

4256

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇİNKO EKSİKLİĞİNİN,
KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM AKTİVİTESİ VE
KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Nurcan DURSUN

KAYSERİ-1988

**T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi**

Ö N S Ö Z

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 sonsuz teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

Ayrıca, bilimsel olanaklarından faydalanmamı sağlayan Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Çiğdem ÖZESMİ'ye, yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet KARATAY ve bölüm arkadaşlarım Araş. Gör. Bekir ÇOKSEVİM, Araş. Gör. Asuman GÖLGELİ'ye, atomik absorpsiyon ile çinko ölçümlerinde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Latif ELÇİ ve Araş. Gör. Recep SARAYMEN'e teşekkür ederim.

Ş E K İ L L E R

Sayfa

Şekil 1. Karbonik Anhidraz İzoenziminin Üç Boyutlu Yapısı	20
2. Plazma ve Eritrositlerde Oksijen ve Karbondioksit Arasındaki Fizyolojik Olaylar.....	24
3. Böbreklerde Asit-Baz Dengesinin Korunmasında Karbonik Anhidrazın Rolü.....	24
4. Plazma Çinko Standart Eğrisi.....	35
5. Eritrosit İçi Çinko Standart Eğrisi.....	36
6. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Vücut Ağırlıkları... 42	
7. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Plazma Çinko Değerleri.....	46
8. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosit İçi Çinko Değerleri.....	46
9. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesindeki Değişiklikler.....	50
10. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesindeki Değişiklikler.....	50
11. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosit Sayıları..	56
12. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Hematokrit Değerleri.....	56
13. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Hemoglobin Değerleri.....	59
14. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Lökosit Sayıları.....	59
15. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Serum Sodyum	

Değerleri.....63

▪ **16. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Serum**

Potasyum Değerleri.....63



T A B L O L A R

	<u>Sayfa</u>
Tablo	
I. İnsan ve Hayvanlardaki Çinko Metalloenzimleri....	6
▪ II. Çinko Eksik Diyetin Bileşimi.....	28
▪ III. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Yücut Ağırlıkları.....	41
▪ IV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Yücut Ağırlıklarının İstatistiksel Karşılaştırılması..	41
▪ V. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Plazma Çinko Değerleri	44
▪ VI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Plazma Çinko Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması.....	44
▪ VII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Eritrosit İçi Çinko Değerleri	45
▪ VIII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosit İçi Çinko Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması.....	45
▪ IX. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Karbonik Anhidraz Aktivite Değerleri.....	48
▪ X. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Karbonik Anhidraz Aktivite Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması.....	48
▪ XI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosite Düşen Karbonik Anhidraz Aktivite Değerleri.....	49
▪ XII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosite	

	DüŖen Karbonik Anhidraz Aktivite Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması.....	49
▪	XIII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Çeşitli Kan Parametre Değerleri.....	52
▪	XIV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Eritrosit Sayıları.....	54
▪	XV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosit Sayılarının İstatistiksel Karşılaştırılması.....	54
▪	XVI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Hematokrit Değerleri.....	55
▪	XVII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Hematokrit Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması.....	55
▪	XVIII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Hemoglobin Değerleri.....	57
▪	XIX. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Hemoglobin Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması.....	57
▪	XX. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Lökosit Sayıları.....	58
▪	XXI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Lökosit Sayılarının İstatistiksel Karşılaştırılması.....	58
▪	XXII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Serum Sodyum Değerleri.....	61
▪	XXIII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Serum Sodyum Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması.....	61
▪	XXIV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Serum Potasyum Değerleri.....	62

- **XXV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Serum Potasyum Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması....62**



İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ VE ANAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. ÇİNKO.....	4
2.1.1. Çinko Metabolizması.....	5
2.1.2. Çinko Eksikliğinin Nedenleri.....	9
2.1.2.1. Çinko Eksik Diyetle Beslenme.....	9
2.1.2.2. Fazla Alkol Alımı.....	10
2.1.2.3. Barsak Emiliminin Bozulması.....	10
2.1.2.4. Böbrek Hastalıkları.....	11
2.1.2.5. Genetik Hastalıklar.....	11
2.1.3. Çinko Eksikliğinin Vücuttaki Etkileri.....	12
2.1.3.1. Büyümeye Etkisi.....	12
2.1.3.2. Cinsiyet Hormonlarına Etkisi.....	12
2.1.3.3. Glukoz Metabolizmasına Etkisi.....	13
2.1.3.4. Enzimler Üzerine Etkisi.....	13
2.1.3.5. Nükleik Asit Metabolizmasına Etkisi.....	14
2.1.3.6. Membranlar Üzerine Etkisi.....	15
2.1.3.7. Bağışıklık Sistemine Etkisi.....	16
2.1.3.8. Kollajen Metabolizmasına Etkisi.....	17
2.2. KARBONİK ANHİDRAZ ENZİMİ.....	18
2.2.1. Karbonik Anhidrazın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	19
2.2.2. Karbonik Anhidrazın Vücuttaki Dağılımı.....	21
2.2.3. Karbonik Anhidrazın Fonksiyonları.....	22

2.2.4. Karbonik Anhidrazın İnhibitörleri.....	25
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	27
3.1. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	29
3.2. KARBONİK ANHİDRAZ ENZİMİNİN ELDE EDİLMESİ.....	30
3.3. KARBONİK ANHİDRAZ AKTİVİTE TAYİNİ.....	30
3.3.1. Kullanılan Reaktifler.....	30
3.3.2. Yöntemin Değişim Katsayısı.....	31
3.4. PLAZMA VE ERİTROSİT İÇİ ÇİNKO TAYİNİ.....	33
3.5. KAN PARAMETRELERİ VE SERUM ELEKTROLİT DEĞERLERİNİN TAYİNİ.....	34
4. BULGULAR.....	38
4.1. MORFOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER.....	38
4.2. VÜCUT AĞIRLIĞINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER.....	40
4.3. PLAZMA VE ERİTROSİT İÇİ ÇİNKO DEĞERLERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER.....	43
4.4. KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER.....	51
5. TARTIŞMA.....	64
6. ÖZET.....	76
7. SUMMARY.....	78
KAYNAKLAR.....	80

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çinko, mikroorganizmaların, bitkilerin, hayvanların ve insanların yaşamı için elzem kabul edilen elementlerden biridir. İnsanlarda çinko eksikliği ilk olarak 1963 yılında ortaya çıkarılmıştır. Bu hastalarda cücelik, hipogonadizm, hepatosplenomegali, pürüzlü ve kuru cilt, mental uyusukluk ve geofaji belirlenmiştir(66). Son 25 yılda, beslenme bozukluğuna bağlı çinko eksikliğinin dünyada oldukça yaygın olduğu anlaşılmıştır(68). Başta İran ve Mısır olmak üzere; Türkiye, Yugoslavya, Fas ve diğer gelişmekte olan ülkelerde insanlarda çinko eksikliği olduğu, çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir(1, 4, 15, 66). Tahılın fazla kullanıldığı diğer ülkelerde de çinko eksikliği ile ilgili vakalara rastlanabilmektedir(68).

Yaşlılıkta, hamilelikte, emziren annelerde ve alkoliklerde çinko eksikliği daha çok ortaya çıkmaktadır. Çinko eksikliğinin, fazla miktarda çinko alımını gerektiren büyüme dönemlerinde,

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

daha çok ortaya çıktığı görülmektedir. Çinko eksikliği, emilim bozukluğu gösteren hastalarda da rapor edilmektedir(70). Ameliyatlara, yanıklar, yaralanmalar, diyabet, karaciğer sirozu, nefrotik bozukluk, orak hücre anemisi idrarla çinko atılımını artırarak, çinko eksikliği oluşturmaktadır(1, 64-68, 80).

KEILIN ve MANN, eritrosit içi karbonik anhidraz enziminin %33 çinko içerdiğini ve eritrositlerin içerisindeki çinkonun büyük bir kısmının da bu enzimin yapısında olduğunu bildirmeleriyle, çinkonun karbonik anhidraz enzimi için önemi anlaşılmıştır(37). Ancak, çinko eksik diyetle beslenmenin kandaki karbonik anhidraz enzim aktivitesi üzerindeki etkileri fazla araştırılmamıştır. Mevcut çalışmaların bulguları arasında da çelişkiler vardır (17, 51, 69, 70, 71).

Bilindiği gibi karbonik anhidraz enzimi çeşitli vücut sıvılarında ve birçok doku ve organda bulunmaktadır. Özellikle eritrositler tarafından O_2 ve CO_2 taşınmasında ve vücutta asit-baz dengesinin korunmasında çok önemli görevleri vardır. Yapısında büyük oranda çinko içeren bu enzimin, çinko eksikliğinden etkilenmemesi uzak ihtimaldir. Gelişmekte olan ülkelerde, özellikle beslenme bozukluğuna bağlı olarak gelişen çinko eksikliğinin, enzimin aktivitesinde, dolayısıyla fonksiyonlarında yaratacağı etkilerin incelenmeye değer olduğuna inanılmaktadır. Hem bu nedenle hem de bazı araştırma sonuçlarındaki çelişkilere bir açıklık getirmek amacıyla bu çalışmayı planladık. Bunun için, 30 gün süreyle çinko eksik diyetle beslenen

ratlarda, eritrosit içi karbonik anhidraz aktivitesindeki değişiklikler incelenmiştir. Ayrıca inko eksikliğinin, eritrosit ve lökosit sayıları, hemoglobin ve hematokrit değerleri gibi bazı kan parametreleri ile serum elektrolit düzeyleri üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Böylece inko eksikliğine bağlı olarak enzim aktivitesindeki değişikliğin vücutta, özellikle kanda yaratabileceği etkilerin önemi ortaya konmuş olmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. ÇİNKO

Çinko insan yaşamı için elzem olan elementlerden biridir. Çinkonun vücutta birçok metabolik işlevleri olup, çeşitli enzimlerin yapısında bulunduğu bilinmektedir.

İlk defa 1869 yılında, *Aspergillus niger*'in büyümesi için çinkonun gerekli olduğunun gösterilmesiyle biyolojik sistemlerdeki önemi anlaşılmıştır (61). 1926 yılında SOMMER ve LIPMAN daha büyük bitkilerin gelişmesinde çinkonun önemini bildirmişlerdir (74). Memelilerde çinkonun önemi ilk defa TODD ve arkadaşlarının 1934 yılında ratlar üzerinde yaptıkları çalışmalarla ortaya konmuştur. Ratların büyümcesi ve sağlıklı olması için çinkonun vazgeçilmez olduğu gösterilmiştir (82).

Eritrosit içi karbonik anhidraz enziminin, bir çinko metalloenzimi olduğu ise 1940 yılında MANN ve KEILIN tarafından tespit edilmiştir (37). Çinkonun bulunduğu metalloenzimlerin

sayısı daha sonraki yıllarda gittikçe artmıştır. Çinkonun yer aldığı metalloenzimlerin sayısı 1979 yılında 70'e yaklaşırken, 1984 yılında bu rakam 200'ün üzerinde görünmektedir(1). Bilinen başlıca çinko metalloenzimleri Tablo I'de verilmiştir.

2.1.1. Çinko Metabolizması

Normal 70 kg'lık genç bir insanda vücuttaki çinko miktarı yaklaşık 1,5-2,0 gramdır. Karaciğer, böbrek, kemik, retina, prostat ve kas gibi dokularda daha fazla oranda bulunmaktadır. Deri ve testis, çinko eksikliğine en duyarlı dokulardır ve insanda bu dokulardaki çinko içeriği tam olarak tayin edilememiştir(53, 64).

Erişkinde plazma çinko konsantrasyonu 80-130 µg/100 ml'dir. Serum çinko seviyesi bundan %16 daha fazladır. Erişkin kanındaki çinkonun yaklaşık %79-90'ı eritrositlerde, karbonik anhidraz enziminin bir komponenti olarak, %4'ü akyuvar ve trombositlerde, geri kalanı ise plazmada proteinelere bağlı olarak bulunur(18).

Çinko, plazmada en çok albumine bağlı olarak taşınmaktadır. Bunun dışında diğer proteinler, özellikle alfa₂-makroglobulin, transferrin, serüloplazmin, haptoglobin ve gammaglobulinler de önemli miktarda çinko bağlamaktadır. Proteine bağlı fraksiyonun yanında az miktarda çinko, plazmada ultrafiltre olabilen, lizin, sistein, threonin, glutamin ve histidin gibi amino asitlere bağlı

Tablo I. İnsan ve Hayvanlardaki Çinko Metalloenzimleri.

ENZİM	ENZİM NO.	BULUNDUĞU YERLER
Alkol dehidrogenaz	1.1.1.1	karaciğer, adipoz doku, akciğer
Glutamat dehidrogenaz	1.4.1.3	karaciğer, beyin, böbrekler, kalp kası
Malat dehidrogenaz	1.1.1.37	beyin, adipoz doku, karaciğer, pankreas
Laktat dehidrogenaz	1.1.1.27	beyin, adipoz doku, kalp kası, böbrekler, karaciğer, pankreas
Gliseraldehit-fosfat dehidrogenaz	1.2.1.13	kas
RNA polimeraz	2.7.7.6	karaciğer, böbrekler
DNA polimeraz	2.7.7.7	karaciğer, böbrekler
Alkalin fosfataz	3.1.3.1	kemik, mukoza, serum, böbrekler
Lösin aminopeptitaz	3.4.1.1	böbrekler
Karboksipeptitaz A	3.4.2.1	pankreas
Karboksipeptitaz B	3.4.2.2	pankreas
Dipeptitaz	3.4.3	böbrekler
AMP aminohidrolaz	3.5.4.6	kas
Karbonik anhidraz	4.2.1.1	eritrositler
Delta-Aminolevulinik Asit dehidrataz	4.2.1.24	karaciğer

olarak bulunmaktadır. Çinkonun çok az miktarı da iyonize sekildedir (1, 28, 62, 66, 76).

Mideye gelen çinkonun %20-30'u, henüz tam belirlenememiş bir mekanizma ile ince barsaklarda geri emilir. Bunun da büyük bir kısmı duodenumda olmaktadır. Diyetle alınan çinkonun absorbe edilen miktarı, diyetin karakterine, kalsiyum ve lif içeriğine, fitat (inozitol polifosforik ester) ve demir gibi iyonların varlığına ve plazma çinko seviyesine bağlıdır. Son zamanlarda prostoglandin E₂'nin sadece çinko bağlamadığı, aynı zamanda sıçanlarda intestinal mukozadan çinko taşınmasını kolaylaştırdığı da ileri sürülmüştür (68).

Çinkonun fırçamsı kenar membranından, intestinal hücre içine taşınması enerjiye bağımlıdır. İntestinal hücrelerde çinkonun bir kısmı plazmaya transfer edilirken, bir kısmı da intestinal mukoza hücrelerinde alıkonulmaktadır(1). Çinkonun, büyük bir kısmı yüksek moleküler ağırlıklı bir protein olan metallothionine bağlanmaktadır. Metallothionin, 61 amino asidi kapsayan tek polipeptit zincirinden ibarettir. Metallothionin sadece çinko bağlamaz, bakır, kadmium, civa, gümüş, altın ve bizmutla da birleşir. Deneysel çinko eksikliği oluşturulan hayvanlarda metallothionin sentezlenememektedir. Muhtemelen çinko, intestinal hücrede metallothioninin sentezi için sorumlu olan mRNA'nın regülatörüdür. Diyetteki çinko yeterliyse, çinkonun önemli bir kısmı plazmaya transfer edilir. Eğer fazlaysa, plazma çinko

konsantrasyonu ve metallothionin sentezi beraberce artar (1, 66, 68).

Normal şartlar altında idrarla ve terle çinko kaybı günde 0.1 mg olarak belirlenmiştir. Feçes ile yaklaşık günde 1-2 mg çinko ekstrasellüler kompartmandan lümene geçmektedir. Deneysel çalışmalar, çinkonun böbrek proximal tübülüslerinde sekresyona, distal tübülüslerinde ise geri emilime uğradığını göstermektedir (1, 12, 66).

İnsanlarda üç çeşit çinko zehirlenmesine rastlanıldığı rapor edilmiştir. Birincisi, çinko metal buharına maruz kalan endüstri işçilerinde görülmüştür. Pulmoner rahatsızlıklar, ateş, üşüme, bağırsak bozuklukları şeklinde belirtiler verdiği kaydedilmiştir. İkincisi, iki gün boyunca 12 gr. çinko sülfat alan 16 yaşındaki bir erkek çocukta görülmüştür. Bu zehirlenmede de, uyuklama, uyuşukluk, serumdaki lipaz ve amilaz enzim seviyelerinde artış belirlenmiştir. Üçüncü tip çinko zehirlenmesi ise, böbrek yetersizliği olan ve hemodiyalize devam eden bir hastada görülmüştür. Hemodiyaliz sıvısının galvanize bir kaptan verilmesi zehirlenmenin nedeni olarak belirlenmiştir (64).

Kadmium, arsenik ve kurşun gibi metallere kıyaslandığında, çinko zehirlenmesi en az olandır. Bazı araştırmacılar, çinko zehirlenmelerinin birçoğunun, kadmium, arsenik ve kurşun gibi metallere çinko ile bulaşması sonucu olabileceğini iddia etmektedirler (4, 64).

2.1.2. Çinko Eksikliğinin Nedenleri

Sularda ve besinlerde çinko elementinin fazla miktarda olması nedeniyle, insanlarda çinko eksikliğine az rastlanır. Ancak, çeşitli hastalıklarda ve beslenme bozukluğu olan toplumlarda önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır.

İnsanlardaki çinko eksikliğinden birçok faktör sorumlu tutulabilir.

2.1.2.1. Çinko Eksik Diyetle Beslenme

İnsanlarda besinsel çinko eksikliği yaygındır. İran, Mısır, Türkiye, Portekiz, Yugoslavya ve diğer ülkelerde besinsel çinko eksikliği ile ilgili vakalar kaydedilmiştir (66).

Türkiye'de kil yeme yaygın bir problemdir. Kil yiyenlerin çoğunda hem demir hem de çinko eksikliği görülmektedir. Bu tür vakalarda gözlenen büyüme gecikmesi ve hipogonadizmin nedeni çinko eksikliğine bağlanmaktadır. Diyete çinko eklendiğinde bu bozukluklar tamamiyle düzelmektedir (14, 15, 17, 66, 88).

Türkiye'de kırsal bölge insanların yetersiz beslenmeleri, çinko eksikliğinin temel nedenlerinden biridir. Alınan besinlerdeki fitatlar çinkoyu bağlar ve emilimi azaltır. Kepekli buğday ekmeğindeki selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi sindirilmeyen maddelerden dolayı çinko ve demir emilimi optimumun

altında kalmaktadır. Kalsiyum, kadmium ve fosfat gibi kelat yapıcı maddeler de çinko emilimini azaltır (66).

