MDA düzeylerini azaltırken, GSH düzeylerini artırdığını göstermektedir. Hem standart sıçan yemi hem de çinko eksik diyetle beslenen sıçanlarda oluşturulan multipl skleroz (MS) modelinde, hipokampus dokusunda baskılanan çinko taşıması ile ilişkili ZnT3 gen ifadesi ve azalan GSH düzeylerinin çinko desteği ile normal seviyelere getirilebileceğini göstermiştir (Atacak 2024). Bununla birlikte hem standart hem de çinko eksik diyetle beslenen sıçanların hipokampus dokularında artan SESN2 ve IL-6

gen ifadelerinin yanı sıra yükselen MDA düzeylerinin de çinko takviyesi sayesinde baskılandığı belirlenmiştir. Çinkonun kısa dönemde sıçanlarda bazı biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisine bakılan bir diğer çalışmada ise, sıçanlara çinko verilmesinin antioksidan glutatyon peroksidazı anlamlı ölçüde artırdığı ve malondialdehit seviyelerini azaltarak lipid peroksidasyonunu düşürdüğü görülmüştür (Akure, Ahmed, Bukar and Simon 2020). Bu sonuçlar, çinko desteğinin oksidatif stres belirteçleri üzerinde düzenleyici bir etkiye sahip olabileceğini ortaya koymaktadır. Yaptığımız çalışmada çinko veya çinko pikolinat ön tedavisi verdiğimiz kolit grubunda ise önceki araştırmalara paralel olarak oksidan hasarın baskılandığını ve GSH seviyelerinin arttığını bulduk.

Miyeloperoksidaz aktivitesi (MPO), kolit modellerinde antiinflamatuvar ajanlarla yapılan deneysel çalışmalarda dokulardaki nötrofil infiltrasyonunu ortaya koyan, inflamasyonun doğrudan bir göstergesi olup özellikle akut dönemde hızlı bir yanıt vermesiyle bilinir (Da Silva et al 2018). Klinik gözlemler, İBH olan hastaların dışkı ve serumunda MPO seviyelerinin hastalığın şiddeti ile korelasyon gösterdiğini ve kolonik inflamasyonu artırmada önemli bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Hansberry, Shah, Agarwal and Agarwal 2017, Chami, Ahmad, Schroder, San Gabriel and Witting 2021). Yüksek MPO aktivitesi, aşırı nötrofil infiltrasyonu ve doku hasarını işaret etmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda sıçanlarda asetik asit ile oluşturulan kolit modelinde MPO aktivitesi kolon dokusunda inflamasyona bağlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir (Oruç ve ark 2008, Yıldız ve ark., 2008). Yapılan çalışmalarda tedavi ajanlarının artan MPO aktivitesini baskılayıcı etkisi gözlemlenmiştir (Işıklar 2024). Bu bulgulara benzer şekilde asetik asit ve trinitrobenzen sulfonik asit (TNBS) kullanılarak oluşturulan kolit modelinde, MPO seviyelerinin inflamasyonun bir göstergesi olarak anlamlı derecede arttığı, ancak tedavi uygulamaları ile bu seviyelerin azaldığı tespit edilmiştir (Çinpolat 2016). Bu durum, MPO'nun inflamasyon düzeyini göstermek için güvenilir bir biyokimyasal belirteç olduğunu desteklemektedir. Bizim çalışmamızda da daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu bir biçimde kolit gelişimiyle birlikte MPO seviyesi anlamlı bir artış gösterdi. Sudrajad, Raharjo, Nugroho ve Widodo'nun (2024) yaptığı bir çalışmada çinko takviyesinin, kolesteatomsuz kronik süpüratif otitis media (CSOM) hastalarında MPO seviyeleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve çinko takviyesinin MPO

seviyelerini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Kido, Hoshino ve Yamamoto (2020) ise, çinko eksikliğinin sıçanların dalak dokusunda MPO-pozitif hücrelerin sayısını artırdığı, ancak çinko takviyesi uygulamasının bu etkiyi tersine çevirdiğini rapor etmiştir. Bu sonuçlar, çinko veya çinko pikolinat takviyesinin İBH gibi inflamatuvar hastalıklarda MPO aktivitesini azaltarak inflamasyonu kontrol altına almada potansiyel bir tedavi stratejisi olabileceğini düşündürmektedir. Bizim bulgularımızda mevcut verilerle örtüşecek şekilde çinko veya çinko pikolinat ön tedavisinin kolit kaynaklı MPO artışını baskıladığını ortaya koymaktadır.

Bağırsak lümenindeki epitel hücreleri, sıkı bağlantı proteinleri, adherens proteinleri ve desmozomlar gibi farklı protein kompleksleri aracılığıyla birbirine bağlanmıştır (Herzenberg 2013). Bu kompleksler, dış çevreden koruma sağlayan bir bariyer oluşturur. Bu bariyer, besinlerin geçişine olanak tanırken, toksinler, mikroorganizmalar ve patojenlerin bağırsak hücrelerine ve dolaşım sistemine girişini engeller (Suzuki 2013). Sıkı bağlantı proteinleri (okludin, klaudinler, ZO'lar gibi), bağırsak mukozasında yer alan epitel bariyerinin temel yapı taşlarıdır. Bu proteinler, bağırsak geçirgenliğinin düzenlenmesi, doku homeostazının sürdürülmesi ve hücresel farklılaşmanın korunması gibi kritik işlevler üstlenir (Lu, Ding, Lu ve Chen 2013). Sıkı bağlantı proteinlerinin yapısındaki herhangi bir bozulma, zararlı maddelerin geçişine neden olur. Bu durum, mukozal bağışıklık hücrelerinin aşırı aktivasyonuna ve proinflamatuvar sitokinlerin fazla miktarda salınmasına yol açabilir. Bu nedenle, kolon bariyerindeki bozulmalar, ÜK ve diğer bağırsak inflamasyonunun ortaya çıkması ve ilerlemesiyle ilişkilidir (Mees et al 2009).

Yapılan araştırmalar, oksidatif stres ve inflamatuvar yanıtların artışı nedeniyle sıkı bağlantı proteinlerinin yapısında meydana gelen değişikliklerin, okludin ve klaudin-1 proteinlerinin ekspresyonunu azalttığını ve bunun sonucunda bağırsak geçirgenliğinde artış ile bariyerin hasar görmesine neden olduğunu göstermiştir (Fournier and Parkos 2012, Guo et al 2020). Sıkı bağlantı proteinleri, mukozal iyileşme sürecinde önemli bir role sahip olup, tedavi yaklaşımlarının etkinliğini değerlendirmede potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabilir (Tan, Guan, Sun ve Zheng 2019). Yapılan klinik çalışmalarda ÜK hastalarında zonula okludens-1, klaudin-1, klaudin-2 ve okludin gibi sıkı bağlantı proteinlerinin azaldığı ve bunun epitel bariyer fonksiyonunun

