

14768.

T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VÜCUTTAKİ ÇİNKO EMİLİM VE DAĞILIMINA KALSİYUM VE  
DEMİRİN ETKİSİ

FİZYOLOJİ  
DOKTORA TEZİ

T. C.  
Yükseköğretim Kurulu  
Dokümantasyon Merkezi

NURCAN DURSUN (BOLKENT)

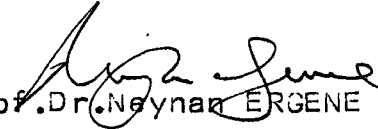
Uzm. Arş. Gör.

Kayseri-1991

ERCIYES UNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTUSU MÜDÜRLÜĞÜNE,

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalında  
DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

22.8.1991

  
Prof. Dr. Neynan ERGENE  
Başkan

Doç. Dr. Sami AYDOĞAN

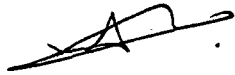
Yrd. Doç. Dr. Mehmet KARATOY

Üye

ONAY: Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait  
olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Ahmet BİLGE  
Sağlık Bil. Enst. Müdürü

Y.



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. ÇİNKONUN BESİNSEL ÖNEMİ .....	3
2.2. ÇİNKO BİYOKULLANIMINI ETKİLEYEN DİYETER FAKTÖRLER	5
2.2.1. İntirinsik faktörler .....	5
2.2.2. Ekstirinsik faktörler .....	7
2.3. ÇİNKONUN UPTAKE VE EMİLMİ .....	12
2.3.1. Luminal faktörler .....	13
2.3.2. Uptake mekanizması .....	15
2.3.3. Hücre içi mekanizmalar .....	18
2.3.4. Bazolateral membran transportu .....	20
2.3.5. Çinko emiliminin genel modeli .....	22
<b>3. YÖNTEM VE GEREÇLER</b> .....	26
3.1. DENEY GRUPLARI VE BESLENMELERİ .....	26
3.2. ÇİNKO TAYİNİ .....	29
3.3. RADYOAKTİF ÇİNKO TAYİNİ .....	29
3.4. ABSORBSİYON HESAPLAMALARI .....	30
<b>4. BULGULAR</b> .....	33
4.1. VÜCUT AĞIRLIĞINA KALSİYUM VE DEMİRLİ DİYETİN ETKİSİ	33
4.2. ÇİNKONUN VÜCUTTAKİ EMİLM VE RETANSİYONUNA	
KALSİYUM VE DEMİRİN ETKİSİ .....	34
4.3. DOKULARDAKİ ÇİNKO VE Zn-65 DAĞILIMINA KALSİYUM VE	
DEMİRİN ETKİSİ .....	42
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	47
<b>6. ÖZET</b> .....	62
<b>7. SUMMARY</b> .....	64
<b>8. KAYNAKLAR</b> .....	67

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 1.</b> Bazal diyetin bileşimi .....	28
<b>Tablo 2.</b> Vücut ağırlığına diyetteki kalsiyum miktarının etkisi.....	35
<b>Tablo 3.</b> Vücut ağırlığına diyetteki demir miktarının etkisi .....	35
<b>Tablo 4.</b> Feçesin ve böbreğin spesifik aktivitesi .....	40
<b>Tablo 5.</b> Zn-65 verildikten 24 saat sonraki Zn-65 emilimi .....	41
<b>Tablo 6.</b> Zn-65 verildikten 48 saat sonraki Zn-65 emilimi .....	41
<b>Tablo 7.</b> Zn-65 verildikten 72 saat sonraki Zn-65 emilimi .....	42
<b>Tablo 8.</b> Zn-65 verildikten 96 saat sonraki Zn-65 emilimi .....	42
<b>Tablo 9.</b> Farklı beslenen grupların dokularındaki Zn-65 dağılımı.....	44
<b>Tablo10.</b> Farklı beslenen grupların dokularındaki Zn dağılımı .....	44

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Şekil 1.</b> Endojen ve diyeter çinkonun lümen içindeki hareketi .....	14
<b>Şekil 2.</b> Fırça kenar membranı boyunca potansiyel çinkonun değişik geçiş şekilleri .....	15
<b>Şekil 3.</b> Diyetsel bakır ve çinkonun bağlanma alanları ve hücre içine geçiş mekanizmaları .....	19
<b>Şekil 4.</b> Bazolateral çinko transportunun genel bir şeması .....	21
<b>Şekil 5.</b> Rölatif transsellüler çinko taşınmasında, diyeter çinko eksikliği ve açlığın etkisi .....	23
<b>Şekil 6.</b> Zn-65 emilimi ve ince barsağa sekresyonu .....	30
<b>Şekil 7.</b> Çinko ölçümlerine ait standart eğri .....	32
<b>Şekil 8.</b> Diyetteki kalsiyumun çinko emilimine etkisi .....	36
<b>Şekil 9.</b> Diyetteki demirin çinko emilimine etkisi .....	36
<b>Şekil 10.</b> Çinko retansiyonuna kalsiyumun etkisi .....	37
<b>Şekil 11.</b> Çinko retansiyonuna demirin etkisi .....	37
<b>Şekil 12.</b> İdrarla Zn-65 atılımına kalsiyumlu diyetin etkisi .....	38

<b>Şekil 13.</b> İdrarla Zn-65 atılımına demirli diyetin etkisi .....	38
<b>Şekil 14.</b> Farklı oranlarda kalsiyum içeren diyetlerle beslenen grupların doku Zn-65 dağılımları .....	45
<b>Şekil 15.</b> Farklı oranlarda demir içeren diyetlerle beslenen grupların doku Zn-65 dağılımları .....	45
<b>Şekil 16.</b> Farklı oranlarda kalsiyum içeren diyetlerle beslenen grupların doku çinko dağılımları .....	46
<b>Şekil 17.</b> Farklı oranlarda demir içeren diyetlerle beslenen grupların doku çinko dağılımları .....	46
<b>Şekil 18.</b> Farklı diyetlerle beslenen grupların kandaki Zn-65 dağılımı .....	47

## ÖNSÖZ

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında yapılmıştır.

Çalışmalarımın gerçekleşmesinde bilgi, eleştiri ve yardımlarını esirgemeyen, hocam ve değerli tez yöneticim Sayın Doç. Dr. Sami AYDOĞAN' a,

Ayrıca bilimsel olanaklarından yararlanmamı sağlayan Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Çiğdem ÖZESMİ' ye, yardımlarını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Mehmet KARATOY, Yrd.Doç. Dr. Bekir ÇOKSEVİM' e ve Anabilim Dalımızdaki tüm Arş. Gör. arkadaşlarıma,

Hacettepe Üniversitesi Nükleer Tıp Anabilim Dalında, radyoaktif çinko tayini yapabilmem için her türlü imkanı sağlayan, çok değerli hocam Doç. Dr. Meral ERCAN' a, Atomik absorpsiyon aletinde çinko ölçümlerine yardımcı olan Uzm. Dr. Gürsel Tanrıku' na teşekkürü borç bilirim.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyolojik sistemlerdeki mineral-mineral etkileşimlerini anlamamıza yardımcı olan ilk araştırmacılardan Dr. Charles Hill ve Dr. Gerard Matron, bu tezin temel ilkesini "Kimyasal ve fiziksel özellikleri birbirine benzer elementler, birbirlerinin biyolojilerini zıt olarak etkileyecektir" şeklinde özetlemişlerdir (55). Kalsiyum (a. numarası 20, a. ağırlığı 40.08), demir (a. numarası 26, a. ağırlığı 55.85) ve çinko (a. numarası 30 ve a. ağırlığı 65.37) elementleri periyodik tablonun ilk geçiş alanlarında olup dış elektron konfigürasyonları da birbirlerine benzemektedir. Bu nedenle memeli sistemlerinde birbirleriyle yarışmaya girecekleri beklenen bir durumdur. Eğer gerçekten böyle bir etkileşim varsa, sağlık açısından endişe duymak için iyi bir sebep oluşmaktadır. Çünkü hamile ve bebeklerde, ilave demir ve kalsiyuma duyulan ihtiyacın önemi çok iyi bilinmekte olup, ayrıca bu durumlarda çinkoya olan ihtiyaç da çok iyi tanımlanmıştır. Esansiyel elementlerden birinin artan diyet alımı ve onu takibeden emilimi, diğer



esansiyel elementin emilimini baskılamaksızın olması tercih edilen bir durumdur.

Kalsiyum ve demirin yalnız başlarına çinko emilimine yaptığı etkiyi araştıran çok az çalışma bulunmaktadır. Bunların bazıları, diyetteki Ca / Zn ve Fe / Zn oranına bağlı olarak çinko emiliminin arttığını veya azaldığını ifade etmektedir ( 40, 47, 49, 69, 82, 92, 96, 131, ). Çalışmaların bazıları ise, bu oran aşırı derecede fazla olmadığı müddetçe, mineraller arasında bir etkileşmenin olmayacağını bildirmektedir (5, 140). Sonuçlardaki bu farklılıklar, daha çok çinkonun emilim yüzdesini ifadede kullanılan farklı metod ve muhtemelen farklı deney hayvanlarından kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızın amacı, düşük, yüksek ve çok yüksek konsantrasyonlardaki kalsiyum ve demir elementlerinin (başka bir luminal faktör olmazken), çinko emilimine yaptığı etkiyi, stabil çinko tayinleri yanında radyoaktif Zn-65 aktivitesini de ölçerek daha kesin olarak belirlemek, bu şartlar altında çeşitli vücut dokularında çinko dağılımındaki muhtemel değişiklikleri saptamak, ve bu etkileşimin ince barsakların hangi bölgesinde olabileceğine bir açıklık getirmektir. Çalışmamızın, ince barsaklardaki çinko absorpsiyon mekanizmasına ilişkin araştırmalara da ışık tutacağı kanısındayız.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. ÇINKONUN BESİNSEL ÖNEMİ

İnsan organizmasında 1-2 g kadar çinko bulunmaktadır (2). Vücut çinkosunun %63 kadarı çizgili kaslardadır. Gözün koroid ve retina tabakalarında, prostat bezi ve salgılarında, deride, derinin tırnak ve saç uzantılarında da yüksek oranda bulunur. En hızlı çinko birikimi ve değişimi pankreas, karaciğer ve dorsolateral prostatta oluşur (100).Kanda da 900 µg/dl kadar çinko bulunmaktadır. Bunun % 85'i eritrositlerde karbonik anhidraz enziminin bileşiminde, % 3 lökositlerde alkalin fosfatazın yapısında, % 1'den azı trombositlerde, geri kalan kısmı ise plazmada bulunmaktadır (30). Çinkoya olan ihtiyaç, vücudun büyüklüğü ve enerji tüketimi ile yakından ilişkilidir. Tavsiye edilen günlük çinko miktarı, yenidoğanda 3 mg, yetişkinlerde 15-25 mg olmak üzere gelişme süresince

büyük ölçüde değişmektedir (120). Beslenme uzmanlarına göre, çinko; büyüme, gelişme ve metabolik aktiviteye bağlı fonksiyonları etkilemektedir. Gerçektende insan ve hayvanlarda yapılan pek çok çalışma, çinkonun vücut savunmasında yer alan hücrel immunité, hücrel büyüme, kemik oluşumu, beyin gelişmesi, öğrenme ve duyu fonksiyonlarındaki rolünü doğrulamaktadır. Bu metalin sayılan bu fonksiyonları ve diğér besinsel önemini açıklayan pek çok detaylı bilgiler yayınlanmıştır (2, 80, 97-100).

Çinkonun, çok yaygın olarak araştırılan fonksiyonlarından biri metalloenzim sistemleri ile olan ilişkisidir. Bu elementin metabolik olaylarda rol oynayan yaklaşık 200'den fazla enzimin yapısında bulunduğú bildirilmektedir. RNA ve DNA polimeraz, nükleotidil transferazlar, karbonik anhidraz ve alkalen fosfataz bunların en önemlileridir (97, 99). Çinkonun, bu enzimlere, yapısal bütünlük sağladığı ve / veya enzimin aktif bölgesinde, reaksiyona doğrudan katıldığı sanılmaktadır. Belirlenen çinko metalloenzimlerinin sadece bir bölümü, memelilerin dokularından izole edilebilmektedir (120). Ancak yüksek ya da düşük organizasyonlu canlıların yapısında bulunan bu enzimlerin, benzerlik gösterdikleri ifade edilmektedir. Memelilerin metabolik olayları ile ilgili çinko metalloenzimlerinin önemli bir kısmının karakterize edilmesi ve tanımlanması gerekmektedir. Birçok çinko metalloenzimlerinin aktivitesi, çinko eksikliği ile, önemli derecede değişmektedir (97, 99, 132). Homeostatik mekanizmaların, çinko eksikliğinde dahi, çinkonun bu temel fonksiyonunu sürdürmeye yardım ettiği ileri sürülmüştür (120). Yine birçok çinko metalloenzim aktivitelerinin diyetle bağılı çinko verilmesindeki değişmelere cevap vermemesi nedeniyle, çinkonun enzimatik olmayan fonksiyonları önemli olabilir. Diyetteki çinko

konsantrasyonundaki değişikliklerden, genelde bir çok çinko metalloenziminin etkilenmemesi, çinkonun enzimatik olmayan fonksiyonlardaki rolünün daha önemli olduğunu düşünmektedir. Bettger ve O'Dell (8) ile Chuophil ve arkadaşları (18) membranların istikrarının, metalin önemli bir fonksiyonu olduğunu ileri sürmektedirler. Gerçekten de, bir dizi hayvan çalışmaları, lipid peroksidasyonunun, çinko miktarıyla tersine ilişkili olduğunu göstermektedir (19, 23, 65). Çinko eksik sıçanlardan elde edilen eritrositlerin hemolize daha hassas olduğu gösterilmiştir (64, 90). Bu, inkonun membranları oksidatif zararlardan koruma ile ilişkili bir fonksiyona sahip olduğu düşüncesini desteklemektedir (90). Çinkonun vücut savunması, hücre yapısı ve düzenleme olaylarına katılma olasılığı, biyolojik sistemlerdeki çinkonun rolü için yeni bir bakış açısı sağlamıştır. Dahası, bulgular, çinko alımının pekçok canlı gruplarında sınırlı olabileceğini ve pekçok yiyecek maddelerindeki çinko kullanılabilirliğinin, bazı faktörlere bağlı olarak değişebileceğini ileri sürmektedir (120).

## 2.2.INKO BİYOKULLANIMINI ETKİLEYEN DİYETER FAKTÖRLER

### 2.2.1. İntrinsik faktörler

İntrinsik faktörler, besin maddesinin yapısında bulunan çinko iyonunun fizikokimyasal durumu ile yakından ilişkilidir. Bu konudaki çalışmalar, çinkonun organik ya da inorganik yapısı ve insan sütündeki çinkonun kimyasal form ya da formları üzerine yoğunlaşmıştır (120).

Çinko mineralinin et gibi hayvansal proteinlerden daha fazla emilmesi,

bu tür besinlerde çinko emilimini inhibe edecek inhibitör maddenin daha az olduğunu düşündürmektedir (120). Scoot ve Ziegler (105) kümes hayvanlarında yaptıkları gözlemlere dayanarak, hayvansal proteinlerde bulunan bazı çinko şelatlarının, bu minerali, inhibitör etkilere koruyabileceğini bildirmişlerdir. Bu durumun, hayvansal proteinlerde bulunan çinkonun büyük bir bölümünün metalloenzim proteinleriyle bağlantılı olmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir. Örneğin, istiridyedeki çinkonun yarısının alkalen fosfataz ve karbonik anhidraz gibi metalloenzim proteinlerine bağlı olduğu geriye kalan kısmının ise serbest formda bulunduğu bildirilmiştir (20). İstiridyeler en yüksek çinko ihtiva eden besin olup, organik çinkonun emilimi ile ilgili araştırmalarda çok kullanılmaktadır (120).

Yapılan bazı araştırmalar, organik ya da inorganik kaynaklardan elde edilen çinko arasında farklılık olmadığını ileri sürmektedir (120). Örneğin Solomons ve arkadaşları (114) aynı miktarlarda (108 mg) çinko içeren çinko sülfat ya da istiridyeli bir tür mısır yiyeceği tüketildiğinde, plazma çinko seviyeleri arasında önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan Solomons ve Jacob (115) 2/1'lik Fe / Zn oranına sahip çinko sülfatlı test yemeği alanlarla, istiridyeye alanların çinko emilme oranlarını karşılaştırdıkları zaman, istiridyeye çinkosunun daha fazla emildiğini bulmuşlardır.

İnsan sütündeki çinko muhteviyatının inek sütündekinden çok daha az olduğu bilinmektedir (120). İnsan sütündeki çinko konsantrasyonu, emzirme süresinin uzunluğuna göre değişmektedir. Çinko miktarının doğum sırasında

litrede 4 mg, son emzirme döneminde ise 0.4 mg olduğu bildirilmiştir (95). Buna rağmen anne sütüyle beslenen çocukların çinko beslenmelerinin mükemmel olduğu, çok düşük doğum ağırlığına sahip bebeklere iyi bir çinko kaynağı sağladığı gösterilmiştir. Anne sütüyle beslenen 6 aylık bebeklerdeki plazma çinko düzeyinin, çinko ilaveli inek sütüyle beslenen bebeklerinkinden önemli ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur (24). Hayvanlarda yapılan çalışmalarda da, Zn-65 ile işaretlenmiş insan sütünün, inek sütünden ya da mamalardan daha iyi çinko Emilimi sağladığı açık bir şekilde gösterilmiştir (32, 34, 104). Bu gözlemlerin tümü bu durumun anne sütündeki çinkonun kimyasal özelliğine bağlı olduğunu düşündürmektedir (120).

### 2.2.2. Ekstrinsik faktörler

Diyetteki çinkoyu yapısında bulunduran kimyasal maddeler ya da yiyecekler, mineralin besindeki kimyasal formuna göre çinko biyokullanımını daha fazla belirler. İnce barsakta çinkoyla etkileşimde bulunan, besinle ilişkili bu faktörler ekstrinsik faktörler olarak bilinmekte, ve çinko Emilimini hem arttırıp hem de inhibe edebilmektedirler (120)

**Çinko Emilimini arttıranlar:** Mc Donald ve Margen (79) kırmızı şarabın, alkolü alınmış kırmızı şarabın, içerisinde şaraptakine eş alkol bulunduran su ile saf suyun, sağlıklı genç gönüllülerdeki etkilerini karşılaştırmışlardır. İçkiler standart bir diyetle beraber ayrı ayrı verilmiş, sonuçta görünen Emilimin, kırmızı şarap ve alkolü alınmış şarapta daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu durumun şaraptaki Emilimi arttırıcı özelliklere bağlı

olduğu bildirilmiştir.

Hayvan modellerinde ve soya proteinine dayalı pratik diyetlerde, çeşitli EDTA tuzlarının, çinkonun biyokullanımını arttırdığı gösterilmektedir (44). EDTA'nın bu arttırıcı etkisinin, sadece belirli EDTA / Zn oranında olduğu bildirilmiştir (128). Çinko emilimi üzerindeki arttırıcı mekanizmanın, soyaya bağlı diyetlerdeki kalsiyum-fitat-çinko kompleksinden çinkonun ayrılmasını kolaylaştırdığı şeklinde olduğu ifade edilmektedir (129).

Intraluminal faktörler olarak histidin de çinko emilimini arttırabilir. Yapılan bir çalışmada, sıçan ileumundaki çinko uptake'ini, çinko-histidin kompleksinin güçlü bir şekilde arttırdığı bildirilmiştir (135).

Askorbik asit demir emilimini arttırırken, bakır emilimini inhibe etmektedir (48). Çinko emilimi üzerindeki etkisi ise hala araştırılmaktadır (110). Sahagian ve arkadaşları (101) askorbik asitin 100 misli arttırılmasının mukozadan vücuda daha fazla çinko taşınmasına neden olduğunu gözlemişlerdir. Solomons ve arkadaşları ise (113) insanlara 0.5-2 g'lık askorbik asitle birlikte 25 mg çinkoyu oral olarak verdiklerinde, plazma inkosunda ne artış ne de azalma bulmuşlardır.

Sağlıklı sıçanlarda Fournier ve Digaud (42), glukoza kıyasla laktoz içeren perfuzat solusyonundan, Zn-65 emiliminin daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Ghishan ve arkadaşları (45) laktozun genç sıçanlarda çinko emilimini arttırdığını fakat süt emen sıçanlarda etkilemediğini bildirmişlerdir.

**Çinko emilimini azaltanlar:** Plazma çinko tolerans testi, insanlarda çinkonun biyokullanımı üzerine yiyecek ve içeceklerin etkilerini göstermede yaygın olarak kullanılmaktadır. Genelde kepekli besinler, kanda çinkonun görülmesini zorlaştırmaktadır (120). Bununla birlikte siyah renkli ekmeğin, beyaz renkli ekmekten daha fazla çinko emilimini inhibe ettiği bildirilmektedir (94). Önemli inhibitör etkiye sahip yiyecekler ve içecekler kahve (91), inek sütü (16, 91, 94), mamalar (16), peynir (94), hamburger (17), pizza ve fasülye türü (113, 115) yiyeceklerdir.

Evans ve Johnson düşük proteinli diyetlerle çinko uptake'inin azaldığını bildirirken (33), yüksek oranda protein içeren diyetle beslenen sıçanlarda, çinko retansiyonunun arttığı ifade edilmiştir (120). Diğer taraftan %6 ile %15 arasında yumurta akı proteininin artırılmasıyla, femur çinko konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir (133). Kümes hayvanları ve sıçanlarla yapılan çalışmalar soya proteini içeren yiyeceklerin, çinko emilimi ve biyokullanımı üzerine genelde ters bir etki yaptığını göstermektedir (26, 29, 46, 89). İnsanlar tarafından soya proteinli yiyeceklerin tüketiminin çinko emilim ve biyokullanımına olan etkisini araştıran çalışmalar ise farklılık göstermektedir. Golden ve Golden (46) beslenme bozukluğu olan Jamaika'lı çocukların soya proteini ağırlıklı bir diyetle tedavi edildiklerinde, süte dayalı diyetle tedavi edilenlere oranla, kilo artışlarında ve plazma çinko konsantrasyonlarında önemli bir azalma bulmuşlardır. Zn-65 ile işaretlenmiş soya proteini ihtiva eden diyetle beslenen insanlarda da çinko emiliminin azaldığı bildirilmiştir (120). Diğer taraftan Zn-65 ile işaretlenmiş bitkisel protein ihtiva eden diyetin, bir çinko kaynağı olarak hayvansal kaynaklı proteinden pek farklı olmadığı da ortaya çıkmıştır (103).



Bitkilerin yapısında bulunan bazı maddeler (fitik asit, oksalat, tanin ve folat) çinko emiliminin inhibitörleri olarak gösterilmektedir. Bunlardan bazıları bitkisel diyete ağırlık veren pek çok kişinin çinko emilimini etkileyen faktörler olarak bildirilmektedir (120).