2.1.2.2. Fazla Alkol Alınması

Alkol, idrarla fazla miktarda çinko kaybına neden olmaktadır. Etki mekanizması tam bilinmemekle birlikte, böbrek tübülsleri üzerinde direkt etkili olabileceği bildirilmektedir. Alkolik kişilerde, çinkonun renal klirensindeki artışa bağlı olarak, serum çinko seviyesi de düşmektedir. Böylece renal çinko klirensinin, alkole bağlı kronik karaciğer hastalığı için klinik değerlendirmede önemli bir kriter olabileceği bildirilmektedir (4).

2.1.2.3. Barsak Emiliminin Bozulması

Yağlı dışkı çıkaran hastalarda (steatorrhoe) çinko eksikliği gözlenmiştir. Çinko, yağ ve fosfatlarla çözünmeyen kompleksler oluşturabilmektedir. Böylece, herhangi bir nedenle aşırı yağ alımı, çinko eksikliğine yol açabilmektedir. Barsak inflamasyonu olan hastalarda, barsak lümenindeki çinko-protein komplekslerinin terle dışarı atılması sonucu, plazma çinko seviyelerinin düştüğü bildirilmektedir (66). Barsak bölümlerinin kitlesel kaybı da çinko dengesini bozmaktadır. Mc CLAIN ve arkadaşları, lokal barsak iltihabı olan hastalarda serum çinko konsantrasyonunun düştüğünü göstermişlerdir (50).

2.1.2.4. Böbrek Hastalıkları

Kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda, plazma ribonukleaz aktivitesi ve plazma amonyum seviyelerinde artış olmaktadır. Ancak, saç, lökosit ve plazma çinko seviyelerinde azalma gözlenmektedir. Üremili hastalarda da plazma çinko seviyeleri önemli ölçüde düşük bulunmuştur (4, 45).

2.1.2.5. Genetik Hastalıklar

Orak Hücre Anemisi: Çinko eksikliği olanlarla orak hücre anemisi olan kişilerde bazı klinik bulgular benzer bulunmuştur. Ergenliğin gecikmesi, vücuttaki belirli bölgelerdeki kılların azlığı ile karakterize olan hipogonadizm, ağırlık kaybı, pürüzlü deri ve iştahsızlık bunların arasındadır (64). Orak hücre anemisi olan hastalarda saç, plazma, eritrosit ve nötrofil içi çinko seviyeleri düşük bulunmuştur. Ayrıca, bu hastalarda idrarla fazla miktarda çinko kaybı olmaktadır (5, 65).

Acrodermatitis Enteropatica: Otozomal, resesif ve ağır bir çinko eksikliği sendromudur. Genellikle, İtalyan, Ermeni ve İranlılarda görülmektedir. Çinkonun emiliminde kalıtsal bir bozukluk olduğu ileri sürülmektedir. Dermatolojik bulguları: oral, anal, genital bölgeler ve ekstremitelerde ilerleyen cerahatli siviceler ve kellik olarak belirtilmiştir (3, 12, 66, 73, 80).

2.1.3. Çinko Eksikliğinin Vücuttaki Etkileri

2.1.3.1. Büyümeye Etkisi

İnsanlarda çinko eksikliği, ilk defa 1961 yılında İranlı erkeklerde, PRASAD tarafından tespit edilmiştir. Bu hastalarda cücelik, anemi, hepatosplenomegali, pürüzlü ve kuru bir cilt, hipogonadizm en belirgin gözlemlerdir (66). Belirtilen bütün bu klinik bulguların demirle ilgili olmadığı gösterilmiştir. Çinko verilen grupta boy, ağırlık ve gonadal gelişimde artış olurken, anemi bulgularının değişmediği gözlenmiştir. Diğer yandan demir verilen grupta hemoglobin normal seviyesine gelirken, çinko verilen gruba kıyasla büyüme ve gonadal gelişimde belirgin bir düzelme olmamıştır (1).

2.1.3.2. Cinsiyet Hormonlarına Etkisi

Çinkonun gonadal fonksiyonlar üzerindeki etkisi, daha çok ratlarda çalışılmıştır. Çinko eksikliği olan hayvanlarda sentetik lüteinizan hormonu serbestleten hormonun (LH-RH) intravenöz uygulamasından sonra lüteinize hormon, follikül stimüle edici hormon ve testesteron ölçüldüğünde, serum LH ve FSH'nin yükselmiş ve testesteronun ise düşmüş olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, çinkonun testisler üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Muhtemelen çinko eksikliği durumunda, testiküler steroidogenesisin değişmesi nedeniyle gonadal fonksiyonların

bozulduğu sanılmaktadır (12, 68). Nitekim çinko noksanlığı yaratılan deney hayvanlarında spermatogenesisin bozulduğu bildirilmektedir (68).

2.1.3.3. Glukoz Metabolizmasına Etkisi

Çinko pankreasın β hücrelerinde insülinin sentezi, depolanması ve salınmasında rol oynamaktadır. Ayrıca, insülinin etkisini artırarak glukozun adipoz doku hücrelerine alınmasını artırmaktadır (68).

Çinko eksikliği nedeniyle cüce olan kişilerde yapılan oral glukoz tolerans testi, bu hastalarda glukoz emiliminin engellendiğini göstermiştir. Uygun miktarda insülin intravenöz verildiğinde glukoz toleransına cevap normal yada biraz daha hızlı olmuştur (1).

KINLAW ve arkadaşları, stabil tip II diyabetli hastalardaki çinko metabolizmasını incelemişlerdir. Bu hastalarda kontrollere göre serum çinko konsantrasyonlarının düşük, idrarla atılan çinkonun ise fazla olduğunu göstermişlerdir (39).

2.1.3.4. Enzimler Üzerine Etkisi

Çinkonun pekçok enzim için gerekli olduğu bilinmektedir. Hücrelerdeki çinko seviyesinin, çinko bağımlı bu enzimlerin aktivitelerini düzenlemek suretiyle, fizyolojik olayları kontrol

ettiği düşünölmektedir. Çinko atomu, metalloproteine kuvvetli, ayrılmaz bir parça şeklinde ve genelde enzimin aktif katalitik bölgesine bağlanarak, metalloenzimin stabilitesini de artırmaktadır (63). Son 10 yıl içerisinde, çinko eksik beslenen hayvanların testislerinde, kemiklerinde, özafagus ve böbreklerinde değişik çinko bağılı enzimlerin aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (32, 34, 60, 61, 63).

Enzim aktivitesindeki bu azalma, bütün dokularda aynı oranda olmamaktadır. Enzimlerin bu farklı duyarlılıkları, hem çeşitli çinko metalloenzimlerinin çinkoyu bağlama affiniteleri hem de etkilenen dokuların hücrelerinde çinkonun dönüşüm oranlarındaki değişikliklerin sonucu olduğu ileri sürölmüştür. Metalloenzimlerin aktivitelerindeki azalma oranı, çinkonun enzim yapısını korumada oynadığı fonksiyonel role de bağılı olabilmektedir (66).

2.1.3.5. Nükleik Asit Metabolizmasına Etkisi

Çinko, deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) sentezi için gereklidir. Çinko eksikliği oluşturulan pekçok çalışmada timidinin DNA'ya bağlanmasının bozulduğu gösterilmiştir. Bu etki, çinko eksikliğine adaptasyon için gerekli olan birkaç gün içinde gözlenmiştir. DNA sentezindeki bu erken azalmadan, deoksitimidin kinaz aktivitesindeki azalmanın sorumlu olduğu bildirilmiştir(60, 61, 66).Çabuk rejenere olan bağı dokusundaki RNA, DNA'ya nazaran çinko eksikliklerinden daha çabuk

etkilenmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda, çinko eksikliği olan hayvanların dokularındaki RNA ve DNA miktarlarındaki değişmeler, bu polinükleotitlerin katabolizmalarının artmasından ve biyosentezlerinin bozulmasından kaynaklandığı ispatlanmıştır (63, 68).

2.1.3.6. Membranlar Üzerine Etkisi

Plazma membranlarına bağlı bazı enzimler, membranların yapı ve fonksiyonlarını kontrol etmektedir. Bu enzimlerin aktivitelerinin de çinko tarafından kontrol edilebileceği düşünülmektedir. ATPaz ve fosfolipaz A₂ bu enzimler arasında olup çinko tarafından inhibe edilmektedir. Plazma membranında enerji gerektiren olayların düzenlenmesinde ve membran yapısının bütünlüğünün korunmasında bu enzimlerin rolü büyüktür (12).

Hem organel membranlarının hem hücre membranlarının yapısal bütünlüğünün korunmasında kalsiyum önemli rol oynamaktadır. Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda kalsiyumun hücre içi etkilerinin Kalmodulin tarafından düzenlendiği gösterilmiştir. Kalsiyumla aktive Kalmodulinin pekçok enzimi aktive etmek ve pekçok hücre içi olayı başlatmak için yeterli potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir. Araştırmalar, çinko-kalsiyum arasındaki antogonizmin, Kalmodulinin fonksiyonları üzerinde inhibitör etkisi yaratabileceğini göstermektedir (63, 68). Çinkonun eritrosit membranındaki kalsiyum-ATPaz'ı inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu enzim, kalsiyum pompası olarak çalışmakta ve

kalsiyumun aktive ettiği Kalmodulin tarafından aktive edilmektedir. Çinkonun, Kalmodulini inhibe etme mekanizması tam olarak açıklanamamıştır (68).

Eritrositlerde aşırı kalsiyum miktarının eritrosit membranları tarafından hemoglobin tutulmasına, dolayısıyla eritrositlerin büzülmesine neden olduğu bildirilmektedir. Bu olaylar da orak hücre anemisine yol açabilmektedir. Çinkonun, kalsiyumla rekâbet ederek kalsiyumun, membran üzerindeki bu etkisini inhibe ettiği bildirilmektedir (5, 65, 66, 68).

Ayrıca, pekçok hücre tipleri kalsiyum tarafından aktive edilirken, çinko tarafından inhibe edilmektedir. Çinkonun varlığı, mast hücrelerinden histamin salgılanmasını uyarmaktadır. Aynı zamanda, çinkonun kollajene etkisi ile trombosit agregasyonunu önlediği hem kollajen hem de epinefrin üzerindeki uyarıcı etkisiyle de serotonin salgılanmasını önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmektedir. Kalsiyum iyonlarının ise, mast hücrelerinden histamin salınması, trombosit agregasyonu ve fagositoz gibi olaylarda rol oynadığı bilinmektedir (1, 68).

2.1.3.7. Bağışıklık Sistemine Etkisi

Bazı enfeksiyonlar, bakteri toksinleri ve doku harabiyeti, polimorfonükleer lökositlerden "Lökosit Endojen Mediatör (LEM)" adı verilen bir faktörün salınmasına neden olmaktadır. Aktive olmuş makrofajlar ve granülositlerde yapılan düşük moleküler

ağırlıklı LEM, endojen pirojenlere (EP) benzemektedir (59). LEM'in salınmasından sonra çeşitli olaylar gelişmektedir. Bir saat içinde karaciğere hızlı bir amino asit akışı olurken, serum demir ve çinko seviyesi düşmektedir. Demir, muhtemelen, retikuloendotelial sistem tarafından tutulmaktadır. Çinko da karaciğer tarafından tutulup, bunu takiben alfa-1 asit glikoprotein, alfa-2 akut faz globulin ve heptoglobulinin sentez edildiği bildirilmektedir (59, 66, 68).

Kemik iliğinde nötrofillerin sentezinde de LEM'in rolü olmaktadır. LEM'in parantral enjeksiyonundan 8 saat sonra, kandaki nötrofil sayısının artışı bunu ispatlamaktadır. Sonuçta, miyokard enfarktüsü veya ateşli enfeksiyon gibi akut strese neden olan hastalıklarda plazma çinko konsantrasyonu düşmektedir (59).

Son çalışmalar, çinkonun bağışıklık sistemine etkisini ve lenfositik transformasyon için gerekli olduğunu açıkça ortaya koymuştur (68). Yıllardan beri, deney hayvanlarında çinko eksikliğinin, timus ve lenfoid dokularda atrofi ve lenfopeniye neden olduğu bilinmektedir. Çinko eksikliğinde nükleozid fosforilaz enzim aktivitesinin azalması, T-hücrelerinin fonksiyon bozukluğuna neden olabilmektedir (66).

2.1.3.8. Kollajen Metabolizmasına Etkisi

Çinko eksikliği olan kişilerde, çinko verilmesinin normal yara iyileşmesinde faydalı olduğu bilinmektedir. Bağ dokusunun

fibroz proteini olan kollajenin, iyileşmekte olan yaranın gerilme direncini sağladığı gösterilmiştir. Çinkonun, lizil oksidaz enzim aktivitesini inhibe ettiği saptanmıştır. Bu bakır metalloenzimi, kollajen proteini oluşturan polipeptitlerdeki kovalent çapraz bağlar için gerekli olan aldehit gruplarının oluşumunda yer almaktadır. Yara iyileşmesindeki çinkonun fonksiyonu günümüzde henüz tam olarak aydınlanmamıştır (56).

2.2. KARBONİK ANHİDRAZ ENZİMİ

Eritrositlerde karbonik anhidraz enziminin varlığı yaklaşık 50 yıldır bilinmektedir. İnsan eritrositlerinde bu enzimin iki ayrı moleküler yapıda olduğu ancak 30 yıl önce fark edilebilmiştir (27). Bu enzimler CA I ve CA II olarak adlandırılmış olup, CA I'in düşük aktiviteli, CA II'nin ise yüksek aktiviteli yapıya sahip olduğu bilinmektedir (2, 7, 25, 54).

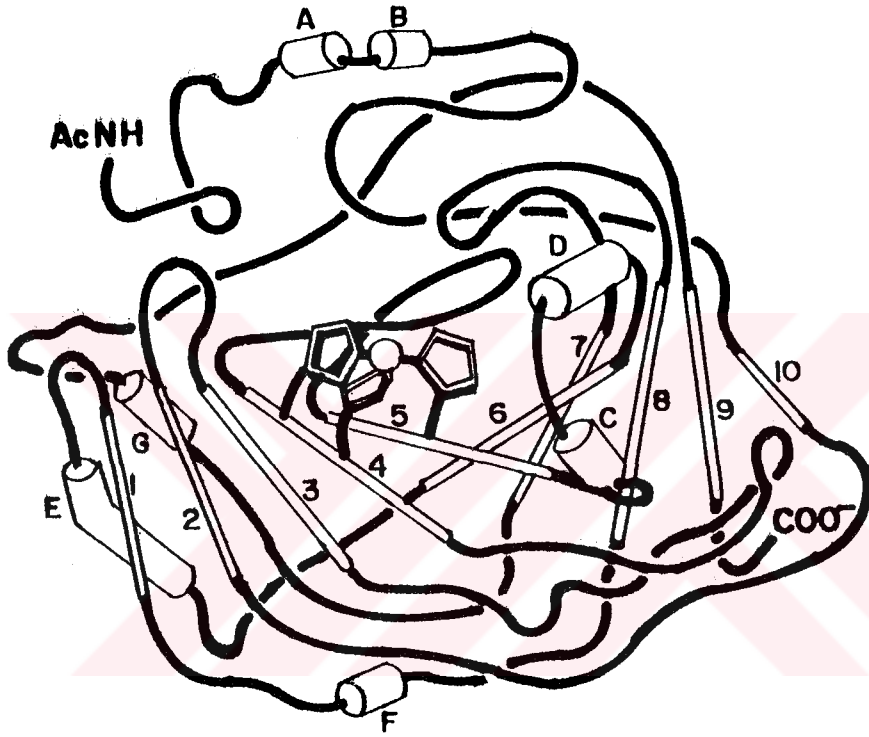
1976 yılına kadar karbonik anhidraz enziminin genetik yönden farklı, sadece iki izoenzimi olduğu kabul edilmekteydi. Daha sonraları, memeli kasında karbonik anhidraz aktivitesine sahip başka bir izoenzim tespit edilmiştir (30, 83). Bu izoenzimi CA I ve CA II'den ayıran özellik, karbonik anhidrazın klasik bir inhibitörü olan asetazolamidden kolayca etkilenmemesidir. CA I ve CA II yaklaşık 10^{-7} M asetazolamid konsantrasyonunda inhibe olurken, kas izoenzimi CA III, ancak 10000 kat fazla asetazolamid konsantrasyonunda (10^{-3} M) inhibe olabilmektedir. Aynı zamanda,

kas karbonik anhidrazının aktivitesi de diğerlerinden düşük bulunmuştur (11). Bu enzimin aktivitesi, eritrosit karbonik anhidrazı CA I'in %5'i kadardır. Fakat 28000 daltonluk moleküler ağırlığı, CA I izoenzimine yakındır (30). Bundan dolayı, kas karbonik anhidrazı, enzimin kendine özgü bir izoenzimi olarak kabul edilip, CA III olarak isimlendirilmiştir (9).

Son birkaç yıl içerisinde koyun parotit bezinde (23), kobay mitokondrisinde (21) karbonik anhidrazın farklı izoenzimlerine işaret eden çalışmalar bulunmaktadır. Bu izoenzimlerin ayrı genetik kodlarla kodlanıp kodlanmadığı veya CA I, CA II, CA III'ün translasyonundan sonra değişikliğe uğrayarak oluşup oluşmadığı bilinmemektedir. Gen farklılığının ürünü olarak görülen diğer bir izoenzim de sığır akciğer membranında bulunmuştur (85). Bu yeni keşfedilen karbonik anhidraz izoenzimi ilk membrana bağlı izoenzim olup, fonksiyonları konusunda tartışmalar devam etmektedir (11).

2.2.1. Karbonik Anhidrazın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Memelilerdeki izoenzimlerin ortalama molekül ağırlıkları 30000 dalton olarak belirlenmiştir (2, 7, 25, 54). Bir molekül enzime bir mol çinko atomu sıkıca bağlanmıştır. Memelilerdeki CA I ve CA II izoenzimlerinin izoelektrik PH noktaları genellikle türe göre değişmektedir.



Şekil 1. Karbonik Anhidraz Izoenziminin Uç Boyutlu Yapısı.

Çeşitli araştırmacılar insan eritrosit karbonik anhidraz enziminin kristal yapısı üzerinde çalışmalar yapmışlardır (8, 78, 87). Karbonik anhidraz enziminin 2,2 Å⁰luk üç boyutlu elipsoidal yapısı belirlenmiştir (Şekil 1).

Enzimin aktif bölgesindeki çinko atomu 94, 96 ve 119 nolu histidinler tarafından bağlanmıştır. Çinko bağlı bu üç histidin ve ona hidrojen bağlarıyla bağlı amino asitlerin (Ser-29, Glu-92, Glu-106, His-107, Glu-117, Thy-194, Thr-199, Trp-209, Asn-244) karbonik anhidraz enziminin katalitik mekanizmasından sorumlu olduğu bildirilmektedir (11, 47, 78, 83).