bozulmasına yol açtığı belirtilmiştir (Turner 2009). Bağırsak geçirgenliğindeki artışın, bakteriyel antijenlerin bağırsak duvarına daha kolay nüfuz etmesine neden olduğu ve bunun sonucunda inflamasyonun sürdürüldüğü belirtilmiştir. Sıçanlarda DSS ile indüklenen akut kolit modelinde, sıkı bağlantı proteinleri okludin, zonula okludens-1 ve klaudin-1, -3, -4 ve -5'in ekspresyonunda azalma gözlemlenmiştir (Mennigen et al 2009). Biz de çalışmamızda kolit kaynaklı okludin-1 ve kloudin-1 proteinlerinin mRNA ekspresyon seviyelerinin azaldığını belirledik. Literatüre baktığımızda sıçanlarda asetik asitle indüklenmiş deneysel kolit modelinde, Qenzim Q10 tedavi olarak uygulandıktan sonra goblet hücre yoğunluğunun arttığı, mukozal bariyeri bütünlüğünde önemli olan sıkı bağlantı proteinlerinin de immunoreaktivitelerinde artışın olduğu belirtilmiştir (Akarca Dizakar ve Demirel 2022). Çalışmamızda, kolit grubunda zonula okludens seviyelerinin arttığını gözlemledik. Benzer şekilde, sülfasalazin veya çinko ön tedavisi uygulanan kolit gruplarında da zonula okludens seviyelerinde artış tespit ettik. Bu bulgular, bağırsak bariyer bütünlüğünü koruma amacıyla bir yanıt mekanizmasının gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, bu artışın inflamatuvar sürecin ilerleyişi ve hastalığın seyri üzerindeki etkileri henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış olup, klinik öneminin belirlenebilmesi için daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Buna karşın, çalışmamızda çinko pikolinat ön tedavisinin zonula okludens protein seviyelerinde azalmaya neden olduğunu gözlemledik. Bu durum, çinko pikolinatın bağırsak epitel bariyeri üzerindeki potansiyel etkilerini daha ayrıntılı inceleyen ileri çalışmalara gereksinim duyulduğunu göstermektedir.

İn vitro GI modeli olan CACO-2 hücrelerinin TJ'ler üzerindeki etkilerini belirlemek üzere çinko takviyesinin transepitelyal elektrik direncini artırarak yapılan bir çalışmada çinkonun bariyer fonksiyonunu güçlendirdiği ortaya koymuştur (Mullin, Valenzano and Verrechio 2012). Çinko eksikliğinin sıkı bağlantıların yapısını bozarak bağırsak geçirgenliğini artırdığı, buna karşın yeterli çinko seviyelerinin bariyer bütünlüğünü koruduğu vurgulanmaktadır (Li and Zhang 2022). Çinko eksikliğinin akut gastroenterit süresi ve klinik seyri üzerine etkisinin incelendiği bir araştırmada; yaşları 5 ay ile 6 yaş arasında olan 50 çocuk hasta incelenmiş ve çinko seviyeleri düşük olan çocuklarda gastroenterit süresinin uzadığı ve klinik seyrin daha ağır olduğu görülmüştür. Bu durum, çinkonun bağırsak epitel bütünlüğü ve bağışıklık sistemi

zerindeki önemli rolünü vurgulamaktadır (Kkdk and Kılıç 2015). Biz de çalışmamızda da sülfasalazin n tedavisinin oluşan kolitten dolayı azalan okludin-1 ve kloudin-1 proteinlerinde herhangi bir etki yapmadığını, çinko takviyesinin okludin-1 seviyesini anlamlı şekilde arttırırken kloudin-1 seviyesinde bir artış meydana getirmediğini ancak çinko pikolinat n tedavisinin hem okludin-1 hem de kloudin-1 proteinlerinde anlamlı bir artış gösterdiğini bulduk. Bu bulgular, inflamatuvar kolit hastalığının tedavisinde sıkı bağlantı proteinlerinin hedeflenmesinin potansiyel bir strateji olabileceğini düşündürmekle birlikte önceki literatürle uyumlu şekilde çinkonun bağırsak epitelinin onarımını teşvik edici etkilerini desteklemektedir.



6. SONUÇ

Çalışmamızın bulguları, çinko veya çinko pikolinatın deneysel ÜK modelinde bağırsak hasarını azaltıcı etkilerini ortaya koymaktadır. Çinko pikolinat, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerde çinkoya göre daha üstün bir performans göstermiştir. Pozitif kontrol olan sülfasalazin ile karşılaştırıldığında özellikle bariyer bütünlüğünün korunması açısından çinko pikolinatın ÜK tedavisinde alternatif bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

Çinko pikolinat, çinko mineralinin vücut tarafından daha kolay emilebilen bir formu olarak bilinse de literatürde bu bileşiğin biyoyararlanımı, metabolik etkileri ve çeşitli fizyolojik süreçler üzerindeki rolünü ele alan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Mevcut araştırmalar daha çok çinkonun genel etkileri üzerine yoğunlaşmış olup, çinko pikolinatın diğer çinko formlarına göre üstünlüğünü açıkça ortaya koyan deneysel ve klinik çalışmalar azdır. Özellikle çinko pikolinatın spesifik biyokimyasal mekanizmalar üzerindeki etkilerini araştıran çalışmaların yetersizliği, bu alanda önemli bir bilgi eksikliğine işaret etmektedir. Bizim çalışmamız, çinko pikolinatın inflamasyona, bariyer geçirgenliğine ve oksidatif stres üzerine olan etkilerini ortaya koyarak literatüre özgün bir katkı sağlamaktadır.

Çinko ve/veya çinko pikolinatın klinik kullanıma yönelik doz ve etki mekanizmalarını daha ayrıntılı olarak araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamız, çinko bazlı terapötiklerin, bağırsak inflamasyonuna karşı güvenli ve etkili bir yaklaşım sağlayabileceğini göstermektedir.

KAYNAKÇA

Acarkan, T. (2015). Esansiyel Mikrobesein-Çinko. Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regölasyon Ve Nöral Terapi Dergisi, 14(1), 15-19.

Adams MS., Bornemann HP. (2013). Ulcerative Colitis. Am Fam Physician, 87(10), 699-705.

Akbay H., Huyut Z., Çokluk E., Alp HH., Batur T., Şekeroğlu M., Uçar B. (2020). Farklı Hastalık Ön Tanısı Alan Bireylerde Bakır ve Çinko Düzeyleri. Van Sağlık Bilimleri Dergisi, 13(2), 24-30.

Akdeniz V., Kınık Ö., Yerlikaya O., Akan E. (2016). İnsan sağlığı ve beslenme fizyolojisi açısından çinkonun önemi. Akademik Gıda, 14(3), 307-314.

Akpınar A., Seçkin A., Çelik B., Duygu AR., Karalar R. (2024). Hayvansal Kaynaklı Terapatik Olan ‘Yılan Gömleği’ Element İçeriğinin Değerlendirilmesi. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, 14(1), 103-108.

Aksoy Y. (2002). Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. T Klin Tıp Bilimleri, 22(4), 442–448.

Akure YJ., Ahmed M., Bukar H., Simon G. (2020). Short-term effect of zinc administration on some biochemical parameters and antioxidant enzymes in albino rats. International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 3(3), 317–324.

Al-Khafaji Z., Brito S., Bin BH. (2022). Zinc and Zinc Transporters in Dermatology. International Journal of Molecular Sciences, 23(24), 16165.

Ananthakrishnan AN. (2015). Epidemiology and risk factors for IBD. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 12(4), 205-217.

Ananthakrishnan AN., Khalili H., Konijeti GG., Higuchi LM., de Silva P., Korzenik JR., Fuchs CS., Willett WC., Richter JM., Chan AT. (2013). A prospective study of long-term intake of dietary fiber and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 145(5), 970–977.

Anderson CA., Boucher G., Lees CW., Franke A., D'Amato M., Taylor KD., Lee JC., Goyette P., Imielinski M., Latiano A., Lagacé C., Scott R., Amininejad L., Bumpstead S., Baidoo L., Baldassano RN., Barclay M., Bayless TM., Brand S., Büning C., Rioux JD. (2011). Meta-analysis identifies 29 additional ulcerative colitis risk loci, increasing the number of confirmed associations to 47. *Nature Genetics*, 43(3), 246–252.