Fitik asit (inositol hexafosforik asit), baklagil ve tahılların kabuk yapılarında bulunan bir maddedir. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, çinko-kalsiyum ve fitik asit arasındaki etkileşmeye bağlı olarak, iki mineralin bu kompleksden ayrılması ve biyokullanımında azalma olduğu gösterilmiştir (120). Bu durum, Likuski' nin (71) çalışmasıyla da doğrulanmıştır. Davies ve Nightingale (25), çinkonun normal olarak bulunduğu diyete, 10 g / kg'lık bir fitat ilavesinin, sıçanlarda dengesiz büyümeye, çinko eksik diyete aynı miktarda fitat eklenmesinin ise hayvanlarda kilo kaybına neden olduğunu göstermişlerdir. Bu hayvanlarda fitat, günlük çinko alım ve turnover'ı ile Zn-65 emilimini azaltmıştır. Çeşitli araştırmacılar diyetteki çinko / fitat oranını değiştirerek, çinko biyokullanımına olan etkisini incelemişlerdir (120). Oberleas ve Prasad (88) diyetteki fitat / çinko oranı arttırıldığında sıçanların büyümelerinin giderek azaldığını bildirmişlerdir. Lo ve arkadaşları (72) ise aynı etkiyi, Zn-65 kullanarak doğrulamışlardır. Başka bir çalışmacı grubu metabolik balans ve Zn-65 tekniklerini kullanarak 60 / 1'lik fitat / çinko oranının görünen çinko emilimini % 17'den % 13'e, gerçek emilimi ise %46'den %32' ye düşürdüğünü bulmuşlardır (61). Kepeğin de sıçanlarda çinko emilimini azalttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Carpez ve arkadaşları tarafından kepeğin partikül büyüklüğünün, bu inhibisyonu belirleyici bir faktör olduğu bildirilmiştir (15).

Selulozun çinko emilimine olan etkisi de araştırmacılara konu olmuştur. İsmail ve arkadaşları (63), selulozun görünen çinko emilimini azalttığını bildirmişlerdir. Metabolik balans ile ilgili bir çalışmada ise saflaştırılmış selulozun diyete eklenmesinin görünen çinko emilimini azaltmadığı gösterilmiştir (31)

Okzalik asit bazı bitkisel yiyeceklerde bulunan diğer bir bileşendir. Ispanak yapraklarındaki okzalatın çinko biyokullanımını sıçanlarda etkilemediği (), insanlarda ise etkili olduğu ileri sürülmüştür (120). Kahvenin çinko emilimini inhibe etmesi, kahvede bulunan taninler ile çinko arasındaki etkileşmeye bağlanmaktadır. Tanin açasından çok daha zengin olan çayın çinko üzerine olan etkisi ise hala araştırılmaktadır (120).

Mineral-mineral etkileşimleri de çinko emilimini inhibe edebilmektedir. Fosfor ve protein alımındaki simultan artışların insanlarda çinko ihtiyacını arttırdığı bildirilmiştir (120). Bununla birlikte, Snedeker ve arkadaşları (111) diyete inorganik fosfor eklemenin görünür çinko emilimi ve balansı üzerine hiçbir etkide bulunmadığını, bu nedenle fosfat bileşiğinin kaynağının önemli olabileceğini göstermişlerdir.

Çinkonun etkileşime girdiği en önemli mineral kalsiyumdur. 1960 yılında Forbes (43), çiftlik hayvanlarında yaptığı deneyde, aşırı kalsiyum mineralinin, çinko emilimini azalttığı, buna bağlı olarak hayvanlarda çinko eksikliğinin meydana geldiğini bildirmiştir. Laboratuvar hayvanlarında yapılan bazı çalışmalarda da yine kalsiyumun çinko emilimine inhibitör etkisi gösterilmiştir (1, 39, 53, 54). Yapılan bazı çalışmalarda ise kalsiyumun

fitat-çinko etkileşmesini arttırdığı bildirilmiştir (83, 87). Ayrıca artan miktarlarda inorganik fosfatın, kalsiyumun çinko üzerine olan bu zıt etkisini arttırdığı ileri sürülmektedir (55). Bununla birlikte, sıçanlarda fitat yokluğunda kalsiyum artışının çinko emilimini azalttığı bildirilmiştir (54). İnsanlarda yapılan çalışmalar, kalsiyum mineralinin, çinko üzerine olan olumsuz etkisini göstermede başarısız olmuştur (111, 123, 124). Bu sonuçlar, inek sütü (14, 49) peynir gibi kalsiyum yönünden zengin diyetlerin çinko emilmesini azalttığını bildiren bulgulara ters düşmektedir.

Çinko, bakır, demir ve kalay arasında da kalsiyum mineraline benzer bir etkileşim bulunmaktadır. Çinko, barsak hücrelerinde metallothionein sentezini indüklemektedir. Bu nedenle aşırı çinko alımının bakır emilimi, aşırı bakır alımının da çinko emilimini azaltacağını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (120).

Çinko ile belirgin bir etkileşim gösteren diğer bir element de demirdir. Demir eksikliğinin barsak mukozasından sadece demirin değil, içerisinde çinkonun da bulunduğu birçok mineralin emilimini arttırdığı bildirilmiştir (34, 40, 47). Diyetle aşırı demir bulunması ise çinko turnoverını azaltmaktadır (119).

### 2.3. ÇİNKONUN UPTAKE VE EMİLMİ:

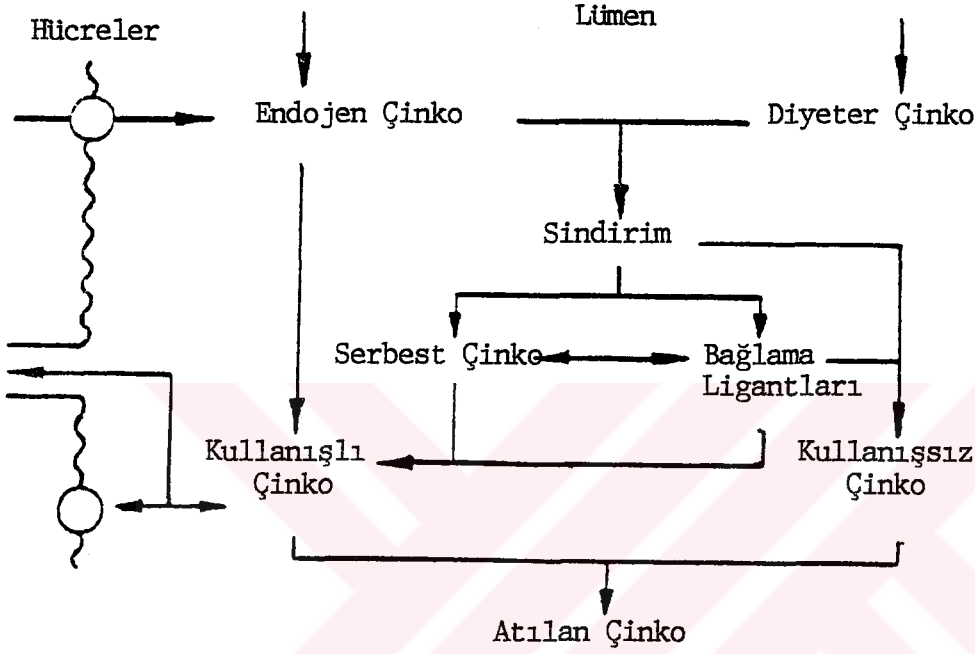
Çinko emilim mekanizması hakkındaki bilgilerimizi geliştirmek için önemli çabalar harcanmaktadır. Bu çalışmalar bazı temel fikirler sağlamakla birlikte, aynı zamanda da bu konunun karmaşıklığını ortaya koymuştur.

Yapılan deneylerdeki yararlı strateji, tüm emilim işlemini çeşitli basamak ve fazlarına ayırmaktır (22). Çinko emilimi ile ilgili sorulara cevap verebilmek için çeşitli araştırma teknikleri uygulanmıştır. Hayvan deneylerinde, barsak segmentleri, izole membran vezikülleri ve perfüze barsaklar, kullanılmış ve çinko emilim fazları olan luminal faktörler, hücreye giriş, hücre içi metabolizma, hücre serbestleme, kana taşınma ve muhtemel hücreler arası taşınma araştırılmıştır. İnsanlarda ise balans tekniği, radyoaktif veya stabil izotop kullanımı ve oral çinko yüklenmesine cevaplar daha çok tercih edilmiştir (22).

#### 2.3.1. Luminal faktörler:

Çinkonun emilimi ince barsak mukozasından aktif transportla olmakta ve homeostatik mekanizmayla düzenlenmektedir. (66). Bazı çalışmalara göre emilim en fazla duodenumda bazılarında ise jejunum ve ileumda olmaktadır (27). Emilim bölgesi bakımından farklı olmadığını bildiren çalışmalar da vardır (28).

İnce barsaktaki çinko bağlayıcı ligandlar emilebilir türdeyse, bu çinko emilimini arttıracaktır, aksine eğer bağlanma emilemeyen türdensen, emilim azalacaktır. Çeşitli diyet içerikleri ve formülleri çinko emilimini etkiler (22). Örneğin, sindirim fonksiyonu üzerine yararlı etkileri olabilen liften zengin bir diyet, kullanışlı çinko sağlanmasını sınırlayan bağlayıcı bölgeler oluşturabilir. Dahası, sindirim düzeyinin çinko kullanılabilirliği ile direk bir şekilde ilişkili olması muhtemeldir (120). Barsaklardaki sindirim olayı, diyet çinkosu kadar endojen kaynaklı çinkoyu da etkiler.



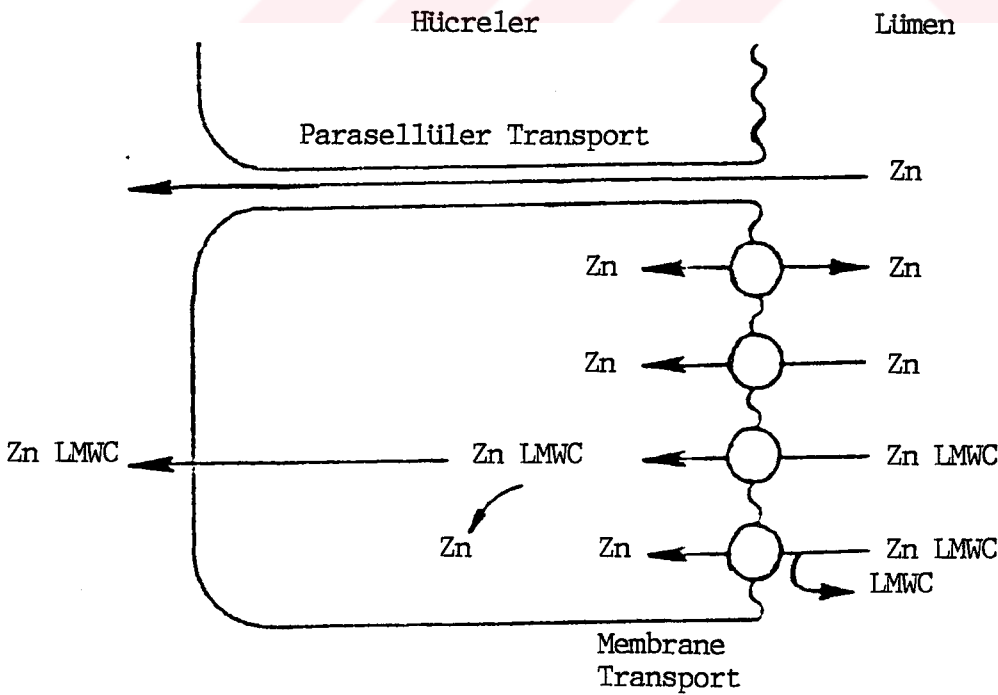
Şekil 1. Endojen ve diyeter çinkonun lümen içindeki hareketi

İnce barsak nötral pH'sında, çinko, solusyonda serbest olarak kalmaz. Şekildeki serbest çinko, en son emilimden önce çinko atomlarının çeşitli ligantlarla etkileşebileceğini gösterir. Böylece, çeşitli ligantların bağlama afiniteleri, çinkonun kullanılabilirliğini belirler. Bu işlem Şekil 1'de gösterildiği gibi bir denge olarak düşünülmelidir. İmidazol grupları ve sistein

çinko tarafından tercih edilen ligandlardır. Metal iyonları, önemli bir reaktivite gösterdiği için bu emilim evresinde metaller arasında önemli etkileşimler ortaya çıkabilir.

### 2.3.2. Uptake Mekanizması:

Transepiteliyal çinko hareketinin ilk adımı, ince barsak lümeninden uptake'dir. Bu, fırça kenar membranından geçişi (hücreye giriş) ve / veya epiteliyal hücreler arasında olan parasellüler transportu içerebilir. Hücresel girişi sağlayan tam mekanizma (lar) bilinmemektedir. Çeşitli diyet faktörleri uptake' i artırabilir (120). Bu bireysel komponentler her zaman bildirilen aynı etkilere sahip görünmemektedir (örneğin, EDTA' nın emilimi hem artırdığı, hem de sınırladığı gösterilmiştir). Bunun nedeni çalışmanın yapıldığı tür farklılıkları ve uptake-emilim işlemini ölçme metodlarındaki değişiklikler olabilir.



Şekil 2. Fırça kenar membranı boyunca potansiyel çinkonun değişik geçiş şekilleri

Fırça kenardan çinko transportu, birden fazla işlemle ortaya çıkabilir. Bunlar Şekil 2'de şematik olarak gösterilmiştir. Bu şekilde, gerek iki yönlü gerekse tek yönlü çinko transportu belirtilmiştir. Muhtemelen bu, çinkoyu lümeden membrandaki taşıyıcı proteine transfer edecek ligandlara (makromoleküllere) ihtiyaç gösterecektir. Spesifik proteinler için membran reseptörleri veya protein çeşitleri emilimin bu fazında rol alabilir. Transsellüler çinko hareketi, invitro ve invivo tekniklerden elde edilen bulgulara dayanarak iki yönlü olarak değerlendirilir (56, 58, 66, 126). Bu aynı taşıyıcı molekülü (ler) içermeyebilir. Çinko ya düşük molekül ağırlıklı şelata bağlı olarak birlikte hücre içine girebilir ya da LMWC çinkoyu içeriye bıraktıktan sonra lümene döner. Kümes hayvanları diyetine ilave edilecek bir şelatörün, yemde bulunan bağlayıcı ligantlardan daha fazla çinko bağladığı ileri sürülmüştür (67). Eğer bu gerçekten böyleyse Zn-LMWC birlikte absorbe edilmeli veya bu kompleks hücreler içinde birbirinden ayrılmalı ve çinko daha yüksek affiniteli bir liganda transfer edilmelidir. Şekil 2 de gösterildiği gibi bilinen transepitelyal hareketin bir kısmı, gerçekten, çinkonun epitelyal hücreler arasında hareket edeceği parasellüler bir yol takip edebilir (22).

Hücrel girişin konsantrasyona bağımlı olduğunu düşündüren kinetik bulgular artmaktadır. Bu nedenle, diyetten alınan kullanışlı çinko ne kadar çoksa, hücrel uptake ihtimali o derece fazladır. Sıçan ince barsağından elde edilen izole fırça kenar membranları ile yapılan çalışmalar, hücrelere girişin hem doyurulabilir (saturable) hem de doyurulamaz (nonsaturable) işlemlerle olduğunu göstermiştir (78). Çinkosu yeterli olan sıçanlarda elde edilen membran veziküllerine bağlanma, bir düzeltme faktörü olarak

kullanıldığında transport karakterli 100  $\mu\text{M}$ 'lik bir  $K_m$  (yarı maksimal hızdaki konsantrasyon), 2.1 nmol.mg protein<sup>-1</sup>dk<sup>-1</sup>'lik  $J_{\text{max}}$  (maksimum transport hızı) ve 1.5 ml.mg protein<sup>-1</sup>dk<sup>-1</sup>'lik  $K_d$  (Diffüzyon sabiti)' yi içerir.  $K_d$  birinci derece kinetiği ve böylece pasif uptake'i ifade eder. Bunun aksine çinko eksik sıçanların membran vezikülleri benzer  $K_m$  ve  $K_d$  (130  $\mu\text{M}$  ve 1.5 ml.mg protein<sup>-1</sup>dk<sup>-1</sup>), fakat daha yüksek bir  $J_{\text{max}}$  (5.5 nmol.mg protein<sup>-1</sup>dk<sup>-1</sup>) değerine sahiptir. Bu nedenle, düzeltme faktörleri benzer olarak uygulandığında, transport hızı, çinko eksik sıçanların veziküllerinde 2 misli daha fazla olmaktadır. Barsak lümenine çeşitli konsantrasyonlarda çinko solusyonu perfüze edilirken, damar ağsında birlikte izole edildiği bir perfüzyon tekniği çinko uptake ve transport kinetiklerinin ölçümü için faydalı bir yöntem olmaktadır (56, 109). Çinko eksik ve normal sıçan barsağının perfüzyonu, doyurulabilir uptake  $K_m$ 'inin bu şartlar altında özdeş olduğunu göstermiştir. İzole membran vezikülleri deneyleri ve damar ağıyla birlikte alınan barsak perfüzyon deneyleri çinko eksikliğinde transport ve uptake'in 2-3 kat arttırdığını göstermektedir. Bu bulgular, diyetdeki çinko miktarı normalden az olduğunda kısmende olsa, fırça kenar membranındaki çinko transport mekanizmalarında homeostatik bir artışla dengelenebileceğini düşündürmektedir. Transepitelyal çinko hareketinin bir kısmı ise doyurulamaz durumdadır. Barsakta kalsiyum hareketinde olduğu gibi bu doyurulamazlık, hücreler arasındaki harekete bağlı olabilir (22). Çinko için, kıyaslanabilir bir parasellüler transport işlemi Şekil 2'de gösterilmiştir. Fakat membran vezikülleri ile çinko transportu doyurulamaz bir faza sahip görüldüğü için, doyurulamayan mekanizma parasellüler çinko transportundan ziyade membran transportunun bir komponentidir.

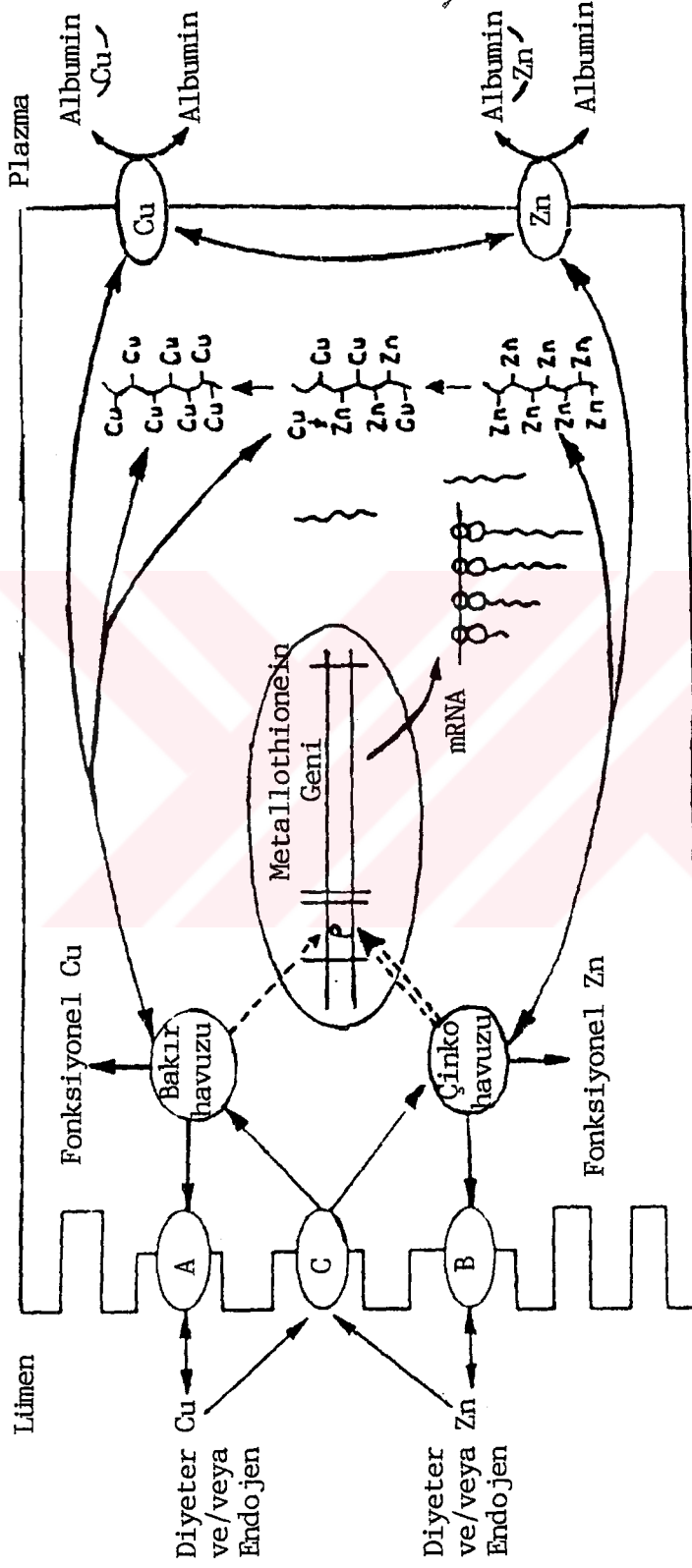


### 2.3.3 Hücre içi mekanizmalar

Çinko emiliminin regülasyonundaki hücre içi basamaklar üzerine çalışmalar 1970'lerden itibaren yaygınlaşmıştır. Diyeter bakır ve çinko etkileşmesinin meydana geldiği luminal alan ve mukozal hücrelerin şematik resmi Şekil 3'de gösterilmiştir. Diyetteki ve / veya endojen orijinli bakırın fırça kenarlı membrandan geçiş alanı (A), endojen ve / veya diyeter orijinli çinkonun transport alanı (B) ve yüksek luminal konsantrasyondaki çinko ve bakır arasındaki etkileşmenin olduğu alan (C) burada görülmektedir. Hücre içine geçen çinko ve bakır konsantrasyonu yüksek olduğunda, metallothionein geni için promotor alan aktive edilmektedir. Promotor alan diyeter bakırdan çok diyeter çinko seviyelerine duyarlıdır (). Yüksek konsantrasyonda oluşan metallothionein geni mRNA'ya kopyalandıktan sonra thionein polipeptitlerinin sitoplazmik seviyesi artmaktadır. Bunlar uygun bakır ve çinko minerallerini bağlarlar. Bu proteinin bakıra olan afinitesi çinkodan daha fazla olup daha fazla bakır bağlamaktadır (10, 77). Bu durum bazolateral membrandan plazmaya geçen bakır miktarını azaltmaktadır.

Brewer ve arkadaşları (12) Wilson hastalığı olan kişilerde, negatif bakır dengesi oluşturmak için, bu çinko indüksiyonu ile bakır bağlama ilişkisini etkili olarak kullandılar. Bu tedavi edici yöntem, hastalığın patogenezinde önemli bir faktör olan bakırın birikimini kısıtlar görünmektedir. Açlıkla birlikte barsaktaki metallothioneinde daha belirgin bir artış ortaya çıkmaktadır (57).

Oral çinko uygulamasından sonra yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin önemli miktarda Zn-65 bağlayabildiği tekrar tekrar gösterilmiştir (86, 109).



Şekil 3. DiyetSEL bakır ve çinkonun bağlarma alanları ve hücre içine geçiş mekanizmaları

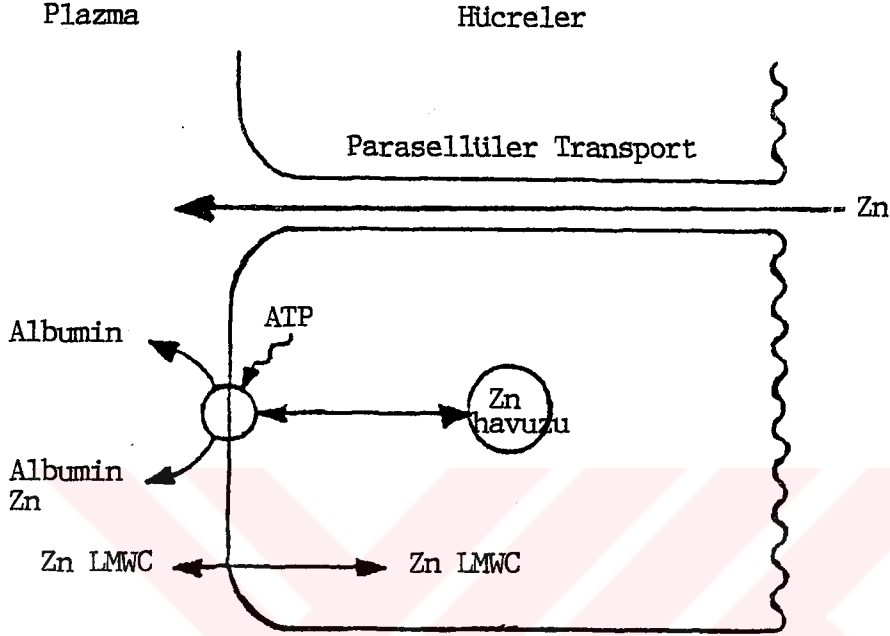
Son zamanlarda, çinkonun metallothioneinden daha ağır moleküler ağırlığa sahip en az 5 proteine bağlandığı bildirilmiştir (52). Çinkonun bu proteinler arasında dağılımı zamanla değişir ki, bu hücre içi taşınmada çeşitli bağlama öğelerinin bulunduğunu düşündürür. İzole hücre deneyleri, bu tür bir takım hücre içi proteinlerin diyet çinko kısıtlamasına bağlı olarak arttığını göstermiştir (22).