2.2.2. Karbonik Anhidrazın Vücuttaki Dağılımı

Çeşitli dokulardaki karbonik anhidraz enzimi, histokimyasal immünelektroforez yada floresans antikor ve peroksidaz boyama yöntemleri kullanılarak gösterilebilmektedir. CA II'nin genellikle vücuda çok yaygın dağılmış bir izoenzim olduğu düşünülmektedir. Bu izoenzim, hōbrek, beyin, kas, iç kulak, retina ve lens gibi dokularda mevcuttur (19, 21, 27, 33, 41, 44). Kas fibrillerinde CA II'nin bulunuşu ise tartışma konusudur (83).

CA I, çeşitli memeli eritrositlerinde yüksek konsantrasyonda olmasına rağmen, diğer dokularda sınırlı bir dağılıma sahiptir. CA III'ün ise iskelet kasına özgü bir enzim olduğu ve ratlarda kas dokusundaki tip I miyofibrillerinde yaygın bulunduğu gösterilmiştir (8, 11). Bu düşük aktiviteli CA III

izoenziminin, eritrosit ve karaciğer dokusunda da çok düşük seviyelerde olduğu bildirilmektedir . Dişi ratların karaciğerinde ise, erkeklerinkine oranla çok daha düşük seviyelerde bulunmaktadır (10).

Karbonik anhidrazın membran bağlı formu olan CA IV ise bugüne kadar sadece akciğer (85) ve böbrek (87) gibi dokularda tespit edilebilmiştir.

2.2.3. Karbonik Anhidrazın Fonksiyonları

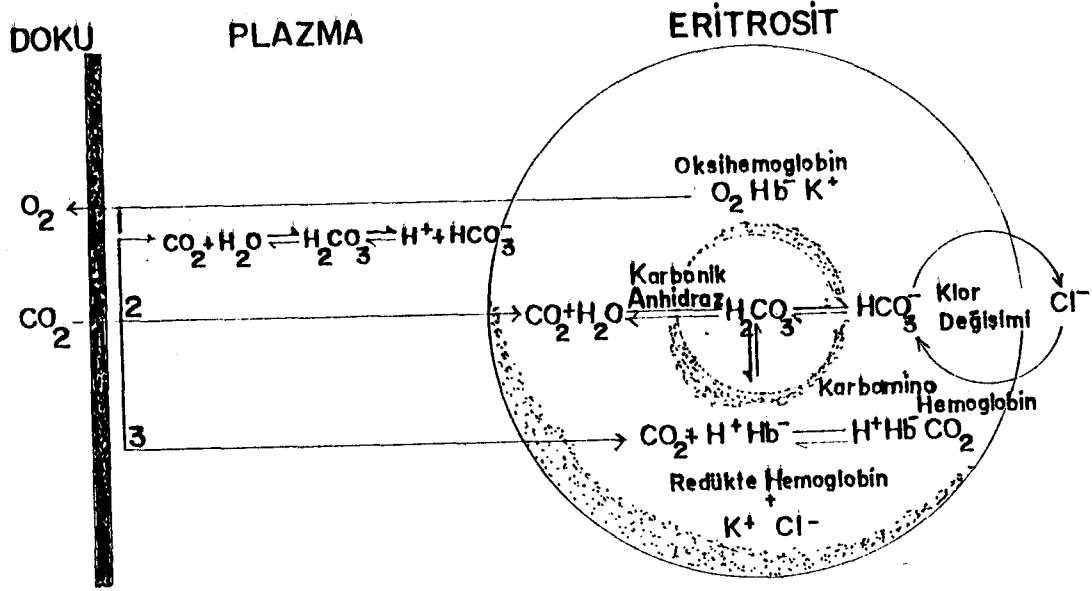
Dokulara gelen arter kanı fazla miktarda oksihemoglobin ve az miktarda CO_2 ihtiva etmektedir. Dokulardan geçerken oksihemoglobin, oksijeni dokulara vermekte, dokulardaki çözülmüş CO_2 ise kana geçmektedir. Plazmaya diffüze olan CO_2 burada üç olaya maruz kalmaktadır. CO_2 'in büyük bir kısmı plazmadan eritrositlerin içine diffüze olurken, bir kısmı da plazma proteinleri ile karbmino bileşiği oluşturmaktadır. Çok az bir bölümü ise plazmada kalıp, su ile birleşerek karbonik asidi (H_2CO_3) meydana getirmektedir (27).

Eritrosit içine diffüze olan CO_2 'in bir kısmı (%7) eritrosit içinde değişmeden kalırken, bir kısmı (%23) karbmino- CO_2 teşkil etmek için hemoglobin ile birleşmektedir. Büyük bir bölümü ise, (%70) su ile reaksiyona girerek, karbonik asit (H_2CO_3) oluşturmaktadır. Karbonik anhidraz enzimi, CO_2 ve H_2O arasındaki bu reaksiyonları 5000 kat hızlandırmaktadır. Plazmada

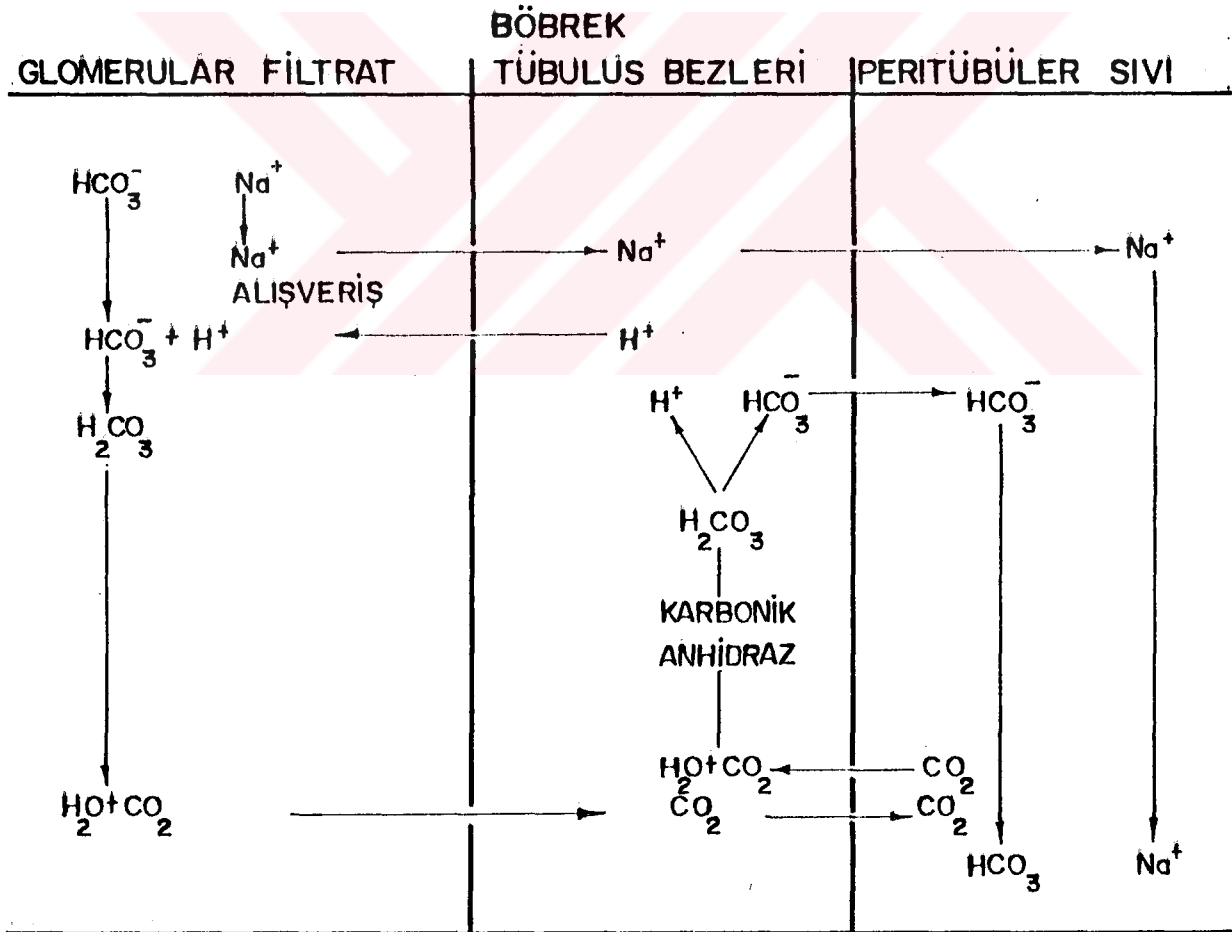
çok uzun zaman alan bu reaksiyon, eritrosit içerisinde kısa bir zamanda tam bir dengeye ulaşabilmektedir. Böylece kan, doku kapillerini terketmeden önce çok büyük miktarda CO_2 , eritrositlerde H_2O ile reaksiyona girebilmektedir. Karbonik anhidraz enzimi diğer enzimlerin yaptığı gibi, sadece dengeye varış hızını süratlendirmektedir (16, 27, 47). Şekil 2'de plazma ve eritrositlerdeki O_2 ve CO_2 arasındaki fizyolojik olayları şematize edilmiştir.

Karbonik anhidraz enzimi, eritrositlerden başka böbrek korteksinde, proksimal ve distal tübul ile toplayıcı kanal hücrelerinin lümene bakan kısımlarında yoğun olarak bulunmaktadır (8). Tübul hücrelerindeki CO_2 , karbonik anhidraz enziminin etkisiyle H_2O ile birleşerek karbonik asit (H_2CO_3) oluşturmaktadır. Karbonik asit de H^+ ve bikarbonat (HCO_3^-) iyonlarına ayrılmaktadır. Hidrojen iyonları, sodyum-hidrojen zıt transport mekanizmasıyla tübulu geçerken, sodyum iyonları tübulus lümeninden hücrelerin içine geçmektedir (Şekil 3).

Sodyum iyonları buradan, aktif transportla ekstrasellüler sıvıya taşınmaktadır. Bikarbonat iyonları da pasif olarak sodyum iyonlarını izlemektedir. Karbonik anhidraz enzimi, CO_2 ve H_2O arasındaki reaksiyonu katalize etmek suretiyle, böbreklerden bikarbonat emilimini ve aynı zamanda, idrarın asitleştirilmesini sağlamaktadır. Böylece ekstrasellüler sıvının asit-baz dengesinin korunmasına da yardımcı olmaktadır (16).



Şekil 2. Plazma ve Eritrositlerde Oksijen ve Karbondioksit Arasındaki Fizyolojik Olaylar.



Şekil 3. Böbreklerde Asit-Baz Dengesinin Korunmasında Karbonik Anhidrazın Rolü.

Karbonik anhidraz enzimi gözde, processus ciliarisde aköz hünerun oluşumunda da rol oynamaktadır (41). Enzimin inhibisyonu bu salgının azalmasına neden olabilmektedir. Midedeki salgı hücrelerinde H^+ iyonu sekresyonu da aynı reaksiyonlarla oluşmaktadır. Fakat mide salgı hücrelerindeki karbonik anhidraz izoenzimi asetazolamid ve benzeri ilaçlarla belirgin derecede inhibe edilememektedir (36, 47).

Kas fibrillerinde bol miktarda bulunan karbonik anhidraz (CA III) izoenzimi, kas hücrelerinde iyonik dengenin sağlanması ve korunmasında büyük role sahiptir (35, 52).

Böbreklerdeki membrana bağlı CA IV izoenziminin de bikarbonat reabsorpsiyonunda rol oynadığı bilinmektedir. Membran lipitleri içinde çözülmüş halde bulunan bu enzimin, monovalent katyonlar için seçici kanalların oluşumunu sağladığı tahmin edilmektedir (87).

2.2.4. Karbonik Anhidrazın İnhibitörleri

Karbonik anhidraz enzimini sülfanamidlerin inhibe ettiği, ilk defa MANN ve KEILIN tarafından ortaya konulmuştur (37). Daha sonraları enzimi inhibe eden başka güçlü inhibitörler de bulunmuştur. Bu inhibitörlerin hem memeliler hem de bitkiler ve mikroorganizmalardaki karbonik anhidraz enzimlerini inhibe ettiği kaydedilmektedir (47, 48). Ancak bu inhibitörlerin etkileri dokulara göre değişmektedir (8).

Sülfanamid grubu inhibitörler, zayıf natriüretik ve diüretik etki göstermektedir. Fonksiyonel sodyum atılım oranını %2-4'e kadar çıkarabilmektedirler (8).

Asetazolamid, mide-barsak kanalından absorbe edilebilen bir sülfanamid grubu inhibitör olarak bilinmektedir. Diğer sülfanamid grubu inhibitörlerden olan metazolamid, etoksizolamid ve diklofenamidin ise, asetazolamide göre bir üstünlükleri saptanamamıştır. Diüretik olarak kullanılan sülfanamidler, tübul hücrelerindeki karbonik anhidraz enzimini inhibe ederek, idrar hacminin ve idrarla sodyum ve bikarbonat atılımının artmasına neden olmaktadır. İdrarla klor atılımında ise azalmaya yol açmaktadır (36, 48).

3. YÖNTEH VE GEREÇLER

Çalışmada deney hayvanı olarak , ağırlıkları 200-240 gr. olan toplam 60 adet 4-5 aylık erkek Swiss-albino ratlar kullanıldı. Kontrol grubunu oluşturan 30 adet rat, normal pelet yem ve musluk suyu ile beslenirken, deney grubunu oluşturan ratlar 30 gün süreyle çinko eksik diyetle beslendi ve deiyonize su verildi. Çinko eksik diyetin bileşimi Tablo II'de gösterilmiştir (77).

Kontrol edilemeyen çinko bulaşmasını minimum düzeye indirebilmek için ratlar, distile suyla yıkanmış ve kurulanmış çelik kafeslere yerleştirildi. Diyete başlamadan önce ratların vücut ağırlıkları tespit edildi. Su kapları, besin kapları ve kullanılan malzeme 24 saat 4N HNO₃ içinde bekletildikten sonra tekrar iki kez distile edilmiş deiyonize su ile yıkandı.

Ratların, günlük hazırlanan çinko eksik besinden istedikleri kadar yemelerine müsaade edildi. Suyun normal kokusunu vermesi için, sularına %0,014'lük NaCl eklendi. Suda

Tablo II. Çinko Eksik Diyetin Bileşimi.

Soya Proteini*	% 30
Glukoz	% 56,3
Tuz Karışımı**	% 4
Mısırozü Yağı	% 8
DL- Methionine	% 0,7
Vitamin Karışımı***	% 1,0

* Soya fasüyesinin öğütülmesiyle elde edilen soya proteini Na_4 -EDTA (Tetrasodyum Etilendiamin Tetraasetik Asit) ile muamele edilmiştir.

** Bazal Tuz Karışımı (gr/Kg):

CaCO_3 , 600; $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 220; K_2HPO_4 , 650; NaCl , 336; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 250; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 4,6; KI , 1,6; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,6.

*** Vitamin Karışımı:

Ca-pantothenat, 500 µg; p-aminobenzoik asit, 100 µg; riboflavin, 100 µg; tiamin-HCl, 300 µg; pyridoksin, 300 µg; nikotinik asit, 300 µg; menadiun, 250 µg; folik asit, 6 µg; biotin, 2,5 µg; vitamin B_{12} , 0,3 mg; kolin klorid, 10 mg; inositol, 5 mg; α -tokoferal, 1 mg; askorbik asit, 1 mg; vitamin A, 150 IU, vitamin D 15 IU.

eriyen vitaminler suyla, suda erimeyenler ise günlük besinlerine karıştırılarak verildi.

Kontrol ve deney grubu hayvanlar, 10'arlı üçer gruba ayrıldı. Birinci grup hayvanlar 10 gün, ikinci grup, 20 gün ve üçüncü grup 30 gün süreyle beslendi. Başlangıçta ve beslenme süresi boyunca her gruptaki hayvanın vücut ağırlıkları tespit edildi. Bu sürelerin sonunda hayvanlara eter anestezisi uygulanarak kan örnekleri alındı.

3.1. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Her hayvanın abdomeni insizyonla açılarak abdominal aortadan 8 ml kan örneği alındı. Alınan kan örneğinin 6 ml'si deiyonize edilmiş plastik tüpe ayrılıp, ağzı plastik kapakla kapatıldı. Geriye kalan 2 ml kan, eritrosit, lökosit sayımı, hemoglobin, hematokrit tayini ve serum elde etmek için kullanıldı.

Plastik tüpe alınan kan örneği 3000 rpm'de 20 dk. santrifüje edilerek plazması ayrıldı ve -20 °C'de saklandı. Paketlenmiş eritrositler ise, eşit hacimde serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile üç defa yıkandı. Her yıkama işleminden sonra 3000 rpm'de 20 dk. santrifüje edilerek dökelti atıldı. Yıkayıp paketlenmiş eritrositlere, eşit hacimde deiyonize su eklenerek eritrosit hemolizati elde edildi. Elde edilen eritrosit

hemolizatının 1 ml'si çinko tayini, 4 ml'si ise karbonik anhidraz enzimi elde etmek için kullanıldı.

3.2. KARBONİK ANHİDRAZ ENZİMİNİN ELDE EDİLMESİ

4 ml hemozilata 3,2 ml %40'lık etanol ve 1,6 ml kloroform ilave edilerek girdaplı karıştırıcıda hızla karıştırıldı. 20 dakika 3000 rpm'de sanrifüje edildi. Santrifügasyondan sonra en altta kloroform, ortada denatüre protein, en üstte enzim olmak üzere üç faz meydana geldi. En üstteki enzim fazı pastör pipetiyle steril bir tüpe aktarıldı (84).

3.3. KARBONİK ANHİDRAZ ENZİMİNİN AKTİVİTE TAYİNİ

Aktivite tayini için HAREN'in kolorimetrik yöntemi değiştirilerek uygulandı (46).

3.3.1. Kullanılan Reaktifler

Substrat: Substrat olarak CO_2 gazı ve H_2O kullanıldı. CO_2 gazı flowmetre ile dakikada 100 ml geçecek şekilde ayarlandı.

İndikatör: 12,5 mg fenol red, 0,0026 M NaHCO_3 içerisinde çözülerek indikatör olarak kullanıldı.

Tampon Çözelti: 20,6 ml 1 M NaHCO_3 'a 30 ml 1 M Na_2CO_3 ilave edilerek 100 ml'ye tamamlandı.