Andoh A., Imaeda H., Aomatsu T., Inatomi O., Bamba S., Sasaki M., Saito Y., Tsujikawa T., Fujiyama Y. (2011). Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of Gastroenterology*, 46(4), 479–486.

Andres PG., Friedman LS. (1999). Epidemiology and the natural course of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 28(2), 255–281.

Antoniou E., Margonis GA., Angelou A., Pikouli A., Argiri P., Karavokyros I., Papalois AE., Pikoulis E. (2016). The TNBS-induced colitis animal model: An overview. *Ann Med Health Sci Res*, 11, 9–15.

Anuk T. (2023). İnflamatuvar bağırsak hastalığına bağlı kolon perforasyonu: Gecikmiş tanı ve nadir bir komplikasyon. *Ağrı Med J*, 1(1), 15-17.

Appleyard, C. B., & Wallace, J. L. (1995). Reactivation of hapten-induced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Physiology*, 269(1 Pt 1), G119–G125.

Arabacı Tamer S., Akbulut S., Erdoğan Ö., Çevik Ö., Ercan F., Yeğen BÇ. (2023). Neuropeptide W Exhibits Preventive and Therapeutic Effects on Acetic Acid-Induced Colitis via Modulation of the Cyclooxygenase Enzyme System. *Digestive Diseases and Sciences*, 68(6), 2441–2453.

Ardizzone S., Bianchi Porro G. (2005). Biologic therapy for inflammatory bowel disease. 65(16), 2253–2286.

Aslan A., Polat G., Atik E., Temiz M., Bağdatoğlu ÖT., Aban N. (2008). Deneysel Ülseratif Kolitte Selenyumun Etkinliği. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 1(2), 7–11.

Atacak A. (2024). Sıçan deneysel multipl skleroz modelinde çinko eksikliği ve desteğinin hipokampus dokusundaki moleküler fonksiyonlar üzerine etkileri (Doktora tezi). Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.

Atakışi O. (2005). Gebelik periyodu boyunca çinko verilen koyunlarda redükte glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeylerinin araştırılması (Doktora tezi). Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, Türkiye.

Atreya R., Neurath MF. (2005). Involvement of IL-6 in the pathogenesis of inflammatory bowel disease and colon cancer. Clinical Reviews in Allergy & Immunology, 28(3), 187–196.

Aydoğan Avşar P. (2019). Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu tanılı hastalarda Zonulin ve Claudin-5 kan düzeylerinin değerlendirilmesi ve hastalığın patogenezindeki potansiyel rolü. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.

Barnett M., Fraser A. (2011). Animal models of colitis Lessons learned, and their relevance to the clinic. In: Ulcerative colitis - treatments, special populations and the future. Ed: O'Connor M., InTech, 161–178.

Barollo M., D'Inca R., Scarpa M., Medici V., Cardin R., Bortolami M., Ruffolo C., Angriman I., Sturniolo GC. (2005). Effects of iron manipulation on trace elements level in a model of colitis in rats. World Journal of Gastroenterology, 11(28), 4396-4399.

Barrie SA., Wright JV., Pizzorno JE., Kutter E., Barron PC. (1987). Comparative absorption of zinc picolinate, zinc citrate and zinc gluconate in humans. *Agents and Actions*, 21(1-2), 223-228.

Başer DA., Aksoy H., Fidancı İ., Satılmış M., Cankurtaran M. (2020). Yeni tanı alan bir ülseratif kolit olgusu. *The Journal of Turkish Family Physician*, 11(4), 204-208.

Baumgard DC., Carding SR. (2007). Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet*, 369(9573), 1627-1640.

Baumgart DC., Sandborn WJ. (2007). Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*, 369(9573), 1641–1657.

Beam A., Clinger E., Hao L. (2021). Effect of diet and dietary components on the composition of the gut microbiota. *Nutrients*, 13(8), 2795.

Bekar C., Ayaz A. (2023). Gıda emülgatörleri inflamatuvar bağırsak hastalıkları için risk olabilir mi?. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 51(1), 86-95.

Belgemen T., Akar N. (2004). Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 57(3).

Beutler E. (1975). Glutathione in red blood cell metabolism. *A manual of biochemical methods*, 112-114.

Bischoff SC., Barbara G., Buurman W., Ockhuizen T., Schulzke JD., Serino M., Tilg H., Watson A., Wells JM. (2014). Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*, 14, 189.

Boyko EJ., Perera DR., Koepsell TD., Keane EM., Inui TS. (1988). Effects of cigarette smoking on the clinical course of ulcerative colitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 23(9), 1147–1152.

Bradley P., Priebat D., Christensen R., Rothstein G. (1982). Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *Journal of Investigative Dermatology*, 78, 206-209.

Briskin, M., Winsor-Hines, D., Shyjan, A., Cochran, N., Bloom, S., Wilson, J., McEvoy, L. M., Butcher, E. C., Kassam, N., Mackay, C. R., Newman, W., & Ringler, D. J. (1997). Human mucosal addressin cell adhesion molecule-1 is preferentially expressed in intestinal tract and associated lymphoid tissue. *The American journal of pathology*, 151(1), 97–110.

Buddington RK., Sangild PT. (2011). Companion animals symposium: Development of the mammalian gastrointestinal tract, the resident microbiota, and the role of diet in early life. *Journal of Animal Science*, 89(5), 1506-1519.

Buege JA., Aust SD. (1978). Mikrozomal lipid peroksidasyonu. *Yöntem Enzimoloji*, 30, 302-310.

Buran T. (2017). İnflamatuvar bağırsak hastalığında epidemiyoloji, prevalans ve insidans. *Türkiye Klinikleri Journal of Gastroenterhepatology-Special Topics*, 10(1), 15-17.

Bürgel N., Bojarski C., Mankertz J., Zeitz M., Fromm M., Schulzke JD. (2002). Mechanisms of diarrhea in collagenous colitis. *Gastroenterology*, 123, 433-443.

Ceylan S. (2021). Çinko ve immün sistem etkileşimleri. *Flora Dergisi*, 15(3), 353-360.

Chami B., Ahmad G., Schroder A., San Gabriel P., Witting P. (2021). The role of myeloperoxidase and neutrophil extracellular traps in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 160(Suppl. 1), S5–S6.

Chen L., Zhu F., Gao X., Yang Y., Jin G., Zhou Y., Dong G., Zhou G. (2025). Spleen tyrosine kinase aggravates intestinal inflammation through regulating inflammatory responses of macrophage in ulcerative colitis. *International Immunopharmacology*, 148, 114122.

Choi S., Liu X., Pan Z. (2018). Zinc deficiency and cellular oxidative stress: Prognostic implications in cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin*, 39, 1120–1132.

Conner EM., Reglinski J., Smith WE., Zeitlin IJ. (2017). Schiff base complexes of copper and zinc as potential anti-colitic compounds. *Biometals*, 30(3), 423–439.

Cottone, M., Rosselli, M., Orlando, A., Oliva, L., Puleo, A., Cappello, M., Traina, M., Tonelli, F., & Pagliaro, L. (1994). Smoking habits and recurrence in Crohn's disease. *Gastroenterology*, 106(3), 643–648.

Çimen F., Polat H., Ekici L. (2020). Polifenollerin bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu düzenleyici ve nöroprotektif etkileri. *Akademik Gıda*, 18(2), 190-208.

Çinpolat HY. (2016). Deneysel kimyasal kolit modellerinde intestinal inflamasyonun derecesinin biyokimyasal ve histopatolojik bulgular ile değerlendirilmesi (Tıpta uzmanlık tezi). Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye.