#### 2.3.4. Bazolateral membran transportu

İnce barsak hücrelerinden çinko transportuyla ilgili bilgiler kısıtlıdır. En iyi bilgiler perfüze barsak ve izole membran vezikül deneylerinden elde edilmiştir. Bazolateral çinko transportu için genel bir mekanizma Şekil 4'de şematik olarak gösterilmiştir. Membran preparatının saflığını ölçmek için  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPaz}$  kullanılmıştır. Çinkonun bu membranlara önemli ölçüde bağlandığı gözlenmiştir. Bununla birlikte uptake olayı doyurulabilir ve doyurulamayan komponentlere ayrılabilir. Başlangıç hızının kinetik analizi ile  $24 \mu\text{M}$ 'lük bir  $K_m$  ve  $17 \text{ nmol.mg protein}^{-1}\text{dk}^{-1}$  lik  $J_{\text{max}}$  değeri tarif edilmiştir. Çinko eksik sıçanlarda bu değerler sırasıyla  $33 \mu\text{M}$  ve  $14 \text{ nmol mg protein}^{-1}\text{dk}^{-1}$  olup kontrolden farklı bulunmuştur (22).

Bazolateral membranda çinko transportu, kalsiyum transport sistemine benzer şekilde, enerji gerektirmektedir. Fakat ATP bağımlı çinko transportunu göstermede bir problemle karşılaşılır. İn vitro koşullarda ATP'nin kendisi de spesifik olarak çinko bağlayabilmektedir. Bu nedenle, bu inkübasyonlara ATP eklendiğinde, etkili çinko konsantrasyonu, veziküllerin yaptığı transport için uygun az miktarda serbest çinko seviyesine düşürülür.

Simultan eşitliklere dayalı hesaplamalar kullanılarak, bu şelasyon etkisini kompanse etmek için inkübasyonların çinko konsantrasyonlarını ayarlamak



Şekil 4. Bazolateral çinko transportunun genel bir şeması

mümkündür. Bu ayarlama yapıldığında, ATP çinko transportunu 4-6 kat stimüle eder. Bu nedenle transsellüler çinko taşınmasında enerji bağımlılığı bu noktada mümkündür (22).

Barsaktan plazmaya çinko transferi *invivo* olarak doyurulamaz kinetikleri gösterir (108). *Invitro* deneylerden elde edilen transport bilgileri doyurulabilir kinetikleri düşündürür. Bu açık farklılık nedeni ile yapılan yorumlar, barsak hücrelerinde serbest çinko konsantrasyonunun çok düşük

olduğu şeklindedir. Bazolateral yüzeyden çinko transferi, muhtemelen transport için düşük çinko konsantrasyonunun sağlandığı bir tarzda düzenlenir. Bu nedenle, çinko konsantrasyonunun önemli sınırlarda değiştiği invitro kinetik deneyler, insitu durumu tam olarak yansıtamaz. Bu kinetikler doyurulabilir bir sistemi gösterir, fakat gerçek insitu çinko konsantrasyonu o kadar sınırlıdır ki invivo ölçümler, birinci derece kinetiğine göre transmembran transport olayını düşündürmektedir (22).

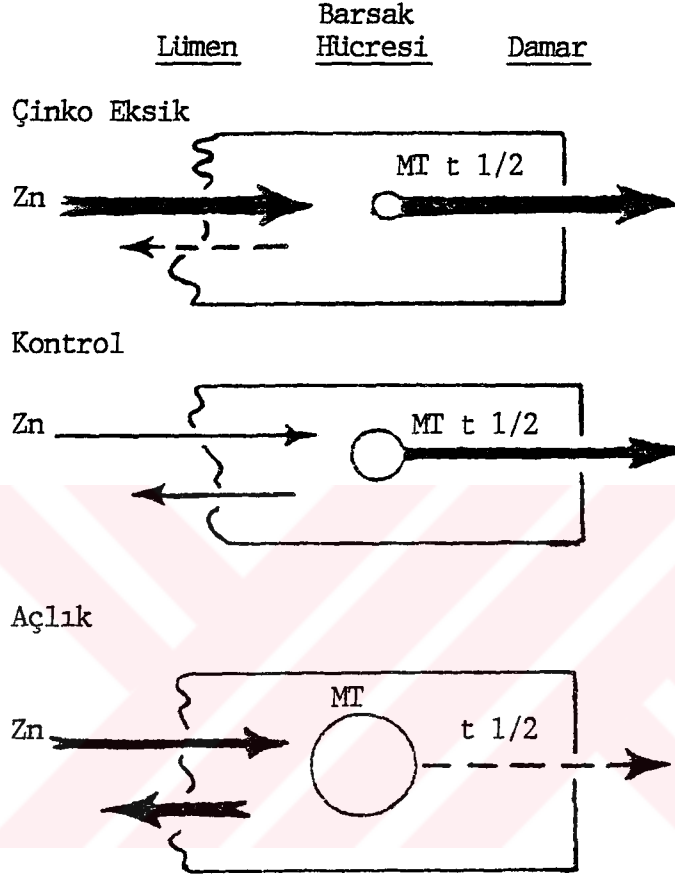
Albumin, plazmada temel taşıyıcı protein olarak görünmektedir (108). Mevcut sınırlı sayıdaki bulgu, plazma albumin içeriğinin çinko emilim üzerine etkisi olabileceğini göstermektedir. Bazı çinko şelatlarının, bazolateral membranlardan taşındığını düşündüren bulgular da vardır. Fakat, LMWC moleküllerine ait çeşitli bulgular, plazmaya, çinkonun LMWC kompleksi şeklinde taşındığını göstermemektedir (52).

### 2.3.5. Çinko absorpsiyonunun genel modeli

Yukarıda açıklanan çinko emilim olaylarına ait teorik görüşler, çinko emiliminin nasıl oluştuğuna dair kavramsal bir şekil geliştirmektedir (Şekil 5). Diyet çinko içeriği, çinko retansiyon ve turnover sistemini düzenler görünmektedir. Mekanizma Vitamin D tarafından kontrol edilen kalsiyum emilim sisteminin bazı özelliklerine de sahip olabilir (22).

Sıçanlarda, çinko uptake ve hücre salınımının simultan olarak tayini için, iki peryotlu bir perfüzyon sistemi kullanılmıştır. Bu yöntemde Lümen ve damar sistemi birlikte perfüze edilmiştir. Uptake çeşitli konsantrasyonlarda

çinkoyla (5-200  $\mu\text{M}$ ) perfüze edilmiş barsaktan, Zn-65 kaybolması olarak incelendiğinde, gerek çinko normal, gerekse eksik sıçan barsaklarının



Şekil 5. Rölatif transsellüler çinko taşınmasına, diyetler çinko eksikliği ve açlığın etkisi (MT; metallothionein, t 1/2; Zn-65'in yarılanma ömrü)

perfüzyonları için 32  $\mu\text{mol/lük}$  Km elde edilmiştir. Çinko eksik grupta maksimum uptake hızı 57  $\text{nmol Zn}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{30dk}^{-1}$  bulunmuş olup, bu çinko eksik grubunkinin 3 katıdır (4). Açlık da, çinko eksikliğine göre daha az miktarda çinko uptake'ini arttırmıştır (57). Bu bulgular kavramsal bir emilim modelinde

birleştirildiğinde, diyet çinkosu düşük olduğunda, çinko retansiyonu için doyurulabilir bir mekanizmanın aktive edildiğini düşündürür. Bu gözlemler uygunluk gösteren bulgu, parasellüler transportu içeren birinci derece kinetiği için, diffüzyon sabitinin ( $K_d$ ) diyet çinkosundan etkilenmediğidir. Her iki diyet şartlarında bir taşıyıcı (lar) veya reseptör (ler) ün aktive edildiği ve üretildiğini farz etmek mantıklıdır (22).

İki periyodlu perfüzyon modelinin ikinci kısmı, damarla birlikte perfüze edilmiş barsaktan dışarı çinko akışını takip etmektir. Spesifik olarak periyod 1'de alınan Zn-65, daha sonra 40 dakikalık bir periyod boyunca barsak hücreleri, lümen ve damar kompartmanlarını izlemiştir (4). Çinko uygun grubun barsaklarında lümene sekresyon daha fazladır. Ancak bu grupta emilim azalmıştır. Damara geçen mukozal Zn-65 hızı, çinko eksik grupta 2 kat artmıştır. Bununla birlikte her iki grupta, periyod 1 sırasında, lüminal çinko, gerçek transfer hızıyla orantılı bulunmuştur. Dahası lineer regresyon, barsaktan damar bölümüne transfer hızlarının, intrasellüler Zn-65 havuzunun lineer bir fonksiyonu olduğunu göstermiştir. En büyük değişiklik çinko eksik grupta bulunmuştur. Net sonuç, Zn-65 yarılanma ömrünün, çinko eksik grupta daha kısa olmasıdır. Bu sonuçlar, mukozal Zn-65'in dolaşıma taşınmasının doyurulamaz olduğunu ve çinko eksikliği tarafından stimüle edilen, hızlı değişen bir çinko kompartmanını içerebileceğini göstermektedir. Sıçan modellerinden elde edilen sonuçlar, insanlardan elde edilenlere oldukça yakındır (4, 196). Spesifik olarak, çinko emilim kinetikleri, doyurulabilir bir transport mekanizmasıyla uygunluk gösterir. İlave olarak, mukozadan lümene sekresyon Şekil 5'de gösterildiği gibi, homeostatik bir fonksiyon sağlayabilir.

Çinko eksikliği ile karşılaştırıldığında, açlığın, mukozal Zn-65'in damara transfer hızı üzerine zıt etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (57). Spesifik olarak, Zn-65 transferi, kontrol grubunda bulunandan daha az bulunmuştur. Mukoza hücrelerindeki Zn-65 havuzu yarılanma ömrü kontrol (25.7 dk) veya aç bırakılan (71.3 dk) gruplarla karşılaştırıldığında, çinko eksik grupta daha azken (15.7 dk), yarılanma ömrü ise mukoza metallothionein içeriğiyle doğrudan orantılıdır. Hücre içi metallothionein seviyelerinin, çinko eksik grupta en yüksek ve açlıkta en düşük Zn-65 transfer hızının sağlanmasına yardım ettiği ileri sürülmüştür. Bununla beraber, transport havuzunda mukozal çinko oranı, hücrel metallothionein seviyeleriyle doğrudan ilgili olduğu için, metallothionein bazı şartlar altında çinko emiliminde kolaylaştırıcı rol oynayabilir (22).



### 3. YÖNTEM VE GEREÇLER

#### 3.1. DENEY GRUPLARI VE BESLENMELERİ:

Çalışmada sütten yeni kesilmiş, ortalama ağırlıkları  $160\pm 27$  g olan 35 adet swiss-albino sıçan kullanıldı. Her grupta 5 adet sıçan olacak şekilde 7 gruba ayrılan hayvanların başlangıç ağırlıkları belirlendikten sonra çelik kafeslere yerleştirildi. Bu grupların altısı deney, biri kontrol grubunu oluşturdu. Kontrol edilemeyen çinko bulaşmasını minimum düzeye indirebilmek için sıçanlar, distile suyla yıkanmış ve kurulanmış çelik kafeslere yerleştirildi. Su kapları, besin kapları ve kullanılan malzeme 24 saat 4 N  $\text{HNO}_3$  içinde bekletildikten sonra tekrar iki kez distile edilmiş deiyonize su ile yıkandı. Kontrol grubunu oluşturan 5 sıçan, kg diyet başına

10.53 g  $\text{CaHPO}_4$  ile 150 mg ferrik amonyum sitrat formunda demir ihtiva eden diyetle beslendiler. Kalsiyum eksik, yüksek ve çok yüksek olan grupların diyetlerine ise sırasıyla kg başına 10.53 mg, 20.81 g ve 30.92 g kalsiyum karbonat eklendi. Grupların Ca / Zn oranları kontrolde 111/1, Ca-eksikde 0.1/1 Ca-yüksek ve çok yüksekde ise 231/1, 343/1 olarak belirlendi. Demir eksik, yüksek ve çok yüksek grupları oluşturan sıçanların diyetlerine kg başına 10.44 mg, 388 mg ve 827 mg demir II sülfat formunda demir ilave edildi. Bu grupların Fe / Zn oranları da sırasıyla 1.5/1, 0.1/1, 4/1 ve 9/1 di. Deney gruplarına özel olarak hazırlanan diyetleri ve deiyonize suları, deiyonize edilmiş kaplarda, istedikleri kadar alabilecekleri şekilde (ad-libitum) verildi. Bazal diyetin bileşimi Tablo 1'de gösterildiği şekilde hazırlandı (9, 85).

Deney ve kontrol grubunu oluşturan sıçanlar, 15 gün süreyle beslendiler ve bu sürenin sonunda ağırlıkları tekrar ölçüldü. Her hayvanın sağ bacağına M. Gastroknemius kasına, aynı yerden 0.2 ml steril serum fizyolojik çözeltisi içerisinde 2  $\mu\text{Ci}$ ' lik Zn-65 (Çinko klorid formunda, Amersham) intramuskuler olarak enjekte edildi. Sıçanlar bu aşamadan sonra, feçes ve idrarın toplanmasını sağlayan deiyonize edilmiş özel metabolizma kafeslerine yerleştirildiler. 4 gün süreyle her hayvanın aldığı günlük diyet miktarı tespit edildi. Aynı zamanda da günlük feçes ve idrarları deiyonize edilmiş tüplere alınıp miktarları ölçüldü. Bütün hayvanlar 4. günün sonunda 18 saat süreyle aç bırakıldı, daha sonra da eter anestezisi altında karotis arterleri kesilerek total kanları alındı. Ayrıca ince barsağın 3 ayrı bölgesi(duodenum, jejunum, ileum), karaciğer, böbrek ve beyin dokularının tamamı disseke edilerek, %0.9'luk NaCl ile yıkandı ve kurutma kağıdı ile

kurulandı. Bütün örnekler ayrı ayrı tartılarak total yaş ağırlıkları belirlendi ve ölçüm gününe kadar, doku, feçes, kan ve idrar örnekleri birlikte -20 °C'de muhafaza edildi.

Tablo 1. Bazal diyetin bileşimi (38)

	g / kg diyet
Sukroz	533.5
Kazein	200.0
Mısıryağı	190.0
Sellulöz	30.0
Tuz karışımı*	40.0
Vitamin karışımı**	6.5

\*Tuz karışımı: CaHPO<sub>4</sub> 10.53 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 8.24 g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.72g, NaCl 6.22 g; MgO 1.0 g; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10.86 g; ferrik amonyum sitrat (14.5-16% Fe) 150 mg; MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 188 mg; bakır sitrat (4.3% Cu)18.4 mg; KI 0.4 mg; sitrik asit monohidrat 91 mg; ZnCO<sub>3</sub> 90 mg.

\*\*Vitamin karışımı: 5.75 mg ergocalciferol; 1 g alfa-tocopherol, 2 g retinyl palmitatin üzerine 1000 mg olacak şekilde mısır yağı eklenerek hazırlandı. 1 g niacinamid, 0.5 g calcium pantothenate, 800 mg riboflavin, 400 mg thiamine hydrochloride, 400 mg pyridoxine hydrochloride, 200 mg biotin, 100 mg folic acid, 15 mg cyanocobolamine, 10 mg monodione, 0.75 mg choline chlorid.

### 3.2 ÇİNKO TAYİNİ

Doku ve feçesteki çinko tayini, Hittachi Z.8000 Model Polarize Zeeman Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde (AAS) yapıldı (11, 13). Kalibrasyon grafiğinin çizdirilmesinde gerekli olan standart çözeltiler 1 g / l olarak hazırlanan stok çinko çözeltisinden uygun sulandırmalar yapılarak hazırlandı. Standart çözeltiler AAS'de okunduktan sonra bilgisayarlı yazdırıcıda çizdirilen standart çinko eğrileri üzerinden örneklerin değerlendirilmesi yapıldı (Şekil 6). Doku ve feçes örnekleri, deiyonize edilmiş porselen krozelere konularak sıcaklığı 110 °C'ye ayarlanmış etüvde 48 saat kurutuldu. Kuru doku ve feçeslerin total ağırlıkları yeniden belirlendi. Bunların yaklaşık 100 mg'ları alınarak üzerlerine iyondan arındırılmış 0.5 ml konsantre nitrik asit, 0.5 ml hidroklorik asit ve 1 ml tridisdile deiyonize su ilave edildi. Kapakları sıkı bir şekilde kapatıldı ve sıcaklığı 70 °C'ye ayarlanmış etüvde dokular tamamen çözününceye kadar hidrolize tabi tutuldu. Elde edilen berrak çözeltilerde çinko ölçümleri yapıldı. Bir gram kuru doku veya feçesteki çinko miktarı  $\mu\text{g/g}$  cinsinden aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı.

$$\text{Kuru doku veya feçesdeki Zn, } \mu\text{g/g} = \frac{(\text{çözeltideki Zn } \mu\text{g/l})(\text{çözelti hacmi l})(\text{sulandırma katsayısı})}{\text{doku veya feçes ağırlığı, g}}$$

### 3. 3.RADYOAKTİF ÇİNKO- 65 TAYİNİ:

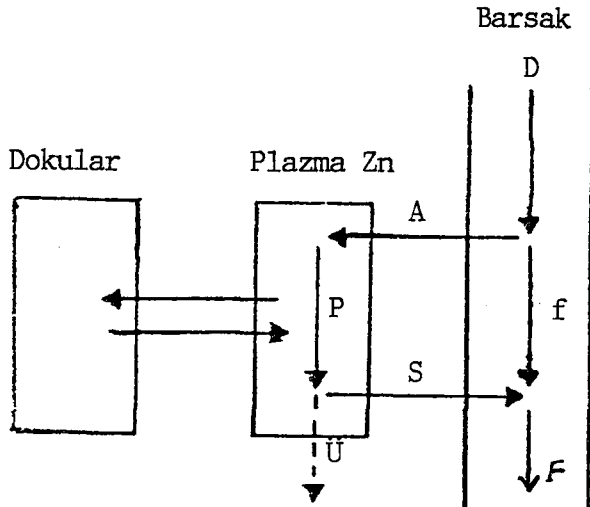
Doku, feçes, idrar ve total kandaki Zn-65 tayininde, Hacettepe Üniversitesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalında bulunan Berthald Model, BF 5300 gamma sayacı kullanıldı. Radyoaktif sayımdan önce aletin penceresi gama pikini içine alacak şekilde açılırken, her numune ikişer dakikalık süre ile ikişer

defa sayılacak şekilde kalibre edildi. Ayrıca aletin background radyoaktivitesini saptamak için 30 adet numunesiz boş tüpün Zn-65 leri sayıldı. Hayvanlara enjekte edilen solüsyondan %1 lik ve %10  $\mu\text{Ci}$  lik standartlar hazırlanıp numunelerin baş, orta ve son kısımlarındaki alanlara yerleştirildi. Dokulardaki aktivite, total doku yada dokunun gramı başına enjekte edilen Zn-65 dozunun yüzdesi olarak ifade edildi.

$$\text{total dokudaki \% aktivite} = \frac{(\text{Doku radyoaktivit. ort.} - \text{Background radyoaktivit. ort.})}{(\text{Standart radyoaktivit. ort.} - \text{Background radyoaktivit. ort.})}$$

Doku ya da dokunun gramı başına düşen aktiviteyi  $\mu\text{Ci}$  cinsinden belirlemek için bulunan değerler 2 (her hayvana enjekte edilen Zn-65 miktarı) ile çarpıldı. Bulunan değerler tekrar 1000 rakamı ile çarpılarak nCi cinsinden ifade edildi.

### 3.4. ABSORPSİYON HESAPLAMALARI



Şekil 6. Çinkonun emilimi ve incebarsağa sekresyonu

- D; Diyetle alınan çinko
- A; Absorblanan çinko
- S; Gastrointestinal kanala sekrete edilen çinko
- Ü; Çinkonun üriner atımı
- F; Çinkonun fekal atımı
- P; Plazmada kalan çinko
- f; Emilmeden feçese geçen çinko

Yukarıdaki şekil çinko ve Zn-65'in emilimi ve gastrointestinal kanala sekresyonunu şematize etmektedir. Diyetteki çinkonun gerçek ve görünen absorpsiyon hesabı aşağıdaki formül yardımı ile bulundu (137, 138). Gerçek absorpsiyon,

$$A(\%)=D-F+[F(sf^*) / (sm^{**})] / D$$

$sf^*$ , Feçesteki çinkonun spesifik aktivitesi (günlük feçesteki Zn-65'in, günlük feçesteki çinkoya oranı)

$sm^{**}$ , endojen orijinli çinkonun spesifik aktivitesi (1 g böbrek dokusundaki Zn-65'in, 1 g böbrekteki çinko miktarına oranı)

Günlük çinko absorpsiyonunun hesaplanmasında ise:

$$A (\mu\text{g/gün})= D-F+[F (sf / sm)] \quad \text{formülünden yararlanıldı.}$$

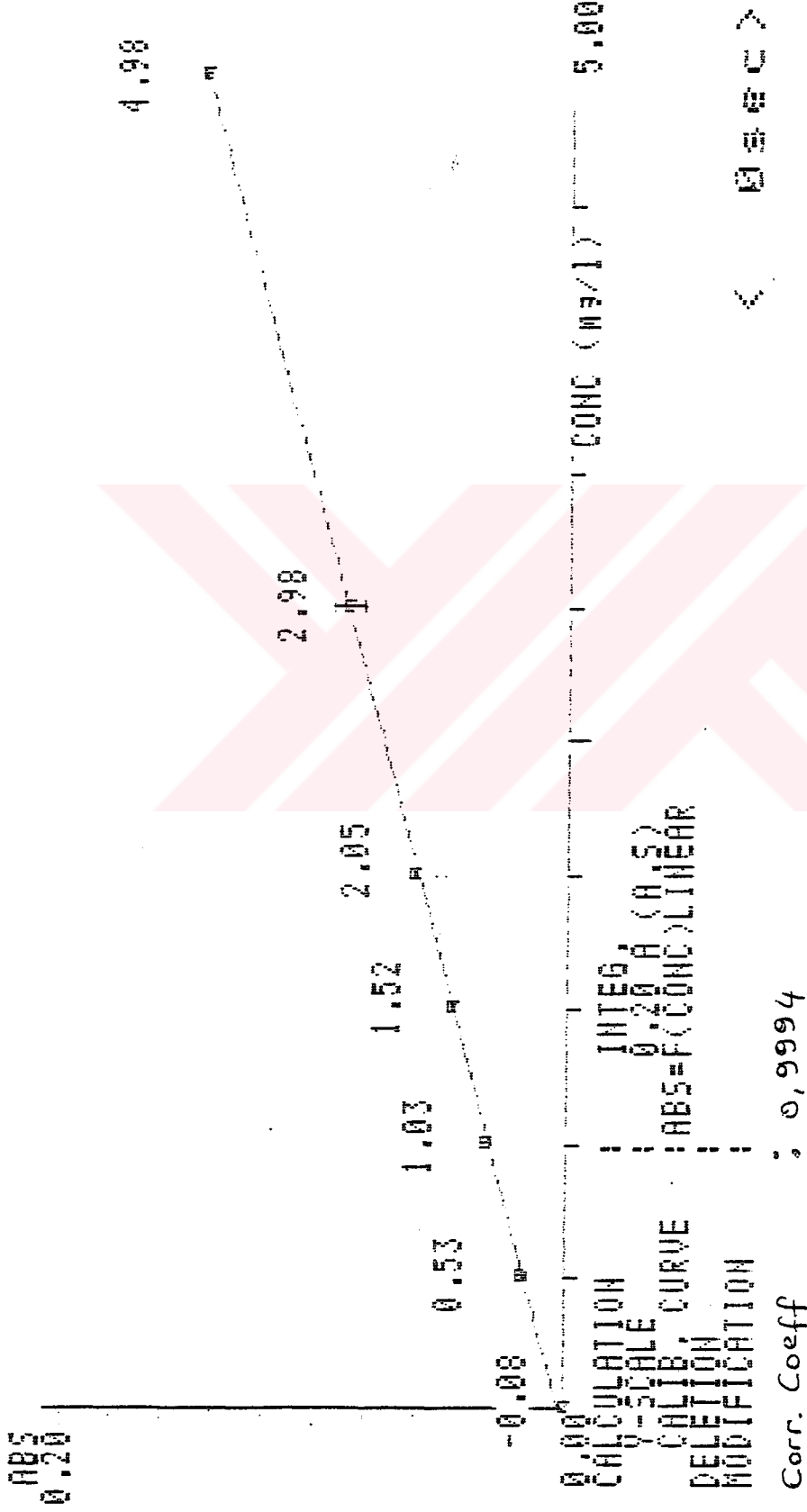
Zn balansı, diyete alınan çinkodan feçesle atılan çinko çıkartılarak hesaplandı.

$$\text{Çinko balansı } (\mu\text{g/gün})=D-F$$

Çinko balansının, diyetle günlük alınan çinkoya oranı görünen absorpsiyon yüzdesini hesaplamada kullanıldı

$$\text{Görünen absorpsiyon } (\%)=\text{Çinko balansı} / D$$

# Zn CALIBRATION CURVE



Şekil 7. Çinko ölçümlerine ait standart eğri.

Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, Student t testi uygulandı . Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi (130).





## 4.BULGULAR

### 4.1.KALSİYUM VE DEMİRLİ DİYETİN VÜCUT AĞIRLIĞINA ETKİSİ:

İnorganik kalsiyum ve demirin, çinko emilimini etkileyip etkilemediğini araştırmak için yaptığımız bu çalışmada toplam 35 adet sıçan kullanılmıştır. Beslenmeye alınmadan önce hayvanların ortalama ağırlıkları  $160.88 \pm 27.42$  g olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu, içerisinde kalsiyum ve demirin normal olarak bulunduğu bazal diyetle, diğer 6 grup (deney grupları) ise, içerisinde değişik oranlarda kalsiyum ve demir bulunan diyetlerle 15 gün süreyle beslenmişlerdir. Bu beslenme periyodu sonundaki hayvanların ağırlık ortalamaları, beslenmeden önceki değerler ile karşılaştırıldığında, kontrol, Ca-eksik ve Fe-eksik guruplarda ağırlık artışı, diğer guruplarda ise ağırlık kaybı dikkati çekmiştir. Ca-eksik ve Fe-eksik gurupların ağırlık artış yüzdesinin kontrol grubundan daha fazla olduğu saptanmıştır. Diğer guruplarda ise kontrolün aksine ağırlık kaybı görülmüştür. Ancak, Fe-çok yüksek alan grubun dışında bu ağırlık değişimi önemli bulunmamıştır (Tablo 2 ve 3)

Tablo 2.Vücut ağırlığına diyetteki kalsiyum miktarının etkisi.

Gruplar	Kontrol (n=5)	Ca-eksik (n=5)	Ca-yüksek (n=5)	Ca-çok yüksek(n=5)
Ca/Zn oranı	111/1	0.1/1	231/1	343/1
Beslenmeden önceki ağırlık (g)	167±26.59	174±19.49	162±20.49	163±24.39
Beslenmeden 15 gün sonraki ağırlık (g)	176±26.41	190±18.53	150±19.13	149±23.93

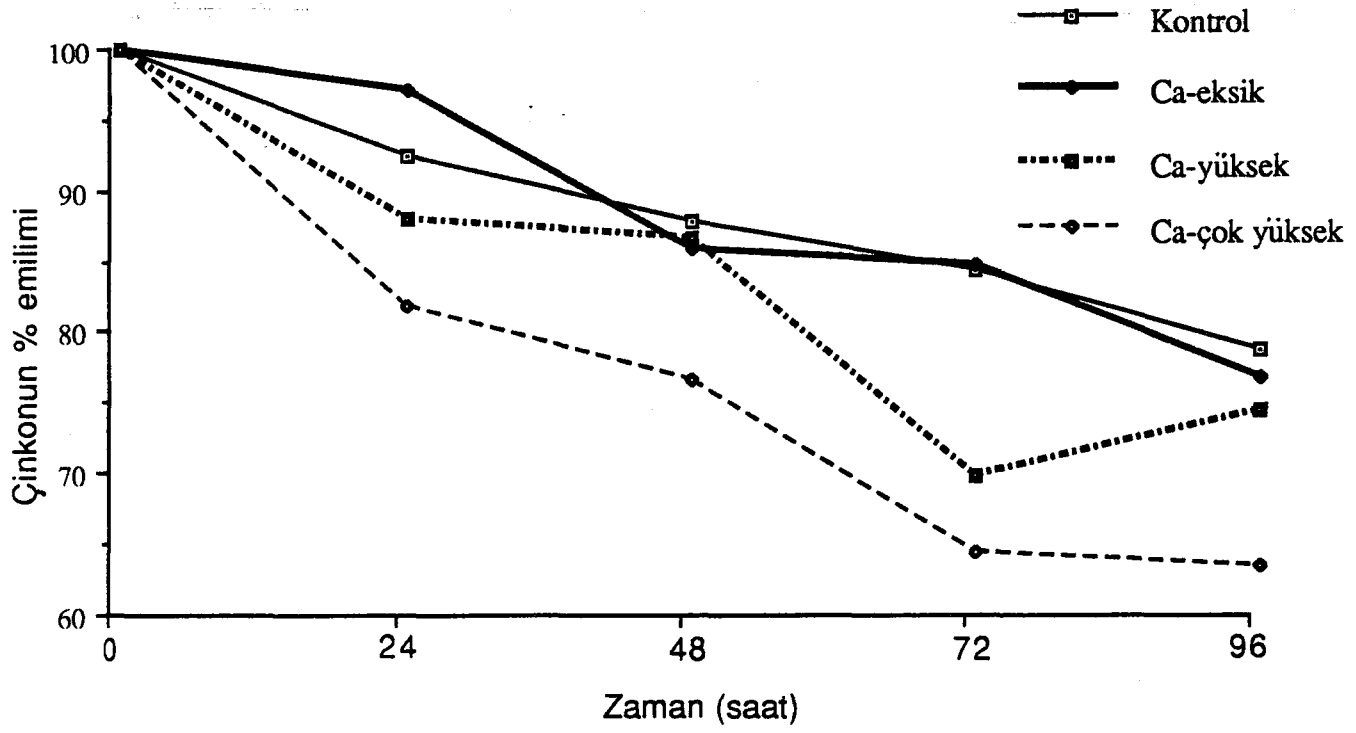
Tablo 3. Vücut ağırlığına diyetteki demir miktarının etkisi.

Gruplar	Kontrol (n=5)	Fe-eksik (n=5)	Fe-yüksek (n=5)	Fe-çok yüksek(n=5)
Fe/Zn oranı	1.5/1	0.1/1	4/1	9/1
Beslenmeden önceki ağırlık (g)	167±26.59	164±31.30	120±20.91	174±11.40
Beslenmeden 15 gün sonraki ağırlık (g)	176±26.41	181±33.17	107±17.94	155±9.11*

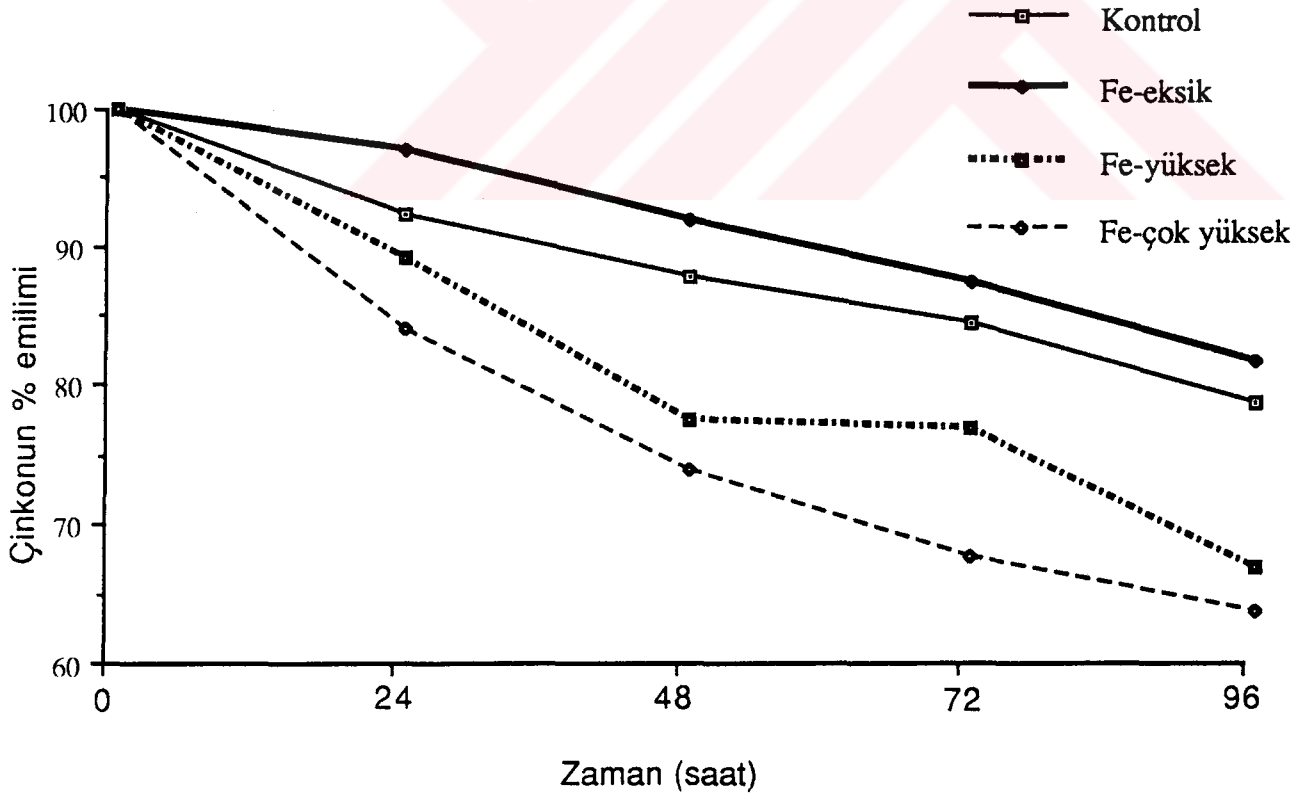
\* :p<0.05, beslenme öncesi değerine göre.

#### 4.2. ÇİNKONUN VÜCUTTAKİ EMİLİM VE RETANSİYONUNA KALSİYUM VE DEMİRİN ETKİSİ:

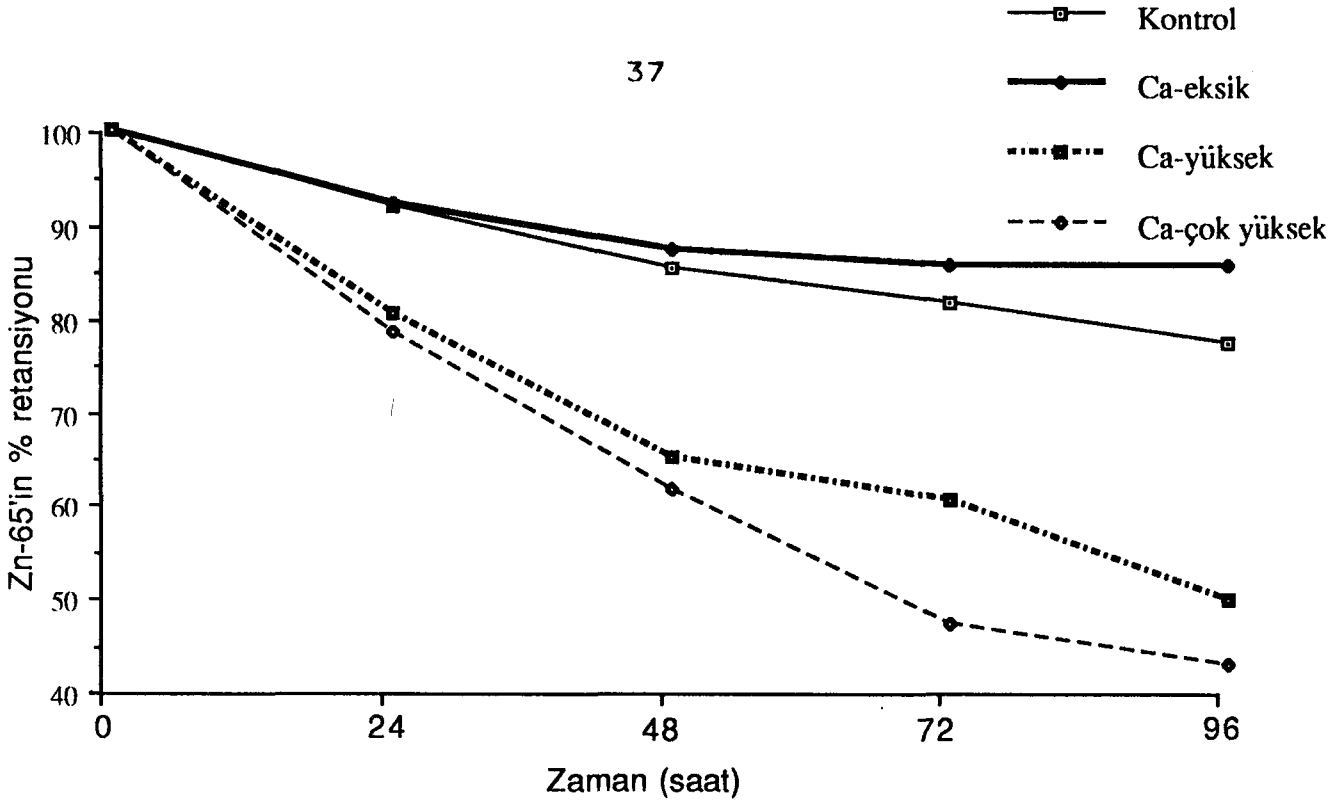
15 gün çelik kafeslerde, farklı diyetlerle beslenen sıçanlara, Zn-65 enjeksiyonundan sonra her sıçan ayrı ayrı metabolizma kafesine yerleştirilmiştir. Hayvanların aldıkları diyet miktarı 4 gün süreyle takip edilmiş ve bu süre içerisinde attıkları feçesler toplanıp çinko ve Zn-65 ölçümleri yapılmıştır. Hayvanların diyetten istedikleri miktarda almalarına müsaade edildiği için, grupların aldığı çinko



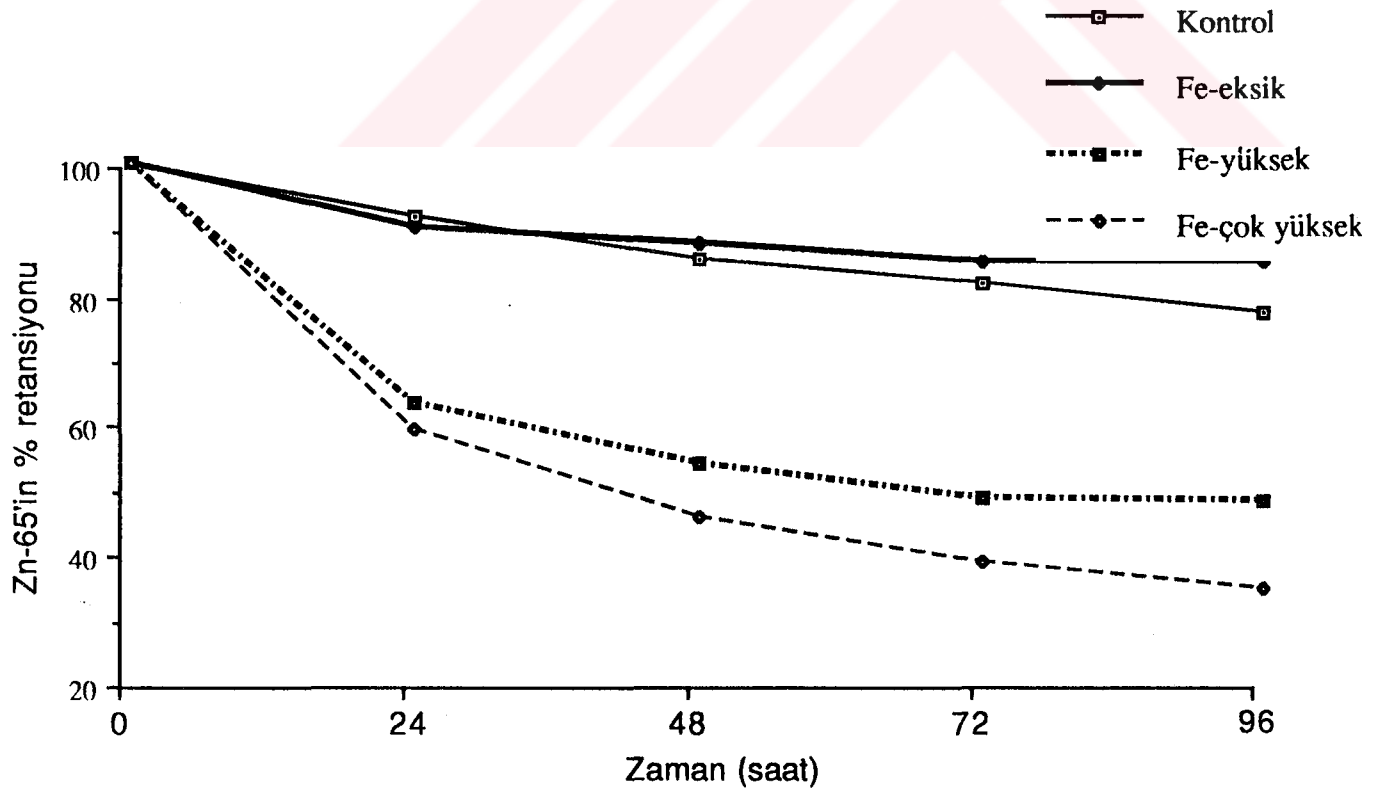
Sekil 8. Diyetteki kalsiyumun çinko emilimine etkisi



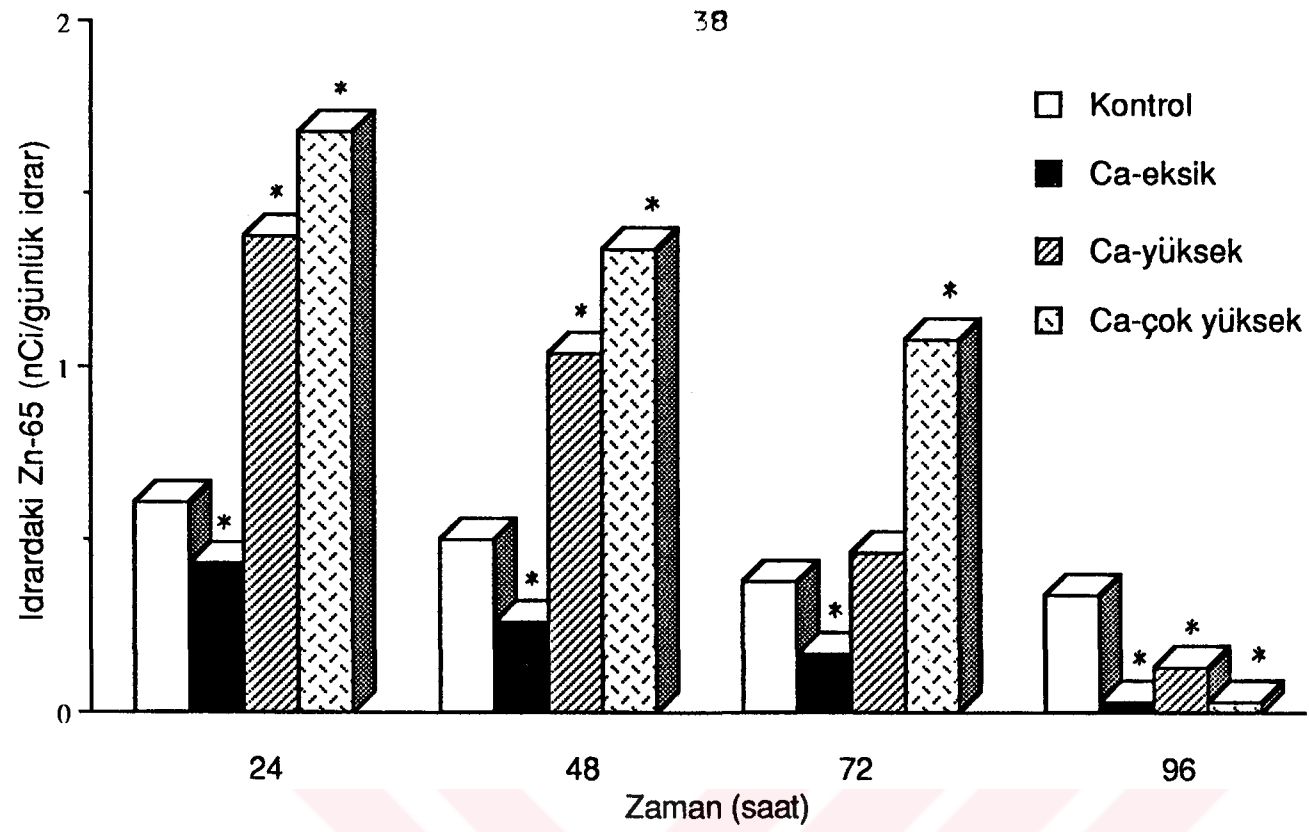
Sekil 9. Diyetteki demirin çinko emilimine etkisi



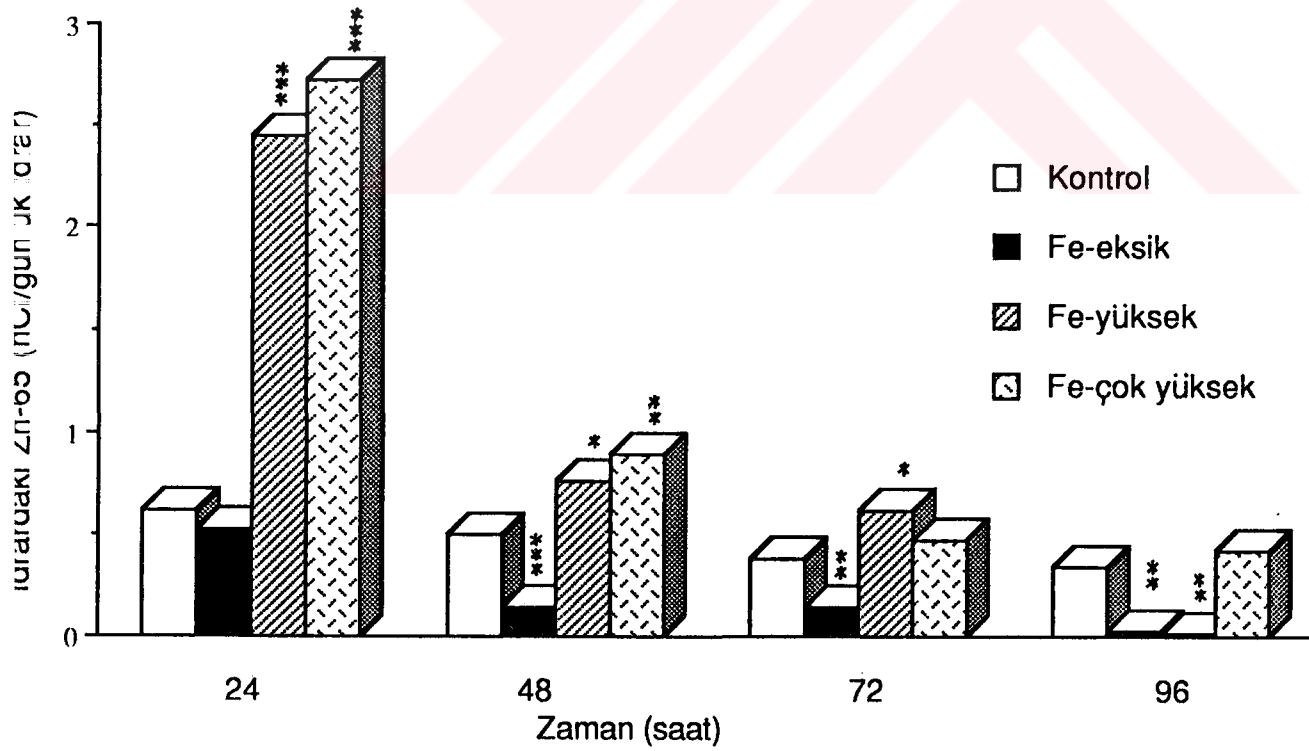
Şekil 10. Çinko retansiyonuna kalsiyumun etkisi.