Bütün reaktifler çalışmadan önce buzdolabında, çalışma süresince ise buz içerisinde 5 °C'de muhafaza edildi. CO₂ gaz akışı stabilize edildikten sonra, reaksiyon ortamına sırasıyla 0,4 ml fenol red, 0,1 ml enzim örneği, 0,2 ml distile su eklendi. Reaksiyon karışımına 0,1 ml tampon çözelti hızla ilave edilirken, aynı anda kronometre çalıştırıldı. İndikatörün rengi kırmızıdan (PH=8,7) sarıya (PH=6,7) döndüğü anda kronometre ile geçen zaman saptandı. Karışım ortamındaki PH değişikliği, PH metre ile de kontrol edildi. Bu işlem her örnek için 3 defa tekrarlanarak ortalaması alındı (Resim 1).

CO₂ ihtiva eden bir eriyiğin PH değerinin 8,7'den 6,7 değerine düşmesi için gerekli zamanın yarısı kadar bir zamanda, aynı reaksiyonu sağlayan enzim aktivitesi bir ünite kabul edilerek, enzim aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (46, 49).

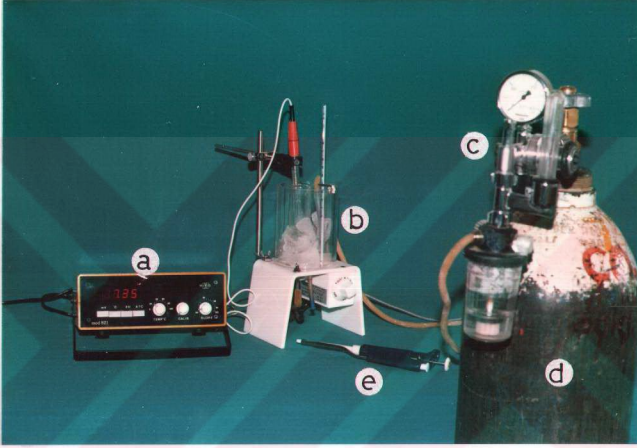
Enzim Aktivitesi (Ünite/ml enzim örneği) = $2(t_0 - t)/t$

t_0 : Enzimsiz reaksiyon süresi

t : Enzimli reaksiyon süresi.

3.3.2. Yöntemin Değişim Katsayısı (D.K)

Beş adet normal beslenen rattan elde edilen karbonik anhidraz enzim çözeltisinin karıştırılmasıyla hazırlanan havuzdan 5 ayrı örneğin enzim tayini yapılarak yöntemin değişim katsayısı



Resim 1. Karbonik Anhidraz Enzim Aktivite Tayinindeki Deney Düzenegi: (a) PH metre, (b) reaksiyon kabı, (c) Flow-metre , (d) karbondioksit tüpü ve (e) otomatik-mikro pipet.

[D.K= (SD/X)100] hesaplanmış ve D.K= %5.4 olarak bulunmuştur. D.K değerinin %0-10 arasında olması yöntemin kullanılabilir hassasiyette olduğunu göstermektedir.

3.4. PLAZMA VE ERİTROSİT İÇİ ÇİNKO TAYİNİ

Çinko tayini "Hittachi Z 8000 Model Polarize Zeeman" atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle yapıldı (79).

Plazma ve eritrosit içi çinko tayini için hazırlanan standartlar, örneklerden kaynaklanabilecek viskozite farkını ortadan kaldırmak için, %5'lik gliserollü ortam içinde hazırlandı.

Kalibrasyon grafiklerinin hazırlanması için gerekli olan standart çözeltiler 1 gr./l. olarak hazırlanmış stok çinko çözeltisinden uygun sulandırılmalar yapılarak hazırlandı. Sulandırma işlemleri için %5'lik gliserol kullanıldı ve otomatik mikropipet yardımıyla, sırasıyla 0,10, 0,15, 0,20, 0,30, 0,40, 0,60 mg/l'lik standart çözeltiler hazırlandı.

Eritrosit içi çinko konsantrasyonu, plazmaya nazaran daha yüksek olduğu için, eritrosit içi çinko tayininde 0,25, 0,50, 0,75, 1, 1,25 mg/l konsantrasyonlara uygun standart çözeltiler hazırlandı.

Hazırlanan standart çözeltiler atomik absorpsiyon spektrofotometresinde okunduktan sonra, bilgisayarlı yazdırıcıya

çizdirilen standart çinko eğrileri üzerinden örneklerin değerlendirilmesi yapıldı (Şekil 4 ve 5).

Derin dondurucuda saklanmış olan plazma ve eritrosit hemolizat örnekleri oda sıcaklığında çözüldükten sonra vortexle karıştırılarak homojen hale getirildi. 0,2 ml plazma örneğine 10 ml deiyonize su eklenirken, 0,2 ml eritrosit hemolizatına 2 ml deiyonize su eklenerek çinko tayinleri yapıldı.

Çalışmaya başlanırken kullanılan çinko tayin metodu güvenilirlik açısından incelendi. Bunun için plazma örneklerinin çinko tayinleri yapıldıktan sonra ölçülen değerlere göre örnekler küçükten büyüğe doğru sıralandı. Daha sonra, normal ve yüksek sınırdaki örneklerden birer plazma havuzu hazırlandı. Herbir plazma havuzundan 5 adet çinko ölçümü yapıldıktan sonra elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirildi (75). Değişme katsayısı (D.K), %1,20-2,72 olarak bulundu.

Bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde t testi uygulandı (75).

3.5. KAN PARAMETRELERİ VE SERUM ELEKTROLİT DEĞERLERİNİN TAYİNİ

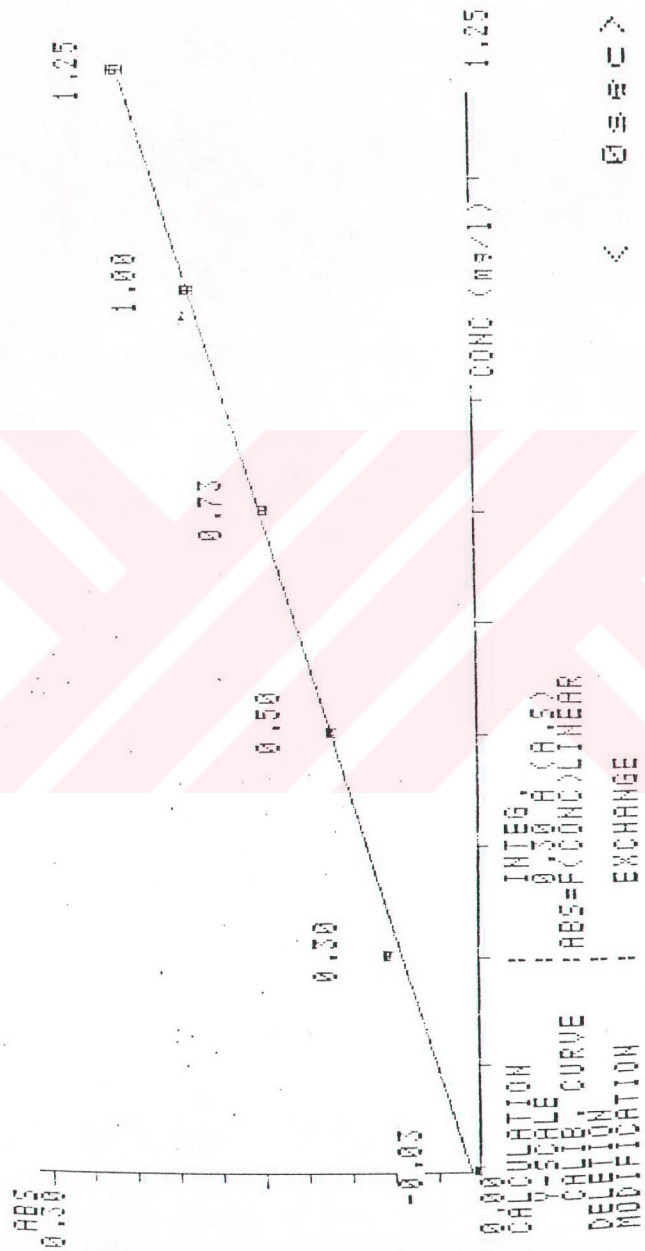
Kandaki eritrosit ve lökosit sayımı hemositometrik yöntemle tayin edildi. Hematokrit değeri mikro-hematokrit yöntemiyle yüzde olarak ölçüldü. Hemoglobin değerinin tayininde siyanhemoglobin

Zn CALIBRATION CURVE



Şekil 4. Plazma Çinko Standart Eğrisi

Zn CALIBRATION CURVE



Sekil 5. Eritrosit İci Çinko Standart Eğrisi

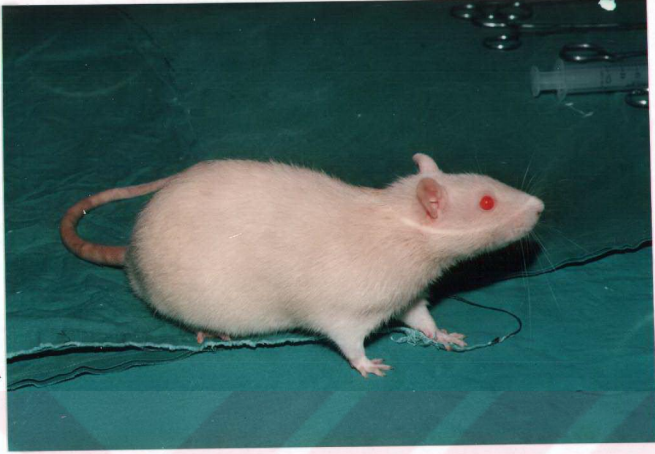
yöntemi kullanıldı. Bu yöntemle, ferrisiyanür ile hemoglobın, methemoglobine çevrildi ve potasyum siyanürle de siyanmethemoglobın oluşturuldu. Renk değişimi 540 m μ dalga boyunda Drabkins çözeltisi kör olarak kullanılmak suretiyle kolorimetrede okundu ve %gr cinsinden hemoglobın değeri saptandı (81). Serumdaki sodyum (Na⁺) ve potasyum (K⁺) değerleri ise alev fotometri yöntemiyle tayin edildi (89). Bunun için içerisinde 140 mEq/l sodyum ve 5 mEq/l potasyum ihtiva eden standart çözeltiler kullanıldı. 1/100 oranında sulandırılan serum örneklerindeki sodyum ve potasyum değerleri, mEq/l cinsinden standart çözeltilere karşılık okundu.

4. B U L G U L A R

4.1. MORFOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Çinko eksik diyetle 30 gün süreyle beslenen deney grubu ratların tüyleri, ikinci haftanın sonundan itibaren parlaklığını ve beyazlığını kaybederek mat bir görünüm kazanmıştır. Baş ve boyun bölgelerinde daha fazla olmak üzere tüyleri yer yer dökülmüştür. Çinko eksik diyet verilen ratların besin alımlarında ve aktivitelerinde azalma görülürken, günlük su içmeleri ise belirgin ölçüde artmıştır. Önceleri bazılarında görülen ishal, beslenmenin sonuna doğru deney grubunu oluşturan bütün ratlarda gözlenmiştir (Resim 2-A).

Normal diyetle beslenen kontrol grubu ratlarda ise, deney grubunda gözlenen bu tip değişiklikler saptanmamıştır. Hepsinin de beslenme süresince sağlıklı, parlak-beyaz tüylü oldukları, iştah ve aktivitelerinin normal olduğu gözlenmiştir (Resim 2-B).



Resim 2. Çinko Eksik ve Normal Diyet Verilen Ratların Otuz Günlük Beslenme Sonundaki Görünüşleri (A) Normal Beslenen Rat, (B) Çinko Eksik Beslenen Rat.

4.2. VÜCUT AĞIRLIĞINDAKİ DEĞİŞİKLİKLER

Gerek deney grubunu, gerekse kontrol grubunu oluşturan ratların ortalama vücut ağırlıkları başlangıçta birbirlerine yakındır. Normal diyetle beslenen kontrol grubunda vücut ağırlıkları, beslenme süresince artmış ve 30. günün sonunda, ilk güne oranla %8.22 artış göstermiştir. Çinko eksik diyetle beslenen deney grubunda ise %9.56 azalma olmuştur (Tablo, III).

Kontrol grubundaki hayvanların vücut ağırlıklarındaki artış normal büyüme ve gelişme süreçlerinin sonucudur. Ağırlıktaki bu artışlar 10, 20 ve 30. günlerde istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo IV). Deney grubu hayvanların vücut ağırlıkları ise, çinko eksik diyetle beslenmeye bağlı olarak azalmış ve bütün hayvanlarda büyüme ve gelişme geri kalmıştır. Ağırlıktaki azalma 10, 20 ve 30 gün süreyle beslenenlerde istatistiksel olarak da anlamlıdır (Tablo IV).

İki grubun vücut ağırlıklarındaki fark, 10, 20, 30 günlük beslenme periyotlarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo III, $F < 0,001$).

Otuz günlük beslenme süresince kontrol ve deney grubu hayvanların vücut ağırlıklarındaki değişiklikler Şekil 6'da da açıkça görülmektedir.

Tablo III. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Vücut Ağırlıkları ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, gr).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ			
	1. GÜN (n=30)	10. GÜN (n=30)	20. GÜN (n=30)	30. GÜN (n=30)
DENEY GRUBU	230 \pm 0,98	222 \pm 0,98	217 \pm 1,13	208 \pm 1,17
KONTROL GRUBU	231 \pm 0,92	237 \pm 0,85	243 \pm 0,79	250 \pm 1,24
	t=0,66 P>0,05	t=11,53 P<0,001	t=18,70 P<0,001	t=23,97 P<0,001

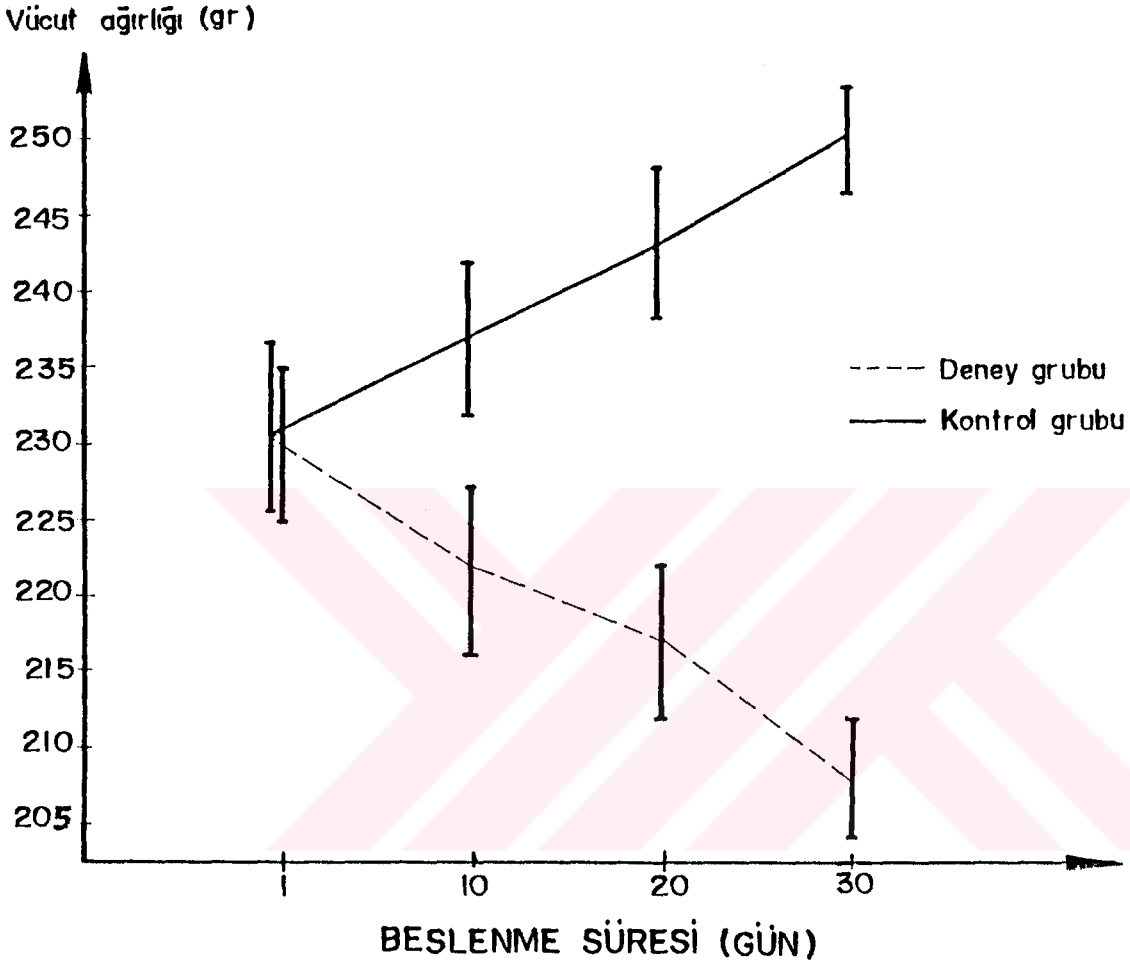
\bar{X} : ortalama değer
 $S_{\bar{x}}$: standart hata

p : önemlilik derecesi
n : denek sayısı

Tablo IV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Vücut Ağırlıklarının İstatistiksel Karşılaştırılması (gr).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	n	$\bar{X} \pm SD$	t	P	
DENEY GRUBU	1	30	230 \pm 5,41	5,75	<0,001	
	10	30	222 \pm 5,39			
	1	30	230 \pm 5,41	8,63	<0,001	
	20	20	217 \pm 5,09			
	1	30	230 \pm 5,41	14,35	<0,001	
	30	10	208 \pm 3,71			
	KONTROL GRUBU	1	30	231 \pm 5,05	4,76	<0,001
		10	30	237 \pm 4,71		
1		30	231 \pm 5,05	9,91	<0,001	
20		20	243 \pm 3,57			
1		30	231 \pm 5,05	12,25	<0,001	
30		10	250 \pm 3,95			

SD : standart sapma



Şekil 6. Otuz Günlük Beslenme Periyodunda Ratların Ortalama Vücut Ağırlıkları.

4.3. PLAZMA VE ERİTROSİT İÇİ ÇİNKO DEĞERLERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Çinko eksik ve normal beslenen ratların plazma ve eritrosit içi çinko değerleri 10, 20 ve 30 günlük beslenme periyotlarının sonunda ayrı ayrı ölçülmüştür. Deney grubu hayvanlarda, beslenmenin 10. gününde $0,80 \pm 0,0022$ mg/l olan plazma çinko değeri, beslenmenin 30. gününde $0,25 \pm 0,009$ mg/l'ye düşmüştür. Plazma çinko değerindeki bu %68,7'lik düşme istatiksel olarak da anlamlıdır (Tablo VI, $P < 0,001$).

Normal besin verilen kontrol grubu hayvanların, plazma çinko değerlerinde ise, istatiksel olarak önemli bir değişme olmamıştır (Tablo VI, $P > 0,05$).