Da Costa Melo NM., Almeida MVS., De Oliveira Campos DM., De Oliveira CBS., Oliveira JIN. (2021). Animal models for inducing inflammatory bowel diseases: integrative review. *Health Sci J*, 11, 80–87.

Da Silva S., Keita ÅV., Mohlin S., Pählman S., Theodorou V., Pählman I., Mattson JP., Söderholm JD. (2018). A novel topical PPAR γ agonist induces PPAR γ activity in ulcerative colitis mucosa and prevents and reverses inflammation in induced colitis models. *Inflammatory Bowel Diseases*, 24(4), 792–805.

Dağlı Ü. (2014). İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının epidemiyolojisi ve risk faktörleri. İn: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı (s. 15-33). Ankara: TGV.

Danese S., Sans M., Fiocchi C. (2004). Inflammatory bowel disease: The role of environmental factors. *Autoimmunity Reviews*, 3, 394–400.

David BM. (1999). Trace elements. In: Carl AB., Edward RA. (Eds.), *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1029-1055.

De Dombal FT. (1968). Ulcerative colitis: definition, historical background, aetiology, diagnosis, natural history and local complications. *Postgrad Med J*, 44(515), 684-692.

De Palma G., Collins SM., Bercik P., Verdu EF. (2014). The microbiota-gut-brain axis in gastrointestinal disorders: stressed bugs, stressed brain or both? *The Journal of Physiology*, 592, 2989-2997.

Doğan M. (2020). Çinko eksikliği ve fazlalığı. Klinik Tıp Pediatri Dergisi, 12(1), 13-19.

Dorofeyev AE., Vasilenko IV., Rassokhina OA., Kondratiuk RB. (2013). Mucosal barrier in ulcerative colitis and Crohn's disease. Hindawi.

Du L., Ha C. (2020). Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis. Gastroenterology Clinics, 49(4), 643-654.

Duvallet C., Gibbons SM., Gurry T., Irizarry RA., Alm EJ. (2017). Meta-analysis of gut microbiome studies identifies disease-specific and shared responses. Nat Commun, 8(1), 1784.

Eckmann L., Ordás I., Eckmann L., Talamini M., Baumgart DC., Sandborn WJ. (2012). Lancet, 380, 1606-1619.

Ellis H., Mahadevan V. (2014). Anatomy of the caecum, appendix and colon. Surgery (Oxford), 32(4), 155-158.

Erdoğan R. (2020). Çinko pikolinat takviyesi yapılan ratlarda düzenli egzersizin yağ metabolizması üzerine etkisi (Doktora tezi). Fırat Üniversitesi, Elazığ.

Eren F., Göktuğ MR., Cesur S., Keskin MK., Çakır FG., Macunluoğlu A., Gürel S., Dolar ME. (2024). İnfliksimab ve biyobenzerlerinin steroide refrakter şiddetli ülseratif kolitte kolektomisiz sağ kalıma etkisinin incelenmesi. Akademik Gastroenteroloji Dergisi, 23(3), 85-92.

Ertuğrul İ., Yolcu ÖF., Cesur S. (2007). İnflamatuvar barsak hastalıkları aktivitesi ile serum neopterin düzeyi arasındaki ilişki. Akademik Gastroenteroloji Dergisi, 6, 56-61.

Espín JC., González-Sarriás A., Tomás-Barberán FA. (2017). The gut microbiota: A key factor in the therapeutic effects of (poly)phenols. Biochemical Pharmacology, 139, 82-93.

Evans GW., Johnson EC. (1980). Zinc absorption in rats fed a low-protein diet and a low-protein diet supplemented with tryptophan or picolinic acid. The Journal of Nutrition, 110(5), 1076–1080.

- Evans GW., Johnson PE., Johnson EC. (1981). Effect of iron, vitamin B-6 and picolinic acid on zinc absorption in the rat. *The Journal of Nutrition*, 111(1), 68-75.
- Fabia R., Ar'Rajab A., Willén R., Andersson R., Ahren B., Bengmark S. (1992). Effects of phosphatidylcholine and phosphatidylinositol on acetic acid-induced colitis in the rat. *Digestion*, 53(1-2), 35-44.
- Fasano A., Shea-Donohue T. (2005). Mechanisms of disease: The role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2(9), 416–422.
- Fidan K. (2016). Ülseratif kolitte Netrin-1 düzeyinin hastalığın klinik aktivitesindeki önemi, TNF- α ve IL-6 ile ilişkisi (Tıpta uzmanlık tezi). Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Flynn S., Eisenstein S. (2019). Inflammatory bowel disease presentation and diagnosis. *Surg Clin North America*, 99(6), 1051-1062.
- Fournier B., Parkos C. (2012). The role of neutrophils during intestinal inflammation. *Mucosal Immunology*, 5(4), 354–366.
- Funakoshi K., Sugimura K., Sasakawa T., Bannai H., Anezaki K., Ishizuki K., Yoshida K., Narisawa R., Asakura H. (1995). Study of cytokines in ulcerative colitis. *Journal of Gastroenterology*, 30(Suppl 8), 61-63.
- GBD 2017 Inflammatory Bowel Disease Collaborators. (2020). The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 5(1), 17–30.
- Garud S., Peppercorn MA. (2009). Ulcerative colitis: current treatment strategies and future prospects. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2(2), 99–108.
- Geerling BJ., Dagnelie PC., Badart-Smook A., Russel MG., Stockbrügger RW., Brummer RJ. (2000). Diet as a risk factor for the development of ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 95(4), 1008–1013.
- Geremia A., Biancheri P., Allan P., Corazza GR., Di Sabatino A. (2014). Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev*, 13(1), 3–10.

- Goyal N., Rana A., Ahlawat A., Bijjem KRV., Kumar P. (2014). Animal models of inflammatory bowel disease: a review. *Inflammopharmacology*, 22, 219-233.
- Gros B., Kaplan GG. (2023). Ulcerative colitis in adults, a review (Reprinted). *JAMA*, 330(10), 951-965.
- Groschwitz KR., Hogan SP. (2009). Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol*, 124(1), 3–20.
- Guimbaud R., Bertrand V., Chauvelot-Moachon L., Quartier G., Vidon N., Giroud JP., Couturier D., Chaussade S. (1998). Network of inflammatory cytokines and correlation with disease activity in ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 93(12), 2397-2404.
- Guo G., Shi F., Zhu J., Shao Y., Gong W., Zhou G., Wu H., She J., Shi W. (2020). Piperine, a functional food alkaloid, exhibits inhibitory potential against TNBS-induced colitis via the inhibition of I κ B- α /NF- κ B and induces tight junction protein (claudin-1, occludin, and ZO-1) signaling pathway in experimental mice. *Human & Experimental Toxicology*, 39, 477–491.
- Gué M., Peeters T., Depoortere I., Vantrappen G., Bueno L. (1997). Stress-induced changes in gastric emptying, postprandial motility, and plasma gut hormone levels in dogs. *Gastroenterology*, 113(1), 255-263.
- Gîlcă-Blanariu GE., Diaconescu S., Ciocoiu M., Ștefănescu G. (2018). New insights into the role of trace elements in IBD. *Biomed Res Int*, 2018, 1-9.
- Gümrah M., Çetiner N., Aksoy N., Gençdal G., Yenice N. (2007). Ülseratif kolitin alevlenme dönemlerinde görülen skrotal ödem olgusu. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 6(3), 164-166.
- Güvenç M., Kutlu T. (2019). Sıçanlarda asetik asit ile oluşturulmuş deneysel ülseratif kolit modelinde zingeron'un etkilerinin araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 33(3), 177-184.
- Güvenç M., Cellat M., Özkan H., Tekeli İÖ., Uyar A., Gökçek İ., İşler CT., Yakan A. (2019). Protective effects of tyrosol against DSS-induced ulcerative colitis in rats. *Inflammation*, 42(5), 1680–1691.

