

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Makale No: 91

Çinko Takviyesi, Kuprizon ile İndüklenen Sıçan Multipl Skleroz Modelinde Proinflamatuvar Sitokin Yanıtlarını Azaltır

Zinc Supplementation Attenuates Pro-Inflammatory Cytokine Responses in a Cuprizone-Induced Rat Model of Multiple Sclerosis

¹ Saltuk Buğra BALTACI¹, ² Gözde ACAR², ³ Ayşenur Feyza BAYIROĞLU³, ⁴ Ebru Kübra UZDİL², ⁵ Aylin ÜSTÜN⁴
¹ Rasim MOĞULKOÇ², ² Abdülkerim Kasım BALTACI²

¹İstanbul Medipol Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

³Bandırma Onyedü Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bandırma, Türkiye

⁴Selçuk Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Konya, Türkiye

ÖZ

Giriş ve Amaç: Multipl skleroz (MS), nöroenflamatuvar süreçlerle karakterize, demiyelinizasyon ve nörodejenerasyona yol açan merkezi sinir sisteminin kronik bir otoimmün hastalığıdır. Bağışıklık sisteminde kritik bir rol oynayan çinkonun MS'te ortaya çıkan enflamatuvar sitokinlerle ilişkisini araştırarak sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Sunulan bu çalışmanın amacı da Kuprizon ile oluşturulan sıçan multipl skleroz modelinde diyet çinko durumunun omurilik dokusunda enflamatuvar sitokin salınımını nasıl etkilediğini araştırmaktır.

Yöntem: Çalışma Wistar cinsi 46 adet erişkin erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan hayvanlar beş gruba (G) ayrıldı (kontrol n=6, diğer grupların her biri n=10). G1, Kontrol. G2, Sham-MS: Sıçanlara kuprizon'un içinde çözülmesi Karboksi-metil-seluloz (KMS) çözeltisi günlük yem tüketiminin %1'i oranında sekiz hafta boyunca günlük olarak gavaj yoluyla verildi. G3, 4 ve 5'teki hayvanlara sekiz hafta boyunca günlük olarak yem tüketiminin %1'i oranında kuprizon, KMS çözeltisi içinde gavaj yoluyla verilirken MS oluşturuldu. G4 çinko eksik (50 µg/kg çinko) diyetle beslendi. G5'e intraperitoneal (ip) çinko sülfat (5 mg/kg/gün) takviyesi yapıldı. Hayvanlarda MS oluşumu Rotarod testleri ve Myelin Basic

Protein (MBP) gen ekspresyon analiziyle belirlendi. Hayvanların omurilik doku örneklerinde ELISA yöntemiyle TNF-α, IL-1β ve IL-6 düzeyleri tayin edildi (pg/ml).

Bulgular: Multipl skleroz endüksiyonu, hem MS hem de MS ve çinko eksikliği olan sıçanlarda TNF-α, IL-1β ve IL-6 düzeylerini önemli ölçüde artırdı (p <0,05). Çinko takviyesi bu sitokin yükselmelerini azalttı ve kontrol düzeylerine normalleştirdi (p <0,05). Fonksiyonel ve moleküler veriler, çinko takviyesi ile hastalık şiddetinin azaldığını doğruladı.

Sonuç: Bulgularımız, çinko durumunun deneysel bir MS modelinde nöroenflamasyonun kritik bir düzenleyicisi olduğunu ortaya koymaktadır. Omurilikteki enflamatuvar sitokin seviyeleri hem MS hem de çinko eksikliği olan MS gruplarında anlamlı derecede daha yüksekti ve bu da demiyelinizasyonla ilişkili lokal enflamasyonu doğrulamaktadır. Ayrıca, çinko takviyesi, deneysel MS modelinde enflamatuvar sitokinlerdeki artış baskılayarak düzenleyici bir etki göstermiştir. Bu sonuçlar, MS yönetiminde çinkonun terapötik potansiyeline işaret edebilir.

Anahtar Sözcükler: Çinko, IL-1β, IL-6, multipl skleroz, nöroenflamasyon, TNF-α

ABSTRACT

Introduction: Multiple Sclerosis (MS) is a chronic autoimmune disorder marked by neuroinflammation, demyelination, and neurodegeneration. Zinc is crucial for immune regulation, but its impact on inflammatory cytokines in MS is not well understood. This study examined how dietary zinc status influences pro-inflammatory cytokine release in spinal cord tissue using a cuprizone-induced rat model of MS.

Methods: The experimental cohort comprised 46 adult male Wistar rats, randomly allocated into five groups: Control (n=6) and four experimental groups "G" (n=10 each). G1 served as the untreated Control. G2, Sham-MS received daily oral gavage of carboxymethyl cellulose (CMC) solution-used as the vehicle for cuprizone-administered at 1% of their daily feed intake for 8 weeks. G3, G4, and G5 underwent MS induction via daily gavage of cuprizone dissolved in CMC at 1% of daily feed intake over the same period. G4 was maintained on a zinc-deficient diet (50 µg/kg zinc), whereas G5 received intraperitoneal zinc sulfate supplementation at 5 mg/kg/day. Disease progression was assessed by Rotarod performance and Myelin

Basic Protein gene expression. Spinal cord levels of TNF-α, IL-1β, and IL-6 were measured by ELISA.

Results: Multiple sclerosis induction significantly increased TNF-α, IL-1β, and IL-6 levels (p <0.05), especially in zinc-deficient rats. Zinc supplementation attenuated these cytokine elevations, normalizing them to control levels (p <0.05). Functional and molecular data confirmed reduced disease severity with zinc repletion.

Conclusion: Our findings reveal that zinc status is a critical modulator of neuroinflammation in an experimental MS model. Inflammatory cytokine levels in the spinal cord were significantly higher in both MS and zinc-deficient MS groups, confirming local inflammation associated with demyelination. Furthermore, zinc supplementation demonstrated a regulatory effect by suppressing the increase in inflammatory cytokines in the experimental MS model. These results may point to the therapeutic potential of zinc in MS management.