Deney grubu ve kontrol grubu ratların, plazma çinko değerleri karşılaştırıldığında, iki grup arasındaki farkın tüm beslenme süresince arttığı ve 30. günün sonunda yaklaşık 4 misli fark meydana geldiği görülmektedir (Tablo V ve Şekil 7). Bu fark istatiksel olarak da oldukça anlamlı bulunmuştur ($P < 0,001$).

Plazma çinko değerlerinde olduğu gibi, iki grup eritrosit içi çinko değerleri arasında da benzer değişiklikler kaydedilmiştir. Deney grubunda, beslenmenin 10. günü eritrosit içi çinko değeri $6,38 \pm 0,148$ iken, 30 günde bu değer $3,36 \pm 0,180$ mg/l'ye düşmüştür. %47,3'lük bu azalma istatiksel olarak da önemli bulunmuştur (Tablo VIII, $P < 0,001$).

Tablo V. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Plazma Çinko Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, mg/l).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	0,80 \pm 0,022	0,36 \pm 0,019	0,25 \pm 0,009
KONTROL GRUBU	1,02 \pm 0,025	0,99 \pm 0,028	1,01 \pm 0,022
	t=6 P<0,001	t=6,7 P<0,001	t=31,55 P<0,001

Tablo VI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Plazma Çinko Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması (mg/l).

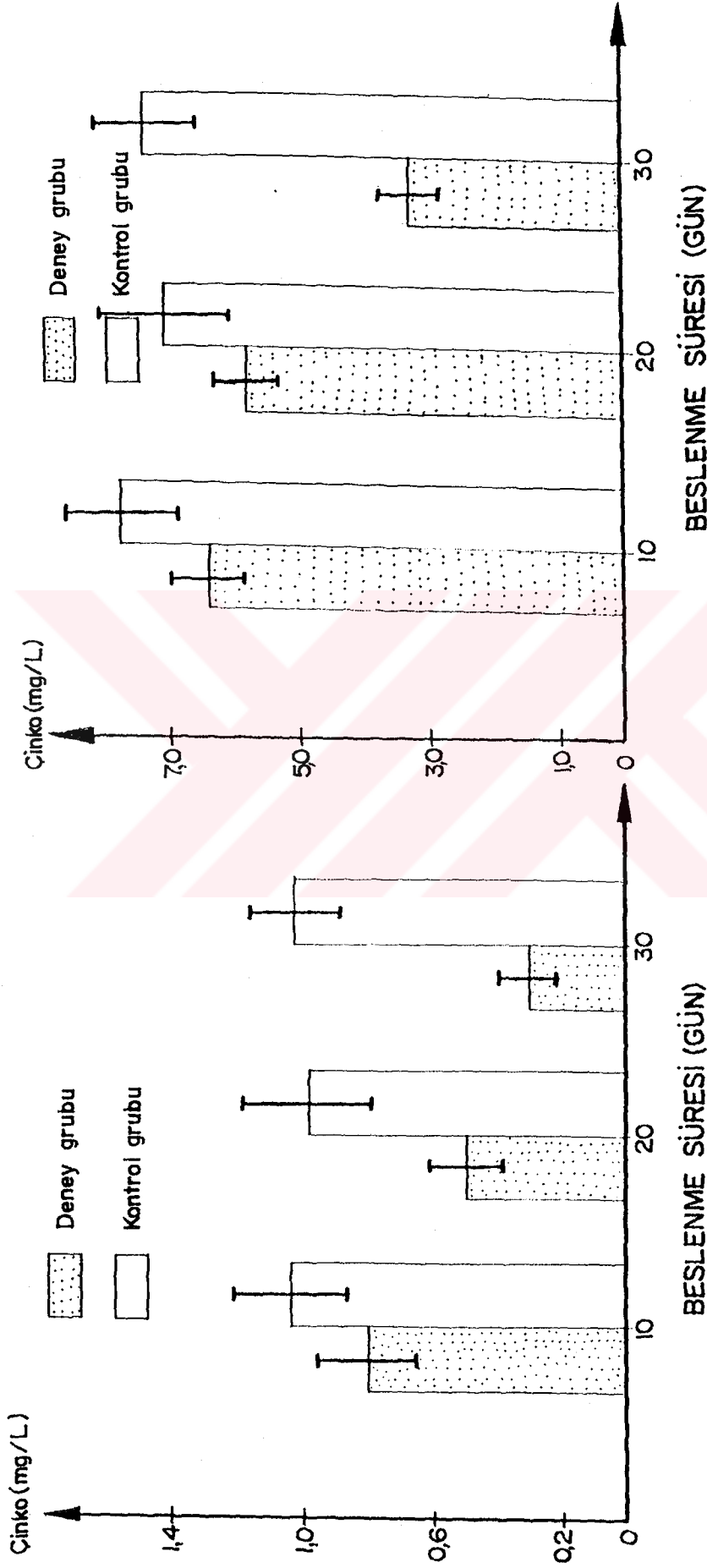
GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	0,80 \pm 0,022	0,07	15,09	<0,001
	20	0,36 \pm 0,019	0,06		
	10	0,80 \pm 0,022	0,07	22,83	<0,001
	30	0,25 \pm 0,009	0,03		
KONTROL GRUBU (n=10)	10	1,02 \pm 0,025	0,08	0,52	>0,05
	20	0,99 \pm 0,028	0,09		
	10	1,02 \pm 0,025	0,08	0,55	>0,05
	30	1,01 \pm 0,022	0,07		

Tablo VII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Eritrosit içi Çinko Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, mg/l).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	6,38 \pm 0,148	5,08 \pm 0,151	3,36 \pm 0,180
KONTROL GRUBU	7,08 \pm 0,256	7,10 \pm 0,253	7,42 \pm 0,202
	t=2,41 P<0,05	t=6,96 P<0,001	t=7,15 P=0,001

Tablo VIII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosit içi Çinko Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırması (mg/l).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	6,38 \pm 0,148	0,47	6,19	<0,001
	20	5,08 \pm 0,151	0,48		
	10	6,38 \pm 0,148	0,47	8,30	<0,001
	30	3,36 \pm 0,180	0,57		
KONTROL GRUBU (n=10)	10	7,08 \pm 0,256	0,81	0,05	>0,05
	20	7,10 \pm 0,253	0,80		
	10	7,08 \pm 0,256	0,81	1,09	>0,05
	30	7,42 \pm 0,202	0,64		



Şekil 7. Deneý ve Kontrol Grubu Ratların Plazma Çinko Deęerleri.

Şekil 8. Deneý ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosit İçi Çinko Deęerleri.

Normal beslenen kontrol grubu hayvanların eritrosit içi çinko değerleri ise, önemli bir değişikliğe uğramamıştır. 30 gün sonra çinko değerlerinde bir artış görülüyorsa da bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir (Tablo VIII ve Şekil 8, $P>0,05$).

4.4. KARBONİK ANHİDRAZ ENZİM AKTİVİTESİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Deney grubu hayvanlarda, çinko eksik diyetle beslenmeye bağlı olarak karbonik anhidraz enzim aktivitesinde %36'ya varan bir düşüş kaydedilmiştir. Kontrol grubuna göre beslenmenin 10. gününde görülen bu düşüş, istatistiksel olarak da anlamlıdır (Tablo IX, $P<0,001$). Ancak, 20 ve 30 günlük beslenme sonunda enzim aktivitesinin yükselerek, kontrol grubu hayvanlara yaklaştığı görülmektedir (Tablo IX ve Şekil 9). Nitekim, iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Kontrol grubu hayvanların karbonik anhidraz enzim aktivitesinde ise, beslenme süresince önemli bir değişiklik olmamıştır (Tablo IX ve Şekil 9). İstatistiksel olarak da anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo X, $P>0,05$).

Eritrosit içerisinde bulunan bir enzim olarak, enzim aktivitesinin hesaplanmasında, eritrosit sayısında göz önüne alınırsa, kontrol ve deney grubu değerleri arasındaki fark çok daha anlamlı olmaktadır. Nitekim Tablo XI ve Şekil 10'dan görüldüğü gibi, çinko eksik diyetle beslenen ratlarda karbonik

Tablo IX. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Karbonik Anhidraz Aktivite Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, Ü/ml kan).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	305,03±14,36	429,84±15,44	471,14±16,01
KONTROL GRUBU	476,63±15,07	472,46±15,57	478,60±8,82
	t=3,43 P<0,001	t=0,82 P>0,05	t=0,23 P>0,05

Tablo X. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Karbonik Anhidraz - Aktivite Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması (Ü/ml kan).

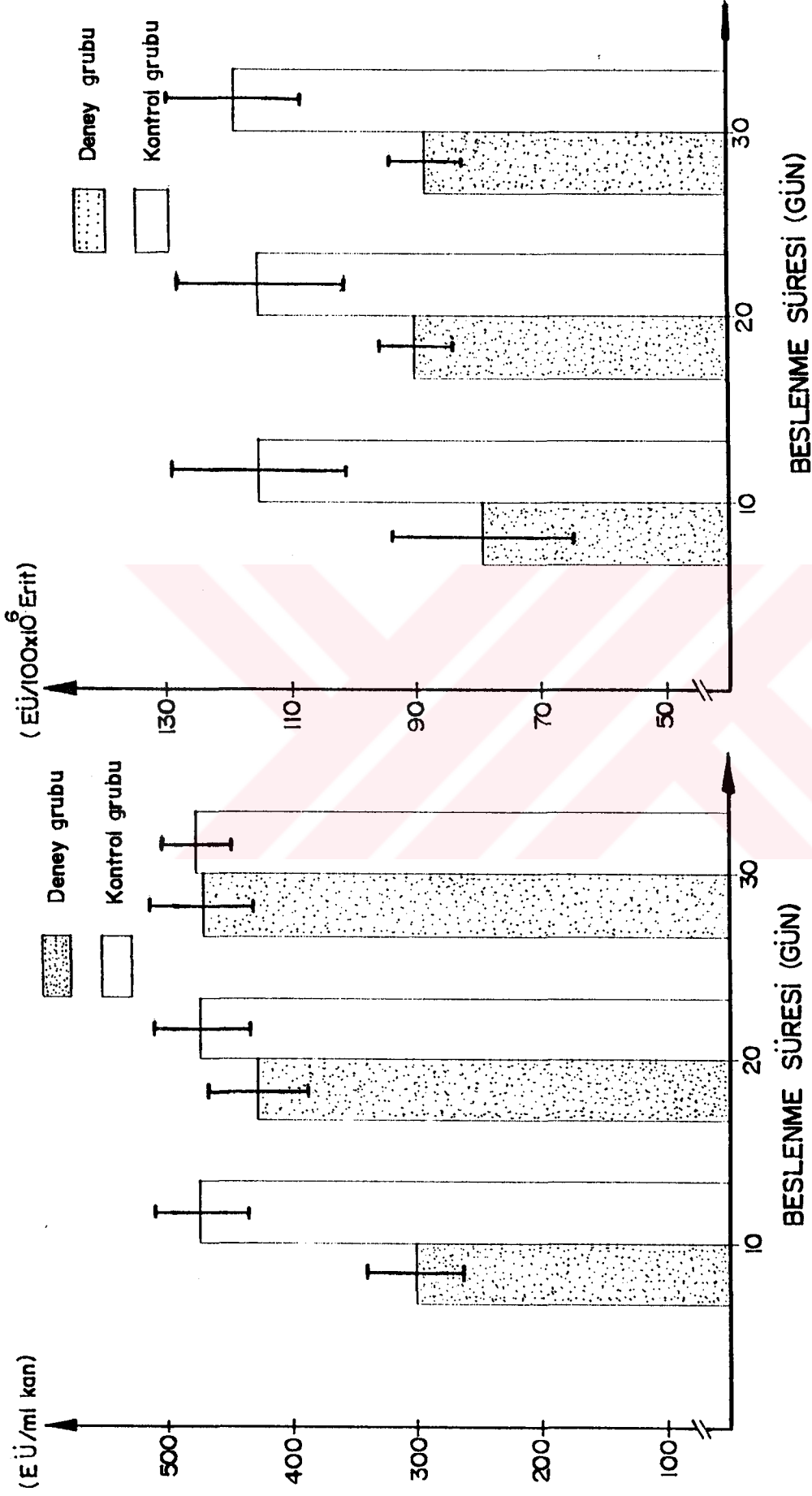
GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	305,03±14,36	45,43	6,06	<0,001
	20	429,84±15,44	48,84		
	10	3,5,03±14,36	45,43	7,90	<0,001
	30	471,14±16,01	50,63		
KONTROL GRUBU (n=10)	10	476,63±15,07	47,68	0,43	>0,05
	20	472,46±15,57	49,24		
	10	476,63±15,07	47,68	0,80	>0,05
	30	478,60±8,82	27,89		

Tablo XI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosite Düşen Karbonik Anhidraz Aktivite Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, Ü/100x10⁶ Erit.).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	78,98±5,78	89,95±1,89	88,30±1,79
KONTROL GRUBU	115,09±4,99	115,79±4,24	118,52±3,80
	t=4,82 P<0,001	t=5,56 P<0,001	t=7,18 P<0,001

Tablo XII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosite Düşen Karbonik Anhidraz Aktivite Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması (Ü/100x10⁶ Erit.).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	78,98±5,78	18,30		
	20	89,95±1,89	5,98	1,82	<0,05
	10	78,98±5,78	18,30		
	30	88,30±1,79	5,66	1,54	>0,05
KONTROL GRUBU (n=10)	10	115,09±4,99	15,08		
	20	115,79±4,24	13,42	0,10	>0,05
	10	115,09±4,99	15,08		
	30	118,52±3,80	12,03	0,27	>0,05



Şekil 9. Deneý ve Kontrol Grubu Ratların Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesindeki Deęişiklikler.

Şekil 10. Deneý ve Kontrol Grubu Ratların Karbonik Anhidraz Enzim Aktivitesindeki Deęişiklikler.

anhidraz aktivitesinin 30 günlük beslenme süresince kontrol grubuna göre, %25-30 arasında düşüş olduğu görülmektedir. Bu fark istatikselsel olarak da anlamlıdır ($p < 0,001$).

4.5. KAN PARAMETRELERİ VE SERUM ELEKTROLİT DEĞERLERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Çinko eksikliğinin hem bazı kan parametreleri üzerindeki etkilerini görmek hem de karbonik anhidraz enzim aktivitesindeki değişiklikleri daha iyi değerlendirebilmek için eritrosit sayısı, lökosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit gibi kan parametreleri ile serum sodyum ve potasyum miktarları tayin edilmiştir.

Kan Parametreleri

Kontrol ve deney grubu hayvanların kan parametrelerindeki değişiklikler toplu olarak Tablo XIII'de verilmiştir. Normal pelet yemle beslenen kontrol grubu hayvanların eritrosit sayıları ile hematokrit değerlerinde 30 günlük beslenme süresince önemli bir değişiklik olmamıştır (Tablo XV ve Tablo XVI). Hemoglobin miktarı ile lökosit sayısında görülen hafif artışlar istatikselsel olarak anlamlı değildir (Tablo XIX ve Tablo XXI).

Çinko eksik diyetle beslenen deney grubu hayvanların kan parametrelerinde ise dikkate değer değişiklikler olmuştur. Eritrosit sayısı beslenme süresince artmış, 30. günün sonunda

Tablo XIII. Deneysel ve Kontrol Grupları Rastları Çeşitli Kan Parametre Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$).

GRUPLAR	BESLENME ERİTROSİT GÜMLERİ (milyon/mm ³) n=10	HEMATOKRİT HEMOGLOBİN (%) n=10	LÖKOSİT (bin/mm ³) n=10
DENEY GRUBU			
10	3,8±0,227	38,7±0,68	12,21±0,55
20	5,4±0,180	48,3±2,38	14,15±0,00
30	6,2±0,161	50,9±1,98	16,02±0,36
KONTROL GRUBU			
10	4,3±0,085	41,6±2,42	12,90±0,17
20	4,0±0,050	41,8±1,91	12,89±0,20
30	4,3±0,259	42,2±1,83	13,57±0,48
			3940±112,26
			4400±154,00
			3960±141,35
			4040±104,67
			4040±151,47
			4280±154,00

artış oranı %63,15'e ulaşmıştır (Tablo XIV ve Şekil 11). Bu artış istatistiksel olarak da anlamlıdır ($P<0,001$).

Beslenme süresince kontrol ve deney grubunun eritrosit sayıları karşılaştırıldığında, 20 ve 30. günlerde bu farkın anlamlı olduğu görülmektedir (Tablo XIV, $P<0,001$). 10. günde ise, deney grubunun değerleri kontrol grubuna göre daha düşüktür. Eritrosit sayısındaki bu değişiklik, karbonik anhidraz aktivitesindeki ile paralellik göstermektedir.

Aynı değişiklik hematokrit değerlerinde de görülmektedir. Deney grubunda, beslenmenin 10. gününde kontrol grubuna göre daha düşük olan değerler, daha sonraki günlerde giderek artmış ve 30. günün sonunda %31,52'lik bir artış göstermiştir (Tablo XVI ve Şekil 12). Bu artış istatistiksel olarak da anlamlıdır (Tablo XVII, $P<0,001$).

Benzer ilişkiler hemoglobin değerleri için de söz konusudur. 30 gün süreyle kontrol grubunun hemoglobin değerinde önemli bir değişiklik olmazken (Tablo XIX, $P>0,05$), çinko eksik diyetle beslenen hayvanlarda hemoglobin değerleri giderek artmış ve 30. günün sonunda yaklaşık %25'lik bir artışla ortalama %16 gr'a ulaşmıştır (Tablo XVIII ve Şekil 13). 20 ve 30 günlük beslenme periyodlarında iki grubun hemoglobin değerleri arasındaki fark, istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($P<0,001$).

Tablo XI V. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Eritrosit Sayıları ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, milyon /mm³).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	3,8±0,227	5,4±0,180	6,2±0,161
KONTROL GRUBU	4,3±0,085	4,2±0,050	4,3±0,259
	t=2,05 P<0,05	t=6,41 P<0,001	t=6,22 P<0,001

Tablo X V. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Eritrosit Sayılarının İstatistiksel Karşılaştırılması (milyon/mm³).