Halme L., Turunen U., Helio T., Paavola P., Walle T., Miettinen A., Jarvinen H., Kontula K., Farkkila M. (2002). Familial and sporadic inflammatory bowel disease: comparison of clinical features and serological markers in a genetically homogeneous population. *Scand J Gastroenterol*, 37(6), 692-698.

Halme L., Paavola-Sakki P., Turunen U., Lappalainen M., Färkkilä M., Kontula K. (2006). Family and twin studies in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 12(23), 3668–3672.

Halsted JA. (1977). Events surrounding the original demonstrations of human zinc deficiency. *Progress in Clinical and Biological Research*, 14, 1-9.

Hanauer SB. (2006). Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. *Inflammatory Bowel Diseases*, 12(Suppl_1), S3-S9.

Hansberry DR., Shah K., Agarwal P., Agarwal N. (2017). Fecal myeloperoxidase as a biomarker for inflammatory bowel disease. *Cureus*, 9(5), e1185.

Harries AD., Baird A., Rhodes J. (1982). Non-smoking: a feature of ulcerative colitis. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 284(6317), 706.

Hart AL., Al-Hassi HO., Rigby RJ., Bell SJ., Emmanuel AV., Knight SC., Kamm MA., Stagg AJ. (2005). Characteristics of intestinal dendritic cells in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 129(1), 50–65.

Hawkins HP. (1909). An address on the natural history of ulcerative colitis and its bearing on treatment. *British Medical Journal*, 1(2517), 765–770.

Heller F., Florian P., Bojarski C., Richter J., Christ M., Hillenbrand B., Mankertz J., Gitter AH., Bürgel N., Fromm M., Zeitz M., Fuss I., Strober W., Schulzke JD. (2005). Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology*, 129(2), 550–564.

Herzenberg C. (2013). Gut reaction. *New Scientist*, 217(2901), 30–31.

Ho SM., Lewis JD., Mayer EA., Plevy SE., Chuang E., Rappaport SM., Croitoru K., Korzenik JR., Krischer J., Hyams JS., Judson R., Kellis M., Jerrett M., Miller GW.,

Grant ML., Shtraizent N., Honig G., Hurtado-Lorenzo A., Wu GD. (2019). Challenges in IBD research: Environmental triggers. *Inflammatory Bowel Diseases*, 25(Suppl 2), S13–S23.

Hou JK., Abraham B., El-Serag H. (2011). Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am J Gastroenterol*, 106, 563.

Huong BT., Hien NM., Dung NT., Quang DM., Vinh NT., Tu TT., Chi TK., Phuong LB., Nhan NT. (2024). Role of calprotectin, IL-6, and CRP in distinguishing between inflammatory bowel disease and diarrhea predominant irritable bowel syndrome. *Med Arch*, 78(2), 105-111.

Ivanov AI., Nusrat A., Parkos CA. (2004). The epithelium in inflammatory bowel disease: potential role of endocytosis of junctional proteins in barrier disruption. *Novartis Foundation Symposium*, 263, 115–132.

İşıklar H. (2024). Sıçanlarda deneysel kolit modelinde *Bifidobacterium lactis* B94'ün rolü (Doktora tezi). İstanbul Okan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı.

Jarmakiewicz-Czaja S., Ferenc K., Filip R. (2023). Antioxidants as protection against reactive oxidative stress in inflammatory bowel disease. *Metabolites*, 13, 573.

Jarosz M., Olbert M., Wyszogrodzka G., Młyniec K., Librowski T. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. Zinc-dependent NF- κ B signaling. *Inflammopharmacology*, 25, 11–24.

Jarosz M., Olbert M., Wyszogrodzka G., Młyniec K., Librowski T. (2021). Antioxidant and anti-inflammatory effects of zinc. *Antioxidants*, 10(2), 274.

Johansson MEV., Phillipson M., Petersson J., Velcich A., Holm L., Hansson GC. (2008). *Proc Natl Acad Sci*, 105, 15064–15069.

Johansson MEV., Hansson GC. (2016). Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nat Rev Immunol*, 16(10), 639–649.

Johnson GJ., Cosnes J., Mansfield JC. (2005). Review article: smoking cessation as primary therapy to modify the course of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 21(8), 921–931.

Jurjus AR., Khoury NN., Reimund JM. (2004). Animal models of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 50, 81-92.

Kaenkumchorn T., Wahbeh G. (2020). Ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am*, 49(4), 655–669.

Kahraman Ö. (2011). Süt ve süt ürünlerinin çinko ile zenginleştirilmesine ilişkin yaklaşımlar. *Gıda*, 36(4), 241-248.

Karp SM., Koch TR. (2006). Oxidative stress and antioxidants in inflammatory bowel disease. *Disease-a-Month*, 52(4), 199–207.

Kawahara M., Kato-Negishi M., Tanaka KI. (2023). Dietary trace elements and the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Nutrients*, 15(9), 2067.

Ke P., Shao BZ., Xu ZQ., Chen XW., Liu C. (2017). Intestinal autophagy and its pharmacological control in inflammatory bowel disease. *Front Immunol*, 7, 695.

Kılınç M., Kök M., Erdal S. (2020). Investigation of the effects of zingeron on acetic acid-induced experimental ulcerative colitis model in rats.

Kido T., Hoshino K., Yamamoto Y. (2020). Zinc deficiency increases myeloperoxidase-positive cells in the spleen of rats: suppression by zinc supplementation and interleukin-4. *Biological Trace Element Research*, 199(2), 673–680.

Kiesler P., Fuss IJ., Strober W. (2015). Experimental models of inflammatory bowel diseases. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 1(2), 154–170.

Kiesslich R., Neurath MF. (2017). Advanced endoscopy imaging in inflammatory bowel diseases. *Gastrointest Endosc*, 85(3), 496-508.

Kim JS., Chen MH., Wang HE., Lu CL., Wang YP., Zhang B. (2023). Inflammatory bowel disease and neurodegenerative diseases. *Gut and Liver*, 17(4), 495–504.

King JC., Cousins RJ. (2020). Zinc. In: Ross AC., Caballero B., Cousins RJ., Tucker KL., Ziegler TR. (Eds.), *Modern Nutrition in Health and Disease* (11th ed., pp. 189-205). Lippincott Williams & Wilkins.

Kirsner JB. (2001). Historical origins of current IBD concepts. *World Journal of Gastroenterology*, 7(2), 175–184.

Knežević MA., Janjić NM., Lečić VB., Todorović NB., Damjanov DD. (2024). Comparison of scores for predictability of corticosteroid failure in patients with acute severe ulcerative colitis. *Hospital Pharmacology: International Multidisciplinary Journal*, 11(3), 1538–1545.

Knights D., Lassen KG., Xavier RJ. (2013). Advances in inflammatory bowel disease pathogenesis: linking host genetics and the microbiome. *Gut*, 62(10), 1505-1510.

Kobayashi T., Okamoto S., Hisamatsu T., Kamada N., Chinen H., Saito R., Kitazume MT., Nakazawa A., Sugita A., Koganei K., Isobe K., Hibi T. (2008). IL-23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut*, 57(12), 1682–1689.