Keywords: IL-1β, IL-6, multiple sclerosis, neuroinflammation, TNF-α, zinc supplementation

Cite this article as: Baltacı SB, Acar G, Bayıroğlu AF, Uzdil EK, Üstün A, Moğulkoç R et al. Zinc Supplementation Attenuates Pro-Inflammatory Cytokine Responses in a Cuprizone-Induced Rat Model of Multiple Sclerosis. Arch Neuropsychiatry 2026;63:584–589. doi: 10.29399/npa.29424

Öne Çıkan Noktalar

- Deneyisel MS'te, omurilikte IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyleri yükselir.
- Çinko eksikliği de benzer şekilde sitokin düzeylerini artırır.
- Çinko takviyesi, enflamatuvar sitokinleri kontrol düzeylerine düşürür.
- Çinko, MS'te immünomodülatör ve antienflamatuvar bir rol oynar.
- Çinko, MS patogeneğinde kritik öneme sahiptir.

GİRİŞ

Kronik, otoimmün ve nörodejeneratif bir süreç yoluyla merkezi sinir sistemini etkileyen MS (1), yaşlılığa özgü bir hastalık olmaması nedeniyle diğer nörolojik rahatsızlıklardan ayrılır. En sık 20 yaş ve üzeri orta yaş grubunda görülen bu rahatsızlık, cinsiyet dağılımı açısından incelendiğinde kadınlarda erkeklere göre daha yaygındır (2). Hastalığın temel patofizyolojisi, immün sistemin miyeline karşı verdiği yanıt sonucu ortaya çıkan demiyelinizasyon ve akson hasarını içerir (1,2). Ayrıca, oksidatif stres de hastalık sürecine katkıda bulunan önemli bir faktördür (3). Multipl skleroz için kesin bir tedavi yönteminin olmaması, güncel araştırmaların hastalığın ilerlemesini yavaşlatmaya veya durdurmaya yönelik stratejilere odaklanmasına yol açmıştır (4,5). Hastalığın oluşumunda genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerin birlikte rol oynadığı kabul edilmektedir (1,2).

Multipl skleroz ve benzeri merkezi sinir sistemi hastalıklarında, enflamasyon nörodejenerasyonun başlıca belirleyicilerinden biridir (4). Hastalık sürecinde aktive olan immün hücreler lezyon bölgelerinde birikir ve çeşitli proenflamatuvar sitokinler salgılar (6). Bu sitokinler arasında İnterlökin-1 β (IL-1 β), hem demiyelinizasyon hastalıklarında hem de nörodejeneratif süreçlerde miyelin hasarını artıran güçlü bir araçtır (6,7). Deneyisel çalışmalar, IL-1 β 'nin Jun N-terminal kinaz (JNK) yolunu aktive ederek deneyisel otoimmün ensefalomyelitin şiddetini artırdığını göstermektedir (8). Ek olarak, enfeksiyon dışı durumlarda artan IL-1 β üretimi, romatoid artrit, enflamatuvar bağırsak hastalığı ve tümör gelişimi gibi kronik enflamatuvar süreçlerle ilişkilendirilmiştir (9,10). IL-1 β 'nin, benzer biyolojik etkilere sahip olan interlökin-6 (IL-6) üretimini de uyardığı bilinmektedir (7).

Merkezi sinir sisteminin yerleşik immün unsurları olan mikrogliya hücreleri, enflamasyon yanıtının başlatılmasında çok önemli bir rol oynar. Aktive edildiğinde bu hücreler başta IL-6 olmak üzere çeşitli sitokinler salgılar (11). IL-6'nın aşırı üretimi kanser ve kronik enflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir ve kontrolsüz sentezi MS de dâhil olmak üzere çeşitli patolojik durumlara katkıda bulunabilir (7,11). Multipl skleroz hastalarında serum sitokin düzeyleri ile klinik durum arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar, artmış IL-6 düzeyleri ile hastalık şiddeti ve kırılma arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir (12). Deneyisel modeller ayrıca IL-6 seviyelerinin hastalık ilerledikçe arttığını ve belirli zaman noktalarında zirveye ulaştığını göstermiştir (13).

Multipl skleroz patogeneğinde rol oynayan bir diğer önemli sitokin ise Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α)'dır. Merkezi sinir sistemine infiltre olan lökositler tarafından salgılanan bu proenflamatuvar molekül, oligodendrositler üzerinde doğrudan sitotoksik etki gösterebilir ve glial hücre aktivasyonunu artırabilir (14,15). Hem in vitro hem de kök hücre temelli çalışmalar, TNF- α 'nın oligodendrosit öncü hücrelerinde toksisiteye neden olduğunu ve farklılaşmalarını engellediğini göstermiştir

(14,16,17). Klinik çalışmalar, MS hastalarında TNF- α düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğunu ve bu artışın hastalık aktivitesiyle ilişkili olduğunu bildirmiştir (18,19).

Çinko, merkezi sinir sisteminde proteinlere bağlı ve serbest iyonik formlarda bulunan, sinaptik iletimin ve reseptör fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynayan, hayati öneme sahip bir eser elementtir (20,21). Ancak çinko homeostazisindeki bozulmalar nörodejeneratif süreçlere katkıda bulunabilir (22). Özellikle çinko eksikliği, nöroenezin azalmasına ve nöronal apoptozun artmasına yol açarak bilişsel bozukluklara ve MS gibi hastalıklara yatkınlığı artırabilir (21, 22). Öte yandan, çinkonun antienflamatuvar etkileri iyi bilinmektedir; IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin üretimini baskılayarak nöroenflamasyonu azaltabilir [21, 23]. Çinko eksikliğinde, sitokin salınımının artması ve immün yanıtın bozulması, hastalığın seyrini daha da kötüleştirebilir (20-22).