Şekil 11. Çinko retansiyonuna demirin etkisi



Şekil 12. İdrarla Zn-65 atılımına kalsiyumlu diyetin etkisi. Kontrole göre: \* $p < 0.001$ .



3. İdrarla Zn-65 atılımına demirli diyetin etkisi. Kontrole göre: \* $p < 0.02$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

muhteviyatı dolayısıyla da çinko balansları buna bağlı olarak değişmiştir. Fakat absorpsiyon hesabı % cinsinden hesaplandığında, bu durumdan fazla etkilenmedikleri görülmüştür. Ayrıca diyetle alınan çinkonun feçesle atılım miktarına bakıldığında, kontrole kıyasla Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda azalma, diğerlerinde ise belirgin derecede artış olduğu dikkati çekmiştir (Tablo 4, 5, 6, 7).

Zn-65 enjeksiyonundan sonra ilk 50 saat içinde bütün grupların Zn-65 aktivitelerinde büyük bir düşme meydana gelmiştir. Bunun sebebi barsağa geçen Zn-65 izotopunun, başlangıçta emiliminin az olması ve feçesle aşırı atılımıdır. Fakat başlangıçtaki bu Zn-65 kaybı, kontrole kıyasla, Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda daha az, Ca-yüksek ve çok yüksek ile Fe-yüksek ve çok yüksek gruplarda daha fazla meydana gelmiştir. Diyetteki Ca ve Fe miktarına bağlı olarak feçesle çinko ve Zn-65 atılımındaki farklılıklar dolayısıyla Zn-65 absorpsiyon eğrisinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Ca-eksik ve Fe-eksik grupların emilim oranında 4 gün süreyle kontrole göre istatistiksel açıdan önemli derecede artış, diğerlerinde ise önemli derecede azalma meydana gelmiştir (Şekil 8,9).

Hayvana enjekte edilen Zn-65 miktarını 100 kabul edip, bundan feçesle atılan Zn-65 miktarını çıkartarak retansiyon değerleri elde edilmiştir. Zn-65' in büyük bir bölümü feçesle atılırken, çok az bir miktarı idrarla atılmıştır. 24.,48. ve 72. saatlerde gruplardaki idrarla Zn-65 atılımında, feçestekine paralel bir durum dikkati çekmiştir. Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda Zn-65 atılımında kontrole göre azalma, diğer gruplarda ise artma istatistiksel açıdan önemlilik göstermiştir (Şekil 11, 12,  $p < 0.02$  ve  $p < 0.001$ ). Zn-65 ile retansiyon çalışanların büyük bir bölümü idrarla atılan Zn-65 miktarını önemsemedikleri için retansiyon hesabına dahil etmemişlerdir. Bu nedenle bizde retansiyon değerlerinde sadece feçes Zn-65' ini kullandık. Zn-65'in retansiyon eğrileri ile emilme eğrileri, birbirini destekler görünmektedir. Kontrol grubuna

kıyasla Ca ve Fe eksik gruplarda Zn-65 atılımında azalma, diğer gruplarda ise 48. saatten sonra hızlı bir atılım oranı saptanmıştır. Dolayısıyla bu gruptaki yüzde retansiyon eğrisi kontrolün altında seyretmektedir. Fakat Ca-eksik ve Fe-eksik grupların retansiyon yüzdesindeki kontrole göre olan yükselme istatistiksel açıdan önemsiz bulunurken, diğer gruplardaki düşme istatistiksel açıdan oldukça önemli bulunmuştur (Şekil 10, 11,  $p<0.001$ )

Tablo 4. Feçesin ve böbreğin spesifik aktivitesi

Gruplar	Feçesin spesifik aktivitesi			Böbreğin spesifik aktivitesi	
	24 saat	48 saat	72 saat	96 saat	96 saat
Kontrol	0.518±0.100	0.350±0.110	0.106±0.006	0.008±0.002	1.068±0.130
Ca-eksik	0.640±0.090	0.142±0.023**	0.008±0.002*	0.001±0.000**	1.250±0.09*
Ca-yüksek	0.450±0.030	0.360±0.020	0.09±0.020**	0.05±0.0200**	0.980±0.05
Ca-çokyükse	0.370±0.060*	0.250±0.036	0.180±0.029**	0.07±0.017**	0.820±0.08*
Fe-eksik	0.78±0.070	0.140±0.02**	0.089±0.005**	0.007±0.002**	1.200±0.05
Fe-yüksek	0.59±0.030	0.280±0.038	0.090±0.025**	0.003±0.007**	0.93±0.12
Fe-çokyüksek	0.58±0.088	0.430±0.059	0.090±0.008**	0.060±0.005**	0.85±0.04**

Feçesteki spesifik aktivite, günlük atılan radyoaktif çinkonun (nCi), günlük atılan çinko (mg) miktarına bölümü ile bulunmuştur. Böbrekteki spesifik aktivite ise 1 g böbrek dokusundaki radyoaktif çinkonun, 1 g dokudaki çinko miktarına bölümüdür. Kontrole göre: \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.001$ .

Tablo 5. Zn-65 verildikten 24 saat sonraki Zn-65 absorblanması.

Gruplar	Alınan çinko µg/gün	Feçesle atılan Zn µg/gün	Çinko balansı µg/gün	Görünen abs. %	Gerçek %	absorpsiyon µg/gün
Kontrol	134±24.2	16.6±6.1	117.4±18.2	87.9±2.5	92.6±2.96	125.5±21.2
Ca-eksik	206±4.53	12.1±4.94	193.9±2.10	94.2±2.3**	97.3±0.7**	200.5±3.30**
Ca-yüksek	195±13.4	43.1±7.50	152.0±5.80	78.1±2.6**	88.2±0.8*	171.9±10.5**
Ca-çokyükse	178±21.9	59.3±12.9	118.7±11.3	66.9±4.0**	82.1±1.3**	147.9±17.2
Fe-eksik	158±43.5	12.3±2.12	145.7±41.9	91.9±1.20*	97.3±0.4**	153.7±42.4
Fe-yüksek	210±0.00	62.4±7.90	147.6±7.92	70.3±3.80**	89.4±1.9	182.3±14.0**
Fe-çokyüksek	210±0.00	105±14.4	105.0±14.4	49.9±10.5**	84.3±5.1*	179.9±10.5

Kontrole göre: \* p<0.05, \*\* p<0.001.

Tablo 6. Zn-65 verildikten 48 saat sonraki Zn-65 absorblanması

Gruplar	Alınan çinko µg/gün	Feçesle atılan Zn µg/gün	Çinko balansı µg/gün	Görünen abs. %	Gerçek %	absorpsiyon µg/gün
Kontrol	105±0.00	18.3±2.60	86.7±2.60	82.6±2.40	88.0±1.60	92.7±1.90
Ca-eksik	210±0.00	32.7±8.90	177.3±8.90	84.5±4.30	86.1±3.90	180.9±8.20**
Ca-yüksek	210±0.00	43.4±3.10	166.6±3.10	79.3±1.53**	86.9±1.20**	182.5±2.49**
Ca-çok yükse	210±0.00	70.0±6.80	140.0±6.85	66.7±3.25**	76.9±1.30**	161.5±2.80**
Fe-eksik	210±0.00	18.8±1.50	191.2±1.60	91.1±0.70**	92.1±0.70**	193.4±1.40**
Fe-yüksek	105±21.4	32.8±4.50	72.2±17.20	68.4±2.90**	77.8±3.20**	82.2±19.90
Fe-çokyüksek	148±17.8	77.8±10.9	70.2±7.810	47.5±2.20**	74.1±3.10**	110.2±17.60

Kontrole göre: \* p<0.05, \*\* p<0.001.



Tablo 7. Zn-65 verildikten 72 saat sonraki Zn-65 absorblanması

Gruplar	Alınan çinko µg/gün	Feçesle atılan Zn µg/gün	Çinko balansı µg/gün	Görünen abs. %	Gerçek %	absorbsiyon µg/gün
Kontrol	210±0.00	35.8±6.29	174.2±6.3	82.9±2.9	84.7±2.6	177.8±5.4
Ca-eksik	178±38.4	28.4±2.30	149.7±30.5	83.8±2.00**	85.0±1.9**	151.8±30.7
Ca-yüksek	188±15.3	62.7±7.40	135.7±19.6	72.9±14.8	70.0±0.6**	131.6±10.3**
Ca-çok yükse	198±9.70	78.4±4.80	119.6±5.80	32.7±1.60**	64.6±0.7**	127.9±6.50
Fe-eksik	169±14.9	21.4±4.80	147.7±11.3	87.5±1.95**	87.5±1.9**	147.8±11.3
Fe-yüksek	205±8.50	51.2±5.20	152.2±11.6	74.7±2.50**	77.1±2.3**	156.9±12.3
Fe-çokyüksek	189±19.5	78.0±10.70	110.9±10.2	58.8±2.50**	67.9±1.6**	128.5±14.1**

Kontrole göre: \* p<0.05, \*\* p<0.001.

Tablo 8. Zn-65 verildikten 96 saat sonraki Zn-65 absorblanması

Gruplar	Alınan çinko µg/gün	Feçesle atılan Zn µg/gün	Çinko balansı µg/gün	Görünen abs. %	Gerçek %	absorbsiyon µg/gün
Kontrol	210±0.00	48.2±5.4	161.8±5.4	77.0±2.6	78.9±2.6	165.7±5.5
Ca-eksik	210±0.00	48.4±9.9	161.7±9.9	76.9±4.8*	76.9±4.8*	161.7±9.90*
Ca-yüksek	105±0.00	28.1±4.1	76.9±1.70	73.3±1.6*	74.6±1.7*	78.4±1.80**
Ca-çok yükse	169±13.8	67.0±7.2	119.2±38.5	60.4±1.2**	63.8±0.6**	107.8±8.70**
Fe-eksik	210±0.00	38.1±4.3	171.9±4.3	81.8±2.0**	81.9±1.9**	172.1±4.20**
Fe-yüksek	159±14.5	53.0±7.2	106.0±8.0	66.7±1.9	67.1±1.7	106.5±7.80**
Fe-çokyüksek	163±18.5	62.8±6.6	100.4±18.1	39.5±3.4**	63.9±4.7**	104.7±18.0**

Kontrole göre: \* p<0.05, \*\* p<0.001.

### 4.3.DOKULARDAKI ÇİNKO VE Zn-65 DAĞILIMINA KALSİYUM VE DEMİRİN ETKİSİ

Duedenum, jejunum ve ileum gibi barsak bölgelerinin çinko ve Zn-65 dağılımları, emilim ve retansiyonda görülen farklılıkları yansıtmaktadır. Genelde Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda total doku başına olan çinko ve Zn-65'de artma, diğerlerinde ise azalma görülmektedir. Bu değişiklikler duedenum bölgesi dışında istatistiksel açıdan önemli değildir. Bu durum mineral-mineral etkileşiminin en fazla barsağın bu bölgesinde olduğunu göstermektedir. Kuru dokunun gramı başına düşen çinko ile gram yaş doku başına Zn-65 de genelde bu bulguları desteklemektedir. Yalnız Ca-yüksek alan grupların ileumlarında gram başına düşen çinko miktarı da kontrole göre bir azalma göstermiştir.

Karaciğer dokusu hariç böbrek ve beyin dokularının totalindeki çinko ve Zn-65 dağılımlarında önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir. Karaciğer dokusunun hem çinko hem de Zn-65 muhteviyatı Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda artarken, diğer gruplarda istatistiksel yönden anlamlı azalmalar göstermiştir. Karaciğer dokusundaki bu farklılıklar dokunun gramı başına ifade edildiğinde de yine önemlidir. Farklı kalsiyum içeren diyetlerle beslenen grupların böbrek çinko ve Zn-65 muhteviyatında önemli değişiklik görülmezken, Fe-eksik grubun çinko muhteviyatında azalma, yüksek ve çok yüksek alanlarda artma dikkati çekmektedir. Beyin dokusunun çinko ve Zn-65'inde ise, eksik gruplarda artma, fazla alanlarda ise azalma meydana gelmiştir. Kandaki Zn-65 içerikleri grupların aldıkları diyete bağlı olarak önemli değişimler göstermiştir. Ve bu değişiklikler istatistiksel açıdan da oldukça önemli bulunmuştur (Şekil 18,  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ).

Tablo 9.Farklı beslenen grupların dokularındaki Zn-65 dağılımı

Gruplar	Duedenum	Jejenum	İleum	Böbrek	Beyin	Karaciğer
Kontrol	32.7±4.70	55.6±16.8	281.5±75.1	73.5±8.20	59.6±10.5	592.6±75.90
Ca-eksik	32.4±10.3	57.8±16.7	309.4±45.6	92.0±12.5	76.1±6.60	662.5±109.9
Ca-yüksek	30.2±9.30	58.6±13.0	236.2±65.4	68.0±6.30	58.8±9.20	487.1±36.40*
Ca-çokyükse	25.2±2.30**	62.1±24.4	244.7±57.9	54.6±5.60	57.9±9.20	480.5±47.70*
Fe-eksik	31.9±11.4	64.7±19.1	282.3±64.4	72.3±10.7	79.8±14.8*	685.3±14.2
Fe-yüksek	21.9±6.20**	32.9±7.20*	175.9±22.9*	61.6±5.50*	48.7±6.2	342.6±76***
Fe-çokyüksek	23.5±2.60***	56.4±14.3	255.9±57.5	69.3±6.90	54.9±6.8	272.2±87***

Değerler nCi / total doku olarak ifade edilmiştir.Kontrole göre: \* p<0.02, \*\* p<0.05.

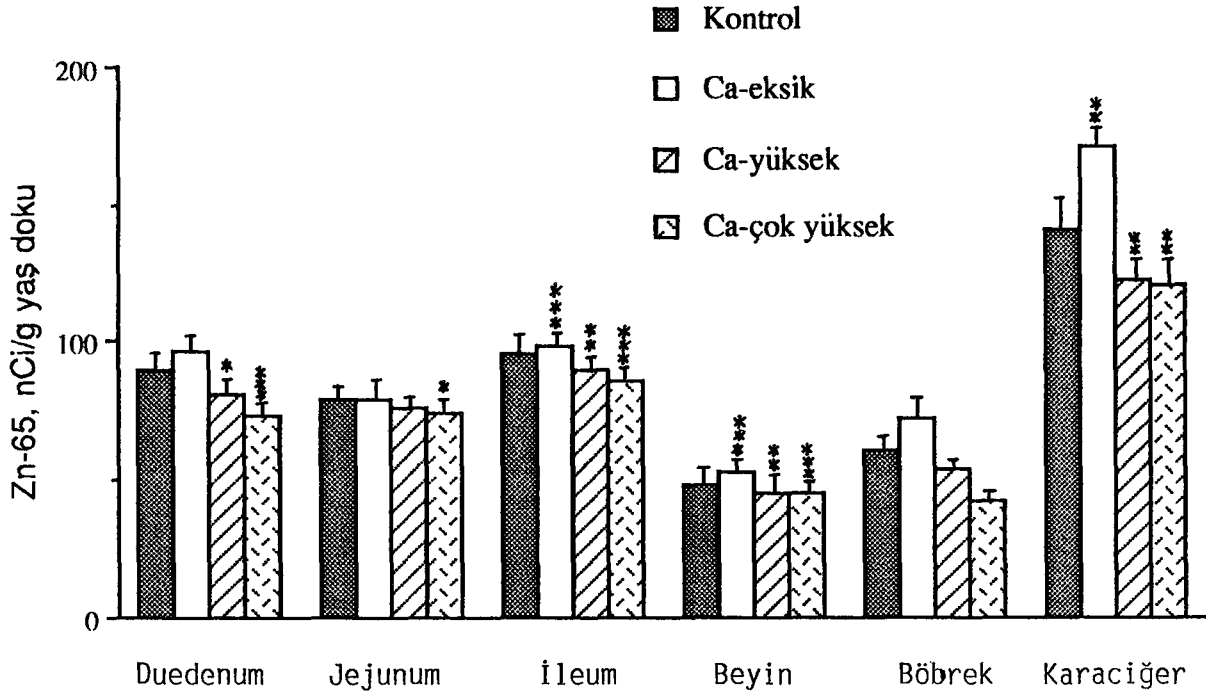
\*\*\* p<0.001.

Tablo 10.Farklı beslenen grupların dokularındaki Zn dağılımları

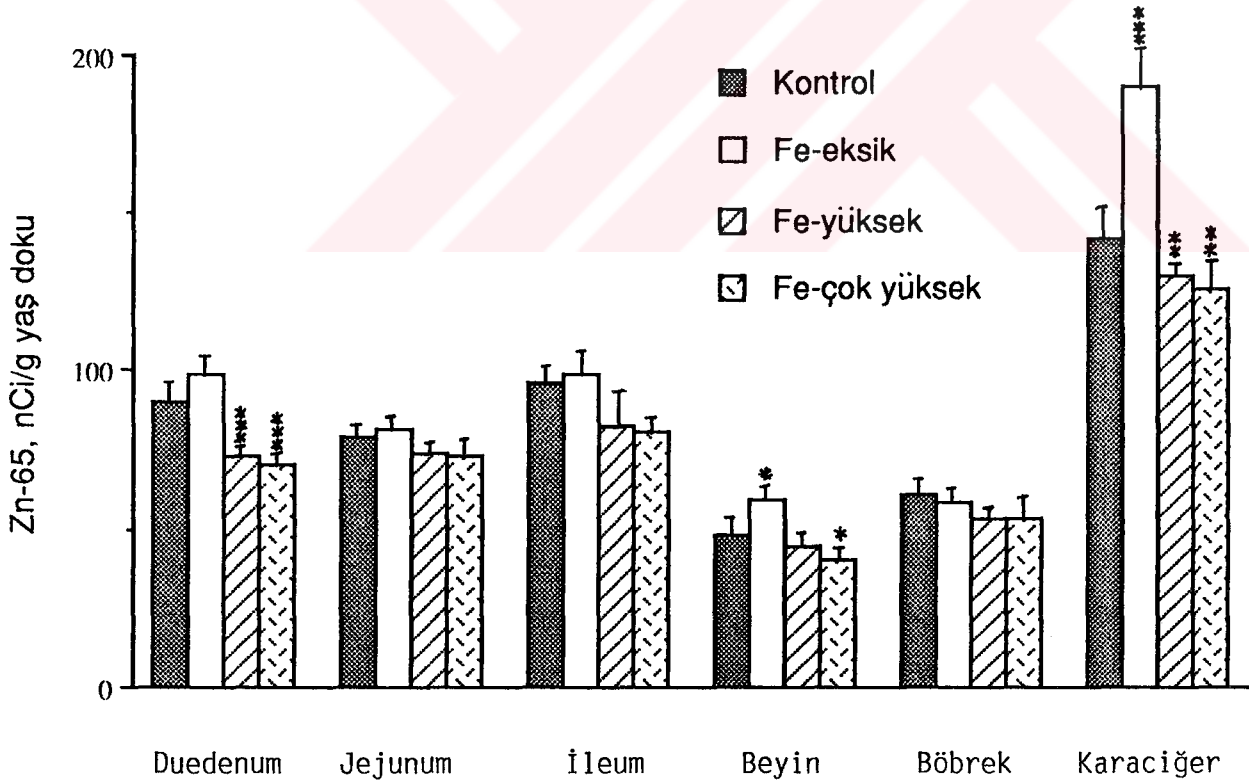
Gruplar	Duedenum	Jejenum	İleum	Böbrek	Beyin	Karaciğer
Kontrol	2.72±0.12	3.83±0.70	29.78±5.30	14.57±3.82	10.37±2.92	56.93±7.84
Ca-eksik	3.05±0.67	4.38±0.32	30.47±3.34	18.64±4.70	12.79±2.83	134.5±20.40*
Ca-yüksek	2.58±0.54	4.24±0.62	28.97±4.90	14.61±3.73	10.49±3.12	49.82±5.490
Ca-çokyükse	1.72±0.34**	4.11±0.60	24.63±6.66	20.67±8.97	9.10±2.15	40.51±10.12
Fe-eksik	2.48±0.28	4.53±0.89	88.89±30.9**	16.14±5.73	12.65±3.67	131.6±40.7**
Fe-yüksek	2.03±0.16*	3.49±0.46	27.6±3.660	19.45±13.1	8.73±1.31	44.30±6.80*
Fe-çokyüksek	1.98±0.18**	3.25±0.38	21.79±6.30	26.20±5.90	9.89±2.61	35.47±21.1**

Değerler µg / total doku olarak ifade edilmiştir. Kontrole göre: \* p<0.05, \*\*

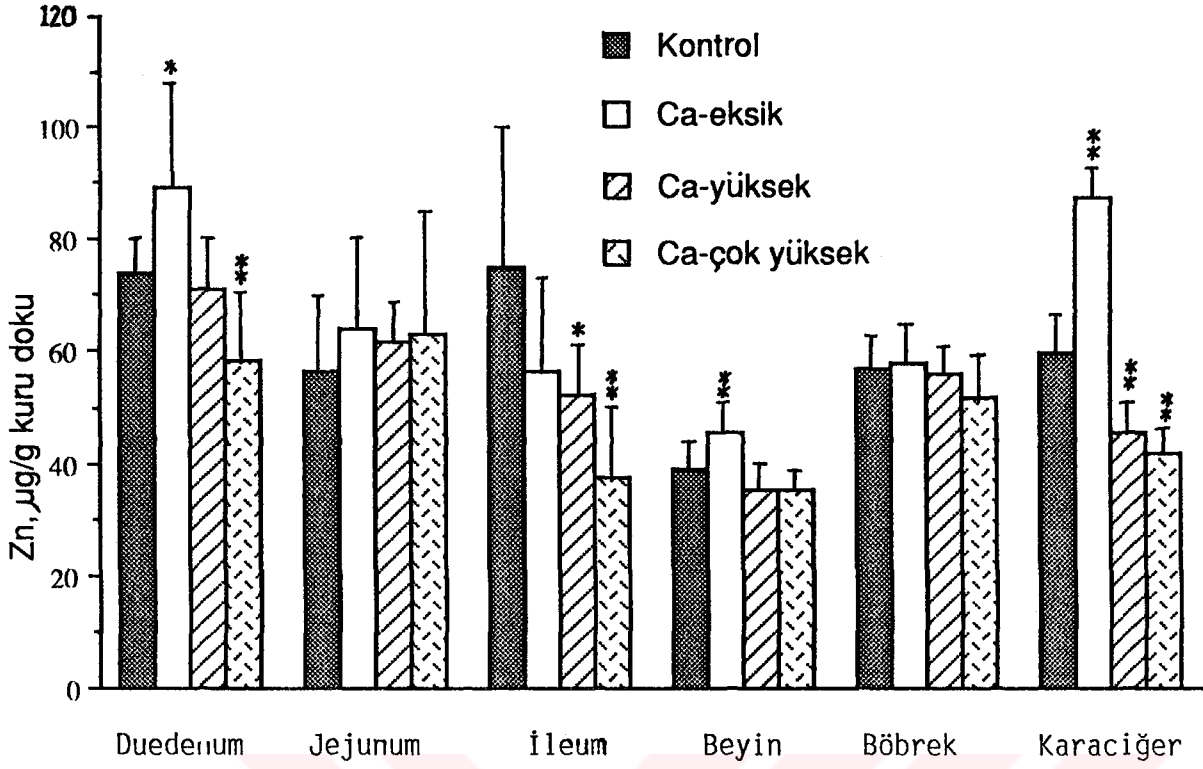
p<0.001.