Kobayashi T., Siegmund B., Le Berre C., Wei SC., Ferrante M., Shen B., Bernstein CN., Danese S., Peyrin-Biroulet L., Hibi T. (2020). Ulcerative colitis. *Nature Reviews Disease Primers*, 6, 74.

Kojima N., Yano K., Maeda T., Iwata T., Goto H. (2020). Zinc deficiency in patients with inflammatory bowel disease. *Biological Trace Element Research*, 195(2), 427–432.

Kruger NJ. (2009). The Bradford method for protein quantitation. *The Protein Protocols Handbook*, Springer, 17-24.

Kruidenier L., van Meeteren ME., Kuiper I., Jaarsma D., Lamers CB., Zijlstra FJ., Verspaget HW. (2003). Attenuated mild colonic inflammation and improved survival from severe DSS-colitis of transgenic Cu/Zn-SOD mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 34(6), 753–765.

Kucharzik T., Walsh SV., Chen J., Parkos CA., Nusrat A. (2001). Neutrophil transmigration in inflammatory bowel disease is associated with differential

expression of epithelial intercellular junction proteins. *The American Journal of Pathology*, 159, 2001-2009.

Kucukbay F., Yazici Z., Gunduz B. (2006). The effect of picolinic acid on the absorption of dietary minerals. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(1), 42-47.

Köseler E. (2016). Ülseratif kolitte nutrisyon. *Güncel Gastroenteroloji*, 20(3), 263-266.

Küçüköçük Ş., Kılıç M. (2015). Çinko eksikliğinin akut gastroenterit süresi ve klinik seyri üzerindeki etkisi. *Zonguldak Bülent Ecevit Tıp Fakültesi Dergisi*, 25(1), 45–50.

Lassen KG., Xavier RJ. (2018). Mechanisms and function of autophagy in intestinal disease. *Autophagy*, 14(2), 216–220.

Lee HS., Kwon EJ., Cho ML. (2018). Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intest Res*, 16(1), 26-42.

Lee SR. (2018). Critical role of zinc as either an antioxidant or a prooxidant in cellular systems. *Oxidative Med Cell Longev*, 2018, 9156285.

Leighton JA., Shen B., Baron TH., Adler DG., Davila R., Egan JV., Faigel DO., Gan SI., Hirota WK., Lichtenstein D., Qureshi WA., Rajan E., Zuckerman MJ., VanGuilder T., Fanelli RD. (2006). ASGE guideline: endoscopy in the diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease. *Standards of Practice Committee, American Society for Gastrointestinal Endoscopy*, 63(4), 558-565.

Li C., Wu Y., Xie Y., Zhang Y., Jiang S., Wang J., Luo X., Chen Q. (2022). Oral manifestations serve as potential signs of ulcerative colitis: A review. *Frontiers in Immunology*, 13, 1013900.

Li M., Zhang Y. (2022). The impact of zinc and zinc homeostasis on the intestinal mucosal barrier and intestinal diseases. *Biomolecules*, 12(7), 900.

Liu Z., Geboes K., Heremans H., Overbergh L., Mathieu C., Rutgeerts P., Ceuppens JL. (2001). Role of interleukin-12 in the induction of mucosal inflammation and

abrogation of regulatory T cell function in chronic experimental colitis. *European Journal of Immunology*, 31(5), 1550–1560.

Low D., Nguyen DD., Mizoguchi E. (2013). Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *Drug Des Devel Ther*, 7, 1341–1356.

Lozupone CA., Stombaugh JI., Gordon JI., Jansson JK., Knight R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.

Lu Z., Ding L., Lu Q., Chen YH. (2013). Claudins in intestines: Distribution and functional significance in health and diseases. *Tissue Barriers*, 1(3), e24978.

MacDonald TT., Monteleone G. (2005). Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Gut*, 54(3), 577–587.

MacPherson BR., Pheiffer CJ. (1978). Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion*, 17, 135-150.

Mahid SS., Minor KS., Soto RE., Hornung CA., Galandiuk S. (2006). Smoking and inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *Mayo Clinic Proceedings*, 81(11), 1462–1471.

Mak WY., Zhao M., Ng SC., Burisch J. (2020). The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets West. *J Gastroenterol Hepatol*, 35(3), 380-389.

Marchioni Beery R., Kane S. (2014). Current approaches to the management of new-onset ulcerative colitis. *Clin Exp Gastroenterol*, 7, 111-132.

Maret W., Sandstead HH. (2006). Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *J Trace Elem Med Biol*, 20(1), 3-18.

Martini E., Krug SM., Siegmund B., Neurath MF., Becker C. (2017). Mend your fences: The epithelial barrier and its relationship with mucosal immunity in inflammatory bowel disease. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 4(1), 33-46.

Maywald M., Wessels I., Rink L. (2017). Zinc signals and immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2222.

Mees S., Mennigen R., Spieker T., Rijcken E., Senninger N., Haier J., Bruewer M. (2009). Expression of tight and adherens junction proteins in ulcerative colitis associated colorectal carcinoma: Upregulation of claudin-1, claudin-3, claudin-4, and β -catenin. *International Journal of Colorectal Disease*, 24(4), 361–368.

Mennigen R., Nolte K., Rijcken E., Utech M., Loeffler B., Senninger N., Bruewer M. (2009). Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(5), G1140–G1149.

Mullin JM., Valenzano MC., Verrechio J. (2012). Zinc supplementation modifies tight junctions and alters barrier function of CACO-2 human intestinal epithelial layers. *Digestive Diseases and Sciences*, 57(10), 2408–2415.

Muro P., Zhang L., Li S., Zhao Z., Jin T., Mao F., Mao Z. (2024). The emerging role of oxidative stress in inflammatory bowel disease. *Frontiers in Endocrinology*, 15, 1390351.

Mutlu EG., Baltacı SB. (2020). DMBA ile meme kanseri oluşturulmuş sıçanlarda artan uterus doku hasarı çinko ve melatonin desteğiyle önlenir. *Genel Tıp Dergisi*, 30(3), 190–196.

Neurath MF., Finotto S., Fuss I., Boirivant M., Galle PR., Strober W. (2001). Regulation of T-cell apoptosis in inflammatory bowel disease: to die or not to die, that is the mucosal question. *Trends in Immunology*, 22(1), 21–26.

Neurath MF. (2014). Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Immunology*, 14(5), 329–342.

Ng SC., Bernstein CN., Vatn MH., Lakatos PL., Loftus EV. Jr., Tysk C., O'Morain C., Moum B., Colombel JF. (2013). Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. *Gut*, 62(4), 630–649.

Nishida A., Inoue R., Inatomi O., Bamba S., Naito Y., Andoh A. (2018). Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clinical Journal of Gastroenterology*, 11(1), 1–10.

Nusrat A., Turner JR., Madara JL. (2000). Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions. IV. Regulation of tight junctions by extracellular stimuli: nutrients, cytokines, and immune cells. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 279(5), 851-857.

Okumuş EÜ. (2019). Ülseratif kolit olgularının aktivasyon takibinde fekal kalprotektin değerinin endoskopik aktivite skorlaması ile karşılaştırılması (Tıpta uzmanlık tezi). Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.

Omatsu T., Takagi T., Yasuda T., Nakahata Y., Hayashi S., Mukai R., Kurobe T., Yasuda Y., Fukuta N., Sakamoto N., Uchiyama K., Obora A., Murakami Y., Kojima T., Naito Y., Itoh Y., Yagi N. (2025). The association between serum zinc level and clinical features in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 76(1), 50–58.

Orholm M., Munkholm P., Langholz E., Nielsen OH., Sorensen TI., Binder V. (1991). Familial occurrence of inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*, 324(2), 84-88.