Deneyisel bir otoimmün ensefalomyelit (EAE) fare modelinde, intravenöz immüno globulinlerin tek başına hastalık şiddetini azaltmada etkisiz olduğu, ancak çinko aspartat ile kombinasyon halinde uygulandığında önemli bir iyileştirici etki sağlayabildiği bildirildi (23). Benzer şekilde, çinko aspartatın, T hücre proliferasyonunu ve sitokin üretimini doz bağımlı bir şekilde baskılayarak bağışıklık yanıtını düzenlediği ve uygun dozlarda uygulandığında EAE modelinde hastalık şiddetini azaltabileceği bildirilmiştir (24). Kitabayashi ve ark. (25), çinkonun STAT3 aktivasyonunu baskılama yoluyla T (h)17 hücre gelişimini inhibe ederek T (h)17 aracılı otoimmün yanıtları modüle ettiğini ve bu mekanizmanın otoimmün hastalıkların baskılanmasında önemli bir kriter olabileceğini göstermiştir. Çinko regülasyonunun bozulmasının, MMP 9 aktivasyonu ve kan-beyin bariyeri hasarı yoluyla immün hücre infiltrasyonunu ve demiyelinizasyonu artırarak MS patogeneğine katkıda bulunduğu, buna karşılık veziküler çinko salınımının inhibisyonunun ise EAE modelinde enflamasyonu, miyelin kaybını ve klinik şiddeti azalttığı gösterilmiştir (26).

Merkezi sinir sistemini etkileyen kronik ve otoimmün bir hastalık olan multipl skleroz (MS), nöroenflamasyon, demiyelinizasyon ve nörodejenerasyon süreçleriyle karakterize edilir (27). Hücre bağışıklık tepkilerinde ve otoimmün olaylarda kritik rol oynayan çinko ile MS'te ortaya çıkan enflamatuvar sitokinler arasındaki ilişkiyi araştırma sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, kuprizon ile oluşturulan sıçan multipl skleroz modelinde diyet çinko eksikliği veya çinko takviyesinin omurilik dokusunda enflamatuvar sitokin salınımı üzerindeki etkisini araştırmaktır.

YÖNTEM

Etik Onay

Bu projenin tüm deneyel aşamaları Selçuk Üniversitesi Deneyel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (SÜDAM) gerçekleştirilmiştir. Çalışma, aynı merkezin Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Onay No: 2021-18).

Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Araştırmada kullanılan 46 adet yetişkin erkek Wistar sıçanı SÜDAM'dan temin edilmiştir. Deney süresince sıçanlar, 22-25°C sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde kontrollü çevre koşullarında tutulmuştur. Hayvan odalarında sürekli negatif basınçlı havalandırma sistemi kullanıldı. Sirkadiyen ritme olan etkiyi en aza indirmek için tüm deneyel uygulamalar 09:00 ile 13:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Hayvanlar beşerli kafeslere gruplandırıldı. Kontrol grubu altı sıçandan, diğer deney gruplarının her biri ise 10 hayvandan oluştu.

Bu çalışmada yürütülen tüm hayvan deneyleri, ilgili kurumun Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır ve hayvanların bakımı, deneyel prosedürleri ve kurban edilme süreçleri ulusal mevzuata ve uluslararası yönergelere uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Deney boyunca

hayvan refahını en üst düzeye çıkarmak ve acıyı en aza indirmek için gerekli tüm önlemler alınmıştır.

Beslenme Protokolü

Çalışmada iki farklı diyet uygulandı:

1. Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından sağlanan standart sıçan yemi, 95,18 mg/kg çinko içermektedir,
2. Arden Araştırma ve Deney (Ankara, Türkiye) tarafından hazırlanan, 50 µg/kg çinko içeren çinko kısıtlı diyet.

Deneysel Tasarım

Deney hayvanları rastgele beş gruba ayrıldı:

Grup-1, Kontrol: Bu gruptaki sıçanlar, çalışma süresi boyunca (8 hafta) yalnızca standart bir diyetle beslendi ve herhangi bir farmakolojik veya deneysel tedaviye maruz bırakılmadı.

Grup-2, Sham: Sıçanlara, distile suda hazırlanan %1 karboksimetilselüloz (KMS) içeren bir taşıyıcı çözelti uygulandı. Uygulama, günlük yem alımının %1'ine karşılık gelen bir hacimde, sekiz hafta boyunca gavaj yöntemiyle ağız yoluyla gerçekleştirildi. Bu gruptaki hayvanlar standart bir diyetle beslendi.

Grup-3, MS (Kuprizon): Bu grupta, deneysel bir MS modeli oluşturmak için kuprizon (Bis (sikloheksanon) oksaldihidrazon; Sigma-Aldrich, Supelco-14690) kullanıldı. Kuprizon, %1 KMS içeren bir çözeltide hazırlandı ve sekiz hafta boyunca günlük yem alımının %1'i oranında gavaj yoluyla ağızdan uygulandı. Hayvanlar standart bir diyetle beslendi.

Grup-4, MS + Çinko Eksik Diyet: Bu gruptaki sıçanlara, Grup 3'te açıklanan protokole göre kuprizon uygulandı ve aynı zamanda sekiz hafta boyunca çinko kısıtlı bir diyet verildi.

Grup-5, MS + Çinko Takviyesi: Sıçanlara Grup 3'te açıklandığı gibi kuprizon uygulandı. Ek olarak, deney süresi boyunca günde 5 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak çinko sülfat uygulandı.

Hayvanlarda MS gelişimi, Rotarod testleri ve Miyelin Temel Proteini (MBP) gen ekspresyon analizi ile belirlenmiştir (bu çalışmanın bir parçası olan yayımlanmış makalemizde ayrıntılı olarak açıklanmıştır) (28).

Omurilik Dokusu Toplama ve Muhafaza

Sekiz haftalık deneysel sürecin tamamlanmasının ardından, denekler son uygulamanın üzerinden 24 saat geçtikten sonra kurban edildi. Cerrahi

anestezi derinliği, intraperitoneal (i.p.) yolla uygulanan ketamin (75 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) kombinasyonu ile sağlandı. Ötenazi işleminden sonra, omurilik dokuları hızla çıkarıldı ve moleküler/biyokimyasal analizler yapılana kadar -80°C'de muhafaza edildi.

Omurilik Dokusunda Proenflamatuvar Sitokin (TNF-α, IL-1β, ve IL-6) Analizi

Analiz öncesinde, omurilik örnekleri kirleticileri uzaklaştırmak için soğuk fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandı ve tartıldı. Dokular, ultrasonik homojenizatör kullanılarak 1:9 (ağırlık/hacim) oranında soğuk tampon çözelti içinde homojenize edildi (Sonic Vibra-Cell).