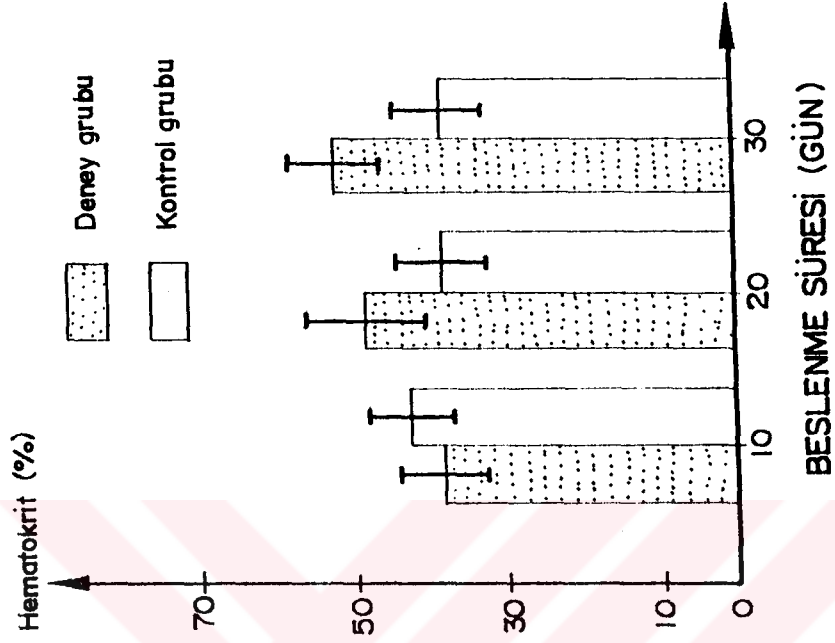
GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	3,8±0,227	0,72	5,51	<0,001
	20	5,4±0,180	0,57		
	30	6,2±0,161	0,51	8,60	<0,001
KONTROL GRUBU (n=10)	10	4,3±0,850	0,27	1,00	>0,05
	20	4,2±0,050	0,16		
	30	4,3±0,850 4,3±0,259	0,27 0,82	0,00	>0,05

Tablo XVI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Hematokrit Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, %).

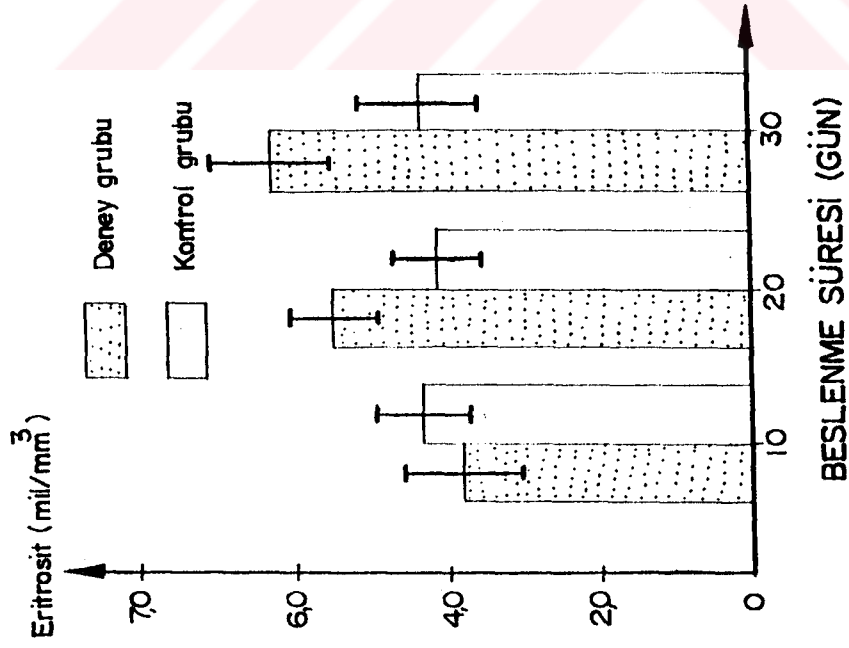
GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	38,7 \pm 0,68	48,3 \pm 2,38	50,9 \pm 1,98
KONTROL GRUBU	41,6 \pm 2,42	41,8 \pm 1,91	38,2 \pm 1,83
	t=0,98 P>0,05	t=2,12 P<0,05	t=4,69 P<0,001

Tablo XVII Deney ve Kontrol Grubu Ratların Hematokrit Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması (%)

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	38,7 \pm 0,68	5,33		
	20	48,3 \pm 2,38	7,54	3,28	<0,001
	10	38,7 \pm 0,68	5,33		
	30	50,9 \pm 1,98	6,28	4,68	<0,001
KONTROL GRUBU (n=10)	10	41,6 \pm 2,42	7,67		
	20	41,8 \pm 1,91	6,04	0,06	>0,05
	10	41,6 \pm 2,42	7,67		
	30	42,2 \pm 1,83	5,80	0,19	>0,05



Şekil 12. Deney ve Kontrol Grubu Petların Hematokrit Değerleri.



Şekil 11. Deney ve Kontrol Grubu Petların Eritrosit Sayıları.

Tablo XVIII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Hemoglobin Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, %gr).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	12,21±0,55	14,15±0,003	16,02±0,36
KONTROL GRUBU	12,90±0,17	12,89±0,20	13,57±0,48
	t=1,19 P>0,05	t=3,33 P<0,001	t=3,27 P<0,01

Tablo XIX. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Hemoqlobin Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması (%gr.).

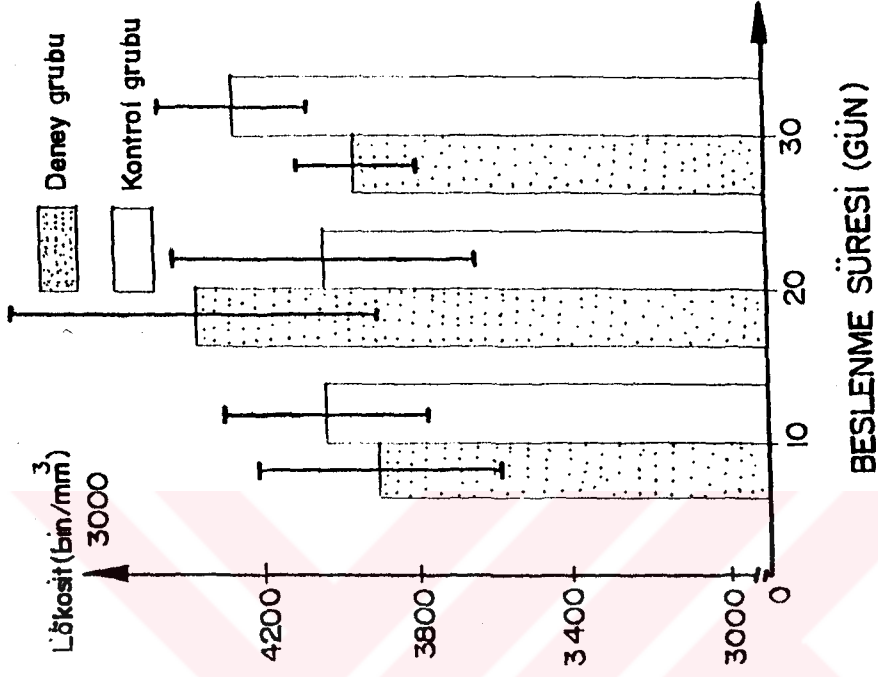
GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	12,21±0,55	1,74		
	20	14,15±0,003	1,01	3,03	<0,01
	10	12,21±0,55	1,74		
	30	16,02±0,36	1,15	5,86	<0,001
KONTROL GRUBU (n=10)	10	12,90±0,17	0,55		
	20	12,89±0,20	0,64	0,03	>0,05
	10	12,90±0,17	0,55		
	30	13,57±0,48	2,05	1,00	>0,05

Tablo XX. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Lökosit Sayıları ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, bin/mm³).

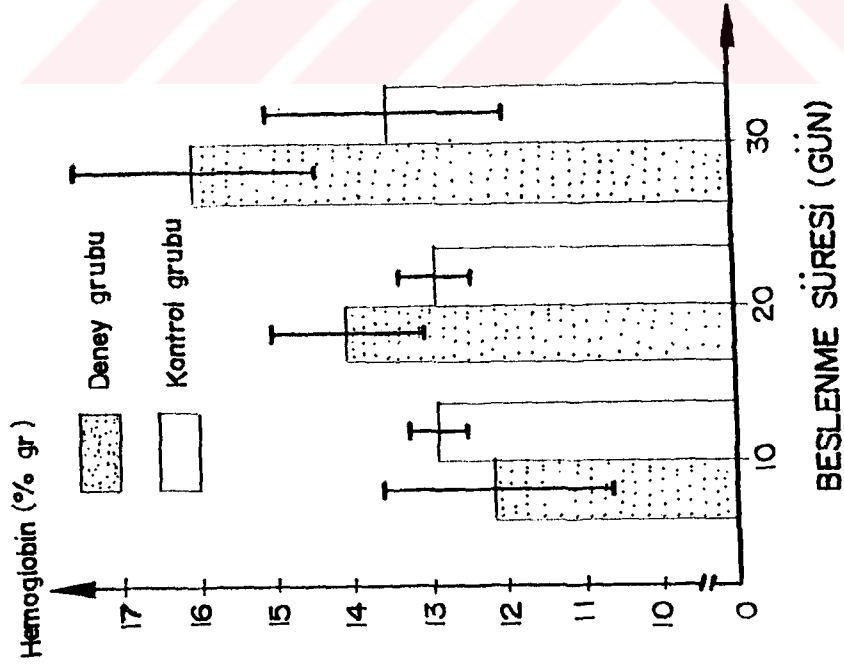
GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	3920±112,26	4400±154,00	3960±141,35
KONTROL GRUBU	4040±104,67	4040±151,47	4280±154,00
	t=0,78 P>0,05	t=1,66 P>0,05	t=1,53 P>0,05

Tablo XXI. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Lökosit Sayılarının İstatistiksel Karşılaştırılması (bin/mm³).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	3920±112,26	355	2,51	>0,01
	20	4400±154,00	487		
	10	3920±112,26	355	0,22	>0,01
	30	3960±141,35	447		
KONTROL GRUBU (n=10)	10	4040±104,67	331	0,0	>0,01
	20	4040±151,47	479		
	10	4040±104,67	331	0,28	>0,01
	30	4280±154,00	487		



Şekil 14. Deneysel ve Kontrol Grubu Ratların Lökosit Sayıları.



Şekil 13. Deneysel ve Kontrol Grubu Ratların Hemoğlobin Değerleri.

Gerek kontrol grubununun gerekse deney grubunun lökosit sayılarında beslenme süresince önemli bir değişiklik olmamıştır (Tablo XXI, Şekil 14). İki grubun ortalama lökosit sayıları arasındaki fark, istatistiksel açıdan anlamlı değildir (Tablo XX, $P>0,05$).

Serum Elektrolit Değerleri

Çinko eksikliğinin, serum sodyum ve potasyum seviyeleri üzerine etkileri de dikkate değer bulunmuştur. Çinko eksik diyetle beslenen deney grubu hayvanların, hem serum sodyum hem de potasyum değerleri, kontrol grubunun değerlerine göre daha düşüktür (Tablo XXII ve Tablo XXIV). Farklı beslenme periyodlarında iki grup arasındaki bu farklılıklar, istatistiksel olarak da anlamlıdır ($P<0,001$). Beslenme süreci içerisinde, deney grubu hayvanların sodyum ve potasyum değerlerinde önce biraz azalma görülürken, 30. günün sonunda hafif bir yükselme dikkati çekmektedir (Şekil 15 ve 16). Kontrol grubu hayvanların serum sodyum ve potasyum değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik saptanamamıştır ($P>0,05$).

Tablo XXII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Serum Sodyum Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, mEq / l).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	146,5±4,10	133,0±3,23	139,9±3,24
KONTROL GRUBU	148,6±3,73	151,0±2,97	151,4±3,45
	t=0,37 P>0,05	t=7,72 P<0,001	t=5,93 P<0,001

Tablo XXIII. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Serum Sodyum Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması (mEq / l).

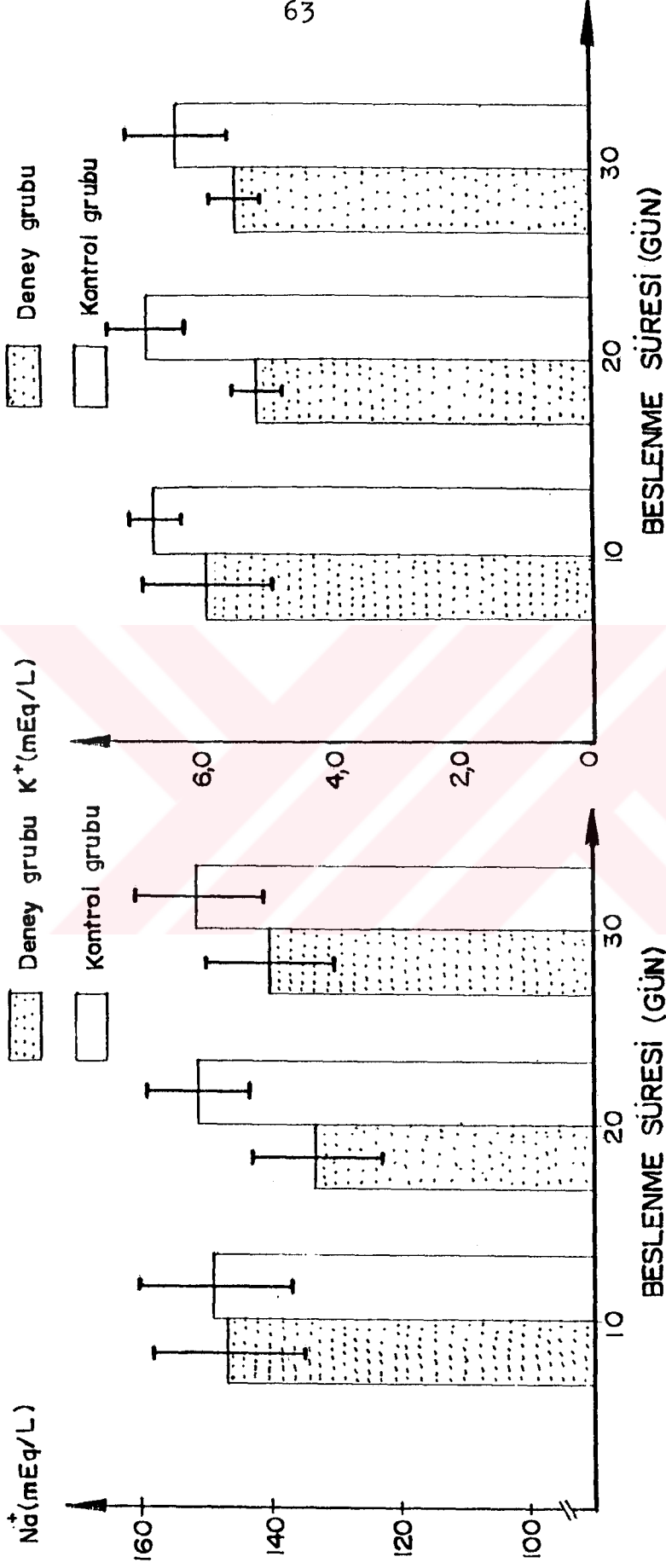
GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	146,5±4,10	12,99		
	20	133,5±3,23	10,24	5,96	<0,001
	10	146,5±4,10	12,99		
	30	139,9±3,24	10,25	4,02	<0,001
KONTROL GRUBU (n=10)	10	148,6±3,73	11,80		
	20	151,0±2,97	9,41	1,5	>0,05
	10	148,6±3,73	11,80		
	30	151,4±3,45	10,92	0,96	>0,05

Tablo XXIV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Ortalama Serum Potasyum Değerleri ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, mEq / l).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ		
	10. GÜN (n=10)	20. GÜN (n=10)	30. GÜN (n=10)
DENEY GRUBU	5,96±0,32	5,12±0,12	5,42±0,10
KONTROL GRUBU	6,70±0,12	6,75±0,21	6,34±0,28
	t=2,17 P<0,05	t=6,25 P<0,001	t=3,06 P<0,05

Tablo XXV. Deney ve Kontrol Grubu Ratların Serum Potasyum Değerlerinin İstatistiksel Karşılaştırılması (mEq / l).

GRUPLAR	BESLENME GÜNLERİ	$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	SD	t	P
DENEY GRUBU (n=10)	10	5,96±0,32	1,02		
	20	5,12±0,12	0,39	2,47	<0,05
	10	5,96±0,32	1,02		
	30	5,42±0,10	0,33	1,63	>0,05
KONTROL GRUBU (n=10)	10	6,70±0,12	0,40		
	20	6,75±0,21	0,69	0,69	>0,05
	10	6,70±0,12	0,40		
	30	6,34±0,28	0,89	1,2	>0,05



Şekil 15. Deneysel ve Kontrol Grubu Ratların Serum Sodyum Değerleri.

Şekil 16. Deneysel ve Kontrol Grubu Ratların Serum Potasyum Değerleri.

5. T A R T I Ő M A

Dünya nüfusunun önemli bir bölümünün tahıla dayalı olarak beslenmeleri, çinko eksikliğini oluşturan önemli faktörlerden biridir. Böyle besinlerden çinkonun alınabilmesi, yapılarında yüksek oranda fosfat ve fitat bulundurmaları nedeniyle mümkün olamamaktadır. Türkiye de tahılın fazla kullanıldığı ülkeler arasında olup, çinko eksikliği ile ilgili çeşitli vakalar rapor edilmiştir (12, 14, 15, 66). Ayrıca çeşitli hastalıklarda, idrarla çinko atılımının artması nedeniyle de kişilerde çinko eksikliği oluşabilmektedir (1, 13, 64).

Çinko pekçok metalloenzimin yapısında bulunan ve canlı sistemler için gerekli olan temel bir elementtir (63). Çinko, yapılarında bulunduğu metalloenzimlerin aktivitelerini etkilemek suretiyle, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması ile nükleik asit sentezi ya da düzenlenmesinde dolaylı olarak rol oynamaktadır (31).

Karbondiyoksit ile su arasındaki reaksiyonları reversibl olarak katalizleyen, karbonik anhidrazın ilk çinko metalloenzimi olduğu. KEILIN ve MANN tarafından bildirilmiştir (37). Bu enzim başta eritrositler olmak üzere, böbrek, kas, beyin, akciğerler, pankreas, mide, göz, tükürük bezleri ve iç kulak gibi dokularda bulunmaktadır (34). Kandaki çinkonun büyük bir bölümünün eritrositlerdeki karbonik anhidraz enzimine bağlı olması nedeniyle çinko eksikliğinde enzim aktivitesinin etkileneceği beklenmektedir. Çünkü bu enzim, vücut dokularının yeterli O_2 alımını, CO_2 ' in dokulardan uzaklaştırılmasını, ekstrasellüler sıvının asit-baz dengesinin korunmasını sağlamaktadır. Ayrıca aköz hünerün oluşumunda ve mide salgı hücrelerinde H^+ iyonu sekresyonunda da rol oynamaktadır (36).

Biz bu çalışmamızda çinko eksikliğinin hem vücuttaki olumsuz etkilerini hem de kan karbonik anhidraz enzim aktivitesi üzerine etkisini araştırdık.