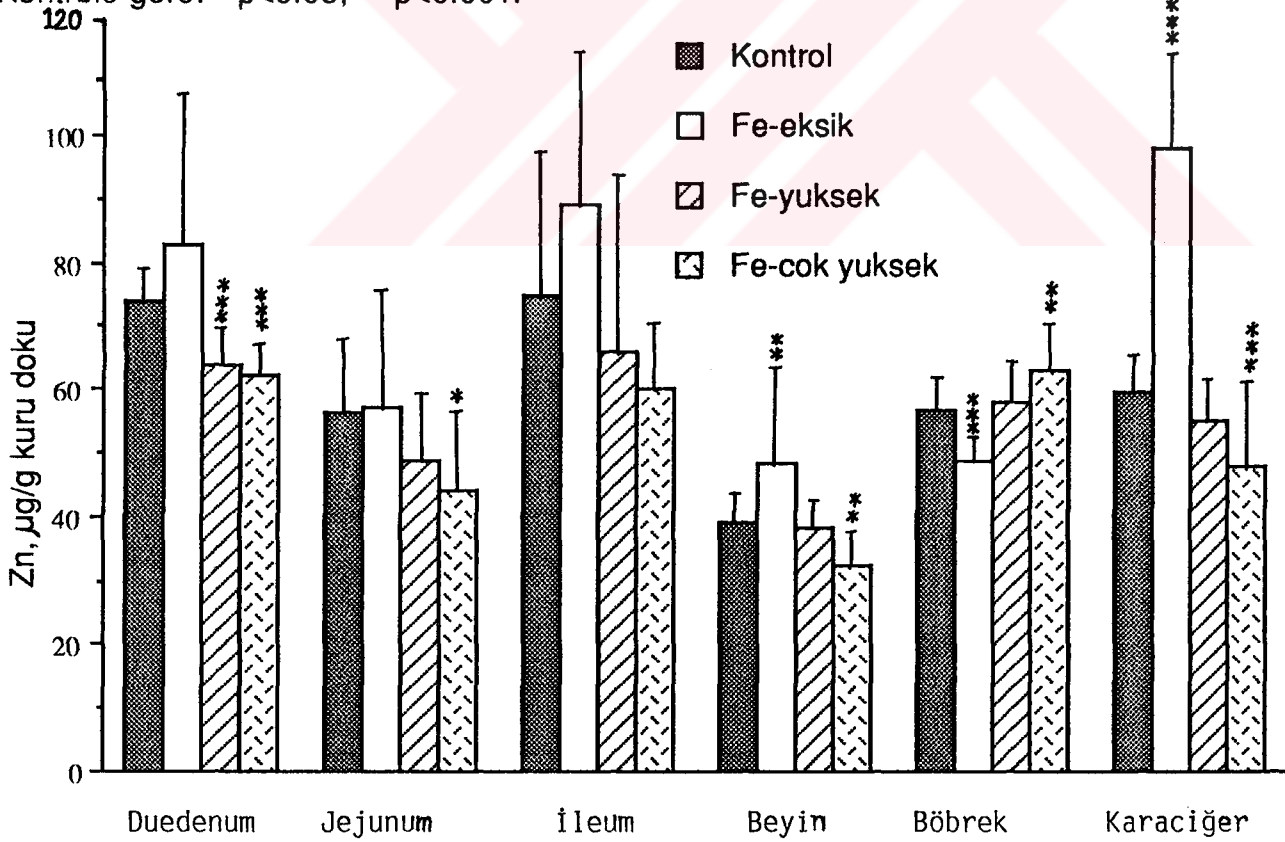
Sekil 14. Farklı oranlarda kalsiyum içeren diyetle beslenen grupların doku Zn-65 dağılımları. Kontrolle göre: \*  $p < 0.02$ , \*\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$



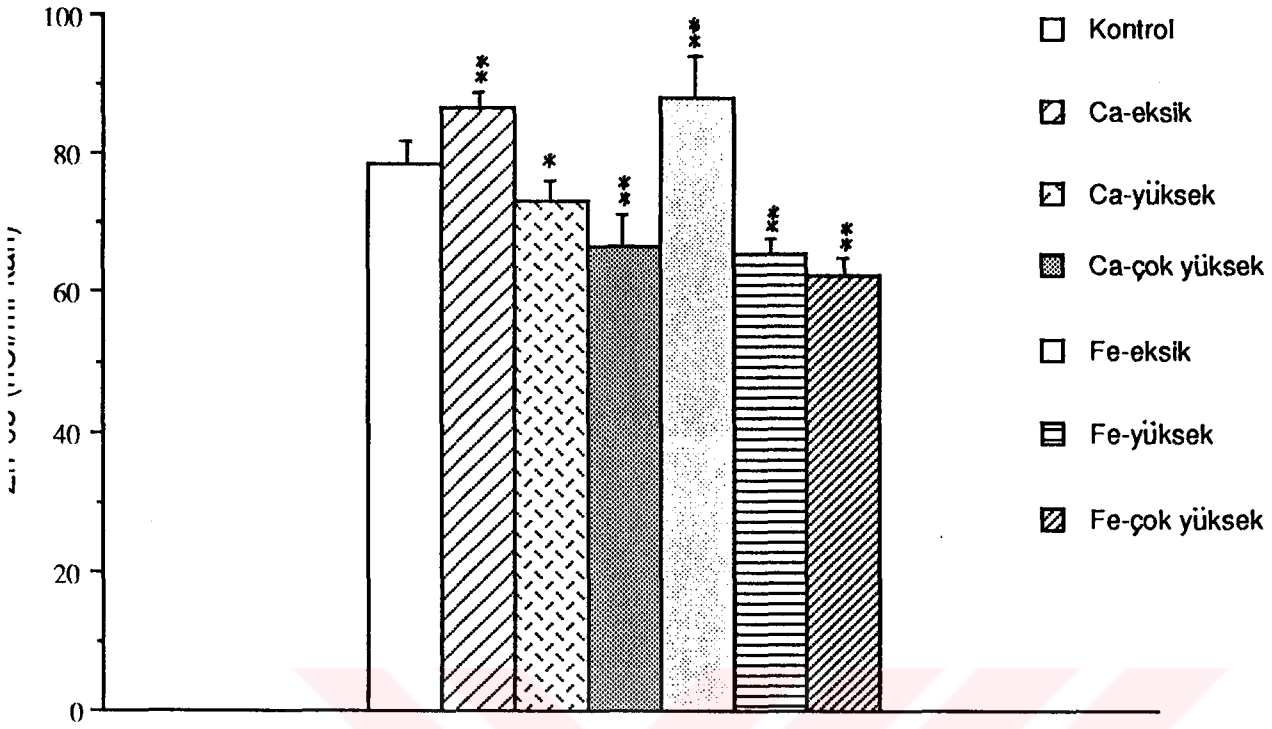
Sekil 15. Farklı oranlarda demir içeren diyetle beslenen grupların doku Zn-65 dağılımları. Kontrolle göre: \*  $p < 0.01$ , \*\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .



Sekil 16. Farklı oranlarda kalsiyum içeren diyetle beslenen grupların doku çinko dağılımları. Kontrolle göre: \* p<0.05, \*\* p<0.001.



Sekil 17. Farklı oranlarda demir içeren diyetle beslenen grupların doku çinko dağılımları. Kontrolle göre: \*p<0.01, \*\*p<0.02, \*\*\*p<0.001.



Şekil 18. Farklı diyetlerle beslenen grupların kandaki Zn-65 dağılımı. Kontrolle göre: \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$ .

## 5. TARTIŞMA

Çeşitli araştırmacılar, kalsiyumla çinko arasında bir antagonizmanın olduğunu, bu antagonizm sonucu gelişen çinko eksikliğinin parakeratozis geliştirdiğini bildirmişlerdir. Bu konuda ilk çalışmaları yapan araştırmacılar, düşük çinko oranlarında, diyetteki kalsiyum konsantrasyon artışının, vücut ağırlığını azalttığını ve parakeratozis şiddetini arttırdığını ileri sürmüşlerdir (4, 59, 70, 74, 127, 131). İki çalışma, diyete kalsiyum ilavesinin karaciğer, böbrek gibi dokuların çinko muhteviyatını azalttığını göstermiştir (59, 70). Bununla birlikte bazı çalışmacılar, çinko absorpsiyonu üzerine diyetteki kalsiyum artışının etkili olmadığını ileri sürmüşlerdir (5, 140). Berry ve arkadaşları radyoaktif çinko kullanarak, çinko absorpsiyonuna kalsiyumun

etkisini araştıran ilk çalışmayı yapmışlardır (7). Düşük inko (29 ppm) ihtiva eden diyete kalsiyum ilavesinin total kan, plazma ve doku Zn-65 seviyelerini azalttığını, 100 ppm çinko içeren diyete kalsiyum eklendiğinde ise, total kan ve dokulardaki Zn-65 aktivitesinin arttığını saptamışlardır. Ayrıca diyetteki çinko artışının kan, plazma, akciğer, kalp, dalak, böbrek, pankreas, ince barsak, kas ve derideki Zn-65 retansiyonunu azalttığını, fakat kan ve plazmadaki Ca-45 aktivitesini önemli derecede etkilemediğini göstermişlerdir.

Heth ve Hoekstra, Zn-65 kullanarak yaptıkları çalışmada, kalsiyumun vücut ağırlığında önemli bir değişiklik yapmadığını, besinle ya da gavajla verilen Zn-65'in, kalsiyuma bağlı olarak fekal atılımının önemli derecede arttığını göstermişlerdir. Diyeler kalsiyum arttırılmasının radyoaktif ve stabil çinko absorpsiyonunu azalttığı, radyoaktif maddenin verilmesinden 28 gün sonra Zn-65'in karaciğer, böbrek ve kasta azaldığı femurda ise önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (54).

Sıçanlarla yapılan başka bir çalışmada ise, değişik oranlarda çinko ve kalsiyumla beslenen hayvanlarda dokulardaki çinko dağılımı ve retansiyonu incelenmiştir. İster oral ister intraperitoneal verilsin, Zn-65 retansiyonunun diyetteki çinko seviyesinden direk etkilendiği bildirilmiştir. Bunun yanısıra yüksek kalsiyumun, intraperitoneal enjekte edilen Zn-65'in dokulardaki dağılım ve retansiyonuna etkili olmadığı bildirilmiştir. Sıçanlar yüksek çinko ile beslendiklerinde ise başta pankreas olmak üzere dokuların pek çoğunda (karaciğer, böbrek,kemik) inko seviyesi artmıştır (62).



Adham ve Song, invivo ve invitro şartlarda çinko absorpsiyonuna kalsiyum ve bakırın etkisini araştırmışlardır. Invivo şartlarda, kalsiyum konsantrasyonunun arttırılması, ince barsak dahil, iç organların Zn-65 muhteviyatını kontrolün %40.8'ine düşürmüştü, invitro şartlarda yapılan deneylerde ise, yüksek lüminal kalsiyum konsantrasyonuyla çinko transportunda %40 civarında azalma olmuş, düşük kalsiyum konsantrasyonunda, çinko transport hızının etkilenmediği gösterilmiştir (1).

Yukarıda bahsedildiği gibi, radyoaktif Zn-65 kullanarak, kalsiyumun çinko absorpsiyonuna etkisini araştıran çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Ayrıca bunların sonuçları da birbirleriyle çelişki içerisinde. Bunun en önemli nedenlerinden birisi, deneylerin farklı ortam şartlarında yapılmış olmasıdır. Biz, bazı metodların kombinasyonu ile, diyetdeki çinko miktarını değiştirmeden diyetdeki kalsiyum ve demir miktarlarının çinko absorpsiyonuna etkisini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmada, biyolojik sistemde besinsel etkileşimleri tanımlamada kolay olması ve insan çalışmalarına dayanak sağlaması nedeniyle deney hayvanı olarak sıçanları kullandık. Her grupta kullanılan sıçanların ağırlık ve yaşları birbirinin aynısı değildi. Aynı zamanda gruptaki her bir sıçanın alacağı diyet miktarı hayvanın isteğine bırakıldığı için, gruptaki sıçanların çinko balanslarında bazı farklılıklar meydana geldi. Fakat her deneyin amacı, birbirinden farklı konsantrasyonlarda mineral ihtiva eden diyetin sonuçlarını karşılaştırarak bir hipotezi test etmek olduğundan, emilimin mutlak seviyeleri önemsiz olarak düşünülür.

Çalışmamızdaki, grupların beslenmeye alınmadan ve beslenmeden

sonraki ağırlık ortalamaları karşılaştırıldığında, kontrol ile düşük kalsiyum alanlarda ağırlık artışı, yüksek kalsiyum alan diğer iki grupta ise ağırlık kaybı görülmüştür. Yapılan iki ayrı çalışmada kalsiyum yüksek diyetle beslenen sıçanların ağırlıklarındaki azalmanın istatistiksel açıdan önemli olmadığı bildirilmiştir (59, 70). Çalışmamızda, Zn-65 enjeksiyonundan sonra ilk 50 saat içinde bütün grupların Zn-65 aktivitelerinde büyük bir azalma meydana gelmiştir. Bunun nedeni barsağa geçen Zn-65 izotopunun, ilk iki gün içinde emiliminin az olması ve feçesle aşırı atılımıdır. Fakat başlangıçtaki bu Zn-65 kaybı kontrole göre, kalsiyum eksik gruplarda daha az, Ca yüksek ve çok yüksek gruplarda ise daha fazla meydana gelmiştir. Diyetteki kalsiyum miktarına bağlı olarak feçesle çinko ve radyoaktif çinko atılımındaki farklılıklar, dolaylı olarak Zn-65 absorpsiyon eğrisinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Kontrolün % absorpsiyon eğrisine kıyasla, kalsiyum eksik grupta ilk 24 saatte bir yükselme, diğer saatlerde ise kontrole yakın seyreden bir eğri elde edilmiştir. Ca-yüksek ve çok yüksek alan gruplarda ise kontrolün oldukça altında seyreden % absorpsiyon eğrisi bulunmuştur (Şekil 8). Çinko emiliminin hesaplanmasında Wegend ve Kirchgessner'in izotop dilusyon tekniğinden faydalanılmıştır (137). Bu metoda göre günlük alınan çinko ile feçes ve dokunun (böbreğin) spesifik aktivitesinden, gerçek ya da görünen absorpsiyon yüzdesi hesaplanmıştır. Feçesin spesifik aktivitesi 24, 48, 72 ve 96. saatler için bulunmuştur. 24. saatte kontrole göre, spesifik aktivitede artma, kalsiyum yüksek iki grupta ise düşme bulunmuştur. Böbreğin spesifik aktivitesinde de benzer bulgular saptanmakla birlikte, istatistiksel açıdan bu farklılıklar önemli bulunmamıştır (Tablo 4).

Zn-65'in büyük bir bölümü feçesle atılırken, çok az miktarı idrarla atılmıştır. 24.,48. ve 72. saatlerde, gruplardaki Zn-65 atılımında, feçestekine benzer bir durum meydana gelmiştir. Ca-eksik beslenen gruplarda, kontrole göre azalma, diğer iki grupta ise artış istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Sadece feçesle Zn-65 atılımı göz önünde bulundurularak elde edilen yüzde retansiyon değerleri de absorblanma eğrilerine benzemektedir. Ca-eksik grupta retansiyon eğrisi kontrole yakın seyrederken, diğer iki grubun eğrileri kontrolden oldukça aşağılardadır. Kontrole göre yüksek kalsiyum alan iki grubun yüzde retansiyon değişiklikleri istatistiksel açıdan da önemlidir (Şekil 10,  $p<0.001$ ). Sıçanlarda yapılan balans çalışmasında Forbes ve Yohe (39), artan kalsiyum mineralinin, çinko emilimini azaltmadığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise, gavajla verilen Zn-65'in vücut retansiyonunun, Zn-65 verilmişinden 3 gün sonra azaldığı gösterilmiştir (61). Heth ve Hoekstra (54) bazal diyete %0.60 ve %1.76 'lık kalsiyum eklendiğinde bizim retansiyon eğrimizi destekleyen bir eğri elde etmişlerdir. Yalnız bu çalışmalarda Ca-eksik diyetin etkisine bakılmadığı için, bu değerlerin kıyaslanması mümkün olmamıştır. Başka bir çalışmada ise 4 günün sonundaki retansiyon yüzdesi incelendiğinde düşük çinko ile birlikte %1.3'lük kalsiyum alanlarda istatistiksel açıdan önemli bir azalma görülmüş, normal çinko alanlarda ise kalsiyum artışı ile önemli bir değişimin olmadığı saptanmıştır (62).

Duedenum, jejunum ve ileum gibi barsak bölgelerinin çinko ve Zn-65 dağılımları, absorpsiyon ve retansiyonda görülen farklılıkları yansıtmaktadır. Ca-eksik grubun total doku başına olan çinko ve Zn-65 'inde artma, yüksek ve çok yüksek kalsiyum alan gruplarındaki ise azalma bulunmuştur. Bu

değişiklikler duedenum bölgesi dışında istatistiksel açıdan önemli değildir (Tablo 9, 10,  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ). Bu durum mineral-mineral etkileşiminin en fazla duedenum bölgesinde olduğunu göstermektedir. Duedenum, jejunum ve ileum dokularının gramı başına düşen çinko ve Zn-65 dağılımı da, genelde bu bulguları desteklemektedir (Şekil 14, 16). Sadece, kalsiyum yüksek alan grupların ileumundaki gram başına düşen çinko miktarında, kontrole göre azalma bulunmaktadır.

Beyin, böbrek, karaciğer gibi yumuşak dokulardaki çinko ve Zn-65 dağılımı, kalsiyumlu diyetle ilgili olarak değişmiştir. İstatistiksel açıdan en önemli değişiklik bilhassa karaciğer ve beyinde meydana gelmiştir (Şekil 14, 16,  $p<0.05$ ,  $p<0.001$ ). Kandaki Zn-65, Ca-eksikte önemli ölçüde artarken, yüksek ve çok yüksek kalsiyum alan gruplarda azalmıştır. Bütün bu değişiklikler istatistiksel açıdan önemlidir (Tablo 18,  $p<0.001$ ). Heth ve Hoekstra (54) sıçanlarda yaptıkları çalışmada, bazal diyetle eklenen %0.6 ve %1.76'lık kalsiyumun, karaciğer, böbrek ve kemik dokusunun totalindeki Zn-65 radyoaktivitesini etkilediğini bildirmiştir. Karaciğer ve böbrek dokusunun totalindeki Zn-65'i kalsiyumun azalttığını, kemik dokusunda ise artırdığını bulmuşlardır. Gram başına düşen Zn-65 aktivitesinin ise sadece böbrek ve kemikte önemli değişmeye neden olduğu gösterilmiştir. Adham ve Song (1), Zn-65 aktivitesinin, diyetle ilgili olarak, pankreas, karaciğer, böbrek, kalp, dalak, testis, kas ve barsak dokularında azaldığını bulmuşlardır. Bu çalışmacılar aynı zamanda, diyetle ilgili olarak kan ve serum radyoaktivitesinde azalma bildirmişlerdir. Berry ve arkadaşları (7), Zn-65 enjeksiyonundan sonra 3.,6.,12 ve 24. saatlerde ve sonra 24 saat aralarla 144. saate kadar kandaki Zn-65 aktivitesini takip etmişlerdir. Düşük

oranlarda çinko alındığında diyetle kalsiyum eklenmesinin Zn-65'i azalttığı, yüksek oranda çinko bulunan diyetle kalsiyum eklemenin ise kanın Zn-65 aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır. Aynı çalışmacılar diyetteki çinko artışının, kalsiyum eklenmeksizin kan ve dokulardaki Zn-65 retansiyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Burada yüksek oranda çinkoyla birlikte kalsiyum eklemenin etkisi kalsiyumdan çok çinkoya bağlı olabilir. Çalışmamızda, çinko miktarını bütün grupların diyetlerinde sabit tuttuk. Dolayısıyla doğrudan kalsiyumun çinko emilimini etkileyip etkilemediğini gözledik.

Spencer ve arkadaşları, düşük ve yüksek konsantrasyonlarda verilen kalsiyumun, insanlarda Zn-65 metabolizmasını nasıl etkilediğini incelemişlerdir. Denekler tarafından kalsiyumun diyetle alınmasının, 6 ya da 10 kat fazla olduğunda, Zn-65 absorpsiyonunu önemli derecede değiştirmedeğini bildirmişlerdir (123). Başka bir çalışmacı grubu, süt ve peynir gibi kalsiyum ve fosfor yönünden zengin diyet verilen kişilerin plazma çinko seviyelerine bakarak, çinkonun intestinal absorpsiyonunda azalmanın olduğunu kaydetmişlerdir (94). Sandstead ve arkadaşları (102) fosforun kendisinin plazma çinko seviyesini azalttığını bulmuştur. Bunun üzerine, fosfor ve kalsiyumun çinko absorpsiyonuna etkisi insanlarda tekrar çalışıldığında, 200 mg/gün'den 2000 mg/gün' e arttırılan kalsiyumun, üriner ya da fekal çinko atılımını önemli ölçüde değiştirmedeğini bulunmuştur. Aynı şekilde 800'den 2000 mg/gün' e arttırılan fosforun da çinko absorpsiyonuna hiçbir etkisi olmadığını bildirmişlerdir (125). İnsanlarda gözlenen bu sonuçlar hayvanlarda bulunan sonuçlara ters düşmektedir. Bu, hayvan çalışmalarında kullanılan kalsiyum miktarının, insanlarda kullanılanı, total vücut ağırlığına göre, oldukça farklı olmasından kaynaklanabilir.