Doku TNF-α, IL-1β ve IL-6 konsantrasyonları, üreticinin protokollerine uyularak ticari ELISA kitleri kullanılarak belirlendi (NEPENTHE; Katalog No: NE010076403, NE010011903, ve NE010013503). Plaka yıkama işlemi Rayto RT-2600C cihazı kullanılarak gerçekleştirildi ve optik yoğunluk (OD) ölçümleri mikropłaka okuyucu kullanılarak belirlendi (Clariostar, BMG Labtech, Almanya). Elde edilen sitokin verileri pg/mL birimlerine standardize edildi.

İstatistiksel Analiz

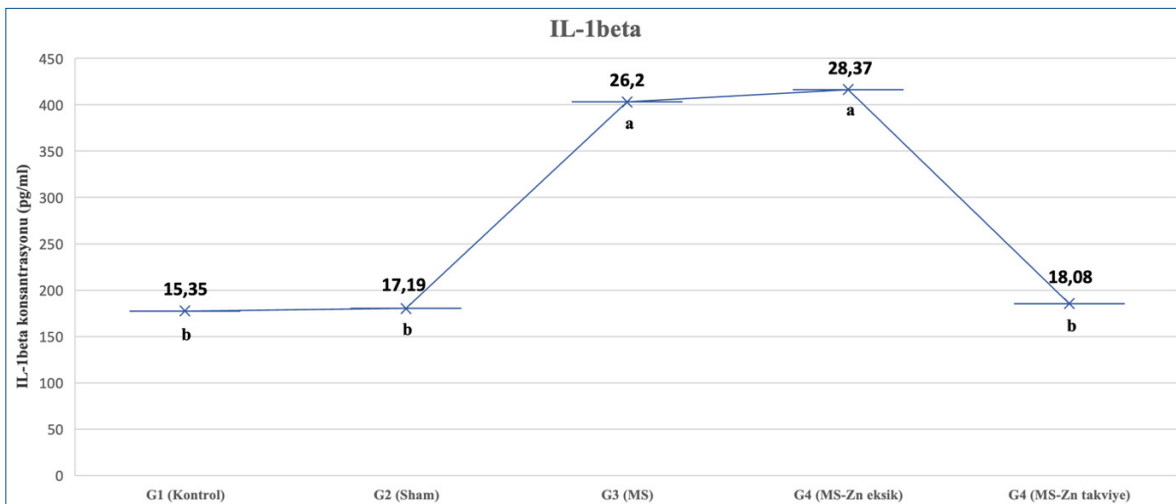
Veri analizi, IBM Sosyal Bilimlerde İstatistik Paket Programı (SPSS) (v. 26.0, IBM Corp., Armonk, NY, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normalliği Shapiro-Wilk testi kullanılarak incelenmiş ve verilerin parametrik testlerin varsayımlarını karşıladığı belirlenmiştir. Sürekli değişkenler aritmetik ortalama ± standart sapma (± SD) olarak sunulmuştur. Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanıldı; anlamlı farklılıkların kaynağını belirlemek için ise post-hoc Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p < 0,05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

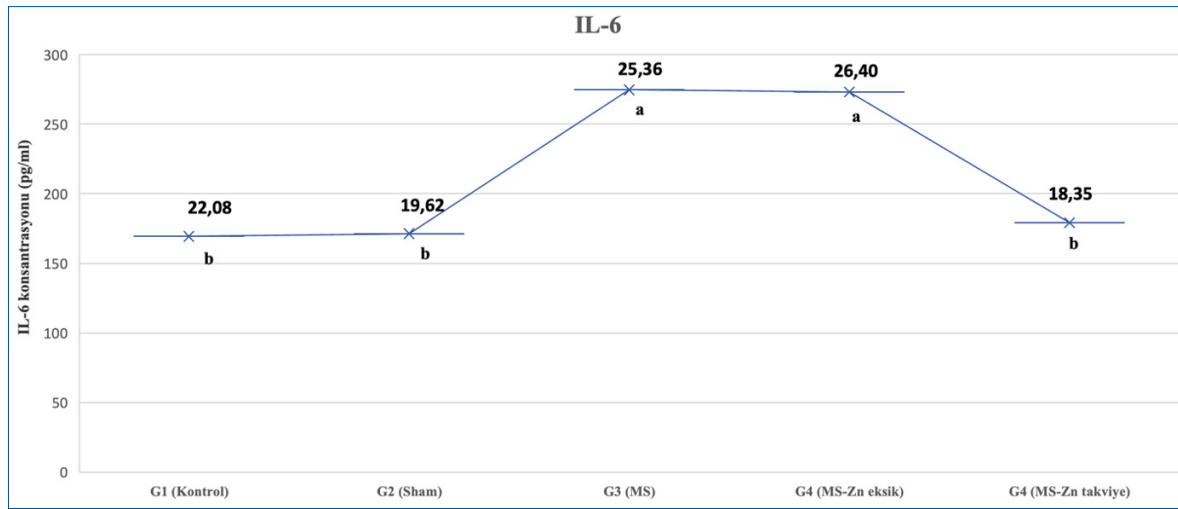
Omurilik IL-1β Düzeyleri

Omurilik dokusundaki en yüksek IL-1β düzeyleri MS grubunda (G3) ve MS + Çinko Eksikliği Diyeti grubunda (G4) gözlemlendi (sırasıyla 403,05±26,20 pg/mL ve 416,22±28,37 pg/mL).

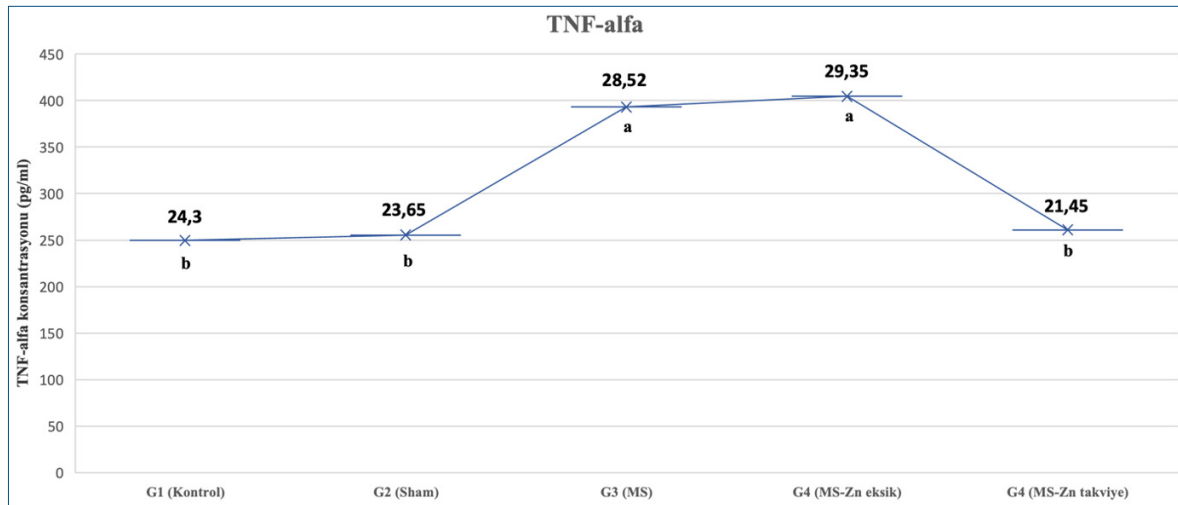
Buna karşılık, çinko takviyesi (G5), IL-1β seviyelerini belirgin şekilde düşürerek (185,45±18,08 pg/mL), G1 ve G2'de gözlemlenen kontrol değerlerine (sırasıyla 177,49±15,35 pg/mL ve 180,15±17,19 pg/mL) yaklaştırdı.



Şekil 1. Çalışma gruplarının omurilik IL-1β düzeyleri (pg/ml) (Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır [P < 0,05], [a > b]).



Şekil 2. Çalışma gruplarının omurilik IL-6 düzeyleri (pg/ml) (Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır [P <0,05], [a >b]).



Şekil 3. Çalışma gruplarının omurilik TNF- α düzeyleri (pg/ml) (Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır [P <0,05], [a >b]).

Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı (p <0,05) (Şekil 1).

Omurilik IL-6 Düzeyleri

G3 ve G4 gruplarında omurilik IL-6 düzeyleri anlamlı derecede yüksekti (sırasıyla 274,64±25,36 pg/mL ve 273,10±26,40 pg/mL).

G5 grubunda çinko takviyesi, IL-6 seviyelerini 179,17±18,35 pg/mL'ye düşürdü; bu seviyeler kontrol gruplarınıninkine benzerdi (G1:169,42±22,08 pg/mL; G2:171,31±19,62 pg/mL).

Bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlıydı (p <0,05) (Şekil 2).

Omurilik TNF- α Düzeyleri

Omurilik dokusundaki en yüksek TNF- α konsantrasyonları G3 ve G4 gruplarında tespit edildi (sırasıyla 393,02±28,52 pg/mL ve 404,48±29,35 pg/mL).

Çinko takviyesi yapılan grupta (G5), TNF- α düzeyleri (260,95±21,45 pg/mL), kontrol düzeylerine doğru azaldı (G1:249,52±24,30 pg/mL; G2:255,44±23,65 pg/mL).

Grup farklılıkları istatistiksel olarak anlamlıydı (p <0,05) (Şekil 3).

TARTIŞMA

Omurilik Dokusundaki IL-1 β Düzeylerinin Tartışılması

Omurilik, MS patolojisinde sıklıkla etkilenen bir bölgedir ve lezyonlar fonksiyon kaybına önemli ölçüde katkıda bulunur (29–31). MS'te, bağışıklık hücrelerinin merkezi sinir sistemine sızması, özellikle omurilikte miyelin ve akson hasarına yol açarak motor, duysal ve otonomik işlev bozukluklarına neden olur (31). Proenflamatuvar bir sitokin olan IL-1 β , makrofajlar, mikroglia ve monositler tarafından üretilir ve MS hastalarının kanında, beyin omurilik sıvısında ve merkezi sinir sistemi lezyonlarında artmış seviyelerde bulunur; bu artış, hastalığın şiddeti ve ilerlemesiyle ilişkilidir (32–34). IL-1 β , kan-beyin ve kan-omurilik bariyerinin geçirgenliğini artırarak lökosit infiltrasyonunu kolaylaştırır ve nöroenflamasyonu şiddetlendirir (34, 35). Aynı zamanda glial aktivasyonu, kemokin üretimini ve enflamatuvar süreçleri tetikleyerek miyelin kaybına ve nöron hasarına da katkıda bulunur (32, 34). Deneysel bir otoimmün ensefalomyelit (EAE) modelinde çinko aspartatın, özellikle bağışıklık tepkisi üzerindeki baskılayıcı etkiler yoluyla hastalık şiddetini azalttığı gösterilmiştir (23–26). Çalışmamızda, omurilikteki en yüksek IL-1 β düzeyleri çinko eksikliğiyle beslenen G3 ve G4 MS gruplarında tespit edildi ve bu bulgu literatürle tutarlıdır.

Omurilik Dokusundaki IL-6 Düzeylerinin Tartışılması

IL-6, MS patogeneğinde önemli bir proenflamatuvar sitokindir ve artmış seviyeleri hastalık aktivitesi, enflamasyon ve demiyelinizasyon ile ilişkilidir (36–38). Bu çalışma, MS model gruplarında (G3:MS-standart diyet ve G4:MS + çinko eksikliği) omurilik dokusunda IL-6 seviyelerinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Buna karşılık, çinko takviyesi alan G5 grubundaki IL-6 düzeylerinin kontrol gruplarına (G1-G2) benzer olduğu bulundu. Bu sonuçlar, artan IL-6'nın lokal enflamatuvar yanıt ve oligodendrosit hasarıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Çinko eksikliği, proenflamatuvar sitokin üretimini artırarak bağışıklık homeostazını bozar; özellikle, IL-6 düzeylerindeki artışın STAT3 aracılı sinyal yollarının aktivasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (25,39–41). Bu mekanizma, G4 grubunda gözlemlenen yüksek IL-6 seviyelerini açıklamaktadır. Öte yandan, çinko takviyesinin enflamasyonu baskılayıcı etkileri, IL-6 seviyelerindeki azalmayla tutarlıdır. Literatürde çinko takviyesinin, EAE modellerinde IL-6 gen ekspresyonunu azalttığı ve enflamatuvar yanıtı modüle ettiği gösterilmiştir (42–44). Ayrıca çinkonun, Th17 yanıtını baskılayarak ve regülatör T hücrelerini artırarak bağışıklık dengesini desteklediği bildirilmektedir.

Sonuç olarak, bulgularımız çinko durumunun MS modelinde enflamasyonun önemli bir düzenleyicisi olduğunu ve çinko takviyesinin IL-6 yoluyla antienflamatuvar bir etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Omurilik Dokusundaki TNF- α Düzeylerinin Tartışılması

Bu çalışmada, deneysel MS gruplarında (standart diyet ve çinko eksikliği) omurilik TNF- α düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır; çinko takviyesinin bu artışı baskıladığı ve düzeyleri kontrol grubuna yaklaştırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, çinkonun nöroenflamasyondaki düzenleyici rolünü desteklemektedir. TNF- α , MS ve EAE modellerinde immün düzensizlik, demiyelinizasyon ve doku hasarıyla ilişkili önemli bir proenflamatuvar sitokindir ve artmış düzeyleri hastalık aktivitesiyle ilişkilidir (45).

Çinko, immün homeostazda kritik bir rol oynar; eksikliği, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi proenflamatuvar sitokinlerin artışı ve bağışıklık düzenlemesinin bozulmasıyla ilişkilidir (39). Bu durum, çalışmamızda çinko eksikliği grubunda gözlemlenen yüksek TNF- α seviyelerini açıklamaktadır. Buna karşılık, çinko takviyesinin TNF- α üzerindeki normalleştirici etkisi önceki çalışmalarla tutarlıdır. Çinko uygulamasının EAE modellerinde T hücre aktivasyonunu ve sitokin üretimini baskıladığı, ayrıca Th17 yanıtını azalttığı ve regülatör T hücrelerini artırdığı gösterilmiştir (24, 44).

Çinko homeostazının bozulmasının MS hastalarında da rapor edilmiş olması, bu elementin nöroenflamasyondaki önemini desteklemektedir (43,46). Çinkonun TNF- α 'yı baskılaması, kan-beyin bariyeri geçirgenliğinin, mikrogliya aktivasyonunun ve oksidatif hasarın azaltılması açısından da önemli olabilir (45).

Sonuç olarak, çinko eksikliği enflamatuvar yanıtı artırırken, çinko takviyesi TNF- α seviyelerini düşürerek nöroenflamasyonu hafifletmektedir. Bu bulgular, çinkonun MS'te bağışıklık düzenlemesinin potansiyel bir modülatörü olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma çinko durumunun multipl sklerozun deneysel bir modelinde nöroenflamasyonun önemli bir düzenleyicisi olduğunu göstermektedir. Hem MS hastaları hem de çinko eksikliği olan bir diyetle beslenen MS modeli hayvanlarda, omuriliklerinde proenflamatuvar sitokinler IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerinde önemli ölçüde artış gözlemlenmiş olup, bu durum demiyelinizasyon patolojisiyle ilişkili yoğun lokal enflamatuvar aktivitenin varlığını doğrulamaktadır.

Aksine, çinko takviyesi, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'nın yükselişini etkili bir şekilde azaltarak, seviyelerini kontrol gruplarında gözlemlenen seviyelere yakın bir şekilde geri getirdi. Bu bulgular, çinkonun merkezi sinir sistemindeki immünomodülatör ve antienflamatuvar rolünü vurgulamaktadır.

Sonuçlar, çinko homeostazının, MS benzeri nöroenflamasyonda bağışıklık dengesini korumak ve patolojik sitokin üretimini sınırlamak için çok önemli olduğu kavramını desteklemektedir.

Genel olarak, verilerimiz çinko eksikliğinin MS'te enflamatuvar hasarı şiddetlendiren bir risk faktörü olabileceğini, çinko takviyesinin ise nöroenflamatuvar yükü azaltmayı amaçlayan yardımcı bir strateji olarak terapötik potansiyele sahip olabileceğini düşündürmektedir. Çinko modülasyonunun multipl sklerozdaki translaşyonel önemini açıklığa kavuşturmak için daha fazla mekanistik ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kısıtlılıklar

Bu çalışmanın bulgularını yorumlarken dikkate alınması gereken çeşitli sınırlamalar vardır.

Birincisi, her gruptaki örneklem büyüklüğü nispeten sınırlıydı, bu da sonuçların genelleştirilebilirliğini kısıtlayabilir. İkincisi, sadece erkek Wistar sıçanları kullanıldı; bu nedenle, çinko metabolizması ve nöroenflamatuvar yanıtlardaki potansiyel cinsiyete bağlı farklılıklar değerlendirilmedi. Üçüncüsü, kuprizon modeli miyelin kaybını taklit etmek için yaygın olarak kullanılsa da, insan MS'inin karmaşık otoimmün bileşenini tam olarak kopyalayamaz, bu da hastalığa uygulanabilirliğini sınırlayabilir. Ayrıca, çalışma sınırlı sayıda proenflamatuvar sitokine (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) odaklandı ve diğer enflamatuvar ve antienflamatuvar medyatörler değerlendirilmedi. Önemli olarak, ölçülen sitokinlerin hücre kaynaklı belirlenmedi. Bu nedenle, bu sitokinlerin mikrogliya, infiltrasyon gösteren makrofajlar, astrositler veya diğer bağışıklık hücreleri gibi belirli hücre popülasyonlarından kaynaklanıp kaynaklanmadığını ayırt etmek mümkün olmadı; bu da altta yatan hücrel mekanizmaların kesin yorumlanmasını sınırlandırır. Son olarak, deneme süresi sekiz hafta ile sınırlıydı ve çinko takviyesinin hastalık ilerlemesi üzerindeki uzun vadeli etkileri değerlendirilmedi.