Bu amaçla, deney grubunu oluşturan 30 rat için, özel çinko eksik diyet hazırladık. Bu diyetle protein olarak, EDTA ile muamele edilmiş soya proteini kullanmayı tercih ettik. Çünkü yapılan çalışmalarda bitkisel proteinlerin çinko ihtiyacını kazein ve yumurta akı gibi hayvansal proteinlerden daha çok artırdığı bilinmektedir (24, 32, 77). Bitkisel proteinlerdeki çinkonun, sindirim sistemi tarafından daha zor emilebildiği de ileri sürülmektedir (24).

Çalışmamızda deney grubu ratlarda çinko eksikliğinin göstergesi olarak plazma çinko seviyesi yanında eritrosit içi çinko seviyesini de tayin etmeyi uygun bulduk. Çünkü hayvanlarda çinko eksikliğinin saptanmasında, serum ve plazma çinko miktarları, kriter olarak alınmasına rağmen (64, 71, 77), plazma ya da serum çinko seviyesinin, vücut çinko seviyesinin gerçek bir göstergesi olup olamayacağı hala tartışma konusu olmaktadır (60, 70). Saç ve tüy çinko seviyesi de aylar hatta yıllar süren çinko noksanlığının bir göstergesi olabilir (1, 67). Ayrıca atmosferden kontaminasyon da söz konusu olmaktadır. Eritrositlerin 120 günlük ömürleri nedeniyle, eritrosit içi çinko değerlerinin, serum ve plazma değerlerine göre, vücutta besinsel çinko eksikliğini daha gerçekçi gösterebileceği ileri sürülmektedir (67).

Çinko eksik diyetle beslenen ratların plazma çinko değerleri, beslenmenin 10 ile 30 günlük süresinde % 68,75'lik bir azalma göstermiştir ($P < 0,001$). Bu azalma oranı beslenmenin ilk günlük kontrol grubu değeri ile karşılaştırıldığında %75'e ulaşmaktadır. Ancak, kontrol grubunun aynı beslenme süresindeki plazma çinko değerlerinde önemli değişme olmamıştır ($P > 0,05$). Benzer şekilde, eritrosit içi çinko değerinde de %47,33'lük bir azalma görülürken, kontrol grubu hayvanlarda önemli bir değişiklik bulunamamıştır.

DREOSTI ve arkadaşları, çinko eksik besledikleri ratlarda plazma çinko değerlerini, 21 günlük beslenme sonunda, $21,0 \pm 2,4$

Mg/100 ml olarak bulmuşlardır. Besinlerine çinko eklenen grubun plazma çinko değerlerini ise 86 ± 6.3 Mg/100 ml olarak saptamışlardır (22). Bizim bulgularımız da bu değerlerle paralellik göstermektedir.

Çinko eksik diyet ve deiyonize su ile beslenen ratlarda, kontrol grubunda görülmeyen karakteristik çinko eksikliği belirtileri gözlenmiştir. Bunlar; özellikle baş ve boyun bölgesindeki tüylerin yer yer dökülmesi, parlaklıklarını kaybederek seyrek ve dağınık bir görünüm kazanması olarak belirlenmiştir. Ayrıca ön ve arka ayaklar ile göz çevrelerinde leke ve ödem gibi epidermal farklılıklar saptanmıştır. Birçok araştırmacı, çinko eksikliği oluşturdukları hayvanlarda benzer bulguları rapor etmişlerdir (51, 55, 69, 86).

Çinko eksik diyetle beslediğimiz ratlarda, kontrol grubunda gözlenmeyen diğer bir belirti de, besin alımındaki azalma olarak saptanmıştır. Bazı araştırmacılar, çinko eksik diyet verdikleri hayvanlarda besin alımının gittikçe azaldığını, bunlara çinko sülfat verildiğinde, besin alma isteğinin arttığını göstermişlerdir. Fakat çinkonun iştah merkezine olan direkt etkisi henüz açıklanamamıştır (17, 51, 55).

Normal pelet yemle 30 gün süreyle beslenen ratların vücut ağırlıkları, normal büyüme ve gelişmelerine bağlı olarak, %8,22 artmıştır ($P < 0.001$). Ancak, çinko eksik diyetle beslenen deney

grubu hayvanların ağırlıkları, aynı süre sonunda, başlangıç ağırlıklarına göre yaklaşık %10 azalmıştır ($P<0,001$).

Çinko eksikliğine bağlı olarak, vücut ağırlık ortalamasındaki azalma çeşitli nedenlere bağlanabilir. Çinko 200'den fazla metalloenzimin yapısında bulunmaktadır. DNA, RNA polimeraz ve timidin kinaz gibi hücre çoğalması ve büyümesinde enzimler de, bunların içerisinde bulunmaktadır (1, 63, 66, 68).

Çinko eksik diyetle beslenen hayvanlarda bu enzimlerin aktivitelerinin düştüğü kaydedilmiştir (12, 32, 60, 61, 63). Yine bazı araştırmalarda, çinko eksik beslenme sonucu serum ve plazma protein seviyelerinin azaldığı rapor edilmiştir (1, 72). Büyümenin azalmasına diğer bir neden de, çinko eksik diyetle beslenen hayvanlarda gittikçe azalan besin alımı gösterilmektedir (45, 51, 86).

Çinko eksikliği oluşturulan çeşitli hayvanlarda, vücut ağırlığının azaldığı, normal beslenenlerde ise arttığı hem bizim hem de yapılan çalışmalarda saptanan ilk gözlemler olmaktadır (34, 44, 71, 77).

Vücutta çok önemli bir biyokimyasal reaksiyonu katalizleyen kan karbonik anhidraz enziminin yapısında çinko bulunmasına rağmen, çinko eksikliğinin enzim aktivitesinde yaratacağı değişiklikler fazla araştırılmamıştır. Yapılan çalışmalardaki

bulgular da birbiri ile çelişki içerisindedir (17, 29, 31, 51, 55).

DAY ve arkadaşları çinko eksikliği oluşturdukları ratların kanındaki karbonik anhidraz aktivitesinin arttığını, fakat eritrosit sayısına düşen enzim aktivitesinde bir değişiklik olmadığını ileri sürmektedirler (17).

Kandaki karbonik anhidraz enzim aktivitesi üzerine çinko eksikliğinin olumsuz etkisi, metabolizma sonucu dokularda oluşan CO_2 'in dokulardan alınarak akciğer alveollerine taşınma hızını yavaşlatacaktır. Çünkü enzim, dokulardan kana geçen CO_2 ile H_2O arasındaki reaksiyonu, kanın doku kapillerinde kaldığı çok kısa süre içerisinde, normalden 5000 kat daha fazla hızlandırmaktadır. Akciğerlerde de karbonik asidin (H_2CO_3), CO_2 ve H_2O 'ya ayrılmasını sağlayarak, serbest kalan CO_2 'in alveollere geçişini hızlandırmaktadır. Çinko eksikliğine bağlı olarak karbonik anhidraz aktivitesindeki düşme, kanın CO_2 seviyesinin artmasına, dolayısıyla kan PH'sının düşmesine neden olabilecektir. Bu faktörler de hemoglobin dissosiasyon eğrisini sağa kaydırarak, hemoglobine bağlanan O_2 miktarını muhtemelen azaltacak ve dokulara daha az O_2 taşınmasına neden olabilecektir (27).

Nitekim, karbonik anhidrazın asetazolamid ile inhibe edildiği köpeklerde alveolar CO_2 basıncının düştüğü, venöz kandaki CO_2 basıncının ise azaldığı gösterilmiştir (6).

Başka bir çalışmada da solunum güçlüğü olan bebeklerin, vücut çinko konsantrasyonu ile kan karbonik anhidraz aktivitesi arasında doğrusal bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Erken doğan bebeklerde çinko eksikliğine bağlı olarak kan karbonik anhidraz enzim aktivitesindeki azalmanın, kan CO₂ seviyesini artırdığı, kan PH değerini ise düşürdüğü rapor edilmektedir. Düşük PH'nında dolaylı yollarla bebeklerde solunum güçlüğü yapabileceği ileri sürülmektedir (40).

Çinko eksikliğinin karbonik anhidraz enzim aktivitesine etkisi ile ilgili mevcut araştırma sonuçları çelişkili olmasına rağmen, deney sonuçlarımızın konuya açıklık getirdiğine inanıyoruz. Çalışmamızda normal pelet yem alan kontrol grubu hayvanlarda, 30 günlük beslenme süresi boyunca enzim aktivitesinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Ancak, çinko eksik diyetle beslenen hayvanlarda ilk 5-10 gün içinde enzim aktivitesinde görülen düşme, daha sonraki günlerde kontrol grubu değerlerine yükselmektedir. On günlük beslenme sonunda, çinko eksikliğinin enzim aktivitesinde yarattığı düşme Tablo IX'da açıkça görülmektedir. Kontrol grubuna göre enzim aktivitesinde %36'lık azalma olmuştur ($P < 0,001$). Ancak 30 günlük beslenme sonunda iki grup arasındaki bu fark ortadan kalkmaktadır ($P > 0,05$). Bunun nedeni, vücudun gösterdiği, özellikle kanda meydana gelen bazı değişiklikler olabilir. Nitekim, karbonik anhidraz enzim aktivitesinin hesaplanmasında alyuvar sayısı da göz önüne alındığında, iki grup arasındaki farkın 30 günlük beslenme süresince mevcut olduğu görülmektedir (Tablo IX).

Bizim bulgularımızda olduğu gibi, çinko eksik beslenmenin, ratların kanındaki karbonik anhidraz enzim aktivitesini azalttığı fakat daha sonra bu azalmanın kompanze edildiği ROTH ve KIRCHGESSNER tarafından da rapor edilmektedir(70).

Çinko eksikliği oluşturduğumuz ratlarda karbonik anhidraz enzim aktivitesinin azalması yanında, eritrosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin değerlerinde değişiklikler meydana gelmiştir. 30 günlük beslenme süresi boyunca, deney grubu hayvanlarda, kontrol grubuna göre eritrosit sayılarında %39, hematokritte %24, hemoglobinde ise %23 oranında artışlar görülmüştür (Tablo XIII). Bu durum yükseklerde olduğu gibi hipoksik şartlarda meydana gelen sekonder polisitemiye benzerlik göstermektedir. Çünkü polisitemide de dokuların O_2 ihtiyacını karşılayabilmek için alyuvar sayısı artmakta, buna bağlı olarak da, hemoglobin, hematokrit değerleri yükselmektedir (27).

Çinko eksik beslenen ratların eritrosit, hematokrit ve hemoglobin değerlerindeki bu artış, kanın viskozitesini de gözle farkedilebilecek derecede artırmıştır. Ayrıca, viskozitedeki bu artışa bağlı olarak, deney grubu ratların kanlarının, kontrol grubuna göre daha kısa sürede pıhtılaşığı da gözlenmiştir.

Bazı araştırmacılar, ratlarda çinko eksikliğine bağlı olarak, kanın eritrosit sayısı, hematokrit ve hemoglobin değerlerinin arttığına işaret etmektedirler (32,49,57). RAHMAN ve

arkadaşları, çinko eksikliği oluşturdukları piliçlerde eritrosit ve hematokrit değerlerindeki artış yanında solunum frekanslarının da arttığını rapor etmişlerdir (69). MACAPINLAC ve arkadaşları çinko eksik beslenen ratların lökosit sayılarının kontrol grubuna göre fazla değişmediğini, yalnız polimorfonükleer lökositlerin sayılarının arttığını, lenfositlerin ise azaldığını kaydetmişlerdir (44).

Çinko eksikliğinin enzim aktivitesinde oluşturduğu azalma ve buna bağlı olarak eritrosit sayısı ile hemoglobin ve hematokrit değerlerindeki artışlar KIRCHGESSNER ve arkadaşları tarafından da rapor edilmektedir (38).

Karbonik anhidraz enziminin büyük bir kısmının eritrositlerin yapısında bulunmasına rağmen, vücuttaki birçok dokuda da yer aldığı bilinmektedir. Bazı araştırmacılar çinko eksikliğinin diğer dokulardaki karbonik anhidraz enzim aktivitesine etkisini de araştırmışlardır. IQBAL, çinko eksikliği oluşturulan erkek ratların böbrek, barsak ve midelerinde enzim aktivitesinin azaldığını, fakat dişi ratların böbreklerinde enzim aktivitesinde azalma olurken, midelerinde ise artış olduğunu belirtmektedir (34).

HUBER ve GERSHOFF, çinko eksik beslenen ratlarda, kontrol grubuna kıyasla, karaciğer, duodenum, böbrek, pankreas, kas ve akciğer dokularında karbonik anhidraz aktivitesinin

değişmediğini, fakat mide ve hipofizde bu enzim aktivitesinin düştüğünü bildirmişlerdir (32).

Çinko eksikliğine bağlı, çeşitli dokularda gelişebilecek birçok çinko eksikliği semptomları yanında, enzim aktivitesindeki azalma sonucu vücut elektrolit ve asit-baz dengesindeki değişikliklere etkili olabileceği düşüncesiyle serum sodyum ve potasyum değerleri de tayin edilmiştir. Çinko eksik diyetle beslenen deney grubu hayvanların hem sodyum hem de potasyum değerlerinin, kontrole göre önce düştüğünü, beslenmenin son günlerinde ise kontrol değerlerine yaklaştığını saptadık. Farklı beslenme periyodlarında iki grubun serum sodyum ve potasyum değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında da bu farklılıkların anlamlı olduğu görülmüştür (Tablo XXIV ve XXV).

Serum sodyum ve potasyum değerlerindeki bu değişiklik, karbonik anhidraz enzim aktivitesinde görülen değişiklik ile paralellik göstermektedir.

Nitekim, çinko eksik diyetle beslenen ratlarda beslenme süresince görülen ishal de, elektrolit kaybının olduğunu göstermektedir. Deney grubunu oluşturan ratlar, çinko eksik beslenme boyunca vücuttaki su ve elektrolit kaybını kısmen dengelemek için günlük su alımlarını artırmışlardır. Muhtemelen karbonik anhidraz enzim aktivitesinin çinko eksikliğine bağlı olarak azalması, sodyum ve potasyum geri emilimini azaltmakta, bu durum da vücuttan su ve elektrolit kaybına neden olmaktadır.

GHISHAN ve arkadaşları, çinko eksikliği yaratılan hayvanlarda ishelin nedenini daha iyi açıklamak için barsaklarda suyun, glikozun ve elektrolitlerin geri emilimini incelemişlerdir. Sonuç olarak da, çinko eksik beslenen deney grubunda, kontrol grubuna kıyasla, bağırsaklardan su, sodyum ve potasyum geri emiliminin azaldığını, ancak potasyum geri emilimindeki azalmanın istatistiksel olarak önemsiz olduğunu rapor etmişlerdir (26). RAHMAN ve arkadaşları da çinko eksikliği oluşturdukları piliçlerde, serum sodyum ve potasyum değerlerinin az da olsa düştüğünü bildirmektedirler (69). Bilindiği gibi, diüretik olarak kullanılan asetazolamid ile böbrekteki karbonik anhidraz enzimi inhibe edildiğinde, böbreklerden hidrojen iyonu sekresyonu azalmaktadır. Buna bağlı olarak, böbrek tübülüslerinde sodyum geri emilimi, dolaylı olarak da, su geri emilimi azalmaktadır. Aynı zamanda idrarla potasyum ve bikarbonat atılımı artmakta, klorür atılımı ise azalmaktadır. Bu durum, böbreklerin asit-baz dengesindeki fonksiyonu bozmaktadır (36). Çinko eksikliğine bağlı olarak enzim aktivitesinde meydana gelen bu azalma da, asetazolamidde olduğu gibi, asit-baz dengesinde değişikliklere neden olmaktadır.

Sonuç olarak, ülkemizin de içinde bulunduğu gelişmekte olan ülkelerde, genelde tahıla dayalı beslenme ve birçok semptomlara bağlı olarak kişilerde çinko eksikliği ortaya çıkmaktadır. Çinko eksikliğinin fazla miktarda çinko alımını gerektiren büyüme dönemlerinde, bilhassa da emzikli annelerde ve çocuklarında daha

çok meydana geldiği görülmektedir. Çinko eksikliği, vücutta birçok fonksiyonu etkilerken, bir çinko metalloenzimi olan karbonik anhidraz enziminin aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır. Gerek çinko eksikliğine, gerekse karbonik anhidraz inhibitörlerine bağlı olarak enzim aktivitesindeki bu azalma, vital fonksiyonlardan olan solunum ve dolaşım sistemleri başta olmak üzere, birçok sistemi etkileyerek vücutta fonksiyon bozukluklarına yol açmaktadır. Bu da, karbonik anhidraz enziminin vücut fonksiyonları için ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Başta ülkemiz olmak üzere gelişmekte olan ülkelerin, çinko eksikliğine bağlı vücutta oluşabilecek bozuklukları önlemede, ortak tedbirler almaları gerektiğine inanıyoruz.

6. Ö Z E T

Çalışmada 4-5 aylık toplam 60 adet Swiss-albino rat kullanılmıştır. Kontrol ve deney grubu olarak iki gruba ayrılan hayvanlara farklı diyetler uygulanmıştır. Otuz gün süreyle deney grubu hayvanlar çinko eksik diyet ve deiyonize su ile beslenirken, kontrol grubu hayvanlara normal besin (pelet yem) ve çeşme suyu verilmiştir. Deney grubunda çinko eksikliğinin karakteristik belirtileri olarak büyümenin gecikmesi, vücut ağırlığında azalma, tüylerde dökülme, deri lezyonları, iştahsızlık ve ishal gözlenmiştir. Kontrol grubu ratlar ise normal bir gelişme göstermişlerdir.

On, 20 ve 30 günlük beslenme süreleri sonunda her iki grup hayvandan alınan kan örneklerinde eritrosit içi ve plazma çinko değerleri, karbonik anhidraz aktivitesi, serum sodyum ve potasyum değerleri ile bazı kan parametreleri (eritrosit ve lökosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit değerleri) tayin edilmiştir.

Deney grubunun eritrosit içi ve plazma çinko değerleri, kontrol grubuna kıyasla düşmüştür. Kan parametrelerinden eritrosit sayısı, hematokrit, hemoglobin değerleri deney grubunda artarken kontrol grubunda değişmemiştir. Lökosit sayısı bakımından gerek beslenme süresi boyunca gerekse iki grup arasında önemli bir değişiklik saptanamamıştır.

Otuz günlük beslenme süresinde çinko eksik diyetle beslenen hayvanlarda, ilk 5-10 gün içerisinde karbonik anhidraz enzim aktivitesi azalmış, daha sonraki günlerde ise kontrol grubu değerlerine yaklaşmıştır. Ancak, enzim aktivitesinin hesaplanmasında eritrosit sayısı dikkate alındığında iki grup arasındaki farkın beslenme süresince mevcut olduğu görülmüştür. Çinko eksik diyetle beslenen ratlarda, serum sodyum ve potasyum değerlerinin de kontrol grubuna göre azaldığı saptanmıştır. Bu durum, sadece büyüme ve gelişmenin duraklamasına neden olmakla kalmamakta, vücutta çeşitli fonksiyonların bozulmasına da yol açabilmektedir.