Oruç N., Kutluana U., Sezak M., Yenisey Ç., Gürsel D., Aydemir Ş., Tunçyürek M., Yönetçi N., Özütemiz Ö. (2008). Asetik asitle oluşturulan deneysel kolit modelinde leflunomidin etkinliğinin araştırılması. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 7(2), 67-72.

Osafo N., Obiri DD., Danquah KO., Essel LB., Antwi AO. (2019). Potential effects of xylopic acid on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *The Turkish Journal of Gastroenterology*, 30(8), 732–744.

Ozturk F., Gul M., Ates B., Ozturk IC., Cetin A., Erkasap N. (2003). Effects of zinc deficiency and supplementation on lipid peroxidation and glutathione levels in blood and tissues of rats performing swimming exercise. *Biological Trace Element Research*, 94(2), 157–166.

Örüm MH. (2024). Obsesif-kompulsif bozukluk tedavisinde beslenme ve diyet yaklaşımları. In: Hocaoglu Ç., ed. *Nütrisyonel Psikiyatri: Beslenme ile Ruh Sağlığını İyileştirmeye Doğru*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, 40-50.

Özen Akarca Dizakar S., Demirel MA. (2022). Deneysel kolit modelinde koenzim Q10'un intestinal mukoza ve sıkı bağlantı proteinleri üzerine olan etkisinin histopatolojik olarak incelenmesi. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 38(3), 199-205.

Pabla BS., Schwartz DA. (2020). Assessing severity of disease in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am*, 49(4), 671-688.

Park J., Park S., Lee SA., Park SJ., Cheon JH. (2021). Improving the care of inflammatory bowel disease (IBD) patients: perspectives and strategies for IBD center management. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 36(5), 1040–1048.

Plevy S. (2002). The immunology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am*, 31(1), 77-92.

Podolsky DK. (1991). Inflammatory bowel disease. *New Engl J Med*, 325, 928-937.

Porter RJ., Kalla R., Ho GT. (2020). Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis. *F1000Research*, 9, F1000 Faculty Rev-294.

Prasad AS. (2008). Zinc in human health: Effect of zinc on immune cells. *Molecular Medicine*, 14(5-6), 353-357.

Prasad AS. (2014). Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. *J Trace Elem Med Biol*, 28(4), 357–363.

Prasad AS. (2019). Clinical manifestations of zinc deficiency. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 24(1), 1–9.

Pullan RD., Thomas GA., Rhodes M., Newcombe RG., Williams GT., Allen A., Rhodes J. (1994). Thickness of adherent mucus gel on colonic mucosa in humans and its relevance to colitis. *Gut*, 35, 353-359.

Qin HY., Wu JC., Tong XD., Sung JJY., Xu HX., Bian ZX. (2011). Systematic review of animal models of post-infectious/post-inflammatory irritable bowel syndrome. *J Gastroenterol*, 46(2), 164-174.

Øresland T., Bemelman WA., Sampietro GM., Spinelli A., Windsor A., Ferrante M., Marteau P., Zmora O., Kotze PG., Espin-Basany E., Tiret E., Sica G., Panis Y.,

Faerden AE., Biancone L., Angriman I., Serclova Z., de Buck van Overstraeten A., Gionchetti P., Stassen L., Warusavitarne J., Adamina M., Dignass A., Eliakim R., Magro F., D'Hoore A. (2015). European evidence-based consensus on surgery for ulcerative colitis. *Journal of Crohn's & Colitis*, 9(1), 4–25.

Rampon C., Volovitch M., Joliot A., Vríz S. (2018). Hydrogen peroxide and redox regulation of developments. *Antioxidants*, 7, 159.

Randhawa PK., Singh K., Singh N., Jaggi AS. (2014). A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 18(4), 279–288.

Rheingold SZ., Raval C., Gordon AM., Hardigan P. (2023). Zinc supplementation associated with a decrease in mortality in COVID-19 patients: A meta-analysis. *Cureus*, 15(6), e40231.

Sajadinejad MS., Asgari K., Molavi H., Kalantari M., Adibi P. (2012). Psychological issues in inflammatory bowel disease: an overview. *Gastroenterology Research and Practice*, 2012, 106502.

Sakamoto N., Kono S., Wakai K., Fukuda Y., Satomi M., Shimoyama T., Inaba Y., Miyake Y., Sasaki S., Okamoto K., Kobashi G., Washio M., Yokoyama T., Date C., Tanaka H. (2005). Dietary risk factors for inflammatory bowel disease: a multicenter case-control study in Japan. *Inflammatory Bowel Diseases*, 11(2), 154–163.

Saner G. (1999). Mineraller. In: Neyzi O., Ertuğrul T., eds. *Pediatric I. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi*.

Santucci NR., Alkhouri RH., Baker RD., Baker SS. (2014). Vitamin and zinc status pretreatment and post-treatment in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 59(4), 455–457.

Sarıkaya B. (2022). Çinko ve bağışıklık. *Sağlık & Bilim 2022: Beslenme-1*, 163.

Sarvestani SK., Signs S., Hu B., Yeu Y., Feng H., Ni Y., Hill DR., Fisher RC., Ferrandon S., DeHaan RK., Stiene J., Cruise M., Hwang TH., Shen X., Spence JR., Huang EH. (2021). Induced organoids derived from patients with ulcerative colitis recapitulate colitic reactivity. *Nature Communications*, 12(1), 262.

Satsangi J., Silverberg MS., Vermeire S., Colombel JF. (2006). The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut*, 55(6), 749–753.

Scott MG., Nahm MH., Macke K., Nash GS., Bertovich MJ., MacDermott RP. (1986). Spontaneous secretion of IgG subclasses by intestinal mononuclear cells: differences between ulcerative colitis, Crohn's disease, and controls. *Clinical and Experimental Immunology*, 66(1), 209–215.

Shah D., Sachdev HP. (2001). Effect of gestational zinc deficiency on pregnancy outcomes: summary of observational studies and zinc supplementation trials. *The British Journal of Nutrition*, 85(Suppl 2), S101-108.

Shan M., Gentile M., Yeiser JR., Walland AC., Bornstein VU., Chen K., He B., Cassis L., Bigas A., Cols M., Comerma L., Huang B., Blander JM., Xiong H., Mayer L., Berin C., Augenlicht LH., Velcich A., Cerutti A. (2013). Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science*, 342(6157), 447–453.

Shih DQ., Targan SR. (2008). Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 14(3), 390.

Shivashankar R., Tremaine WJ., Harmsen WS., Loftus EV. Jr. (2017). Incidence and prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Olmsted County, Minnesota from 1970 through 2010. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 15(6), 857–863.

Shouval DS., Rufo PA. (2017). The role of environmental factors in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases: A review. *JAMA Pediatrics*, 171(10), 999–1005.

Siva S., Rubin DT., Gulotta G., Wroblewski K., Pekow J. (2017). Zinc deficiency is associated with poor clinical outcomes in patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 23(1), 152-157.

Soufli I., Toumi R., Rafa H., Touil-Boukoffa C. (2016). Overview of cytokines and nitric oxide involvement in immunopathogenesis of inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 7, 353-360.

Spencer H., Osis D., Kramer L., Norris C. (1996). Intake, excretion, retention of zinc in man. In: Prasad AS., ed. Trace Elements in Human Health and Disease. New York: Academic Press, 345-359.

Steed E., Balda MS., Matter K. (2010). Dynamics and functions of tight junctions. Trends in Cell Biology, 20(3), 142–149.

Stenson WF., Korzenik J., Yamada T., Alpers DH., Kaplowitz N., Laine L., Powell DW. (2003). Textbook of Gastroenterology, 1699-1759.

Stiles LI., Ferrao K., Mehta KJ. (2024). Role of zinc in health and disease. Clinical and Experimental Medicine, 24(1), 38.

Sturgeon C., Fasano A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. Tissue Barriers, 4(4), e1251383.

Sturniolo GC., Di Leo V., Ferronato A., D’Odorico A., D’Incà R. (2001). Zinc supplementation tightens “leaky gut” in Crohn’s disease. Inflammatory Bowel Diseases, 7, 94–98.

Sudrajat A., Raharjo Y., Nugroho AE., Widodo MA. (2024). Zinc supplementation and myeloperoxidase in chronic suppurative otitis media without cholesteatoma. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 12(1), 56–64.

Suzuki T. (2013). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. Cellular and Molecular Life Sciences, 70, 631–659.

Şahin H. (2016). Çinko, immün sistem ve enfeksiyon etkileşimleri. Türkiye Klinikleri Journal of Nutrition and Dietetics-Special Topics, 2(2), 77–81.

Tan Y., Guan Y., Sun Y., Zheng C. (2019). Correlation of intestinal mucosal healing and tight junction protein expression in ulcerative colitis patients. American Journal of Medical Sciences, 357(3), 195–204.

Tel A. (2017). Egzersiz uygulanan ratlarda çinko pikolinat takviyesinin glikoz ve lipid metabolizması ile çinko taşıyıcıları üzerine etkisi (Yüksek lisans tezi). Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Thomas GA., Rhodes J., Green JT. (1998). Inflammatory bowel disease and smoking—A review. *American Journal of Gastroenterology*, 93(2), 144–149.

Thompson AI., Lees CW. (2011). Genetics of ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 831–848.

Thuijls G., Derikx JPM., Wijck K., Zimmermann LJI. (2010). Non-invasive markers for early diagnosis and determination of the severity of necrotizing enterocolitis.

Timmer A., Sutherland LR., Martin F. (1998). Oral contraceptive use and smoking are risk factors for relapse in Crohn's disease. The Canadian Mesalamine for Remission of Crohn's Disease Study Group. *Gastroenterology*, 114(6), 1143–1150.

Tsai L., Nguyen NH., Ma C., Prokop LJ., Sandborn WJ., Singh S. (2022). Systematic review and meta-analysis: Risk of hospitalization in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease in population-based cohort studies. *Digestive Diseases and Sciences*, 67(6), 2451–2461.

Turner JR. (2009). Intestinal barrier function in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 140(6), 1765–1772.

Uğurlu G. (2018). Theoretical investigation of the molecular structure, conformational and nonlinear optical properties of picolinic acid and its derivatives. *Journal of the Institute of Science & Technology*, 8(1).

Uhlig HH., McKenzie BS., Hue S., Thompson C., Joyce-Shaikh B., Stepankova R., Robinson N., Buonocore S., Tlaskalova-Hogenova H., Cua DJ., Powrie F. (2006). Differential activity of IL-12 and IL-23 in mucosal and systemic innate immune pathology. *Immunity*, 25(2), 309–318.

Umut F., Bilgin Ş., İzci L. (2022). Su ürünleri tüketiminin bağışıklık sistemi üzerine etkisi. *Turkish Journal of Science and Engineering*, 4(2), 130-137.

Ungaro R., Mehandru S., Allen PB., Peyrin-Biroulet L., Colombel JF. (2017). Ulcerative colitis. *The Lancet*, 389(10080), 1756-1770.

- Uyar A., Emlik H., Yaman T. (2018). Deneysel ülseratif kolit üzerine yüksek karbonhidratlı, yüksek yağlı ve aralıklı beslemenin etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(1), 7-14.
- Van der Flier LG., Clevers H. (2009). Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annual Review of Physiology*, 71, 241-260.
- Wallace KL., Zheng LB., Kanazawa Y., Shih DQ. (2014). Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 20(1), 6.
- Wan Y., Zhang B. (2022). The impact of zinc and zinc homeostasis on the intestinal mucosal barrier and intestinal diseases. *Biomolecules*, 12(7), 900.
- Wangchuk P., Yeshi K., Loukas A. (2024). Ulcerative colitis: clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments. *Trends in Pharmacological Sciences*.
- Wapnir RA. (2000). Zinc deficiency, malnutrition and the gastrointestinal tract. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1388S-1392S.
- Wark G., Samocha-Bonet D., Ghaly S., Danta M. (2021). The role of diet in the pathogenesis and management of inflammatory bowel disease: A review. *Nutrients*, 13(1), 135.
- Wessels I., Maywald M., Rink L. (2017). Zinc as a gatekeeper of immune function. *Nutrients*, 9(12), 1286.
- Wessels I., Maywald M., Rink L. (2020). Zinc as a gatekeeper of immune function. *Nutrients*, 12(2), 367.
- Wilks S., Moxon W. (1875). *Lectures on pathological anatomy* (2nd ed.). Philadelphia: Lindsay and Blakiston.
- Wu AH. (2006). General clinical tests. In: *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests* (pp. 32-1202). Saunders Elsevier, USA.
- Yamada, T., Marshall, S., Specian, R. D., & Grisham, M. B. (1992). A comparative analysis of colonic mucosal injury in three models of experimental colitis. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 261(2), 615–625.

Yaman HE. (2020). Ülseratif kolit hastalarında plazma aterojenite indeksinin log (TG/HDL) değerlendirilmesi.

Yan J., Wang L., Gu Y., Hou H., Liu T., Ding Y., Cao H. (2022). Dietary patterns and gut microbiota changes in inflammatory bowel disease: Current insights and future challenges. *Nutrients*, 14(19), 4003.

Yanagisawa H. (2004). Zinc deficiency and clinical practice. *Japan Medical Association Journal*, 47(8), 359–364.

Yang S., Duan H., Yan Z., Xue C., Niu T., Cheng W., Zhang Y., Zhao X., Hu J., Zhang L. (2025). Luteolin alleviates ulcerative colitis in mice by modulating gut microbiota and plasma metabolism. *Nutrients*, 17(2), 203.

Yatkin G., Gültekin SK., Albayrak İG., Arslan BA. (2022). Beyin homeostazında bakır, demir, çinko elementlerinin Parkinson hastalığı ile ilişkisi. *Doğu Fen Bilimleri Dergisi*, 5(2), 1-11.

Yıldız C., Oruç N., Kuralay F., Erkuş M., Zihnioğlu F., Özütemiz Ö. (2008). Sıçanlarda geliştirilen akut ve kronik kolitte pentoksifilinin etkisi. *Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 7(3), 129-136.

Yıldız O. (2024). Deneysel kolit oluşturulan ratlarda scutellarinin bazı lektinlerin ekspresyonu ve lokalizasyonu üzerine etkilerinin araştırılması (Doktora tezi). Balıkesir Üniversitesi, Türkiye.

Zaghloul MS., Elshal M., Abdelmageed ME. (2022). Preventive empagliflozin activity on acute acetic acid-induced ulcerative colitis in rats via modulation of SIRT-1/PI3K/AKT pathway and improving colon barrier. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 91, 103833.

Zhao N., Liu C., Li N., Zhou S., Guo Y., Yang S., Liu H. (2023). Role of interleukin-22 in ulcerative colitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 159, 114273.

Zhong W., McClain CJ., Cave M., Kang YJ., Zhou Z. (2010). The role of zinc deficiency in alcohol-induced intestinal barrier dysfunction. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 298(5), G625-633.

EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onay Formu