MS'te çinkonun terapötik potansiyelini daha iyi tanımlamak için daha büyük gruplarla yapılacak gelecekteki çalışmalara, ayrıntılı hücreye özgü analizlere ve kapsamlı moleküler yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Etik Komite Onayı: Çalışma protokolü, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (2021-18).

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir- SBB, RM, AKB; Tasarım- SBB, GA, AFB; Denetleme- GA, EKU, AÜ, AFB; Kaynaklar- EKU, AÜ, AFB; Malzemeler- EKU, AÜ, AFB; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- GA, EKU, AÜ, AFB; Analiz ve/veya Yorum- GA, EKU, AÜ, AFB; Literatür Taraması- GA, EKU, AÜ, AFB; Yazıyı Yazan- SBB, GA, RM, AKB; Eleştirel İnceleme- SBB, RM, AKB.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (SUBAPK; proje no. 21202016) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Zorzella-Pezavento SFG, Mimura LAN, Denadai MB, de Souza WDF, Fraga-Silva TFC, Sartori A. Is there a window of opportunity for the therapeutic use of vitamin D in multiple sclerosis? *Neural Regen Res.* 2022;17:1945–1954. [Crossref]
2. Kucukyilmaz K. The role of vitamin D in multiple sclerosis. *Journal of Adnan Menderes University Health Sciences Faculty.* 2023;7:742–755. [Crossref]
3. Wang Y, Li D, Xu K, Wang G, Zhang F. Copper homeostasis and neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res.* 2025;20:3124–3143. [Crossref]
4. Mohseni SO, Au KM, Issa W, Ruan L, Stuve O, Wang AZ. Multiple sclerosis treatments: a review of current biomedical engineering approaches. *Biomaterials.* 2025;313:122807. [Crossref]
5. Zhang G, Yao Q, Long C, Yi P, Song J, Wu L, et al. Infiltration by monocytes of the central nervous system and its role in multiple sclerosis: reflections on therapeutic strategies. *Neural Regen Res.* 2025; 20(3):779–793. [Crossref]

6. Li Y, Liu L, Ding X, Liu Y, Yang Q, Ren B. Interleukin-1 β attenuates the proliferation and differentiation of oligodendrocyte precursor cells through regulation of the microRNA-202-3p/ β -catenin/Gli1 axis. *Int J Mol Med*. 2020;46:1217–1224. [\[Crossref\]](#)
7. Falconer-Turner A, Brooks K, Ogaga E, Whalen MM. Flame retardant, hexabromocyclododecane, increases production of pro-inflammatory cytokines, interleukin 1-beta and interleukin 6, in human immune cells. *J Appl Toxicol*. 2025;45:273–287. [\[Crossref\]](#)
8. Jin X, Zhang N. Activation of the MyD88-JNK pathway promotes pathogenic Th17 differentiation by induction of activin-A secretion and enhances experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroreport*. 2025;36:623–630. [\[Crossref\]](#)
9. Braddock M, Quinn A. Targeting IL-1 in inflammatory disease: new opportunities for therapeutic intervention. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3:330–339. [\[Crossref\]](#)
10. Dinarello CA. Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4:378–385. [\[Crossref\]](#)
11. Tahmasebi F, Asl ER, Faghihi F, Bolandi N, Barati S. Synergistic effects of olfactory ecto-mesenchymal stem cell supernatant and ellagic acid on demyelination and glial modulation in a chronic multiple sclerosis model. *Cell Mol Neurobiol*. 2025;45:40. [\[Crossref\]](#)
12. Xing S, Li X, Chen C. Association between frailty and inflammatory cytokines in patients with multiple sclerosis: a case-control study. *Cytokine*. 2025;191:156945. [\[Crossref\]](#)
13. Koul R, Lu W, Torres T, Choi YB. Temporal relationship between neurofilament light chain and cytokines involved in T helper-17 lymphocyte signaling in the blood of experimental autoimmune encephalomyelitis mice. *Mult Scler Relat Disord*. 2025;99:106463. [\[Crossref\]](#)
14. Blaszczak GJ, Mohammadnia A, Piscopo VEC, Sirois J, Cui QL, Yaqubi M, et al. Pro-inflammatory molecules implicated in multiple sclerosis divert the development of human oligodendrocyte lineage cells. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2025;12:e200407. [\[Crossref\]](#)
15. Lassmann H, van Horssen J. The molecular basis of neurodegeneration in multiple sclerosis. *FEBS Lett*. 2011;585:3715–3723. [\[Crossref\]](#)
16. Wang Y, Ren Z, Tao D, Tilwalli S, Goswami R, Balabanov R. STAT1/IRF-1 signaling pathway mediates the injurious effect of interferon-gamma on oligodendrocyte progenitor cells. *Glia*. 2010;58:195–208. [\[Crossref\]](#)
17. Starost L, Lindner M, Herold M, Xu YKT, Drexler HCA, Heß K, et al. Extrinsic immune cell-derived, but not intrinsic oligodendroglial factors contribute to oligodendroglial differentiation block in multiple sclerosis. *Acta Neuropathol*. 2020;140:715–736. [\[Crossref\]](#)
18. Maghbooli Z, Sayahpour FA, Varzandi T, Masoumi MR, Sahraian MA. The interplay between endoplasmic reticulum stress and inflammation in multiple sclerosis. *Sci Rep*. 2025;15:22916. [\[Crossref\]](#)
19. Magliozzi R, Pezzini F, Pucci M, Rossi S, Facchiano F, Marastoni D, et al. Changes in cerebrospinal fluid balance of TNF and TNF receptors in naive multiple sclerosis patients: early involvement in compartmentalised intrathecal inflammation. *Cells*. 2021;10:1712. [\[Crossref\]](#)
20. Szweczyk B. Zinc homeostasis and neurodegenerative disorders. *Front Aging Neurosci*. 2013;5:33. [\[Crossref\]](#)
21. Wang B, Fang T, Chen H. Zinc and central nervous system disorders. *Nutrients*. 2023;15:2140. [\[Crossref\]](#)
22. Castro ADS, Albuquerque LDS, Melo MLP, D'Almeida JAC, Braga RAM, Assis RC, et al. Relationship between zinc-related nutritional status and the progression of multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2022;66:104063. [\[Crossref\]](#)
23. Straubel D, Thielitz A, Reinhold A, Grüngreiff K, Reinhold D. Combined treatment with zinc aspartate and intravenous immunoglobulins (IVIGs) ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *J Immunol Res*. 2018;2018:5982169. [\[Crossref\]](#)
24. Stoye D, Schubert C, Goihl A, Guttek K, Reinhold A, Brocke S, et al. Zinc aspartate suppresses T cell activation in vitro and relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J mice. *Biometals*. 2012;25:529–539. [\[Crossref\]](#)
25. Kitabayashi C, Fukada T, Kanamoto M, Ohashi W, Hojyo S, Atsumi T, et al. Zinc suppresses Th17 development via inhibition of STAT3 activation. *Int Immunol*. 2010;22:375–386. [\[Crossref\]](#)
26. Choi BY, Jung JW, Suh SW. The emerging role of zinc in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2017;18:2070. [\[Crossref\]](#)
27. Foster M, Samman S. Zinc and regulation of inflammatory cytokines: implications for cardiometabolic disease. *Nutrients*. 2012;4:676–694. [\[Crossref\]](#)
28. Yılmaz SE, Gümüş H, Baltacı SB, Acar G, Moğulkoç R, Baltacı AK. Association between rotarod tests and myelin basic protein (MBP) in the confirmation of the cuprizone-induced rat multiple sclerosis (MS) model and the relationship of these parameters with dietary zinc status. *Arch Neuropsychiatry*. 2026;63:468–473. [\[Crossref\]](#)
29. Belousova O, Lopatina A, Melnikov M. The role of dopamine in the modulation of monocyte-induced Th17- and Th1-immune response in multiple sclerosis. *Int Immunopharmacol*. 2024;137:112540. [\[Crossref\]](#)
30. Bayiroglu AF, Acar G, Gulbahce-Mutlu E, Baltacı SB, Mogulkoc R, Baltacı AK. Dietary zinc status is associated with ZnT3(SLC30A3), IL-6 gene expressions and spinal cord tissue damage in spinal cord tissue in a cuprizone-induced rat multiple sclerosis model. *J Trace Elem Med Biol*. 2024;86:127540. [\[Crossref\]](#)
31. Kreiter D, Postma AA, Hupperts R, Gerlach O. Hallmarks of spinal cord pathology in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2024;456:122846. [\[Crossref\]](#)
32. Lin CC, Edelson BT. New insights into the role of IL-1 β in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *J Immunol*. 2017;198:4553–4560. [\[Crossref\]](#)
33. Boraschi D, Italiani P, Migliorini P, Bossù P. Cause or consequence? The role of IL-1 family cytokines and receptors in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. *Front Immunol*. 2023;14:1128190. [\[Crossref\]](#)
34. Prins M, Eriksson C, Wierinckx A, Bol JG, Binnekade R, Tilders FJ, et al. Interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist appear in grey matter additionally to white matter lesions during experimental multiple sclerosis. *PLoS One*. 2013;8:e83835. [\[Crossref\]](#)
35. Paré A, Mailhot B, Lévesque SA, Juzwik C, Ignatius Arokia Doss PM, Lécuyer MA, et al. IL-1 β enables CNS access to CCR2hi monocytes and the generation of pathogenic cells through GM-CSF released by CNS endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115:E1194–E1203. [\[Crossref\]](#)
36. Oniani T, Vinnenberg L, Chaudhary R, Schreiber JA, Riske K, Williams B, et al. Effects of axonal demyelination, inflammatory cytokines and divalent cation chelators on thalamic HCN channels and oscillatory bursting. *Int J Mol Sci*. 2022;23:6285. [\[Crossref\]](#)
37. Stipanoni Bassi M, Iezzi E, Drulovic J, Pekmezovic T, Gilio L, Furlan R, et al. IL-6 in the cerebrospinal fluid signals disease activity in multiple sclerosis. *Front Cell Neurosci*. 2020;14:120. [\[Crossref\]](#)
38. Itorralba J, Brand-Arzamendi K, Saab G, Muccilli A, Schneider R. Intrathecal interleukin-6 levels are associated with progressive disease and clinical severity in multiple sclerosis. *BMC Neurol*. 2025;25:136. [\[Crossref\]](#)
39. Sahin H. The interaction between zinc, immune system and inflammation. *Türkiye Klinikleri J Nutr Diet-Special Topics*. 2016;2:77–81.
40. Wong C, Rinaldi NA, Ho E. Zinc deficiency enhanced inflammatory response by increasing immune cell activation and inducing IL6 promoter demethylation. *Mol Nutr Food Res*. 2015;59:991–999. [\[Crossref\]](#)
41. Gruber K, Maywald M, Rosenkranz E, Haase H, Plumakers B, Rink L. Zinc deficiency adversely influences interleukin-4 and interleukin-6 signaling. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2013;27:661–671.
42. Mohammadi H, Talebi S, Ghavami A, Rafiei M, Sharifi S, Faghihimani Z, et al. Effects of zinc supplementation on inflammatory biomarkers and oxidative stress in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Trace Elem Med Biol*. 2021;68:126857. [\[Crossref\]](#)
43. Sanna A, Firinu D, Zavattari P, Valera P. Zinc status and autoimmunity: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2018;10:68. [\[Crossref\]](#)
44. Rosenkranz E, Maywald M, Hilgers RD, Brieger A, Clarnar T, Kipp M, et al. Induction of regulatory T cells in Th1-/Th17-driven experimental autoimmune encephalomyelitis by zinc administration. *J Nutr Biochem*. 2016; 29:116–23. [\[Crossref\]](#)
45. Freseigna D, Bullitta S, Musella A, Rizzo FR, De Vito F, Guadalupe L, et al. Re-examining the role of TNF in MS pathogenesis and therapy. *Cells*. 2020;9:2290. [\[Crossref\]](#)
46. Bredholt M, Frederiksen JL. Zinc in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *ASN Neuro*. 2016;8:1759091416651511. [\[Crossref\]](#)