Demir ve çinko periyodik tablonun ilk geçiş serilerinde görünür ki bu tabloda manganez, nikel ve kobalt aynı dış elektron konfigürasyonuna sahiptir. Çinko ve demir canlıların büyüme ve gelişmesi için gereklidir. İki elementin normalde alınan ve emilen miktarları birbirine benzemektedir. Bu ortak yönlerine rağmen iki elementin vücuttaki homeostatik mekanizmaları farklıdır. Çinko ve demir birlikte daha çok duodenum bölgesinden emilirken, demirin emilmesi yer açısından çok sınırlı, çinkonun emilmesi ise ince barsağın tümü boyunca olabilmektedir. Ayrıca demir emildikten sonra vücutta tutulur, çinko ise emilir ve bir kısmı tekrar barsağa sekrete edilir (118). Çinko emilimine demirin antagonistik etkisinin, çinko beslenmesine zararlı bir etki oluşturabileceği gittikçe artan bir ilgiyle ifade edilmektedir. Çeşitli araştırmacılar, demir eksikliği oluşturdukları hayvanlarda çinko emiliminin arttığını (40, 41, 51, 96), bazı çalışmacılar ise, yüksek Fe/Zn içeren diyetle beslenen ratlarda yaptıkları çalışmada, çinko emiliminin azaldığını (33, 47) bildirmişlerdir. Birkaç çalışmada bunlara karşılık, demirin çinko emilimini etkilemediğini bildirmiştir (49, 82, 92).

Bizim çalışmamızda bazal diyetle beslenen kontrol, Fe-eksik, Fe-yüksek ve Fe-çok yüksek beslenen grupların ağırlık ortalamaları, 15 günlük beslenme sonunda başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında kontrol ve demir eksiklerde artış, diğer iki grupta ise azalma göstermiştir. Bilhassa Fe-çok yüksek olan grubun ağırlık değişimi istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Tablo 3,  $p < 0.05$ ). Zn-65 enjeksiyonundan 24, 48, 72 ve 96 saat sonraki feçes çinko ve Zn-65 miktarlarında, kontrole kıyasla, Fe-eksikde azalma, diğer ikisinde ise artış dikkati çekmiştir. Bilhassa Fe-yüksek ve çok

yüksek alan grupların idrarla atılan Zn-65'leri 24. saatte kontrole göre oldukça fazla bulunmuştur. Fe-eksik gruplarda ise 48. saatten itibaren düşme olmuş ve bu düşüş istatistiksel açıdan da önemlidir (Şekil 13,  $p<0.001$ ). Diyetteki demir miktarının çinko emilimine yaptığı etki açıkça görülmektedir. Fe-eksik gruplarda kontrole kıyasla, absorblanma yüzdesinde artış, Fe-yüksek ve çok yüksek gruplarda ise bir düşüş vardır. Bu değişiklikler 96 saat boyunca istatistiksel açıdan da önemli bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Zn-65'in yüzde retansiyonu da, kalsiyumda olduğu gibi yüzde absorblanma bulgularını desteklemektedir. Bu şekilde farklı diyetle beslenme esnasında bilhassa ince barsağın duodenum bölgesinde gerek total doku başına gerekse gram doku başına düşen çinko ve Zn-65'de Fe-eksik grupta artma, Fe-yüksek ve çok yüksek alan gruplarda ise azalma meydana gelmiştir. Fe-eksik grubun dışındaki bu farklılık istatistiksel yönden de çok önemlidir (Tablo 9, 10, Şekil 15, 17). Dokudaki çinko ve Zn-65'e baktığımızda total dokudaki çinko ve Zn-65 sadece karaciğerde Fe-yüksek ve çok yüksek gruplarda önemli derecede azalmıştır. Gram doku başına bu değerlere bakıldığında karaciğerdeki önemli değişikliklerin yanında beyin ve böbrekte de istatistiksel yönden önemli değişiklikler dikkati çekmektedir. Beyinde Fe-eksik grupta Zn-65 artarken, Fe-yüksek ve çok yüksek gruplarda ise azalmıştır. Böbrekte ise karaciğer ve beyin dokusundaki Zn-65 ile ters bir ilişki ortaya çıkmıştır. Kandaki Zn-65 aktivitesi de emilme yüzdesindeki değişiklikleri desteklemektedir. Kontrole kıyasla demir eksik grubun Zn-65'inde artma diğer gruplarda ise azalma bulunmuştur (Şekil 18).

Deney hayvanları ve insanlarda demir ve çinkonun absorpsiyonu,

diyetin bileşimi ve fizyolojik faktörlerden etkilenebilir. Bu faktörlerin pek çoğu ince barsağın lümenine etki eder. Lüminal olaylar 2 sınıfta toplanabilir. Bunlardan ilki diyeter orijinli olup, kimustaki inorganik iyonları bağlar. Oluşan bu komplekse bağlı inorganik elementin, mukozal hücrelerdeki taşıyıcı proteininden ayrılmasındaki kolaylık derecesine bağlı olarak, bu elementin emilimi kolay veya zor hale gelir. İkinci mekanizma, inorganik iyon bağlayan maddelere ve ortak transport alanlarına olan yarışmayla ilgili mineral-mineral etkileşimidir. Bizim çalışmamızda birinci planda bu etkileşimin araştırılması amaçlanmıştır. Fakat bu konuda yapılan çalışmalar yukarıda bahsedilen 2 etkileşme şeklini de araştırdığı için oldukça karışık, sonuçları da birbirinden farklıdır.

Hamilton ve arkadaşları (51), demir eksikliği oluşturdukları farelerde çinko kadmiyum ve demir etkiyeşimini incelemişlerdir. Zn-65 içeren test solusyonundan çinko emilimi bu farelerdeki demir eksikliğine bağlı olarak artmıştır. Demir eksikliği oluşturulan bu farelerin barsaklarından değişik konsantarsyonlarda Zn-65 geçirilmiş; düşük Zn-65 ihtiva eden test solusyonundan daha fazla çinkonun emilip taşındığı bulunmuştur. Perfüzyon sıvısına demir eklendiğinde de çinko emilim ve taşınımının azaldığı gösterilmiştir.

Diyetteki demir eksikliğinin, demir, kobalt, mangenez, çinko, kadmiyum ve kurşun absorpsiyonunu, kanamaya bağlı demir eksikliğinin ise demir, kobalt ve muhtemelen mangenez absorpsiyonunu arttırdığı idda edilmiştir. Bu konuya açıklık getirmek amacıyla Flanegen ve arkadaşları farelerde bir çalışma yapmışlardır. Yüksek demir alan (120 ppm Fe), kanama yaratılan



(0.5 ml) ve düşük demir alan gruplarda (23 ppm Fe); 0.5 ml kan kaybının demir absorpsiyonunu arttırdığı, bundan az kan kaybının absorpsiyonu etkilemediğini ispat etmişlerdir. Fakat demir eksikliğinde mangenez, çinko, kadmiyum ve kurşun absorpsiyonunun arttığı gösterilmiştir (37).

Bazı araştırmacılar 2:1' lik Fe/Zn oranına sahip bir diyetin çinkonun görünen absorpsiyonunu azaltabileceğini ileri sürmektedirler (76, 117). Marjinal çinko seviyesine sahip hamilelerde demir eklemelerinin olumsuz etki yapabileceği düşüncesi, çalışmacıları bu konuyu araştırmaya yöneltmiştir. Fairweather-Tait ve arkadaşları (35), 60 mg/kg yada 7 mg/kg çinko içeren diyetlere demir ilavesinin, sıçanların hamileliğinin 21. gününde fetusların, çinko seviyelerinde ve ağırlıklarında önemli bir değişmeye neden olmadığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar başka bir çalışmalarında Fe/Zn oranını 0.8 ile 3.7 arasında değiştirdiklerinde, demir ilavesinin çinko retansiyonuna herhangi bir etkiye sahip olmadığını, fakat hamileliğin kendisinin çinko uptake'ini etkilediğini bulmuşlardır (36). Ancak bizim çalışmamızda diyete ilave edilen demir miktarına bağlı olarak çinko emiliminin önemli oranda azaldığı görülmektedir. Bu farklı sonucun nedeni; çalışmanın insanlarda değil sıçanlarda yapılmış olması ve kullanılan Fe / Zn oranının daha fazla olması olabilir.

Bazı araştırmacılar, marjinal seviyedeki çinko varlığında demir ve folik asitin yüksek alımının diyetteki çinko absorpsiyonunu azalttığını bildirmişlerdir (81, 85). Sıçan ve insanlarda çinko absorpsiyonu ve metabolizması üzerine Fe, Folik asid ve Fe-folatın birlikte eklenmelerinin etkileri ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Yalnız başına folat eklenmesi

ile ilgili bulgular birbirine ters düşmektedir. Bir çalışmada, fizyolojik dozlarda folatın oral verilmesinin çinko atılımını önemli derecede arttırdığı (81), diğer bir çalışmada ise, uzun süreli farmakolojik folat tedavisinin çinko statüsüne hiç bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (68). Hamile kadınlarda yapılan pekçok çalışmada ise Fe ya da Fe-folat eklenmesinin anne serum çinko statüsünü ve çinko absorpsiyonunu önemli derecede azalttığı ileri sürülmüştür (50, 80, 107). Southon ve arkadaşlar, 1989 yılında yaptıkları bir çalışmada sıçanların diyetlerine kalsiyum, demir ve folik asit ekleyerek Zn-65 retansiyonunu incelediler (122). Sonuç olarakta bu kombine mineralin diyete eklendiği, gebe olan ve olmayan gruplarda, vücuttaki Zn-65 retansiyonunun daha az olduğu, bu hayvanların plazma Zn-65 konsantrasyonunun azaldığı fakat femur ve fetal çinko konsantrasyonunun değişmediği bulunmuştur.

Gebe Rhesus maymunları ve onların yavrularında da çinko retansiyonuna diyetdeki demir ve çinkonun etkisi incelenmiştir. Maymunlar 4 µg Zn (düşük çinko alan grup) ve 100 µg Zn (kontrol) olmak üzere iki farklı düzeydeki çinko ihtiva eden diyetle gebelik ve laktasyon süresince beslenmişlerdir. Anne ve onların yavrularında, düşük çinko alanlarda, normal alanlardan % 25 daha az Zn absorpsiyon ve retansiyonu bulunmuştur. Demir eklendiğinde başlangıçtaki diyetler çinko retansiyonunun değişmediği, fakat vücuttaki Zn-65 turnoverında bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, gebelik ve laktasyon esnasında maymunların düşük çinkolu diyet almaları sırasında, demirin çinko retansiyon ve turnoverını etkileyebileceği bildirilmiştir (73).

İnsanda demir ve çinko arasında diyetler etkileşim olup olmadığını araştıran ilk çalışma 1971 de 9 kadında yapılmıştır. Bu kişilere 22 mg demir

ve 11.5 mg çinko verilmiş ( $Fe/Zn=2$ ), sonuçta 2 elemetin arasında kompetitif bir yarışmanın olmadığı görülmüştür (139). Daha sonra insanda demir çinko etkileşimini araştıran pek çok çalışma yapılmıştır (3,116, 117, 118). Bu çalışmaların pek çoğunda demir varlığında, çinko absorpsiyonunun azaldığı açık olarak ifade edilmiştir. Memeli barsağından çinko emilimi doyurulabilir bir işlemle olmakta ve lümeden transmukozal hücreye taşınmada taşıyıcı kullanıldığı bildirilmektedir (8, 28, 78, 126). Şayet reseptör veya taşıyıcı bölge için iyonlar arasında bir yarışma söz konusu oluyorsa, yukarıdaki çalışmalarda kullanılan total iyon konsantrasyonunun ( $Fe$  ya da  $Zn$  için) 25 mg'ı aşması, insanlar için yarışmanın başladığı saturasyon noktasını göstermektedir (3, 118). Ancak, Payton ve arkadaşlarının çalışması bu korelasyonun dışında kalmaktadır (93). Bu nedenle yaklaşık 25 mg olarak belirlenen bu kritik miktarın altında, yetişkin barsağında demir ve çinkonun emilebileceği yeterli bölgelerin olduğu ileri sürülmektedir (121).

İnsanlarda demir ve çinko arasındaki etkileşmeye bağlı olarak gelişen klinik ve epidemiyolojik gözlemler, pekçok çalışmada ortaya konmuştur. Mahloudji ve arkadaşları (75), demir fazlalığının çocukların büyüme ve gelişmelerini engellediğini bildirmişlerdir.  $Fe/Zn$  oranı 6/1 olan mamalarla beslenen bebeklerin gelişimlerinin 2 / 1 olan mamalarla beslenen gruptan daha az olduğu, aynı zamanda plazma çinko seviyelerinin de azaldığı bildirilmiştir (134).

Gebelerde demir atılımı fazla olduğu için, bu durumun çinko üzerine yapacağı etkiyi araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların üçünde hamilelik süresince alınan demir miktarı ile plazma çinko konsantrasyonu

arasında ters bir ilişki bulunmuştur (14, 50, 84). Bir çalışmada ise hamilelik süresince demir alan kadınlarla almayanların serum çinko konsantrasyonları arasında önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (106).

İnsanlardaki klinik ve epidemiyolojik gözlemlerin büyük bir çoğunluğunda, çinko ile demir arasında bir etkileşimin olduğunu ancak bu etkileşimin Fe/ Zn oranının yüksek tutulduğu durumlarda ortaya çıktığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda da zaten bu oran oldukça yüksek tutulduğu için, insanlardaki bu bulguları desteklemektedir.

Kalsiyum ve demir elementlerinin, sığınlarda çinko emilimi ve dokulardaki çinko dağılımına yaptığı etkiler yukarıda tartışılmış olup, kalsiyum ve demir ile çinko arasındaki etkileşmeyi belirleyen aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

1.İnce barsaklardaki çinko emiliminde, kalsiyum ve demir mineralleri, çinko ile yarışmaya girmektedir.

2.Bu yarışmaya bağlı olarak Ca-eksik ve Fe-eksik hayvanlarda çinko emilim ve retansiyonu artarken, yüksek ve çok yüksek kalsiyum ve demir alan gruplarda azalmaktadır.

3.Ca-eksik ve Fe-eksik beslenen grupların ağırlıkları, fazla çinko emilimi nedeni ile artarken, yüksek ve çok yüksek Ca ve Fe alan grupların ağırlıklarında, çinko eksikliğine dayalı azalma meydana gelmiştir. Her ne kadar bu ağırlık değişimleri istatistiksel açıdan önemli değilse de

beslenme süresinin uzatılmasının, hayvanların ağırlıklarını daha fazla etkileyeceği düşüncesindeyiz.

4.İnce barsağın duodenum, jejunum ve ileum bölgelerindeki çinko ve Zn-65 dağılımında diyetteki kalsiyum ve demire bağlı değişiklikler meydana gelmiştir. Ca ve Fe-eksik grupların çinko ve Zn-65' inde artma, Ca ve Fe-yüksek ve çok yüksek alan gruplarınsında ise azalma bulunmuştur. En belirgin farklılık ise duodenumdadır. Bu durum mineral-mineral etkileşiminin en fazla duodenumda olduğunu düşündürmektedir.

5.Beyin, böbrek ve karaciğer dokularının çinko ve Zn-65 miktarları, diyetteki kalsiyum ve demir oranından etkilenmiştir. Karaciğer bu durumdan en fazla etkilenen dokudur.

6.Kandaki Zn-65 aktivitesi Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda artmış diyetteki Ca ve Fe oranı artırıldığında ise azalmıştır.

Kalsiyum ve demirin çinko emilimi üzerine yaptığı bu olumsuz etkinin, özellikle fazla kalsiyum ve demir alımını gerektiren ve Ca / Zn oranı ile Fe / Zn oranını kalsiyum ve demir lehinde bozan özel durumlarda (örneğin, süt çocukları ya da hamilelerde) göz önünde bulundurulması gerektiği düşüncesindeyiz.

## 7.ÖZET

Çalışmada sütten yeni kesilmiş 35 adet Swiss albino sıçan kullanılmıştır. Her grupta 5 adet olacak şekilde 7 gruba ayrılan hayvanların başlangıç ağırlıkları belirlendikten sonra çelik kafeslere yerleştirilmiştir. Kontrol grubu hayvanlara içerisinde çinko, demir ve kalsiyumu normal olan bazal diyet, deney gruplarına ise değişik oranlarda kalsiyum ve demir içeren diyetler verilmiştir. 15 gün süreyle beslenen sıçanların her birine 2  $\mu\text{Ci}$ ' lik Zn-65 intramusküler olarak enjekte edildikten sonra, 4 gün süreyle feçes ve idrarları toplanmıştır. Elde edilen çinko ve Zn-65 değerlerinden faydalanılarak çinkonun yüzde emilim ve retansiyonu hesap edilmiştir. Ayrıca kan ve dokulardaki çinko ve Zn-65 dağılımları değerlendirilmiştir.

15 günlük beslenme periyodu sonundaki hayvanların ağırlık ortalamaları, beslenmeden önceki değerlerle karşılaştırıldığında, kontrol, Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda ağırlık artışı, diğerlerinde ise ağırlık kaybı dikkati çekmiştir. Fe-çok yüksek grubun dışında bu değişiklikler önemli bulunmamıştır ( $p < 0.05$ ). Diyetteki Ca ve Fe miktarına bağlı olarak feçesle çinko ve Zn-65 atılımındaki farklılıklar, Zn-65 emilim eğrisinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Ca-eksik ve Fe-eksik grupların emilim oranında 4 gün süreyle kontrole göre azalma, Ca ve Fe yüksek ve çok yüksek alan gruplarda ise artma meydana gelmiştir ( $p < 0.001$ ). Retansiyon yüzdesindeki değişiklikler de çinkonun yüzde emilim eğrisindeki değişikliklere paralel bulunmuştur.

Duedenum, Jejunum ve ileum gibi barsak bölgelerinin çinko ve Zn-65 dağılımları, Ca-eksik ve Fe-eksik gruplarda artarken, diğer gruplarda azalma göstermiştir. Bu değişiklikler duedenum bölgesi dışında önemli bulunmamıştır. Karaciğer dokusu hariç böbrek ve beyin dokularının totalindeki çinko ve Zn-65 dağılımlarında bütün gruplarda önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir. Çinko dağılımı dokuların gramı başına ifade edildiğinde ise Ca eksik grubun böbrek çinko muhteviyatında artma, Ca-yüksek ve çok yüksek alanlarda ise azalma dikkati çekmiştir. Beyin dokusundaki çinko ve Zn-65 dağılımı da Ca ve Fe eksik ve yüksek alanlarda böbrek dokusundaki ile paralellik göstermektedir. Kandaki Zn-65 miktarı da yukarıdaki bulguları desteklemektedir.

Sonuç olarak diyetteki Ca / Zn ve Fe / Zn oranlarındaki değişiklikler, çinko emilimi ile dokulardaki dağılımı üzerinde önemli etkiler oluşturmaktadır. Çinko ile kalsiyum ve demir arasında mineral-mineral etkileşimi olmakta, bu da en çok ince barsağın duedenum bölgesinde meydana gelmektedir.

## 7.SUMMARY

35 weaning Swiss albino rats were subjected in these experiments. The animals were divided into seven groups consisting five rats in each group. After the initial body weights of the animals were determined, they were placed in stainless steel cages. The control group was fed on basal diet with adequate levels of zinc, iron and calcium while the experimental diets containing different levels of calcium and iron ad libitum for fifteen days. On the 16th day animals were injected intramuscularly 2  $\mu$ Ci/ rat Zn-65 dissolved in saline. Immediately after the injection, each of the rats was transferred into stainless steel metabolism cages separately. Feces and urine were collected quantitatively for a period of four days. The absorption and retention percentages were calculated by using feces and urine zinc and Zn-65 values. Also, distribution of the zinc and Zn-65 contents in the blood and organs were determined.

An increase in the post feeding period body weights were observed in the control, Ca-deficient and Fe-deficient groups., whereas a decrease was found in the others. However, these changes were not significant in none of the groups except the Fe-very high one ( $p < 0.05$ ). The differences in the loss of zinc and Zn-65 in the feces caused important changes in Zn-65 absorption curve depending on the Ca and Fe amounts of the diets. Low Ca and Fe very significantly decreased the absorption percentage ( $p < 0.001$ ) but there was an increase in Ca and Fe high and very high groups ( $p < 0.001$ ). The retention percentage changes were found parallel to the changes in the absorption percentage curve.



Zinc and Zn-65 distribution of duodenum, jejunum and ileum increased in calcium deficient and Fe-deficient groups while decreased in the others. However, these changes were significant only for duodenum. In none of the groups, total zinc and Zn-65 distributions of the kidney and brain did not change significantly except the liver tissues. When the zinc distribution expressed per gram of dry organ an increase in the kidney zinc content in the Ca-deficient group but a decrease in the Ca-high and very high groups was observed. In experimental groups, the differences in zinc and Zn-65 distribution expressed per gram of dry organ in the brain tissue were same as in the kidney. The blood Zn-65 amount also supports these finding ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ).

As a result, changes in dietary Ca/ Zn and Fe/ Zn ratios have important effects on the absorption and its distribution in tissues. A mineral-mineral interaction occurs between zinc and calcium, and zinc and iron more frequently in the duodenum.

## 8. KAYNAKLAR

1. Adham NF, Song MK. Effect of calcium and copper on zinc absorption in the rat. **Nutr. Metab.**, 24:281-290, 1980.
2. Agget PJ. Physiology and metabolism of essential trace elements. **Clin. Endocrinol. Metab.**, 41:7, 197-208, 1983.
3. Aggett PJ, Crofton RW, Khin C, Guozdenovic S, Guozdanovic D. The mutual inhibitory effect on their bioavailability of inorganic zinc and iron. In: **Zinc deficiency in human subjects**, Prasad A, Çavdar AO, Brewer GJ, Aggett PJ (eds), Alan R. Liss, New York, 1983, 117-124.
4. Babcock AK, Henkir RI, Aamodt RL, Toster DM, Berman M. Interaction between transport of zinc and other solutes in human intestine. **Metabolism.**, 31:335-347, 1982.

5. Beardsley DW. Growth and chemical studies of zinc deficiency in the baby pig, **Am. J. Physiol.**, 252: G 825-G 831, 1958.
6. Bellis DB, Philip J Mc L. Effect of zinc calcium and phosphorus on the skin and growth of pigs. **J. Sci. Food Agr.**, 8:119-127, 1957.
7. Berry RK, Bell MC, Grainger RB, Buescher RG. Influence of dietary calcium and zinc on calcium-45, phosphorus-32 and zinc-65 metabolism in swine. **J. Animal Sci.**, 20:433-439, 1961.
8. Bettger WJ, O'Dell BL. A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembrans. **Life Sci.**, 28:1425-1438, 1981.
9. Bieri JG, Stoewsand GS, Briggs GM, Phillips RW, Woodward JC, Knapka JJ. Report of the American Institute of Nutrition. Ad. Hoc. Commite on Standarts or Nutritional Studies, **J. Nutr.**, 107:1340-1348, 1977.
10. Blalock TL, Dunn MA, Cousins RJ. Invivo interactions of cadmium with copper, zinc and iron. **J. Nutr.**, 118:222-228, 1988.
11. Bonilla E. Flameless atomic absorption spectrophotometric determination of manganase in rat brain and other tissues. **Clin Chem.** 24:471-474, 1978.
12. Brewer GJ, Hill GM, Prasad AS, Cossack ZT, Rabbani P. Oral zinc therapy for Wilson's disease. **Ann. Intern. Med.**, 99:314-320, 1983.

13. Buthieau AM, Autissier N. Effects of manganese ions on thyroid function in rat. **Arch. Toxicol.**, 54:243-246, 1983.
14. Campbell-Brown M, Ward RJ, Haines AP, North WRS, Abraham R, Mc Fayden IR. Zinc and copper in asian pregnancies- Is there evidence for a nutritional deficiency?. **Br. J. Obstet. Gynecol.**, 92:975-985, 1985.
15. Carpez A, Fairweather-Tait SJ. The effect of heat treatment and particle size of bran on mineral absorption in rats. **Br. J. Nutr.**, 48:467-475, 1982.
16. Casey CE, Waliavens PA, Hambidge KM. Availability of zinc: Loading test with human milk, cows milk and infant formules. **Pediatrics**, 68:394-397, 1981.
17. Casey CE, Walidvens PA, Hambidge KM. Zinc absorption and plasma response. **Am. J. Clin. Nutr.**, 34:1444-1449, 1981.
18. ChuaphilM. Effect of zinc on cells and biomembrans. **Med. Cll. Nutr. Am.** 60:799-810, 1976.
19. Cho CH, Chen SM, Young TK. Effects of zinc and cholesterol on serum lipoproteins and the liver in rats. **Life Sci.**, 44:1929-1936, 1989.
20. Coombs TL. The distribution of zinc in the oystrea edulis and its relation to enzymatic activity and to other metals. **Mar. Biol.**, 12:170-176, 1972.

21. Cousins RJ. Theoretical and practical aspects of zinc uptake and absorption. **Adv. Exp. Med. Biol.**, 249:3-12, 1989.
22. Cousins RJ. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: Special reference to metallothionein and ceruloplasmin., **Physiol. Rev.**, 65:238-309, 1985.
23. Cunnone SC. Role of zinc in lipid and fatty acid metabolism and in membranes. **Pro. Food Nutr. Sci.**, 12:151-188, 1988.
24. Dauncey MJ, Shaw JCL, Urman J. The absorption and retention of magnesium, zinc and copper by low birth weight infants fed pasteurized human breast milk. **Pediatr. Res.**, 11:991-998, 1977.
25. Davies NT, Nightingale R. The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole body retention of tin, copper, iron and manganese in rats. **Br. J. Nutr.**, 34:243-258, 1975.
26. Davies NT, Olpin SE. Studies on the phytate zinc molar content in diets as a determinant of Zn availability to young rats. **J. Nutr.**, 41:591-603, 1979.
27. Davies NT. Studies on the absorption of zinc by rat intestine. **Br. J. Nutr.**, 43:189-203, 1980.
28. Davies NT, Williams RB. The effect of pregnancy and lactation on the

- absorption on zinc and lysine by the rat duodenum insitu. **Br. J. Nutr.**, 38:417-423, 1977.
29. Davis PM, Norris LC, Kratzer FH. Interference of soy protein with the utilization of trace minerals. **J. Nutr.**, 77:217-223, 1962.
30. Dennes E, Tupper R, Wormall A. Studies on zinc in blood. **Biochem. J.**, 82:466-476, 1962.
31. Drews LM, Keis C, Fox HM. Effect of dietary fiber on copper, zinc and magnesium utilization by adolescent boys. **Am. J. Clin. Nutr.**, 32:1893-1897, 1979.
32. Evans GW, Johnson PE. Determination of zinc availability in foods by the extrinsic label technique. **Am. J. Clin. Nutr.**, 30:873-890, 1977.
33. Evans GW, Johnson EC. Zinc absorption in rats fed a low protein diet and a low proetin diet supplemented with tryptophan or picolinic acid. **J. Nutr.**, 110:1076-1080, 1980.
34. Evans GW, Johnson EC. Effect of iron, vitamin B-6 and picolinic acid on zinc absorption in the rat. **J. Nutr.**, 111:68-75, 1981.
35. Fairweather-Tait SJ, Wright JA. The influence of previous iron intake on the estimation of bioavailability of Fe from a test meal given to rats. **Br. J. Nutr.**, 51:185-191, 1984.

36. Fairweather-Tait SJ, Wright JA. Zinc metabolism in pregnant and lactating rats and the effect of varying iron: Zinc in the diet., **Br. J. Nutr.**, 52:205-213, 1984
37. Flanagan PR, Haits J, Valberg LS. Comparative effects of iron deficiency induced by bleeding and a low iron diet on the intestinal absorptive interactions of iron, cobalt, manganese, zinc, lead and cadmium. **J. Nutr.**, 110:1754-1763, 1980.
38. Flanagan PR, Haits J, Valberg LS. Zinc absorption, intraluminal zinc and intestinal metallothionein levels in zinc-deficient and zinc-replete rodents. **J. Nutr.**, 113:962-972, 1983.
39. Forbes RM, Yohe M. Zinc requirement and balance studies with the rat. **J. Nutr.**, 70:53-57, 1960.
40. Forth W. Absorption of iron and chemically related metals invitro and invivo: The specificity of an iron binding system in the intestinal mucosa of the rat. In: **Trace element metabolism in animals**, Mills CF (ed), Scotland, 298-310, 1970.
41. Forth W, Rummel W. Iron absorption. **Physiol. Rev.**, 53:724-792, 1973.
42. Fournier MP, Digaud A. Effects chez le rat de l'ingestion simultanée de lactose et de Zn-56 sur l'absorption et la rétention de cet élément. **Acad Sci.** 269:2001-2003, 1969.

43. Forbes RM. Nutritional interactions of zinc and calcium. **Fed. Proc.**, 19:643-647, 1960.
44. Forbes RM. Ecretury patterns and bone depoziotion of zinc, calcium and magnesium in the rat as influenced by zinc deficiency, EDTA and lactose, **J. Nutr.**, 74:194-200, 1961.
45. Ghishan FK, Stroop S, Mencely R. The effect of lactose on the intestinal absorption of calcium and zinc in the rat during maturation. **Pediatr. Res.**, 16: 566-568, 1982.
46. Golden BE, Golden MHN. Plasma zinc, rate of weight gain and energy cost of tissue deposition in children recovering from severe malnutrition a cow's milk or soya protein based diet. **Am. J. Clin. Nutr.**, 34:892-899, 1981.
47. Gordon DT. Interaction of iron and zinc on bioavailability of each element in the rat. **Ted. Proc.**, 42:1184, 1983.
48. Grebe G, Martinez-Torres C, Layrisse M. Effect of meals and ascorbic acid on the absorption of a therapeutic dose of iron as ferrous and ferric salts. **Curr. Ther. Res.**, 17:382-388, 1975.
49. Gruden N, Momcilovic B. Zn-65 transport in the duedenum and jejunum of rats fed milk enriched with iron. **Nutr. Rep. Int.**, 19:483-489, 1981.



50. Hambidge KM, Krebs NF, Jacobs MA, Favier A, Guyette L, Ikle DN. Zinc nutritional status during pregnancy: A longitudinal study. **Am. J. Clin. Nutr.**, 85:367-374, 1983.
51. Hamilton DL, Bellamy JEC, Valberg JD, Valberg LS. Zinc, cadmium and iron interaction during intestinal absorption in iron-deficient mice. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 56:384-388, 1978.
52. Hempe JM, Cousins RJ. Relationship of Zn-65 absorption kinetics to intestinal metallothionein in rats. **FASBER J.**, 2: A 865- A 869, 1988.
53. Heth DA, Becker WM, Hoekstra WG. Effect of calcium, phosphorus and zinc on zinc-65 absorption and turnover in rats fed semi-purified diets. **J. Nutr.** 88:331-374, 1965.
54. Heth DA, Hoekstra WG. Zinc-65 absorption and turnover in rats. I. A procedure to determine zinc-65 absorption and the antagonistic effect of calcium in a practical diet. **J. Nutr.**, 85:367-374, 1965.
55. Hill CA, Matrone G. Chemical parameters in the study of *invivo* and *invitro* interactions of transition elements. **Fed. Proc.**, 29:1474-1481, 1970.
56. Hoodley JE, Leinart AS, Cousins RJ. Kinetic analysis of zinc uptake and serosal transfer by vascularly perfused rat intestine. **Am. J. Physiol.**, 252:6825-6831, 1987.

- 57.Hoadley JE, Leinart AS, Cousins RJ. Relationship of Zn-65 absorption kinetics to intestinal metallothionein in rats: Effects of zinc depletion and fasting. **J. Nutr.**, 118:497-502, 1988.
- 58.Hoadley JE, Cousins RJ. Effects of dietary zinc depletion and food restriction on intestinal transport of cadmium in the rat. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 180:296-302, 1985.
- 59.Hoekstra WG, Lewis PK, Phillips PH, Grummer RH. The relationship of parakeratosis, supplemental calcium and zinc to the zinc content of certain body components of swine. **J. Animal. Sci.**, 15: 752-764, 1956.
- 60.Honson LE. Calcium and zinc in swine. Parakeratosis. **Minnesota Swine Feeders Day Bulletin.**, 47:H 143-H 150, 1956.
- 61.House WA, Welch RM, Van Campen DR. The effect of phytic acid on the absorption distribution and endogenous excretion of zinc in rats. **J.Nutr.**, 112:941-950, 1982.
- 62.Huker AM, Gershoff SN. Effects of dietary zinc and calcium on the retention and distribution of zinc in rats fed semipurified diets. **J. Nutr.**, 100:949-954, 1970.
- 63.Ismail-Beigi F, Reinhold JG, Faraji B, Abadi P. Effects of cellulose added to diets of low and high fiber content upon the metabolism of calcium, magnesium, zinc and phosphorus by man. **J. Nutr.**, 107:510-520, 1977.

64. Johanning GL, O'Dell BL. Effect of zinc deficiency and food restrictions in rats on erythrocyte membrane zinc, phospholipid and protein content. **J. Nutr.**, 119:1654-1660, 1989.
65. Koo SI, Lee CC. Compositional changes in plasma high-density lipoprotein particles in marginally zinc-deficient male rats. **Am. J. Clin. Nutr.**, 47:120-127, 1988.
66. Kowarski S, Blair-Stanek CS, Schacter D. Active transport of zinc and identification of zinc binding protein in rat jejunal mucosa. **Am. J. Physiol.**, 266:401-407, 1974.
67. Kratzer FH, Vohra P. **In chelates in nutrition**, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 1986.
68. Krebs NF, Hambidge KM, Hageman RJ, Peirce PL, Johnson KM, English JL, Miller LL, Fennessey PV. Effect of pharmacological doses of folate on zinc absorption and status. In **Nutrient Availability**, Cambridge, Royal Society of chemistry, 1989.
69. Lewis PK, Hoekstra WG, Grummer RH, Phillips PH. The effect of certain nutritional factors including calcium, phosphorus and zinc on parakeratosis in swine. **J. Animal. Sci.**, 15:741-751, 1956.
70. Lewis PK, Hoekstra WG, Grummer RH. Restricted calcium feeding versus zinc supplementation for control of parakeratosis in swine, **J. Animal. Sci.**, 16:578-588, 1957.

71. Likuski HJA, Forbes RM. Mineral utilization in the rat: effects of calcium and phytic acid on the utilization of dietary zinc. **J. Nutr.**, 85:230-234, 1965.
72. Lo GS, Steinke FH, Ting BTG, Langharbani M, Young VR. Comparative measurements of zinc absorption in rats with stable isotope Zn-70 and radioisotope Zn-65. **J. Nutr.**, 111:2236-2240, 1981.
73. Lonnerdal B, Keen CL, Hendrickx AG, Golub MS, Gershwin E. Influence of dietary zinc and iron on zinc retention in pregnant rhesus monkeys and their infants. **Obstet. Gynecol.**, 75:369-374, 1990.
74. Luecke RW, Hoeter JA, Brammell WS, Schmidt DA. Calcium and zinc in parakeratosis of swine. **J. Animal Sci.**, 16:3-1, 1957.
75. Mahloudji M, Reinhold JG, Haghasenass M, Ronagy HA, Spivey-Fox MR, Halsted JA. Combined Zinc and iron supplementation of diets of 6- and 12 years old school children in Southern Iran. **Am. J. Clin. Nut.**, 28:721-725, 1975.
76. Meadows HJ, Ruse W, Smith MF, Day J, Keeling PWN, Scopes JW, Thompson RPH, Bloxam DL. Zinc and small babies. **Lancet**, 2:1135-1137, 1981.
77. Menard MP, Mc Cormick C, Cousins J. Regulation of intestinal metallothionein biosynthesis in rats by dietary zinc. **J. Nutr.**, 111:1353-1361, 1981.

78. Menard MP, Cousins J. Zinc transport by brush border membrane vesicles from rat intestine. **J. Nutr.**, 113:1434-1442, 1983.
79. Mc Donald JT, Marges S. Wine versus ethanol in human nutrition. IV. zinc balance. **Am. J. Clin. Nutr.**, 33:1090-1102, 1980.
80. Mc Kenzie-Parnell JM, Wilson PD, Spears GFS. Effect of iron supplementation on zinc status and the outcome of pregnancy. In: **Trace element metabolism in Man and animals-b**, Hurley C, Keen L, Lonnerdal B, Rucker RB (Eds), New York, Plenum Publishing Co., 1988, 65-80.
81. Milne DB, Canfield WK, Mahalko JR, Sandstead HH. Effect of oral folic acid supplements on zinc, copper and iron absorption and excretion. **Am. J. Clin. Nutr.**, 39:535-539, 1984.
82. Momcilovic B, Kello D. The effect of milk enriched with iron on Zn-65 absorption. **Nutr. Rep. Int.**, 14:651-657, 1977.
83. Morris ER, Ellis R. Effect of dietary phytate / zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semi-purified diets. **J. Nutr.**, 110: 1037-1045, 1980.
84. Mukherjee MD, Sandstead HH, Ratnapakhi MP. Maternal zinc, iron, folic acid and protein nutriture and outcome of human pregnancy. **Am. J. Clin. Nutr.**, 40:496-507, 1984.

85. National research council, nutrient requirements of domestic animals. Nutrient requirements of laboratory animals, 3. rev. ed., **National academy of sciences**, Washington, DC, 1978, 20-25.
86. Norton DS, Heaton EW. Distribution of copper and zinc among protein fractions in the cytoplasm of rat tissues. **J. Inorg. Biochem.** 13:1-9, 1980.
87. Oberleas D, Muhrer ME, O'Dell BL. The availability of zinc from foodstuffs. In Prasad AS (Ed) "**Zinc metabolism**" Springfield, Charles C. Thomas, 1966, 225-238.
88. Oberleas D, Prasad AS. Factors affecting zinc homeostasis. In Prasad AS (Ed): "**Trace elements in human health and disease**. Vol.1. Zinc and copper" New York, Academic Press, 1975, 155-162.
89. O'Dell BL, Yohe JM, Savage JE. Zinc availability in the chick as affected by phytate, calcium and ethylenediamine-tetra-acetate. **Povet. Sci.**, 43:413-419, 1964.
90. O'Dell B, Browning JD, Reeves PG. Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. **J. Nutr.**, 117:1883-1889, 1987.
91. Oelshlegel FJ, Brewer GJ. Absorption of pharmacological doses of zinc: "**Zinc metabolisms: Current aspects in health and disease**" Prasad AS, Brewer GJ (Eds), New York; Alan R. US, 1977, 299-311.

92. Pallouf J, Kirchgessner M. Zinc status in depletion and repletion and its relation to vitamins and trace minerals. In: **Trace element metabolism in animals-2**, Hoekstra WG, Suttie JW, Ganter HE, Mertz W (eds), University Park Press, Baltimore, 1974, 45-87.
93. Payton KB, Flanagan RP, Stinson EA, Chodirker DR, Chamberlain MJ, Valberg IS. Technique for determination of human zinc absorption from measurement of radioactivity in a fecal sample or the body. **Gastroenterology**, 83:1246-1270, 1982.
94. Pecoud A, Dunzel P, Shelling JL. Effect of foodstuffs on the absorption of zinc sulfate. **Clin. Pharmacol. Ther.**, 17:469-474, 1975.
95. Picciano MF, Calkins EJ, Garnick JR, Deering RH. Milk and mineral intakes of breast fed infants. **Acta Paediatr. Scand.**, 70:139-144, 1981.
96. Pollac S, George JN, Reba RC, Kaufman RM, Crosby WA. The absorption of nonferrous metals in iron deficiency. **J. Clin. Invest.**, 44:1470-1473, 1965.
97. Prasad AS, Oberlas D, Miller ER, Si Jecki RW. Biochemical effects of zinc deficiency: Changes in activities of zinc-dependent enzymes and ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid content of tissues. **J. Lab. Clin. Med.**, 77:144-152, 1971.
98. Prasad AS. **Deficiency of zinc in human health and disease**, New York, American Press, 1976, 1-40.

114. Solomons NW, Jacob RA, Pineda O, Viteri FE. Studies on the bioavailability of zinc in man II. Absorption of zinc from organic and inorganic sources. **J. Lab. Clin. Med.**, 94, 335-343, 1979.
115. Solomons NW, Jacob RA. Studies on the bioavailability of zinc in humans: Effects of heme and nonheme iron on the absorption of zinc. **J. Clin. Nutr.**, 34:475-482, 1981.
116. Solomons NW. Factors affecting the bioavailability of zinc. **J. Am. Diet. Assoc.** 80:115-120, 1982
117. Solomons NW, Pineda O, Viteri F, Sandstead HH. Studies on the bioavailability of zinc in humans: Mechanism of the intestinal interaction of nonheme iron and zinc. **J. Nutr.**, 113:337-349, 1983.
118. Solomons NW, Pineda O, Viteri F, Sandstead HH. Studies on the bioavailability of zinc in humans. VI. International interaction of tin and zinc. **Am. J. Clin. Nutr.**, 37:566-571, 1983.
119. Solomons NW. Competitive mineral-mineral interactions in the intestine. Implications for zinc absorption in humans. In Inglett GE (Ed) **"Nutritional Bioavailability of Zinc"** ACS Symposium Series Washington DC, American Society Press, 1983, 247-271.
120. Solomons NW, Cousins RJ. In **absorption and malabsorption of**



**mineral nutrients.** Solomons NW, Rosenberg IH (eds), Alan R. Liss, New York, 1984, 125-197.

121. Solomons NW. Competitive interactions of iron and zinc in the diet; consequences for human nutrition. **J. Nutr.**, 116:927-935, 1986.
122. Southon S, Wright AJA, Fairweather-Tait SJ. The effect of combined dietary iron, calcium and folic supplementation on apparent Zn-65 absorption and zinc status in pregnant rats. **Br. J. Nutr.**, 62:415-423, 1989.
123. Spencer H, Vankinscott V, Lewis I, Samachson J. Zinc-65 metabolism during low and high calcium intake in man. **J. Nutr.**, 86:168-177, 1965.
124. Spencer H, Osis D, Kromer L, Norns C. Intake, excretion and retention of zinc in man. In Prasad AS (Ed) "**Trace elements In human health and disease. Vol:1. Zinc and Copper**" New York, Academic Press, 1976, 345-361.
125. Spencer H, Kramer L, Norns C, Osis D. Effect of calcium and phosphorus on zinc metabolism in man. **Am. J. Clin. Nutr.**, 40: 1213-1218, 1984.
126. Steel L, Cousins J. Kinetics of zinc absorption by lumenally and vascularly perfused rat intestine. **Am. J. Physiol.**, 248:646-653, 1985.

127. Stevenson JW, Earle IP. Studies on parakeratosis in swine. **J. Animal Sci.**, 15:1036-1045, 1956.
128. Suso FA, Edwards HM. Ethylenediaminetetraacetic acid and Zn-65 binding by intestinal digesta, intestinal mucosa and blood plasma. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 138:157-162, 1971.
129. Suso FA, Edwards HM. Binding of EDTA, histidine and acetylsalicylic acid to zinc-protein complex in intestinal content, intestinal mucosa and blood plasma. **Nature**, 236:230-232, 1972.
130. Sümbüllüoğlu K. **Biyoistatistik**, İstanbul, Çağ Matbaası, 121-123, 1978.
131. Tucker HF, Salman WD. Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 88:613-616, 1955.
132. Vallee BL, Wacker WEC. **Metalloproteins**. Neuroth H, Hill R (eds) New York, Academic Press, 1970, 1-192.
133. Wallwork JC, Johnson LK, Milne DB, Sandstead HH. The effect of interaction between dietary egg white protein and zinc on body weight, bone growth and tissue trace metals in the 30. day-old rat. **J. Nutr.**, 113:1307- 1311, 1983.
134. Walravens PA, Hambidge KM. Growth of infants fed a

- zinc-supplemented formula. **Am. J. Clin. Nutr.**, 29:1114-1121, 1976.
135. Wapnir RA, Khani DE, Bayne MA. Absorption of zinc by the rat ileum effects of histidine and other low-molecular-weight ligands. **J. Nutr.**, 113:1345-1354, 1983.
136. Wastney ME, Aamodt RL, Rumble WF, Henkin RI. Regulatory mechanisms for intestinal transport of zinc and copper. **Am. J. Physiol.** 251, R398-R408, 1986.
137. Weigand E, Kirchgessner M. Radioisotope dilution technique for determination of zinc absorption in vivo, **Nutr. Metabol.**, 20:307-313, 1976.
138. Weigand E, Kirchgessner M. Zn-65 labeled tissue zinc for determination of endogenous fecal zinc excretion in growing rats. **Nutr. Metabol.** 20:314-320, 1976.
139. White HS, Gynne TN. Utilization of inorganic elements by young women eating iron-fortified foods. **J. Am. Diet. Assoc.**, 59:27-33, 1971.
140. Whiting F., Bezeau M. The calcium, phosphorus and zinc balance in pigs as influenced by the weight of pig and the level of calcium, zinc and vitamin D in the ration, **Can. J. Animal. Sci.**, 38:109-117, 1958.

99. Prasad AS. Clinical, biochemical, nutritional spectrum of zinc deficiency in humans subjects. *Nutr. Rev.*, 41:197-208, 1984.
100. Prasad AS. Clinical, endocrinological and biochemical effects of zinc deficiency. *Clin. Endocrin. Med.*, 14:3,567-589, 1985.
101. Sahagian BM, Harding-Barlow I, Perry HM. Transmural movements of zinc, manganese, cadmium and mercury by rat small intestine. *J. Nutr.*, 9: 291-300, 1967.
102. Sandstead HH, Klevay L, Jacob R. Requirements for Zn, Cu, Fe, Ca, Mg and P. **Book of abstracts.** San Diego, CA; XII International Congress of Nutrition, August 16-21, 84, 1981.
103. Sandström B, Arvidsson B, Cederblad A, Björn-Rasmussen E. Zinc absorption from composite meals. The significance of wheat extraction rate, zinc, calcium and protein content in meals based on bread. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:739-745, 1980.
104. Sandström B, Cederblad A, Lönnerdal B. Zinc absorption from human milk, cow's milk and infant formulas. *Am. J. Dis. Child.*, 157:726-729, 1983.
105. Scott ML, Zeigler TR. Evidence for natural chelates which aid in the utilization of zinc by chicks. *J. Agr. Food Chem.*, 11:123-130, 1963.

106. Sheldon WL, Aspillaga MO, Smith PA, Lind T. The effect of oral iron supplementation on zinc and magnesium levels during pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 32:892-898, 1985.
107. Simmer K, James L, Thompson RPH. Are iron-folate supplements harmful? *Am. J. Clin. Nutr.*, 45:122-125, 1987.
108. Smith KT, Tallia ML, Cousins RJ. Identification of albumin as the plasma carrier for zinc absorption by perfused rat intestine. *Biochem J.*, 184:627-633, 1979.
109. Smith KT, Cousins J. Quantitative aspects of zinc absorption by isolated, vascularly perfused rat intestine. *J. Nutr.*, 1110:316-323, 1980.
110. Smith CH, Bidlack WR. Interrelationship of dietary ascorbic acid, iron and copper in female guinea pigs. *J. Nutr.*, 110:1393-1408, 1980.
111. Snedeker SM, Smith SA, Greger JL. Effect of dietary calcium and phosphorus levels on the utilization of iron, copper and zinc by adult males. *J. Nutr.*, 112:136-143, 1979.
112. Solomons NW. Biological availability of zinc in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 35:1048-1050, 1982.
113. Solomons NW, Jacob RA, Pineda O, Viteri FE. Studies on bioavailability of zinc in man. III. effect of ascorbic acid on zinc absorption. *Am. J. Clin. Nutr.*, 32:2495-2499, 1979.