7. SUMMARY

In this study, 60 Swiss-albino rats, 4-5 months of age, were used. They were divided equally into two groups (experimental group or zinc-deficient group and control group) and were fed for 30 days. The experimental group was given zinc-deficient dietary and deionized water while the control group was fed normal diet and water. Symptoms of deficiency on the experimental group included growth retardation, loss of hair, skin lesion, the reduced food and intake diarrhea. It was determined that the growth rate of the control group was at normal level during feeding. On the 10th, 20th and 30th day of the experiment, the blood samples of the rats were taken from abdominal aorta. Then, carbonic anhydrase activity, blood parameters, zinc in plasma and erythrocytes and potassium, sodium were measured in blood

Zinc in experimental group was less than in the control group. As while the erythrocyte count, the hematocrit and

hemoglobin values of experimental group increased, they did not change in the control group. The leukocyte count was the same in both groups.

In the first 5-10 days of the feeding period, in zinc deficient rats carbonic anhydrase activity per ml of blood decreased, but, it was nearly the same for both groups during the rest of the period. In serum sodium and potassium contents in zinc deficient rats were found less in experimental groups in comparison with control group. This not only has caused growth and development retardation but also may have led to the disturbances of the various functions in the body.

K A Y N A K L A R

1. Agget, P. J., Physiology and Metabolism of Essential Trace Elements, *Clin. Endocrinol Metab.*, 41, 7, 197-208, 1983.
2. Armstrong, J. McD., Myers, D. V., Verpoorte, J. A. and Edsal, J. T., Purification and Properties of Human Erythrocyte Carbonic Anhydrase, *J. Biol. Chem.*, 241, 21, 5137-5149, 1966.
3. Barnes, P. M. and Moynahan, E. J., Zinc Deficiency in Acrodermatitis Enteropathica: Multiple Dietary Intolerance Treated with Synthetic Diet, *Proc. R. Soc. Med.*, 66, 327-329, 1973.
4. Bogden, J. D., Blood Zinc in Health and Disease, *Zinc in the Environment.*, New York, John Wiley, 138-159, 1980.
5. Brewer, G. J., Prasad, A. S., Oelshlegel, F. S., Schoemaker, E. B., Ortega, J., and Oberleas, D., Zinc and Sickle Cell Anemia. *Trace Elements in Human Health and Disease*, New York, Academic Press, 283-294, 1977.

6. Cain, S. M. and Otis, A. B., Carbon Dioxide Transport in Anesthetized Dogs During Inhibition of Carbonic Anhydrase, *J. Appl. Physiol.*, 16, 1023-1028, 1961.
7. Carlsson, U., Harnestad, U. and Linoskog, S., Purification and Properties of Erythrocyte Carbonic Anhydrase from the European Moose, *Biochim. Biophys. Acta.* 327, 515-527, 1973.
8. Carter, M. J., Carbonic Anhydrase: Isoenzymes, Properties, Distribution and Functional Significance, *Biol. Rev.* 47, 465-513, 1972.
9. Carter, N., Jeffery, S. and Shiels, A., Immunoassay of Carbonic Anhydrase III in Rat Tissues, *FEBS. Lett.*, 139, 2, 265-266, 1982.
10. Carter, N. D., Heath, R., Welty, R. J., Hewett-Emmett, D., Jeffery, S., Shiels, A. and Tashian, R. E., Red Cells Genetically Deficient in Carbonic Anhydrase II Have Elevated Levels of a Carbonic Anhydrase Indistinguishable from Muscle CA III, *Ann N.Y. Acad. Sci.*, 429, 284-286, 1984.
11. Carter, N. D., Jeffery, S., Carbonic Anhydrase: Update and New Horizons, *Biochem. Soc. Trans.* 13, 2, 531-533, 1985.
12. Chesters, J. K. Biochemical Functions of Zinc in Animals, *Wld. Rev. Nutr. Diet.*, 32, 135-164, 1978.

13. Chvapil, M., Elias, S. L., Ryan, J. N., and Zukoski, C. F., Pathophysiology of Zinc, **Neurobiology of the Trace Metals Zinc and Copper**, New York, Academic Press, 105-124, 1972.
14. Çavdar, A. O., Babacan, E., Arcasoy, A. and Ertem, U., Effect of Nutrition on Serum Zinc Concentration During Pregnancy in Turkish Women, **J. Clin. Nutr.**, 33, 542-544, 1980.
15. Çavdar, A. O., Babacan, E., Arcasoy, A., Ertem, U., Cin, Ş., Doğru, Ü., Erten, J., Gümüş, H., Uysal, Z. and Gozdaşoğlu, S., Zinc Deficiency in Turkey, **International Symposium on Zinc Deficiency**, Ankara, 6-7, 1982.
16. Davenport, H. W., **Asit Baz Dengesi ve Kan Gazları**, ed. Çelikoğlu, S.İ., Göksel, F.M., İstanbul, İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları, 104-112, 1980.
17. Day, H. G. and McCollum, E. V., Effects of Acute Dietary Zinc Deficiency in the Rat, **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 45, 282-284, 1940.
18. Denness, E., Tupper, R. and Wormald, A., Studies on Zinc in Blood, **Biochem. J.**, 82, 466-476, 1962.
19. Dobyas, D. C. and Bulger, R. E., Renal Carbonic Anhydrase, **J. Clin. Invest.**, 71,1-3, F311-322, 1982.
20. Denness, E., Magill, L. S., Friedman, P.A. Hebert, S. C. and Bulger, R. E., Carbonic Anhydrase Histochemistry in Rabbit and Mouse Kidneys, **Anat. Rec.**, 204, 185-197, 1982.

21. Dodgson, S. J., Forster II, R. E., Storey, B. T. and Mela, L., Mitochondrial Carbonic Anhydrase, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 9, 5562-5566, 1980.
22. Dreosti, I. B., Tao, S. H. and Hurley, L. S., Plasma Zinc and Leukocyte Changes in Weanling and Pregnant Rats During Zinc Deficiency, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 128, 169-174, 1968.
23. Fernley, R. T., Congiu, M., Wright, R. D. and Coghlan, J. P., Characterization of a High Molecular Weight Carbonic Anhydrase from Ovine Parotid Glands, *Ann N. Y. Acad. Sci.*, 429, 212-213, 1984.
24. Forbes, R. M., Excretory Patterns and Bone Deposition of Zinc, Calcium and Magnesium in the Rat as Influenced by Zinc Deficiency, EDTA and Lactose, *J. Nutr.*, 74, 194-200, 1961.
25. Furth, A. J., Purification and Properties of Horse Erythrocyte Carbonic Anhydrases, *J. Biol. Chem.*, 243, 18, 4832-4841, 1968.
26. Ghishan, F. K., Transport of Electrolytes, Water and Glucose in Zinc Deficiency, *J. Pediatr. Gastroenterology Nutr.*, 3, 608-612, 1984.
27. Guyton, A. C., *Textbook of Medical Physiology*, Vol. I, Philadelphia, W. B. Saunders Co., 705-718, 1986.
28. Harris, W. R., Thermodynamic Binding Constants of the Zinc-Human Serum Transferrin Complex, *Am. J. Chem. Soc.*, 22, 3920-3926, 1983.

29. Hoefler, J. A., Miller, E. R., Ullrer, D. E., Ritche, H. D. and Luecke, R. W., Interrelationships Between Calcium, Zinc, Iron and Copper in Swine Feeding, *J. Anim. Sci.*, 19, 249-259, 1960.
30. Holmes, R. S., Purification, Molecular Properties and Ontegeny of Carbonic Anhydrase Isoenzymes, *Eur. J. Biochem.*, 78, 511-520, 1977.
31. Hove, E., Elvehjem, C. A. and Hart, E. B., The Relation of Zinc to CA, *J. Biol. Chem.*, 134, 425-434, 1940.
32. Huber, A. M. and Gershoff, S. N., Effects of Dietary Zinc on Zinc Enzymes in the Rat, *J. Nutr.*, 103, 1175-1181, 1973.
33. Hsu, C. H. and Nomura, Y., Carbonic Anhydrase Activity in the Inner Ear, *Acta Otolaryngol.*, 418, 1-42, 1985.
34. Iqbal, M., Activity of Alkaline Phosphatase and Carbonic Anhydrase in Male and Female Zinc Deficient Rats, *Enzyme*, 12, 33-40, 1971.
35. Jeffery, S., Edwards, Y. and Carter, N., Distribution of CA III in Fetal and Adult Human Tissue, *Biochem. Genet.*, 18, 843-849, 1980.
36. Kayaalp, S.O., *Tıbbi Farmakoloji*, Cilt 2, Ankara, Ulucan Matbaası, 1319-1352. 1854. 1893. 1985.
37. Keilin, D. and Mann, T., Carbonic Anhydrase Purification and Nature of the Enzyme, *Biochem. J.*, 34, 1163-1176, 1940.

38. Kirchgessner, M., Stadler, A. E. and Roth, H. P., Carbonic Anhydrase Activity and Erythrocyte Count in the Blood of Zinc-Deficiency Rats, **Biorganic Chem.**, 5, 33-38, 1975.
39. Kinlaw, W. B., Levine, A. S., Morley, J. E., Silvis S. E. and McClain, J. C., Abnormal Zinc Metabolism in Type II Diapedes Mellitus, **Am. J. Med.**, 75, 237-277, 1983.
40. Klinman, L. I., Petering, H. G. and Sutherland, J. M., Blood Carbonic Anhydrase Activity and Zinc Concentration in Infants with Respiratory-Distress Syndrome, **New Engl. J. Med.**, 277, 22, 1157-1161, 1967.
41. Kumpulainen, T., Carbonic Anhydrase Isoenzyme C in the Human Retina, **Acta. Ophthalmol.**, 58, 397-405, 1980.
42. Kumpulainen, T., Jalovaara, P., Immunohistochemical Localization of Carbonic Anhydrase Isoenzymes in the Human Pancreas, **Gastroenterology**, 80, 596-599, 1981.
43. Kumpulainen, T., Nystrom, S. H. M., Immunohistochemical Localization of Carbonic Anhydrase Isoenzyme C in Human Brain, **Brain Res.**, 220, 220-225, 1981.
44. Macapinlac, M. P., Pearson, W. N. and Darby, W. J., Some Characteristics of Zinc Deficiency in the Albino Rat, **Zinc Metabolism**, New York, Springfield III, 142-168, 1966.
45. Mahajan, S. K., Prasad, A. S., Rabbani, P., Briggs, W. A and McDonald, F. D., Zinc Metabolism in Uremia, **J. Lab. Clin. Med.**, 94, 693- 698, 1979.

46. Maren, T. H., A Simplified Micro Method for the Determination of Carbonic Anhydrase and Its Inhibitors, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 130, 26-29, 1960.
47. Maren, T. H., Carbonic Anhydrase: Chemistry, Physiology and Inhibition, *Am. Physiol. Soc.*, 47, 4, 595-781, 1967.
48. Maren, T. H., Sanyal, G., The Activity of Sulfonamides and Anions Against the Carbonic Anhydrases of Animals, Plants and Bacteria, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 439-459, 1983.
49. Mattanheimer, H., DeBruin, H., An Ultramicro Method for Determination of Carbonic Anhydrase Activity, *Anal. Biochem.*, 4, 222-230, 1962.
50. McClain, C., Soutor, C. and Zieve, L., Zinc Deficiency: A Complication of Crohn's Disease, *Gastroenterology*, 78, 272-279, 1980.
51. Miller, J. K. and Miller, N. J., Experimental Zinc Deficiency and Recovery of Calves, *J. Nutr.*, 76, 467-474, 1962.
52. Moyle, S., Jeffery, S. and Carter, N. D., Localization of Human Muscle Carbonic Anhydrase Isoenzymes Using Immunofluorescence, *J. Histochem.*, 32, 11, 1262-1264, 1984.
53. Murray, E. J. and Messer, H. H., Turnover of Bone Zinc During Normal and Accelerated Bone Loss in Rats, *J. Nutr.*, 111, 1641-1647, 1981.

54. Nyman, P. and Lindskog, S., Amino Acid Composition of Various Forms of Bovine and Human Erythrocyte Carbonic Anhydrase, **Biochim. Biophys. Acta**, 85, 141-151, 1964.
55. O'Dell, B. L., Newberne, P. M. and Savage, J. E., Significance of Dietary Zinc for the Growing Chicken, **J. Nutr.**, 65, 503-517, 1958.
56. Oberleas, D., Seymour, J. K., Lenaghan, R., Hovanesian, J., Wilson, R. F. and Prasad, A. S., Effect of Zinc Deficiency on Wound-Healing in Rats, **A. J. Surgery**, 121, 566-568, 1971.
57. Pallauf, V. J. and Kirchgessner, M., Experimenteller Zinkmangel Bei Wachsenden Ratten, **Z. Tierphysical. Tierernährg U. Futtermittelkde**, 28, 128-139, 1971.
58. Pleban, P. A., Numerof, B. S. and Wirth, F. H., Trace Elements Metabolism in the Fetus and Neonate, **Clin. Endoc. Metab.**, 14, 3, 545-566, 1985.
59. Pekarec, R. S., Wannemacher, R. W. and Beisel, W. R., The Effect of Leukocytic Endogenous Mediator on the Tissue Distribution of Zinc and Iron, **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 140, 685-688, 1972.
60. Prasad, A. S., Oberleas, D., Wolf, P. and Horwitz, J. P., Studies on Zinc Deficiency: Changes in Trace Elements and Enzyme Activities in Tissues of Zinc Deficient Rats, **J. Clin. Invest.**, 40, 4, 549-557, 1967.

61. Prasad, A. S. and Oberleas, D., Changes in Trace Elements and Enzyme Activities in Tissues of Zinc Deficient Pigs, **Am. J. Clin. Nutr.**, 22, 628-637, 1969.
62. Prasad, A. S. and Oberleas, D., Binding of Zinc to Amino Acids and Serum Proteins In Vitro, **J. Lab. Clin. Med.**, 76, 416-425, 1970.
63. Prasad, A. S., Oberleas, D., Miller, E. R. and Lijecke, R. W., 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.
64. Prasad, A. S., **Deficiency of Zinc in Human Health and Disease**, New York, American Press, 1-40, 1976.
65. Prasad, A. S., and Cossack, Z. T., Zinc Supplementation and Growth in Sickle Cell Disease, **Ann. Inter. Med.**, 100, 367- 371, 1984.
66. Prasad, A. S., Clinical, Biochemical, Nutritional Spectrum of Zinc Deficiency in Human Subjects: An Update, **Nutr. Rev.**, 41, 7, 197-208, 1984.
67. Prasad, A. S., Laboratory Diagnosis of Zinc Deficiency, **J. A. Collage Nutr.**, 4, 591-598, 1985.
68. Prasad, A. S., Clinical, Endocrinological and Biochemical Effects of Zinc Deficiency, **Clin. Endocrin. Med.**, 14, 3, 567-589, 1985.

69. Rahman, M. H., Davies, R. E., Deyoe, C. W., Reid, B. L. and Couch, J.R., Role of Zinc in the Nutrition of Growing Pullets, **Poult. Sci.**, 40, 195-201, 1961.
70. Roth, H. P. and Kirchgessner, H., Zinc Metalloenzyme Activities, **Wld. Rev. Nutr. Diet.**, 34, 144-160, 1980.
71. Sas, B., Keszler, P. and Boros, I., Effect of Zinc Deficiency on Carbonic Anhydrase Activity, Zinc and Copper Content of Some Organs in Rats, **Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae**, 26, 357-362, 1976.
72. Smith, J. E., Brown, E. D. and Smith, J. C., The Effect of Zinc Deficiency on the Metabolism of Retinal-Binding Protein in the Rat, **J. Lab. Clin. Med.**, 84, 5, 692-687, 1974.
73. Smith, L. H. and Thier, S. O., **Pathophysiology, The Biological Principles of Disease**, Philadelphia, W. B. Saunders Co., 481-482, 1985.
74. Sommer, A. L. and Lipman, C. B., Evidence on the Indispensable Nature of Zinc and Barom for Higher Green Plants, **Plant Physiol**, 1, 231-249, 1926.
75. Sömbüllüoğlu, K., **Bioistatistik**. İstanbul. Çağ Matbaası, 121-123, 1978.
76. Stacey, N. H. and Klaassen, C. D., Zinc Uptake by Isolated Rat Hepatocytes, **Biochim. Biophys. Acta**, 1, 693- 697, 1981.

77. Swenerton, H. and Hurley, L. S., Severe Zinc Deficiency in Male and Female Rats, *J. Nutr.*, 95, 8-18, 1968.
78. Tashian, R. E. and Carter, N. D., Biochemical Genetics of Carbonic Anhydrase, *Adv. Hum. Genet.*, 7, 1-56, 1976.
79. Tietz, N. W., *Textbook of Clinical Chemistry*, New York, W. B. Saunders Co., 979-980, 1986.
80. Thxresson, N., Acrodermatitis Enteropathica, *Acta Derm. Venerol.*, 54, 383-385, 1974.
81. Terzioğlu, M., Çakar, L. ve Yiğit, G., *Fizyoloji Pratik Kitabı*, İstanbul, İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp fak. Yayınları, 74-98, 1982.
82. Todd, W.R., Elvehjem, C. A. and Hart, E. B., Zinc in the Nutrition of the Rat, *Am. J. Physiol.*, 107, 146-156, 1934.
83. Väänänen, H. K., Kumpulainen, T. and Korhonen, L. K., Carbonic Anhydrase in the Type I Skeletal Muscle Fibers of the Rat, *J. Histochem. and Cytochem.*, 30, 11, 1109-1113, 1982.
84. Wygood, E. R., Carbonic Anhydrase (Plants and Animal) , *Methods in Enzymology*, Vol II, New York, Academic Press, 836-846, 1955.
85. Whitney P. L. and Briggles, T. V., Membrane-Associated Carbonic Anhydrase Purified from Bovine Lung, *J. Biol. Chem.*, 252, 20, 12056-12059, 1982.

86. Williams, R. B. and Mills, C. F., The Experimental Production of Zinc Deficiency in the Rat, **British J. Nutr.**, 24, 989-1003, 1970.
87. Wistrand, P. J., Properties of Membrane Bound Carbonic Anhydrase, **Ann N. Y. Acad. Sci.**, 429, 195-206, 1984.
88. Wolman, S. L., Anderson, G. H., Marliss, F. B. and Jeejeebhoy, K. N., Zinc in Total Parenteral Nutrition: Requirements and Metabolic Effects, **Gastroenterology**, 76, 458-467, 1979.
89. Venson, H., **Klinik Biyokimya Laboratuvar Çalışmaları**, İstanbul, İ. Ü. Tıp Fak. Yayınları, 400, 402, 425, 1982.

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi