

20023

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞU ANADOLU BÖLGESİNDE NORMAL VE FLOROZİS BELİRTİSİ
GÖSTEREN KOYUNLARDA SERUM SPESİFİK KARACİĞER
ENZİMLERİ (GLUTAMAT OKZALASETAT TRANSAMİNAZ,
GLUTAMAT PİRUVAT TRANSAMİNAZ, LAKTAT DEHİDROGENAZ)
VE ALKALEN FOSFATAZ DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Veteriner Hekim
Tevhide SEL (ÜRESİN)

DOKTORA TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hilal ERGUN

1991 - ANKARA

1. İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
2. ÖNSÖZ	1
3. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	3
3.1. Giriş ve Amaç	3
3.2. Florozisin Tarihçesi	6
3.3. Florun Kimyasal Özellikleri	7
3.4. Florun Kaynakları ve Kullanıldığı Alanlar	8
3.5. Flor Metabolizması	9
3.5.1. Florun kemik dokusuna etkisi	10
3.5.2. Florun dişlere etkisi	12
3.5.3. Florun diğer dokular üzerine etkisi	12
3.5.4. Florun süte geçişi ve süt verimine etkisi	14
3.5.5. Florun plasental geçişi	15
3.5.6. Florun kanserojenik ve mutajenik etkileri	15
3.6. Flor Zehirlenmesi (Florozis)	16
3.7. Florozise Etki Eden Faktörler	17
3.8. Floroziste Teşhis	18
3.9. Floroziste Enzimler	18
3.10. Florozisi Önleyici Faktörler ve Tedavi	31
4. MATERYAL VE METOT	33
4.1. Araştırmada Kullanılan Aletler	33
4.2. Materyal	33
4.3. Metot	33
4.3.1. Serum Glutamat-Okzalasetat Transaminaz aktivitesi tayini	34
4.3.2. Serum Glutamat-Piruvat Transaminaz aktivitesi tayini	36
4.3.3. Serum Laktat Dehidrogenaz aktivitesi tayini	38
4.3.4. Serum Alkalin Fosfataz aktivitesi tayini	40
4.3.5. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan istatistik analiz yöntemleri	41
5. BULGULAR	42
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
7. ÖZET	47
8. SUMMARY	48
9. KAYNAKLAR	49
10. TEŞEKKÜR	55

KISALTMALAR

ADP	Adenozin difosfat
ALP	Alkalen fosfataz
ATP	Adenozin trifosfat
DAP	Dihidroksi asetonfosfat
GAP	Gliseraldehit fosfat
GOT	Glutamat-okzaloasetat transaminaz
GPT	Glutamat-piruvat transaminaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
NAD	Oksitlenmiş Nikotinamid-adenindinukleotid
NADH	Redüklenmiş Nikotinamid-adenindinukleotid
NAS	National Academy of Science
PEP	Fosfoenol piruvat
PGA	Fosfogliserat
PTH	Paratiroid Hormon
WHO	World Health Organization

2. ÖNSÖZ

Uzun süre besinlerle birlikte fazla miktarda florolu bileşiklerin alınmasıyla gelişen florozis, özellikle kemik ve diş bozuklukları ile karakterizedir. Florozis dünyanın bir çok bölgesinde önemli toksikolojik bir problem oluşturmaktadır.

Toprakta ve suda yüksek yoğunluklarda flor bulunan volkanik bölgelerde kronik, endemik florozis olgularıyla karşılaşılmaktadır. Ülkemizde de İsparta ve yöresinde, Eskişehir-Kızılcıören`de, Ağrı ili Doğubeyazıt ilçesi ve köylerinde, Van ili Muradiye ilçesi ve köylerinde endemik florozis uzun yıllardır bilinmektedir.

Florozis özellikle hayvanların mineral maddelere daha fazla ihtiyaç duydukları büyüme, gebelik dönemi, süt veriminin arttığı ve yetersiz besleme durumlarında daha çok şekillenmektedir.

Endemik florozis görülen Doğu Anadolu Bölgesi`nde esas geçim kaynağını hayvancılık oluşturmaktadır. Fakat florozis nedeniyle koyunların 1-2 yıl içinde, sığırların ise 3-4 yılda dişleri aşınıp döküldüğünden gıda alamaz duruma gelmekte, ayrıca enzim inhibitörü olarak metabolizma üzerine olumsuz etkisi olmakta ve hayvanlar elden çıkarılmaktadır. Nüfusun hızla artmasına karşılık, doğal kaynakların sınırlılığı beslenmeyi tüm dünyanın bir numaralı sorununa haline getirdiği günümüzde biyolojik değeri yüksek hayvansal gıdanın beslenmede rolü büyük olmaktadır.

Organizmadaki kimyasal olayların çoğu enzimlerin etkisiyle olmaktadır. Enzim aktivitelerinin ölçülmesi, dokularda meydana gelen patolojik bozuklukların tesbit edilmesinde faydalıdır. SALP (Serum Alkalen Fosfataz), SGOT (Serum Glutamat-Okzalasetat Transaminaz), SGPT (Serum Glutamat-Pruvat Transaminaz) ve SLDH (Serum Laktat Dehidrogenaz) enzimleri metabolik bakımdan çok aktif dokularda fazla miktarlarda bulunur. Bu dokularda meydana gelen herhangi bir harabiyet bu enzimlerin serum düzeyinin yüksel-

mesine neden olur.

Bu çalışma ile Doğu Anadolu Bölgesi koyunlarında önemli ekonomik kayıplara sebep olan floroziste karaciğer enzimlerinin ve kemik yapımını etkileyen enzimlerin aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır.



3. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

3.1. Giriş ve Amaç

Flor, hücreyel aktivitede ve mineral teşekkülünde önemli etkilere sahiptir (67). Laboratuvar hayvanları ile yapılan çalışmalarda florun tüm çiftlik hayvanları için esansiyel bir element olduğu tesbit edilmiştir. Çok az miktarlarda çocuklar ve deney hayvanlarında diş çürümelerini, yetişkinlerde ise kemiklerde osteoporozisi önlemektedir. Farelerde anemiye önlediği ve fertilitiyi artırdığı, ratlarda da büyümeyi hızlandırdığı bildirilmektedir. Bir çok hayvan için esansiyel bir element olmakla birlikte ihtiyaç duyulan miktar çok azdır (37, 38).

Florun diş çürümelerini önleyici etkisi uzun zamandır bilinmektedir (19, 66). İçme sularında 1ppm konsantrasyonunda florun diş çürümelerini önlemede optimal olduğu kabul edilmiştir (19, 64). İçme sularında 1.5 ppm flor WHO (World Health Organization) tarafından üst sınır olarak kabul edilmiş, bunun üzerindeki miktarların flor zehirlenmesine sebep olacağı bildirilmiştir (9). Fakat sıcak iklimlerde su ihtiyacı ve tüketimi fazla olduğundan daha düşük düzeylerde flor içeren suların alınmasıyla da florozis şekillenebileceği bildirilmektedir (9, 19, 21). Bu nedenle iklim şartlarına bağlı olarak içme sularındaki optimum flor miktarı sıcak iklimlerde 0.7 ppm, soğuk iklimlerde ise 1.2 ppm olarak tesbit edilmiştir (9, 19). Dünyada yaklaşık 260 milyon insan florlanmış içme suyu kullanmaktadır (19). Diğer taraftan ister doğal kaynaklardan olsun, ister insan faaliyetlerinden (endüstriyel çalışmalarda çevrenin florla bulaşması) kaynaklansın, yüksek konsantrasyonlarda flor dünyanın bir çok bölgesinde hastalıklara ve bozukluklara neden olmaktadır (64).

Yüksek miktarda flor alınması sonucu şekillenen flor zehirlenmesi "florozis" diye adlandırılmaktadır (9,

17, 38, 64). Flor zehirlenmesi, flor alımına bağılı olarak akut ve kronik florozis diye iki farklı şekilde oluşur (22, 51, 54, 64). Akut flor zehirlenmesi nadir görülür (48, 51, 64). Sodyum florosilikat veya Sodyum florid gibi çok toksik florlu bileşiklerin yanlışlıkla bir defa da fazla miktarda alınması sonucu meydana gelmektedir (22, 51, 54).

Kronik flor zehirlenmesi ise dünyanın bir çok bölgesinde endemik florozis şeklinde görülmektedir (21, 64). Doğal olarak içme sularında fazla miktarda flor bulunması, devamlı olarak yüksek miktarda flor içeren mineral katkı maddelerinin alınması ve flor ile kontamine otlaklar kronik florozis şekillenmesine neden olmaktadır (37, 38). Volkanik bölgelerdeki su kaynakları yüksek düzeyde flor içermekte ve bu bölgelerde endemik florozise sık rastlanmaktadır (19, 53). Ayrıca bu bölgelerdeki iklim şartları sıcak ve kuru olduğundan insidans artmaktadır (19).

Ülkemizde Doğu Anadolu Bölgesinde Ağrı ve Van illerinin ilçe ve köylerinde de florozis görülmektedir. Bu yöre Tendürek dağının kuzey ve güney yamaçlarında volkanik arazi üzerinde bulunmaktadır. Doğal su kaynakları bu bölgede çok olup flor bakımından zengindir (16, 45, 58). Yörede yapılan çalışmalarda çeşitli köylerdeki içme sularında flor miktarını Oruç (45) 2-12.5 ppm, Şendil ve Bayşu (58) 5.7-15.2 ppm, Ergun ve arkadaşları (16) ortalama 7.67 ppm olarak tesbit etmişlerdir.

Kronik floroziste en önemli klinik belirti kemik dişlerde görülür. Dişlerde açık sarı, kahverengi veya siyah renkte lekelenmeler, dişlerin tebeşir görünümü almaları, aşınmalar, hipoplazi, ekzostozlar, eklemlerde kalınlaşma, aralıklı topallık, bazı kemiklerde enine kalınlaşma oluşur (22, 37, 38, 51, 53).

Kemik ve dişlerde şekillenen lezyonlar osteoblast ve odontoblastlardaki enzim sistemlerinin anormalliğine bağlıdır (20).

Yumuşak dokularda flor birikimi çok küçük miktardadır (7, 8, 51, 53). En yüksek konsantrasyon böbreklerde görülmektedir. Çünkü florun vücuttan uzaklaştırılma-

sında birinci yol idrardır (7, 19, 22).

Floroziste dişlerdeki ve kemiklerdeki değişiklikler ile ilgili oldukça geniş çalışmalar yapılmıştır. Fakat fazla flor alınımı ile ilgili böbrek ve karaciğerdeki enzimatik değişikliklere ait bilgiler çok azdır (56).

Karaciğer, metabolizmanın merkezi kontrol organıdır. Karaciğerin metabolik aktivitesi ölçülerek fonksiyonel durumu hakkında bilgi edinilebilir. Serum GOT, GPT ve LDH karaciğer için spesifik enzimlerdir (4, 10, 17, 31).

Floroziste dişlerde ve kemiklerde şekillenen lezyonların yanında bunlara bağlı olarak diğer dokularda da anormalliklerin şekillenmesi beklenmelidir. Flor kuvvetli bir enzim inhibitörüdür (23).

Enzim aktivitelerinin tayini özellikle klinik teşhis yönünden önemli bir kriterdir (4, 50).

ALP klinik önemi ilk farkedilen enzimlerdendir. En fazla ALP aktivitesine sahip doku kemik dokusudur. Büyümekte olan hayvanlarda yetişkinlere nazaran SALP aktivitesinde ki yükseklik yeni kemik teşekkülünden ileri gelmektedir (4, 10).

Bu çalışmada Doğu Anadolu Bölgesinde büyük bir sağlık ve ekonomik problem oluşturan florozisin kemik ve karaciğer fonksiyonlarına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun içinde Doğu Anadolu Bölgesinde florozis görülen Van ili Muradiye ilçesi Çaldıran nahiyesi Başegmez ve Soğuksu köylerindeki (16, 45, 58) florozis belirtisi gösteren koyunlarda, florun karaciğer üzerine etkisinin derecesi karaciğerin indikatör enzimleri GOT, GPT ve LDH enzim düzeylerine, kemiklerde meydana getirdiği hiperosteogenetik etkisi serum ALP aktivitesine bakılarak normal koyun kan serumlarıyla kıyaslanmıştır. Böylece, Doğu Anadolu Bölgesi koyunlarında önemli ekonomik kayıplara sebep olan floroziste, karaciğer enzimlerinin ve kemik yapımını etkileyen enzimlerin durumu memleketimizde ilk defa araştırılmıştır.

3.2. Florozisin Tarihçesi

Flor zehirlenmesi ile ilgili ilk bulgular volkanik patlamalarla beraber görülmektedir. 1100 yıllarında İslanda adasında ki koyunlarda ilk defa bildirilmiştir(49). Daha sonra aynı bölgede 1845'de Hekla yanardağının patlamasıyla da çevredeki koyunlarda florozis belirtileri bildirilmiştir (49). Kuzey Afrika'da sahil şeridi boyunca birçok bölgede yüzyıllardır insan ve evcil hayvanlarda halk tarafından "darmous" diye isimlendirilen, dişlerde önemli düzeyde çürüme ile karakterize bir bozukluk problem teşkil etmekteydi (53, 64).

Amerikan sağlık servisininin 1901'de (53) İtalya'da yaptığı bir sağlık taramasında belli bölgelerdeki yerleşim birimlerinde insanların dişlerinde bozukluklar (daha sonra dental florozis diye tanımlanmıştır.) tesbit etmişlerdir. İnsanlardaki bu diş lezyonları ile flor arasındaki bağlantı ancak 1930'larda Amerika'da ortaya konulmuştur.

Volkanik patlamalara bağlı flor zehirlenmesiyle ilgili en son bilgi 1988'de Güney Amerika'daki bir volkanik kompleksin patlamasıyla, çevredeki çiftliklerde bulunan sığırlarda florozis belirtileri görülmesidir (5).

Florozis endemik olarak Cezayir, Arjantin, Ekvator , Guyana, Hindistan, Meksika, Fas, Suudi Arabistan, Güney Afrika, Tanzanya, Tunus (37), Senegal (9), Amerika, İngiltere, Kanada, Hollanda (8) gibi birçok bölgede görülmektedir.

Yurdumuzda florozis:

Türkiye'de florozisle ilgili ilk çalışma İsparta yöresinde 1955 yılında yapılmıştır (61).

Doğu Anadolu Bölgesinde Ağrı ili Doğu Beyazıt ilçesi ve köylerinde , Van ili Muradiye ilçesi köylerinde de florozis görüldüğü bildirilmektedir (16, 45, 58).

Oruç (45) bölgede yaptığı çalışmalarda Tendürek

volkanının kuzey eteklerindeki Doğubeyazıt ovasında ve güney eteklerindeki Çaldıran ovasında içme ve sulamada kullanılan bazı kaynak sularında yaptığı flor analizi sonucunda Doğubeyazıt yöresindeki suların 6.5-12.5 ppm, Çaldıran yöresindeki suların ise 2.0-7.5 ppm flor içerdiklerini tesbit etmiştir.

Şendil ve Bayşu (58) Tendürek dağı güney eteklerindeki köylerde florozis benzeri bozuklukların görüldüğünün bildirilmesi üzerine bölgede yaptıkları çalışma ile Van-Muradiye ilçesi Çaldıran nahiyesi köylerinde de florozis olduğunu tesbit etmişlerdir. Bölgedeki suların flor konsantrasyonunu 5.7-15.20 ppm arasında bulmuşlardır.

Ergun ve arkadaşları (16) 1987 yılında Doğu Anadolu Bölgesinde yaptıkları bir çalışmada sulara, toprakta ve bölgedeki koyunların kemik, diş ve idrarlarında flor konsantrasyonunu araştırmışlardır. Bölgedeki kaynak sularında ortalama flor miktarını 7.67 ppm olarak bulmuşlardır.

Yurdumuzda ayrıca Eskişehir Kızılcaören köyünde (61, 62, 63), Edirne Habiller köyünde (61) florozis bildirilmektedir.

3.3. Florun Kimyasal Özellikleri

Elemental flor, diatomik moleküle ve çok düşük dissasyon enerjisine sahiptir. Çok etken olduğundan dolayı doğada serbest halde bulunmaz(64), kombine formlarda değişik miktarlarda toprak, su, atmosfer, bitki ve hayvansal dokularda bulunur (53).

Peryodik sistemin VII A grubunda, elektronegatifliği en yüksek elementtir (15).

Doğada aşağıdaki 3 şekilde görülmektedir (64).

1. Florospor, bazen florid de denir (Kalsiyum florür, CaF_2)
2. Kriyolit (Sodyum alüminyum florür, Na_3AlF_6) sentetik türevleride vardır.

3. Kalsiyum, fosfatla birlikte apatit kompleksi şeklindedir. Genel formülü $Ca_{10}X_2(PO_4)_6$ dir. X, F, Cl ve OH^- iyonunda olabilir.

3.4. Florun Kaynakları ve Kullanıldığı Alanlar

Hayvanlar tarafından alınan fazla florun başlıca kaynakları şöyle sıralanabilir (8, 51, 52, 54);

a. Endüstriyel bölgelerdeki kirliliklerin rüzgar, yağmur vs. ile bitki örtüsünü kontamine etmesi sonucu, bunlardan hazırlanan yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesi,

b. Yüksek düzeyde flor içeren doğal (genelde jeotermal) veya endüstriyel kaynaklı sular,

c. Yeterli düzeyde deflorine edilmemiş yem katkıları ve mineral karışımları,

d. Yüksek düzeyde flor içeren toprakta yetişen bitkiler.

Bir çok bitki floru sınırlı miktarda absorbe etmektedir. Genelde bitkilerdeki flor miktarı çok nadir 1-2 ppm'den fazla olmaktadır. Bununla beraber bir çok G - ney Afrika bitkisinde çok toksik miktarlarda floroasetat şeklinde bulunmaktadır (38, 66). Volkanik patlamalar sonucu bölgedeki bitkilerde ortalama flor miktarı 281 ppm'e kadar çıkmaktadır (5). Doğu Anadolu Bölgesinde yapılan çalışmalarda da bölgedeki bitkilerde flor konsantrasyonu 15.24 ppm bulunmuştur (16).

Flor bileşiklerinin önemli kullanılış yerleri vardır. Plastik sanayi, makina yağı ve soğutma araçlarında kullanılmaktadır. Floroasetat ve floroasetamid şeklinde böcek ve fare öldürücü olarakta kullanılmaktadır (64).

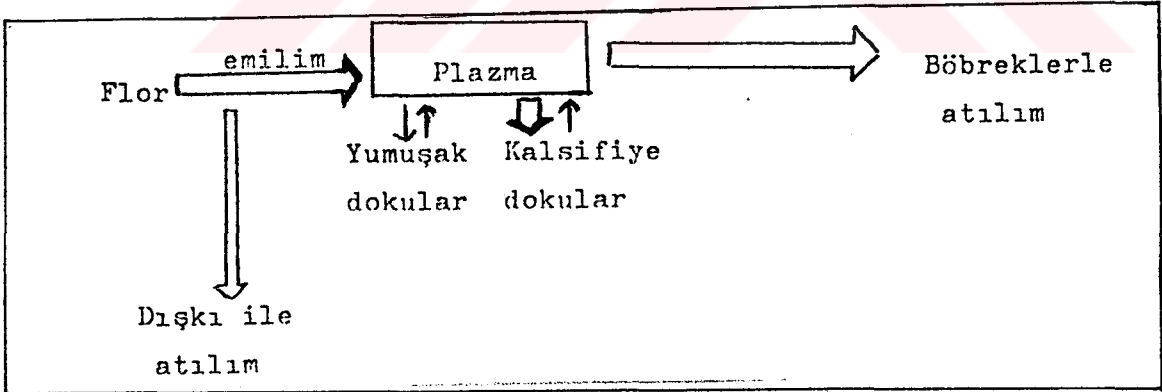
Diş çürümelerinin önlenmesi amacıyla bazı diş macunlarında florürler katılmaktadır. Yine flor miktarı az olan içme sularında flor katılmaktadır (66).

Thiourasil, Thiourea gibi antitroid ilaçları bulunmadan önce flor thyrotoksikozis olgularının sağıtımında kullanılmaktaydı (48). Yine osteoperozis sağıtımında da florlu bileşikler kullanılmaktadır (38, 46).

3.5. Florun Metabolizması

Yem ve sularla alınan florun % 80'i gastrointestinal kanaldan basit diffüzyon ile kana geçer. Büyük çoğunluğu kalsifiye dokularda depo edilir veya böbreklerden atılır (19, 22). Eğer gıdalar aynı zamanda Cu, Mg ve Fe gibi metal iyonları içeriyorsa florun emilimi azalır. Çünkü flor bu elementlerle daha az çözünen bileşikler oluşturur (22).

Flor solunum yoluyla da emilir. Bu yolla emilim gastrointestinal kanala göre çok daha hızlıdır. Bu tip inhalasyon yoluyla fazla flora maruz kalma hava kirliliğinin yüksek olduğu endüstriyel bölgelerde çok görülür (44).



Şekil 3.1. Florun vücutta emilimi, dağılımı ve uzaklaştırılması (22).

Gastrointestinal kanaldan veya akciğerlerden alınan florun % 90'ı albumine bağlı halde kan dolaşımında bulunur, % 10'ı ise biyolojik olarak aktif iyonize formdadır (19, 44). İyon şeklindeki flor önemli bir role sahiptir,

kemiklerdeki kalsiyum fosfatla bağlanarak florapatit teşkil eder (44,63).

Florun vücuttan uzaklaştırılmasında birinci yol idrardır (0.4 mg/24 saatte). Daha az olarakta gastrointestinal kanaldan dışkı ile (0.04 mg/24 saatte) atılır (22) (Şema 3.1.).

Meme bezlerinin flor atılımında çok az düzeyde etkili olduğu, tüketim için güvenli seviyede bulunduğu deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (51).

3.5.1. Florun kemik dokusuna etkisi

Kronik florozis Ca^{2+} ve F^{-} 'un kemiklerde anormal birikimine neden olur (67). Uzun süre fazla flora maruz kaldığında hiperosteotik, tebeşir görünümlü kemik lezyonları şekillenir. İskelet florozisi her yaşta görülebilir. Hatta şiddetli osteoflorozisle beraber normal kalıcı dişler bulunabilir. Kemiklerdeki lezyonlar genelde bilateraldir. Bazende simetrik olabilir. Kemikler tebeşir beyazı, pürüzlü ve düzensiz periosteal yüzeye sahiptir. Kemiklerin çapında büyüme vardır ve normallerinden ağırdır. Esas kemik değişiklikleri periosteal yüzeyde olur. Osteoflorozisin şiddetine göre kemiklerde osteosklerozis, osteoperozis, hiperosteozis, osteophyrozis ve osteomalasia'nin bir veya birkaçı şekillenebilir (21,39,48,51).

İskelet florozisinin radyolojik muayenesinde kemik yoğunluğunda artış en erken bulgulardır. El ve ayakta-ki küçük eklemlerde kısa aralıklı ağrılar vardır. Apsorpsiyon ve birikimin artmasıyla semptomlar belirginleşir, hareketler kısıtlanır, omurgalar sertleşir, eklemlerde sertleşme ve kyphozis gelişir. Ağrı ve paraplajiye bağlı hareketsizlikle "crippling florozis" gelişir. Crippling florozis genelde tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygındır (9).

Kemiklerdeki radyolojik ve histolojik değişikliklerin görülmesi flora maruz kalma süresiyle orantılıdır. Floroziste yeni kemik teşekkülü ve osteoklastik rezorpsiyon-

yonun şekillenmesi sekonder olarak PTH (Paratroid hormonu)'nin etkisinin artması sonucudur (18).

Plazmadaki iyon şeklinde fizyolojik olarak aktif flor önemli bir role sahiptir. Kemik mineralizasyonunun esasını kalsiyum-hidroksi-apatit oluşturmaktadır. Plazmada flor konsantrasyonu arttığında, flor apatit kristalindeki hidroksil iyonu ile yerdeğiştirerek kalsiyum-flora-apatit oluşturmaktadır (44).

Floroziste PTH aktivitesi artmaktadır. Sebebi ise serum kalsiyumundaki düşmedir. Çünkü değişim reaksiyonlarında daha stabil ve az reaktif olan kalsiyum floroapatit kristallerinden kalsiyumun mobilizasyonu azalmaktadır. Buna bağlı olarak serum PTH seviyesi artmaktadır (18,48).

Osteofloroziste tüm kemikler aynı şekilde etkilenmez. Metabolik olarak daha aktif olan kemikler (çiğneme, solunum, lokomotor vb.) daha fazla etkilenmektedir. Bu kemiklerde flor birikimi daha fazladır. Kemiklerdeki birikim homojen değildir. Metabolik olarak aktif kısımlarda (örneğin: büyüme bölgeleri, damarlanmanın çok olduğu bölgelerde) birikim daha fazladır (16.53).

Doğu Anadolu Bölgesinde yapılan çalışmada da kemiklerin distal ve proksimal bölgelerindeki flor birikimi kemiğin orta bölgesine göre daha fazladır (16).

Kemiklerdeki lezyonlar, F alımının azaltılmasıyla tekrar normal haline dönebilir. Fakat şiddetli kemik lezyonu olan hayvanlar uzun yaşamadıklarından normal hale dönüş olmaz (51).

Normal kemiklerdeki flor miktarı için referans değer 400 ppm'in altında verilmektedir (5). Florozisli kemiklerde ise miktar 3000-5000 ppm'in üzerine çıkmaktadır. Doğu Anadolu'da yapılan çalışmada da florozisli koyunlarda 3374-5149 mg/Kg, Batı Anadolu normal koyunlarında ise 273-872 mg/Kg bulunmuştur (16).

3.5.2. Florun dişlere etkisi

Dişlerde şekillenen lezyonlar, hayvanlardaki florozisin en spesifik ve karakteristik belirtisidir (27,35, 39,52). Dental florozis dişlerde kalsifikasyonun şekillendiği büyüme çağında görülür (66). Dişlerde şekillenen lezyonlar kalıcıdır. Dişler gelişmeleri sırasında flora çok duyarlıdırlar (51,53). Fakat dişler birkere şekillenip, kalsifikasyonları tamamlanınca fazla florun çok az etkisi olur. Bu nedenle genç hayvanlar dental florozise daha duyarlıdır (51).

Dişlerin şekil, renk ve büyüklüklerinde değişiklikler oluşmaktadır. Dişlerin esas rengi kaybolmuştur. Tebeşir görünümünde, sarımsı veya kahverengi-siyah lekeli görünüştedir. Mine tabakasında kayıp ve hipoplazi vardır. Lezyonlar genellikle bilateraldir (9,51). Kesici dişlerde çukurlar şekillenmekte, molar dişlerde çatlama ve aşınma sonucu boşluklar görülmektedir. Özellikle kalıcı dişlerin şekillenmesi sırasında fazla miktarda flor alınması (örneğin; sığırlarda yemle beraber 20-30 ppm düzeyinde total flor alınması) dişlerde çürümeye neden olmaktadır (37,38).

Dişlerdeki anormal aşınma flor birikimiyle direk ilgili değildir. Florun esas etkisi amebblast ve adamantoblastlar tarafından sentezlenen kollagen matriks sentezi ile ilgilidir (39). Kronik flor zehirlenmesinde kolagen biyosentezinde bozulma görülmektedir (44,63).

Sığırlarda 4-5 ppm flor içeren sular dişlerde lekelenmeye neden olur (3,37).

3.5.3. Florun diğer dokular üzerine etkisi

Floroziste diş ve kemiklerde şekillenen lezyonların yanında bunlara bağlı yetersiz beslenme ve otlama zamanının kısalması sonucu diğer dokularda da bozuklukların şekillenmesi olasıdır (23,27,35).

Kemik ve diş dokusu bir tarafa bırakılırsa böbrek diğer organlardan daha fazla flora maruz kalmaktadır. Çünkü florun vücuttan uzaklaştırılmasında birinci yol böbreklerdir (22,48.51).

Hayvan deneylerinde ratlara altı aydan daha uzun srelerde yüksek dozda (100ppm) flor verildiğinde böbreklerde değişikliklerin arttığı bildirilmektedir (48).

Koyunlarda yapılan deneysel çalışmada 15 mg/Kg NaF ağız yoluyla verilerek akut florozis oluşturulmuştur. Bu koyunların karaciğerinde çok hafif bir büyüme ve karaciğer yüzeyinde peteşiyal kanamalar görülmüştür. Hepatik hücrelerde yağlanma şeklinde dejeneratif değişiklikler tesbit edilmiştir (59).

Bell ve arkadaşlarının (7) radyoaktif izotopla yaptıkları çalışmada floru, yumuşak dokulardan akciğer ve böbrekte en yüksek yoğunlukta bulmuşlardır.

Köpeklerde yapılan bir çalışmada 21 ay boyunca günde 0.1-1 gr NaF verilmiş ve bu peryodun sonunda kan, kas ve karaciğerde flor miktarları tayin edilmiştir. Kanda 1.14 , kaslarda 1.84, karaciğerde 2.51 equvalant gr NaF bulunmuştur (44).

Kessabi ve arkadaşlarının (27) koyunlarda yaptıkları deneysel florozis çalışmasında, kontrollere göre diğer gruplardaki koyunların iştahlarında azalma ve genel sağlık durumlarında bir bozulma gözlemişlerdir. Yine büyüme hızları kontroller göre yavaş bulunmuştur, 4.7 mg/Kg flor verilen grupta (en yüksek flor verilen grup) böbrek ve karaciğerde patolojik lezyonlar tesbit edilmiştir. Lezyonlar karaciğerde küçük hiyalin dejenerasyon odacıkları şeklinde ve akut hepatit tesbit edilmiştir.

Bütün bu çalışmaların yanında Hoogstratten ve arkadaşları (24) sığırılarda yaptıkları çalışmada floroziste karaciğerde , hemapoietik sistemde ve troid bezinde histolojik, fonksiyonel ve büyüklüklerinde bir değişikliğe rastlayamamışlardır.

Fisher (19) ve Shupe (51)'da yumuşak dokularda herhangi bir patolojik değişiklik olmadığını bildirmektedirler.

Floroziste artan kemik formasyonu sonucu servikal bölgedeki anterior sinir köklerine oluşan basınca bağlı nörolojik komplikasyonlarda görülebilmektedir (48).

Florozisin yapağı, deri üzerine etkisi; yapağıda kuruma ve kalınlaşma, deride elastikiyet kaybı şeklinde olmaktadır (51).

Florun yumuşak dokulardaki yıkıcı etkisi uzun süre çok yüksek düzeylerde flor alındığında şekillenmektedir(22, 27).

3.5.4. Florun süte geçişi ve süt verimine etkisi

Süt ineklerinde floroziste en belirgin bulgular dental florozis ve süt verimindeki azalmadır (35). 50 ppm' in üzerindeki flor laktasyondaki sığırlarda süt üretiminde azalmaya sebep olmaktadır (37,38).

National Academy of Science (NAS) 1974'de süt inekleri için tolere edilebilen flor miktarını rasyondaki kuru maddeye göre 40 ppm kabul etmiştir (14).

Eckerlin ve arkadaşları (14) süt inekleri ile yaptıkları çalışmada bu düzeyi yetersiz bulmuşlardır. Çünkü 28 ppm düzeyinde florun süt üretimini azalttığını tesbit etmişlerdir.

Stoddart ve arkadaşları (54) yaptıkları çalışmada süt ineklerinde artan flor alınımına bağlı verimlerinde azalma tesbit etmişlerdir. Laktasyon sayısı arttıkça daha düşük düzeyde flor alan grupların veriminde de azalma olmuştur.

Floroziste süt ineklerinde süt verimindeki azalmanın esas nedeni diş ve kemiklerde şekillenen lezyonlar sonucu yem tüketiminin azalması ve otlama zamanının kısalmasına bağlı dolaylı olarak şekillenmektedir (26,36,51).

Kemiklerdeki mineral kısmın esası kalsiyumhidroksiapatitdir, fakat flor hidroksil iyonu ile yer değiştirir ve kalsiyumfloraapatit teşkil eder. Bu şekil daha stabil olduğundan kemik dokusundan kalsiyum salınımı azalır. Süt-

teki kalsiyum iki kaynaktan sağlanır; yemdeki kalsiyum ve iskelet kalsiyumu. Optimal yemleme şartlarında dağılım % 50'dir. İskelet kalsiyumunun kullanılması azalınca süt üretiminde de azalma olur (36).

3.5.5. Florun plasental geçişi

Flor küçük miktarlarda plasentaya geçmektedir(52). Maternal dokulardaki flor miktarıyla karşılaştırıldığında fetal kemiklerdeki flor miktarı çok düşüktür (51.52).

Bir inek fazla miktarda flora maruz kaldığında flor kemik dokusunda birikmektedir, gebelik sırasında trans-plasental olarak gelişmekte olan fetal iskelete geçmektedir. Sonuçta buzağı belli bir derecede de olsa flora maruz kalmış olmaktadır (14).

Florozisli sığırlardan doğan buzağılarda konjenital florozis şekillenebilmektedir. Böyle buzağılardaki lezyonlar diş minesinde hipoplazi, diş ve kemiklerde kahverengi lekeler, osteoblastlarda atrofi, osteopenia, kemik iliği hücrelerinde atrofi, büyümede gerilik şeklindedir (35).

3.5.6. Florun kanserojenik ve mutajenik etkileri

Florun mutajenik etkisi konusunda üç farklı görüş vardır (12);

- a. Flor mutajenik etkili değildir.
- b. Flor mutajenik etkilidir, DNA ve kromozom yıkımına neden olmaktadır.
- c. Flor mutasyona neden olan maddelerin etkilerini artırır veya azaltır.

Dunipace ve arkadaşlarının (12) farelerde yaptıkları çalışmada florun mutajenik etkide olmadığı ortaya konulmuştur.

Florun kemik kanserine sebep olduğunu belirten bir açıklama 1989 yılında ABD basınında geniş yankılar uyandırmıştır. Bunun üzerine bu konu ile ilgili bir sempozyum

düzenlenmiştir. Sempozyumda florun kanser oluşumunda herhangi bir etkisi olmadığı açıklanmıştır. Bu konudaki çalışmaların hala devam ettiği bildirilmiştir (65).

3.6. Flor Zehirlenmesi (Florozis)

Floroziste bir çok faktörlerin etkisi vardır. Flor alınımına bağlı olarak akut ve kronik florozis diye iki farklı şekilde oluşur (22,48,51).

Akut flor zehirlenmesi; bir defada fazla miktarda flor alınımı sonucu meydana gelmektedir. Yüksek miktardaki florun midede hidröflorik asit teşkili ile, gastrointestinal kanalda lokal irritasyon sonucu bulantı ve kusma görülmektedir(22,44,51). Semptomlar flor alınımını izleyen 30 dakika içinde başlamakta ve 24 saat devam edebilmektedir (22). Asidoz şekillenebilmekte, koma, konvulziyon, kardiyak aritmi görülmektedir. Bu semptomlar florun sirkulasyondaki kalsiyumu bağlamasıyla şekillenen hipokalsemi sonucudur. Florun enzim sistemlerine inhibe edici etkisi sonucu, aerobik glikoliz, doku respirasyonu gibi önemli hücresel aktiviteler bozulmaktadır. Kan basıncı düşmekte, vazomotor depresyon ve florun doğrudan kalp kasını etkilemesi sonucu şok gelişmektedir. Stimulasyon ve depresyonun kombine etkileri sonucu santral sinir sistemi ve solunum merkezi etkilenmektedir. Ölüm genellikle solunum felci veya kalp yetmezliği sonucu meydana gelmektedir (22, 44,51).

Kronik flor zehirlenmesi; düşük düzeyde flora uzun süre maruz kalınmasıyla oluşmaktadır. Zehirlenme çok yavaş gelişir, belirtiler ve lezyonlar çok uzun sürede ortaya çıkar. Florun kemik ve diş gibi sert dokulara affinite göstermesi sonucu bu dokularda birikimi ve buna bağlı lezyonların şekillendiği görülür (22.51,54). Kronik florozisteki değişiklikler şu şekilde özetlenebilir(64);

a. Kimyasal florozis; idrar, kemik ve dişlerdeki

flor miktarında artışla karakterizedir,

b. Dişlerdeki etkiler; diş minesindeki lekeli, tebeşirimsi lezyonlar, hipoplazi ve aşırı aşınma.

c. Dışa doğru kemik büyümesi (ekzostoz) ve diğer kemik değişiklikleri,

d. İştahın ve enerjinin azalması ile sonuçlanan sistemik etkilerdir.

3.7. Florozise Etki Eden Faktörler

Flor zehirlenmesini etkileyen faktörleri başlıca şöyle sıralayabiliriz; alınan florun miktarı, flor alım süresi, hayvanın türü, yaşı, beslenme düzeyi, genel sağlık durumu, stress, florla beraber alınan benzer etkili veya florun etkisini azaltan diğer maddeler, alınan florun çözünürlüğü ve bireysel farklılıklar (51). 1 ppm flor içeren suyu tüketen bir sığır günde 0.01-1.00 mg/Kg flor almış olur. bu sağlık açısından önemli değildir. Ancak 4-5 ppm flor içeren sular dişlerde lekelenmeye neden olur. 50 ppm'in üzerindeki flor ise önemli düzeyde topallık ve laktasyondaki sığırlarda süt üretiminde azalmaya neden olur (37).

Uzun süre flora maruz kalındığında kronik florozis şekillenmektedir (22,51). Florun kimyasal formuda önemlidir, NaF şekli kalsiyumfloritten daha toksiktir(37).

Flor zehirlenmesine en duyarlı hayvanlar ruminantlardır (1,37). Hayvan türlerine göre tolere edilebilen flor miktarları değişmektedir. Yemde tolere edilebilen flor miktarları sığırlarda 30-40, koyunlarda 60, atlarda 40-60, yumurta tavuğunda 400, broylerlerde 300, kuzularda 150 ppm'dir (37).

Gençlerde diş ve kemik gelişimi hızlı olduğundan alınan florun büyük kısmı bu dokularda birikmektedir (22).

Yetersiz beslenmede flor zehirlenmesinin zararlı etkilerini artırmaktadır (37).

Flordan doğal olarak zengin suların kullanıldığı toprak ve bu toprakta yetişen bitkilerde flor miktarı artmaktadır. Bu durumda bölgedeki hayvanların içme suyundaki flora ilaveten, toprak ve bitki aracılığı ile bir miktar daha flor almaları sonucu toksik flor seviyesi artmaktadır (45).

3.8. Floroziste Teşhis

Genel olarak evcil hayvanlarda mineral toksikozis problemleri toprak çeşidine, endüstriyel kirliliğe bağlı olarak görülmektedir (38).

Floroziste, dişlerde şekillenen lezyonlar klinik olarak hastalığı en iyi tanımlayan semptomlardır (27,35,39,52,64).

Florozis teşhisinde en kullanışlı yöntem idrarda flor miktarının analizidir. Çünkü vücuttan florun uzaklaştırılmasında birinci yol üriner atılımdır. Florozisteki semptomlar ve lezyonlarla beraber hayvanların yem ve su kaynaklarının flor miktarlarının bilinmeside teşhiste yardımcıdır (51).

Hayvanların idrarlarındaki flor miktarı normal olarak 5-10 ppm olduğu halde, kronik zehirlenmede bu miktar 20-30 ppm olmaktadır (58).

İdrarda, kemik ve dişlerde flor miktarı (51) tayini yanında enzim ve hormon analizleri, serum mineral madde konsantrasyonlarının (25,40,56,57) tayinide teşhiste yardımcı olabilir.

3.9. Floroziste Enzimler

Floroziste kemik ve dişlerde şekillenen lezyonlar osteoblast ve odontoblastlardaki enzim sistemlerinin anor-

malliğine bağlıdır (20).

Yüksek konsantrasyonlarda flor çok sayıda kalsiyum bağımlı enzimatik, biyosentetik ve transport olaylarını modüle eder. Fazla miktarlarda flor alınımı sonucunda organizmada şekillenen fosfatidil serin-kalsiyum-flor (PS-Ca-F) kompleksi hücre membranının hidrofobik yüzeyinde birirmektedir. Kompleks flor oluşumu lipid kristallinitesinde ve enzim aktivitesinde önemli değişikliklere neden olur. Bu etkiler sonucu hücre fonksiyonunda ve metabolizmasında çok büyük etkiler meydana gelir (67).

Florun enzimler üzerine etkisi ile ilgili çalışmalarda en büyük değişim magnezyum bağımlı enolaz, piruvat kinaz, ATP-az gibi enzimlerde ve hücre içi ATP miktarında olduğu gözlenmiştir. Hücre içi ATP miktarı azalmıştır, kan glukoz düzeyi düşmüştür (48).

Flor bir enzim inhibitörüdür. Magnezyum-flor-fosfat kompleksi teşkil ederek karbonhidrat ara metabolizmasını, ATP'nin oksidatif fosforilasyonunu ve sitrat metabolizmasını inhibe eder (23).

Florun süksinat dehidrogenaz ve pirofosfataz gibi bazı enzim sistemleri için güçlü bir inhibitör olduğu, adelinat siklaz gibi bazı enzimlerinde aktivatörü olduğu tesbit edilmiştir. Florun güçlü bir şekilde inhibe ettiği enzime klasik örnek glikoliz enzimi enolazdır (43).

Suketa ve arkadaşları (56) ratlarla yaptıkları çalışmada floroziste çeşitli enzim aktivitelerinde önemli değişiklikler gözlemişlerdir. Letal doza yakın flor alındığında glikolitik ve sitrik asit siklusu enzimleri inhibe edilmektedir.

Yüksek flor konsantrasyonları kofaktörü Mg^{2+} olan enzimleri inhibe etmektedir. Kofaktörü Mg^{2+} olan enzimler kofaktörü Mn^{2+} olan enzimlere oranla 40 defa daha kuvvetli olarak inhibe edilmektedir. Zn^{2+} 'nin aktive ettiği enzimler ise flor tarafından çok düşük inhibisyona uğrurlar (34).

Prostetik grup olarak heme-demir içeren sitokrom c peroksidaz ve katalaz gibi bir çok enzimde flor tarafın-

dan inhibe edilmektedir. Askorbat oksidaz, seruloplazmin gibi bakır içeren bir çok enzimde flor tarafından inhibe edilmektedir. Flor galaktoz oksidazdaki Cu^{2+} ile karboksi peptidazdaki manganı bağlama kapasitesindedir (43).

Florun biyokimyasal sistemlere etkileri araştırıldığında florun yağ asidi sentezini, pentoz fosfat yolunu, glikolizisi inhibe ettiği bulunmuştur (43).

Flor adenilat siklazı aktive etmektedir (11,33,43, 57). Florun adenilat siklazın aktivitesini sitimule etmesi c-AMP üzerinden olmaktadır. Flor fosfodiesteraz için güçlü bir inhibitördür. Florun bu enzimi inhibisyonu sonucu cAMP teşekkülü sitimule edilmektedir (57). Siklik AMP enzim teşkilinde önemli bir role sahiptir. Floroziste karaciğer ve böbrekteki glukoz-6-fosfataz'da artış bu organlardaki cAMP artışına bağlıdır (56,57).

Florun kemik teşekkülünü sitimule ettiği ve yapılan çalışmalarda bir miktar yeni kemik teşekkülünde artma olduğu gösterilmiştir(3). Alkalen fosfataz normal kemik teşekkülünde rol almaktadır (4.10.29).

Floroziste en çok incelenen enzim serum alkalen fosfatazıdır. Çeşitli araştırmacılar tarafından farklı türlerde floroziste ALP düzeyleri araştırılmıştır (3,5,40,41, 42).

Miller ve Shupe (41) florozisli sığırlarda yaptıkları çalışmada ALP aktivitesinde artış bulmuşlar ve bu artışın kemikte biriken flor miktarı ile orantılı olarak arttığını kaydetmişlerdir.

Kedilerde yapılan deneysel floroziste ALP aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır (3).

Mohiuddin ve Reddy (42) koyunlarda yaptıkları bir çalışmada deney süresince ALP aktivitesinde herhangi bir değişim gözlememişlerdir.

Hoogstratten ve arkadaşları (24) diyetteki flor miktarı ile serum ALP aktivitesi arasında hiç bir korelasyon bulamamışlardır.

Miller ve arkadaşları (40) florozisli sığırların kemiklerinde ALP düzeyine bakmışlar ve ALP aktivitesi osteoflorotik kemiklerde 3.58-6.92 kat daha fazla bir yükselme göstermiştir. ALP aktivitesindeki artışın kemikteki flor konsantrasyonu ile bağıntılı olduğunu tesbit etmişlerdir.

Araya (5) sığırlarda floroziste SALP ve SGT aktiviteleri ile özellikle flor konsantrasyonunu anormal derecede yüksek bulmuştur.

Öztopçular (46) Doğubeyazıt'da insanlarda, yaptığı bir çalışmada ALP aktivitesinin vakaların % 27.5'inde yükseldiğini tesbit etmiştir.

Florun miktara bağlı olarak osteogenik etkide olduğu, ALP aktivitesindeki artışların çok yüksek flor konsantrasyonunun osteogenik etkisinden ileri gelebileceği bildirilmektedir (5).

Poey ve arkadaşları (47) içme sularında 3-5 mg/L flor ihtiva eden endemik florozis görülen bölgedeki insanlarda yaptıkları çalışmada asit fosfataz aktivitesinde artış, ALP, transaminaz ve kolinesteraz aktivitesinde ise bir değişiklik bulamamışlardır.

Anderson (2) tarafından yapılan bir çalışmada da florun laktat dehidrogenaz enziminin katalitik aktivitesini kompetatif (yarışmalı) olarak inhibe ettiği bildirilmiştir. İnhibisyon enzim-NADH-flor kompleksi teşkili sonucu olduğu, florun piruvatın bağlandığı yer için piruvat ile yarıştığı gösterilmiştir.

Florun enzimler üzerine etkisi flor konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (51).

Enzimlerin klinik tanıda önemi:

Enzimler protein yapısında maddelerdir ve hayat enzim reaksiyonlarının işbirliği yaparak kurdukları bir sistemdir (17,31).

Enzimler, kan dolaşımında fonksiyon gören ve fonk-

siyon görmeyen plazma enzimleri diye birbirinden ayrılır. Fonksiyon gören plazma enzimleri kan dolaşımında her zaman vardır. Bunların substratları kan dolaşımında vardır ve kanda fizyolojik bir görev yaparlar. Fonksiyon görmeyen enzimler normal fizyolojik koşullarda kanda düşük düzeyde bulunur, esas olarak dokularda lokalize olmuştur(32). Doku enzimlerinin fizyolojik koşullarda serumda saptanan oldukça düşük etkinlikleri hergün önemli sayıda hücrenin parçalanarak ortadan kaldırılmasını gerektiren yenilenme olayı ile açıklanır (32,60):

Farklılaşma olayı sırasında her doku, hücrelerinde egemen olan metabolizma olaylarının belirlediği bir enzim düzenine sahip olur. Böylece belirli bir türde her organ yada doku için kendine özgü bir hücre enzimleri modeli söz konusudur. Çeşitli dokular arasındaki bu ayırım temelde nicel karakterdedir (60).

Öte yandan çeşitli enzimler hücrenin değişik alt birimlerinde lokalize olmuşlardır (sitoplazmik enzimler, mitokondri enzimleri gibi) (60). Hücre içinde sentezlenen ve boyutlarının büyüklüğü nedeniyle bozulmamış hücre zarlarını geçemeyen bu makromoleküllerinin kanda bazal değerlerin üstünde bir etkinlik göstermeleri, hücrede zar geçirgenliğinin bozulmasından hücrenin tüm olarak parçalanmasına kadar değişen düzeylerde bir lezyonun varlığını yansıtır (32,60).

ALP, kemikler için oldukça dar bir doku spesifitesi gösteren klinik önemi ilk farkedilen hücresel enzimlerdendir (4,10,29,60). 1920'lerde önemli kemik ve karaciğer hastalıklarında ALP aktivitesinde artma olduğu keşfedilmiştir. SALP kemik ve karaciğer bozukluklarını karakterize eden önemli bir enzimdir (29).

Alkalen fosfataz özellikle kemiklerin osteoblastlarında, barsakların mukoza hücrelerinde, dalak, akciğer, meme bezleri, seminifer tubuluslarda ve lökositlerde bulunur (4). Büyümekte olan hayvanlarda serum ALP'sinin en büyük kaynağı kemiktir. Yetişkinlerde ise ALP aktivitesinin esas kaynağı karaciğerdir. Normal karaciğerde, safra

kanalı epitelinde yüksek ALP aktivitesi vardır. Safra kanalının herhangi bir düzeyinde bir tıkanıklık olursa, serum hepatik ALP aktivitesi yükselir. Özellikle hepatik yağlanmada artış daha çok görülür. Diabette, hipotroidizmde, hiperadrenokortikosteroidizmde, şiddetli açlık ve geç gebelikte karaciğerde lipid birikir ve serum ALP aktivitesi artar (29). Yeni kemik teşekkülünün arttığı kemik hastalıklarında da ALP aktivitesi artar (4).

GOT, GPT ve LDH ara metabolizmanın temel tepkimelelerini denetleyen hücresel enzimlerdir (60). Yaygın doku yıkımı sonucu serum düzeylerinde artma görülür. Karaciğer, kalp kası ve iskelet kası gibi dokularda yüksek yoğunluklarda bulunur (32). GPT plasma ve sitozolde, GOT mitokondride, sitozolde ve plasmada, LDH ise sitozolde lokalize olmuşlardır (29).

LDH, iki tip peptit den yapılmış bir tetrapeptitdir. Bu iki tip peptitin çeşitli kombinasyonları sonucu beş izoenzimi meydana gelir. LDH izoenzimleri teşhiste ilk kullanılan izoenzimlerdir (29,32).

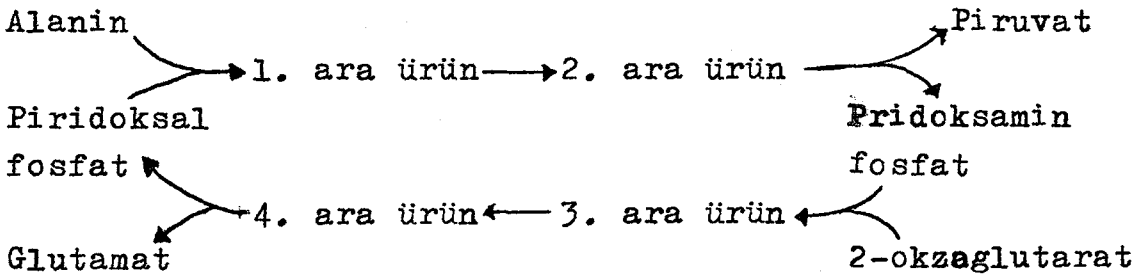
Akut karaciğer hastalıklarında hücre zarının yıkımı veya hücre nekrozu sonucu GOT ve GPT'nin plasmadaki aktiviteleri artar (29). GOT, GPT ve LDH karaciğer için spesifik enzimlerdir (17,60).

Enzimler hayat olaylarını düzenlediklerinden bunların aktivitelerindeki artış ve azalışlar normal fonksiyonların bozulmasına ve hastalıklara neden olmaktadır (17). Enzim aktivitelerinin tayini hastalıkların teşhisi için önemli bir kriter olmaktadır (4,17,32,60).

Glutamat-Oksalasetat Transaminaz (EC 2.6.1.1.):
Sistemik adı: L-aspartat:2-oksoglutarat amino transferaz

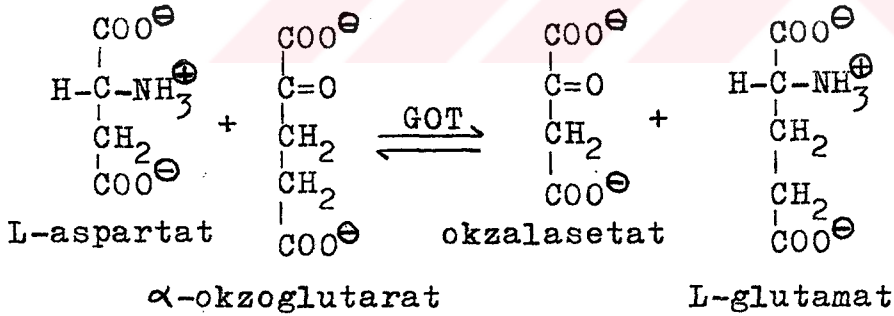
Transaminazlar bir amino asitin α -amino grubunu bir α -ketoasite transferi ile yeni bir α -ketoasiti ve yeni bir α -amino asiti meydana getiren reaksiyonu katalize

eden enzimlerdir. Reaksiyona iştirak eden maddelerden her ikisi önce bir ara madde meydana getirirler. Bu ara madde de hidrolitik olarak yeni bir amino asite ve yeni bir keto asite parçalanır (Şekil 3.2.). Transaminasyon reaksiyonlarında piridoksal fosfat koenzim olarak görev yapmaktadır ve amino grupları için bir ara taşıyıcı olarak hizmet etmektedir (17,32).



Şekil 3.2. Transaminasyon reaksiyonu (17,32).

GOT, L-aspartatı ve α -okzoglutaratı, okzalasetat ve glutamata transaminasyonunu katalize eder (10,28,31).

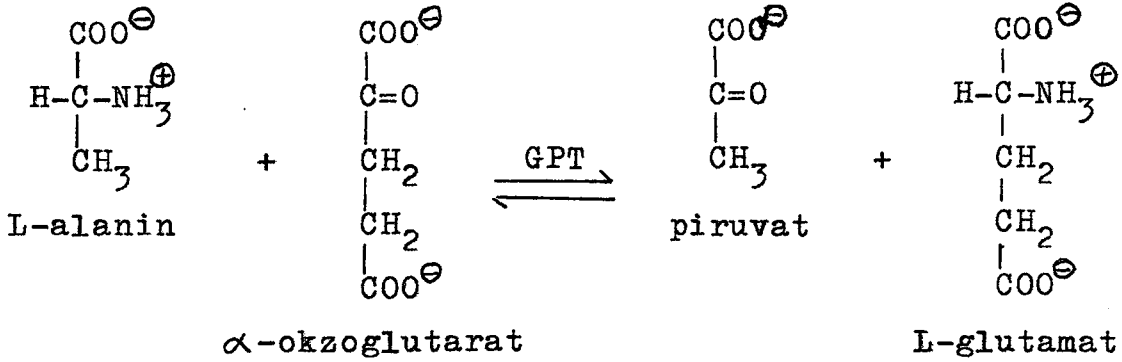


Şekil 3.3. GOT'nin katalize ettiği transaminasyon reaksiyonu (28).

Aspartat aminotransferaz (AST) olarakta bilinen bu enzim plazmada ve hemen bütün hücrelerin sitozol ve mitokondrilerinde bulunur (10).

Glutamat-Piruvat Transaminaz (EC 2.6.1.2):
Sistemik adı: L-alanin: 2-okzoglutarat amino transferaz

GPT, L-alanin ve α -okzoglutaratın piruvat ve glutamata transaminasyonunu katalize eder (10,28,31).

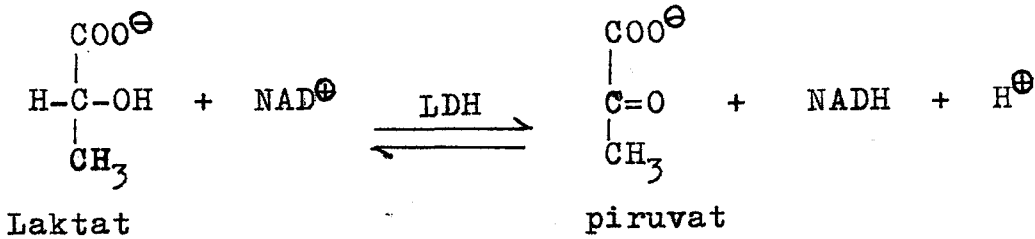


Şekil 3.4. GPT'nin katalize ettiği transaminasyon reaksiyonu (28).

Alanin amino transferaz (ALT) olarak bilinen bu enzim plazmada ve hücrelerde bulunur (10).

Laktat Dehidrogenaz (EC 1.1.1.27.):
Sistemik adı: L-Laktat: NAD oksidoredüktaz

LDH, kofaktör olarak nikotinamid adenin dinukleotidi (NAD⁺) kullanarak L-laktatın piruvata reversibil oksidasyonunu katalize eder (10,28,31).



Şekil 3.5. Laktatın piruvata oksidasyonu (28).

LDH, vücudun bütün dokularında bulunan sitoplazmik bir enzim olup, en çok karaciğer, böbrek, kalp ve iskelet kasında bulunur(31,32). LDH iki tip peptitden oluşmuş, H (Heart=kalp) ve M (Muscle=kas), bir tetrapeptittir. Bu iki tip peptidin çeşitli peptit bağlanmaları sonucu beş izoenzimi meydana gelir. LDH-1, LDH-2, LDH-3, LDH-4 ve LDH-5, bunların peptit bağlarının bileşimi sırasıyla HHHH, HHHM, HHMM, HMMM ve MMMM şeklindedir (10,32). LDH izoenzimleri çeşitli dokularda farklı miktarlarda bulunur ve aynı reaksiyonları katalize ederler (28,32).

Alkalen Fosfataz (EC 3.1.3.1.):

Sistemik adı: Ortofosforik monoester fosfohidrolaz

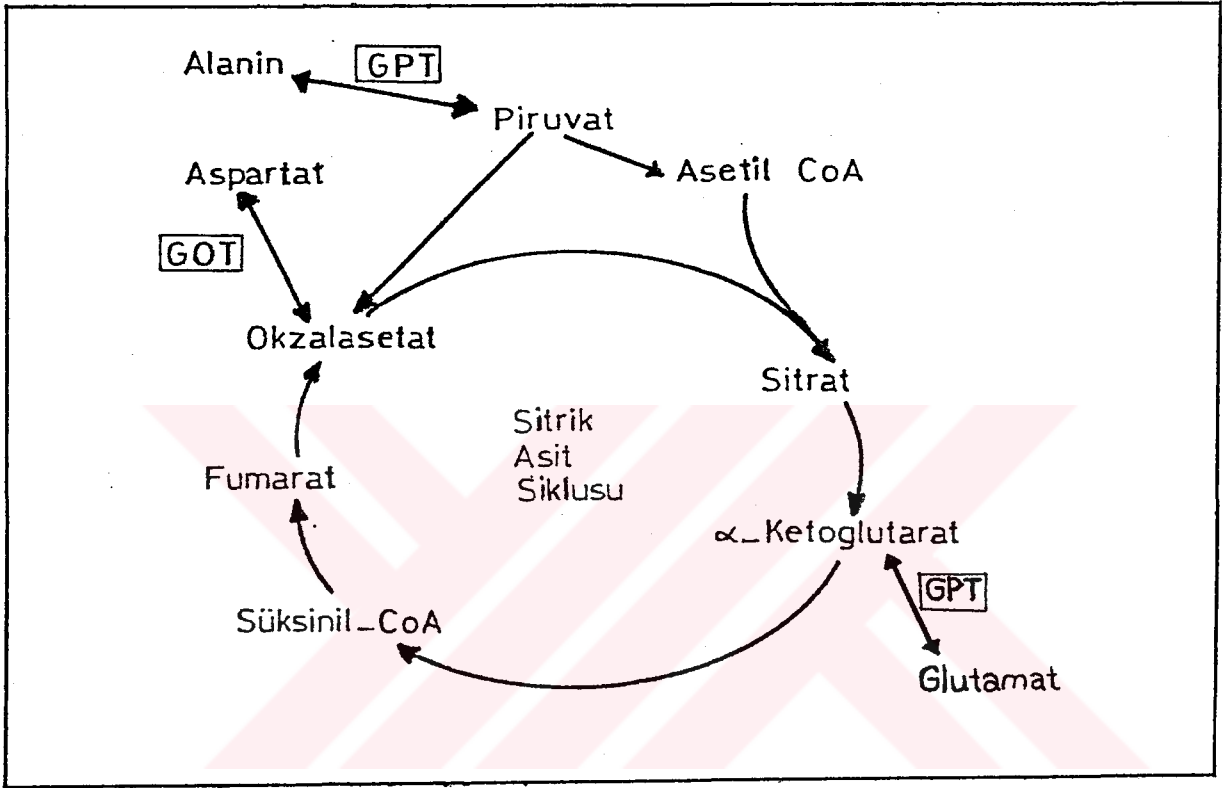
ALP, düşük substrat spesifitesine sahip, alkali pH'da monofosfat esterlerinin hidrolizini katalize eder (10). Optimum pH'sı 10'dur, birçok tip fosfat esterini hidrolize eden multiple moleküler formda (izoenzimleri gibi) mevcut spesifik olmayan bir enzimdir. Endojen substratı bilinmemektedir, fakat enzim ATP'nin defosforilasyonunu katalize etmektedir. ALP'nin bir grup izoenzimi vardır; kemik, karaciğer, barsak, plasenta ve böbrekteki bu izoenzimleri elektroferez, immunolojik özelliklerine, kinetik sabitlerine, inhibitörlerle veya ısıya duyarlılıklarına göre izole ve karakterize edilirler (10,29).

Serum GOT, GPT, LDH ve ALP'nin organizmada önemi:

Transaminasyon reaksiyonu için sabit olan denge, oldukça ortak olduğundan transaminasyon serbestçe geri dönüşümlü bir olaydır. Bu transaminazların hem amino asit katabolizmasında hemde biyosentezinde fonksiyon görmelerine izin verir (32). Transaminazlar protein ve karbonhidrat metabolizması arasında önemli bir bağlantı aracıdır (31,32).

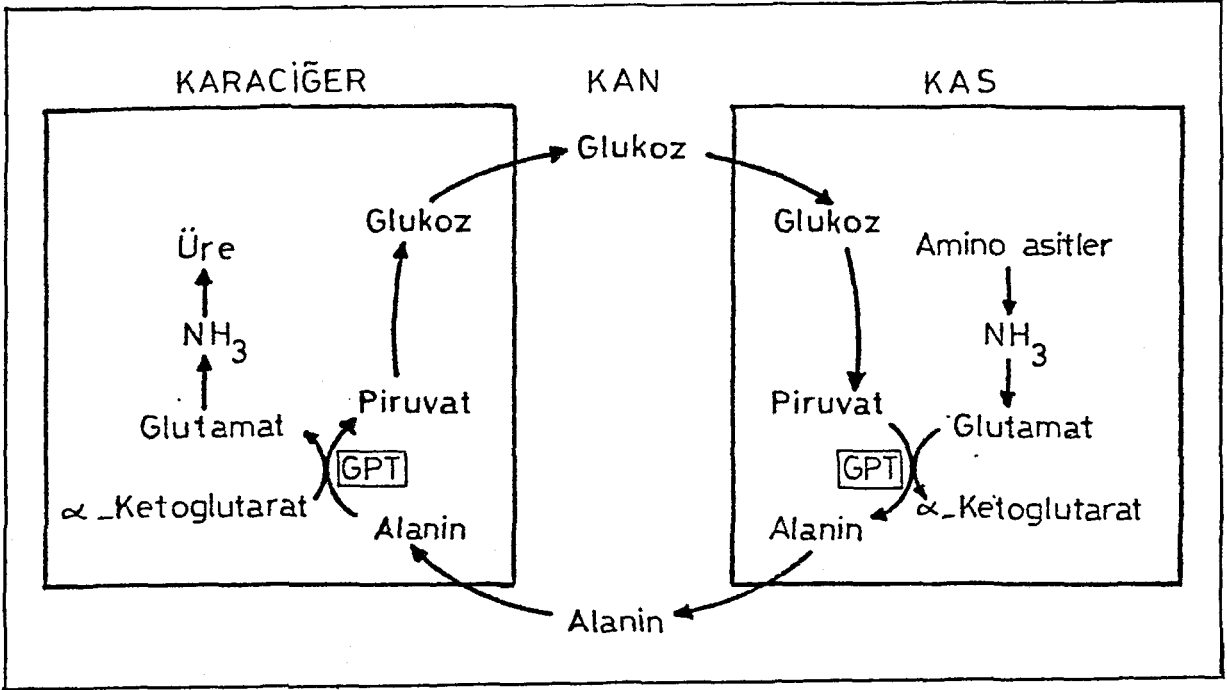
Transaminazlar glukoneogenik etkidedir (50). Alanin ve aspartat glikojenik amino asitlerdir. Aspartat GOT

ile okzalasetata, alanin GPT ile piruvata dönüşerek sitrik asit siklusuna girerler (Şekil 3.6). Bu glukoneojenik yoldan glukoz verirler. Glukoneogenezis karaciğerde aktiftir (31,32).



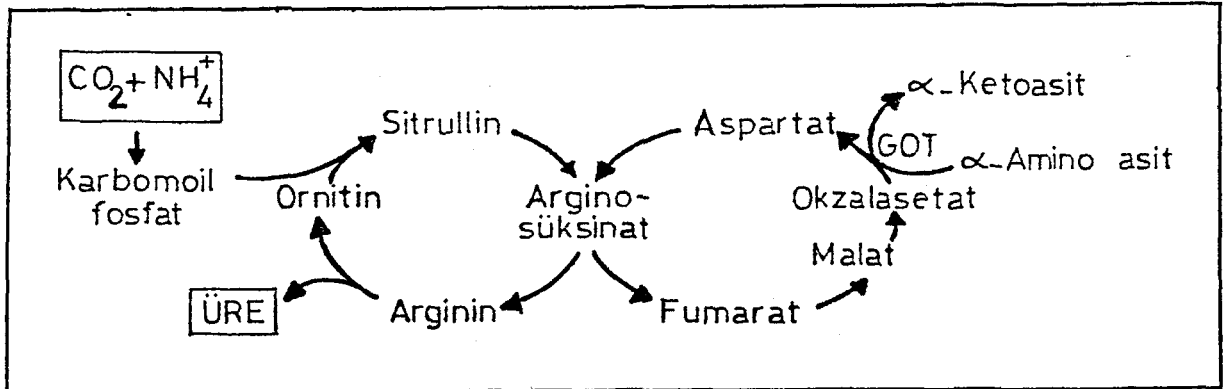
Şekil 3.6. Transaminasyon ve glukoneogenezisin sitrik asit siklusuyla ilgisi (32).

Alanin bir anahtar glukojenik amino asit olarak iş görür. Karaciğerin alaninden glukoneogenez kapasitesi çok büyüktür. Açlıkta, alanin çoğunlukta olmak üzere kaslardan karaciğere amino asit transfer edilir, glukoz-alanin siklusu diye bilinen bu döngüde (Şekil 3.7.) alanin kasta karaciğere taşınır, glukozla çevrilir ve tekrar kasa taşınır. Kaslardan karaciğere net amino nitrojeni transfer olurken, karaciğerden kasa serbest enerji transfer edilir (32). GTP, glukoz-alanin siklusunda önemli rol oynamaktadır (31,32,55.)



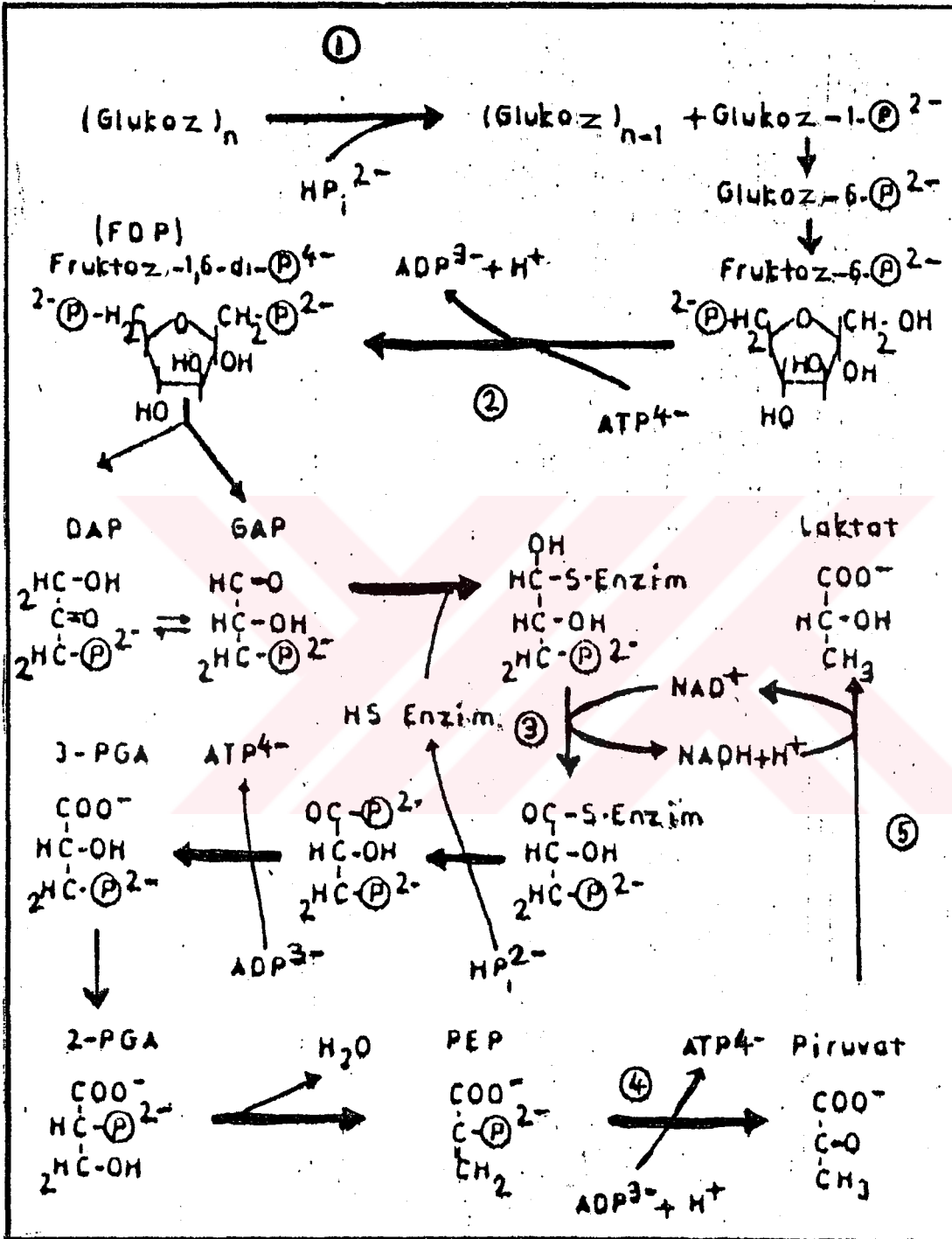
Şekil 3.7. Glukoz-alanin siklusu (32).

Memelilerde azotun dışa atılışının başlıca yolu, karaciğerde sentez olunan, kan içine salıverilen ve böbrekler tarafından kandan temizlenen üredir. Üre sentezi kısmen siklik bir olaydır. bununla beraber amonyak, CO₂, ATP ve aspartat tüketilir (32). Üre sentezinde transaminazlar rol oynar (28,55) (Şekil 3.8.).



Şekil 3.8. Üre siklusu ile sitrik asit siklusu ilişkisi (28,55).

LDH, laktatın piruvata oksidasyonunu tersinir olarak kataliz eden bir enzim olup, glikolizde önemli bir role sahiptir (30) (Şekil 3.9.).



Şekil 3.9. Glikoliziste LDH'nin rolü (30).

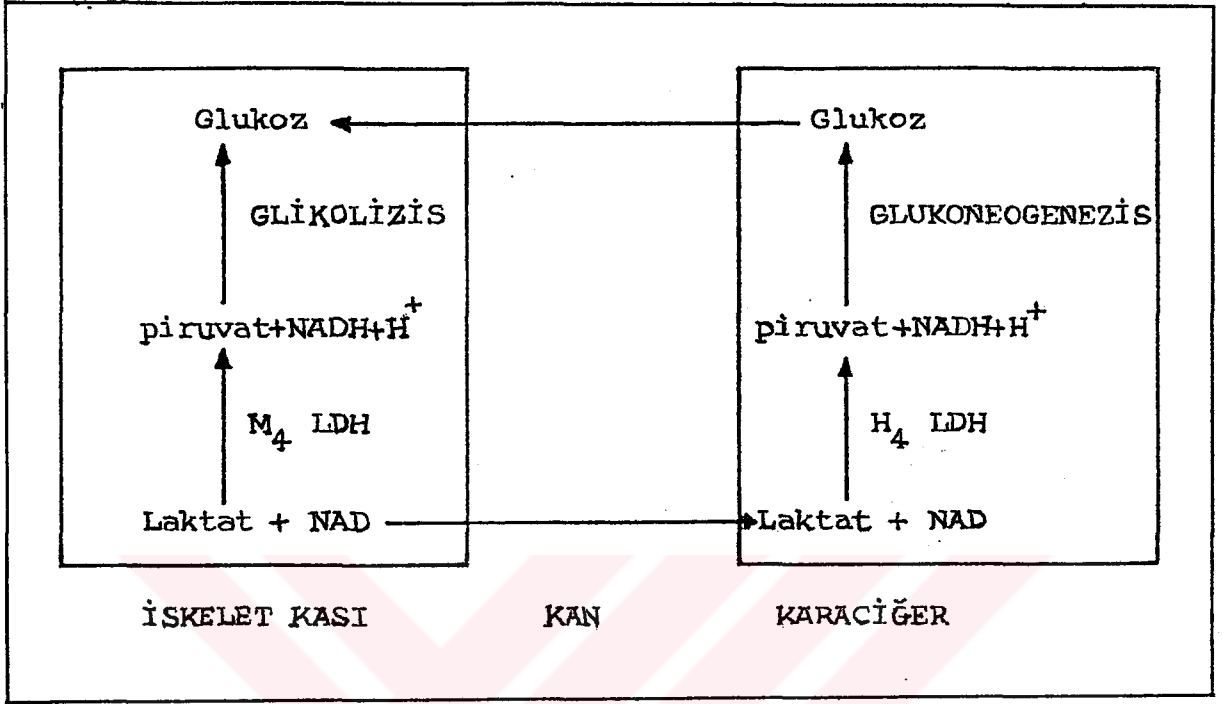
Laktat teşekkülü yolu ile NADH'ın yeniden okside olması, gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz tarafından katalize edilen reaksiyon için yeteri kadar NAD⁺'ı yeniden üretmek suretiyle oksijen bulunmadığı halde glikolizin devamına olanak sağlar (17,30,31,32). Böylece hipoksik şartlar altında fonksiyon gören dokular laktat meydana getirme eğilimi gösterir (30,32). Bu söz konusu organın iş yapma hızının, kendisinin oksijenlenme kapasitesi ile sınırlı bulunmadığı iskelet kasları için özellikle doğrudur. Kasda, piruvatı laktata çevirmek üzere anaerobik olarak çalışma yeteneğinin önemi ne piruvatın nede laktatın kendilerine ait değildir. Bu reaksiyonun organizmada önemi NADH'ı NAD⁺ 'ya çevirmeye hizmet etmesidir. Çünkü NAD⁺ bulunmaksızın anaerobik glikoliz devam edemez ve anaerobik ATP sentezi durur. Anaerobik şartlar altında piruvatın laktata çevrilişi NADH'ı yeniden okside eder ve ATP sentezine izin verir (32).

Anaerobik glikoliz sonucu ortaya çıkan ATP mitokondride değil hücre plazmasındadır. Kas kontraksiyonu veya diğer enerji ihtiyacı gerektiren olaylar için derhal kullanılabilir. Mitokondrial ATP'de ise bu daha geçtir(30).

İskelet kaslarında glikozun oksidasyonu sonucu şekillenen laktat, glukoneogenezis için karaciğere taşınır. Yeni sentezlenen glukoz tekrar kana geçerek iskelet kaslarına gider. Glukozun karaciğerden kaslara ve laktatında kaslardan karaciğere geçişine Cori döngüsü (= laktik asit döngüsü) denir (Şekil 3.10.), bu olaylar LDH aktivitesi ile ilişkilidir (17,31,55).

ALP aktivitesi absortif hücrelerde ve bezlerin mikrovillilerinde görülür, örneğin safra kanalı kanalikus epiteli, barsak kanalı, böbrek tübüler epiteli ve plasenta gibi. Aynı zamanda karaciğer hücrelerinde ve kemikteki osteoblastlarda bulunur. Kemik diğer dokulara nazaran daha fazla ALP aktivitesine sahiptir. ALP'nin osteoblastlarda meydana gelmesi bunun kemiklerin ossifikasyonu ve mineralizasyonunda önemli rol oynadığını göstermektedir. ALP'nin optimum pH'sı 10'dur, fakat bu pH vucutta pek görülmez. Bu da

ALP'in organizmada farklı bir aktiviteye sahip olabileceğini gösterir (10).



Şekil 3.10. Cori siklusu (= laktik asit siklusu)(32).

3.10. Florozisi Önleyici Faktörler ve Tedavi

Floroziste bilinen başarılı bir sağıtım yoktur. Destekleyici ve semptomatik sağıtım uygulanabilir. Dişlerde şekillenen lezyonlar irreversibildir. Kemiklerdeki lezyonlar flor alınıminin azaltılmasıyla tekrar normal haline döndürülebilir. Hayvanların, toksik flor kaynaklarından uzaklaştırılmasının ekonomik olmadığı durumlarda bazı maddelerin yeme katılması faydalıdır. Bunlar kalsiyum karbonat, magnezyum veya alüminyum bileşikleridir (51).

Vit C katkıları da florozisin kötü etkilerini hafifletebilmektedir. Vit C'nin bu etkisi kollajen biyosentezi üzerine florun kötü etkisini hafifletmekle olmakta-

dır. Bu problemin esaslı çözümü optimal düzeyde flor içeren yeni su kaynaklarının sağlanmasıdır (44).

Yeme ilave edilen Ca, Mg gibi metal iyonlarında flor ile kompleks oluşturarak gastrointestinal kanaldan flor emilimini %90 önlemektedir (22).

İçme sularının deflorinasyonu için bir çok metot kullanılmaktadır. Bunlar iki genel tipte incelenebilir; suya kimyasal maddelerin ilavesiyle çöktürme veya florun belirli yataklardan geçirilmesi şeklindedir (6). Kimyasal maddelerin ilavesinde suya kalsiyum fosfat, bentonit, kil, diatom toprağı, kireç, magnezyum ile alüminyum tuzları tek başına veya yardımcı çöktürücülerle katılır. Sonra filtrasyon veya çöktürme ile bunlar sudan ayrılır(6,8).

Diğer metod da ise, doğal veya sentetik trikalsiyum fosfat, hidroksiapatit, magnezyum, aktive edilmiş alüminyum, aktif kömür ve iyon değiştiriciler kullanılır. Bununla beraber bu metotların her birinin diğerine göre istenmeyen zararlı bir tarafı vardır. Bunlar yüksek maliyet, flor için düşük seçicilikte olması, az miktarda flor uzaklaştırma kapasitesinde olma, ayırma problemi, komplike veya pahalı düzenleme şeklindedir (6).

4. MATERYAL VE METOT

4.1. Araştırmada Kullanılan Aletler

- a. Spektrofotometre, PERKIN-ELMER UV/VIS Spektrofotometre, Mod. No: C 6320002,
- b. Mini Santrifüj, EPPENDORF Zentrifuge 3200,
- c. Su banyosu, 37°C'de.

4.2. Materyal

Araştırmada, Doğu Anadolu Bölgesi Van ili, ilçe ve köylerinden sağlanan 2-3 yaşları arasında değişen 27 adet florozis belirtileri gösteren, 20 adet klinik olarak sağlıklı gözükten Morkaraman koyunlardan alınan kan serumları kullanılmıştır.

Deneme grubunu; Van ili Muradiye ilçesi Çaldıran nahiyesi Başeğmez ve Soğuksu köylerindeki florozis belirtisi gösteren koyunlar oluşturmuştur.

Kontrol grubunu ise Van ili Et ve Balık Kurumu mezbahasına getirilen klinik olarak sağlıklı koyunlar meydana getirmiştir.

Koyunların, Vena jugularisinden alınan kan numunelerinin serumu ayrıldıktan sonra SGOT ve SGPT analizleri aynı gün, LDH ve ALP analizleri ise ilk iki gün içinde yapılmıştır. Serumlar bu süre içinde + 4°C'de (29) muhafaza edilmiştir.

4.3. Metot

Serum GOT, GPT, LDH ve ALP enzimlerinin aktivite-

leri enzim kitleri ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

4.3.1. Serum Glutamat-Okzalasetat Transaminaz aktivitesinin tayini

Deneyin Prensipleri:

SGOT aktivitesinin tayini 2.4-Dinitrofenil Hidrazinle kolorimetrik metotla yapılmıştır.

Bu metotla GOT aktivitesi tayininin esası aşağıdaki reaksiyonda görülmektedir.



Yukarıdaki reaksiyonda oluşan okzalo-asetat alkalik ortamda 2.4-Dinitrofenilhidrazin ile reaksiyona sokulur. Sonuçta meydana gelen fenilhidrazonların renk şiddeti transaminaz aktivitesi ile orantılıdır.

Kullanılan Ayırıcılar:

1. Substrat: Fosfat tamponunda 200 m mol/L aspartat, 2 m mol/L keto-glutarat,
2. Renk Ayırıcı: 1 m mol/L 2.4-Dinitrofenilhidrazin.
3. 0.4 N Sodyum Hidroksit (NaOH),
4. Standart: 2 m mol/L piruvat.

Deneyin Yapılışı:

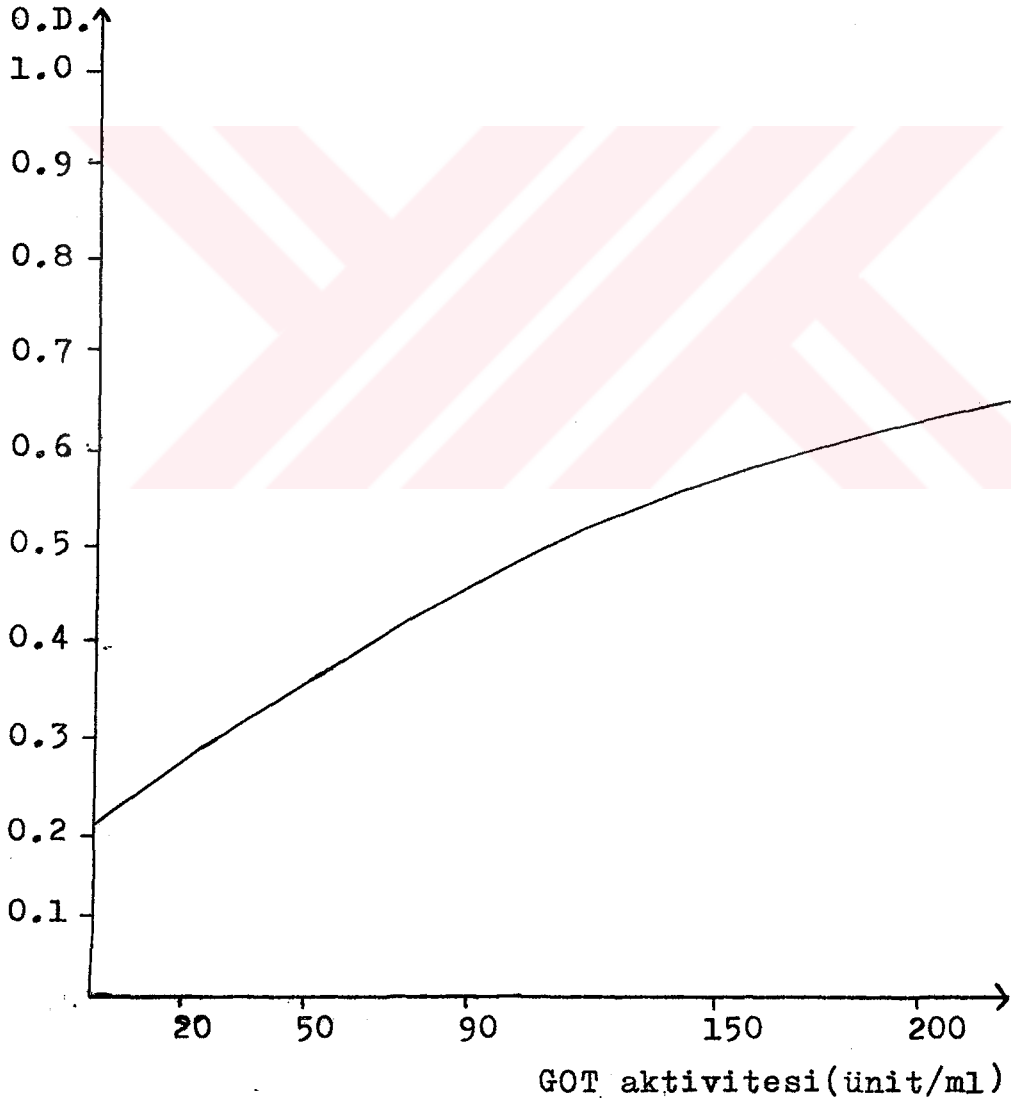
Deneyler Bioberg firmasının enzim kitleri (Cat.No: B 16015) ile yapılmıştır.

Bir deney tüpüne 0.5 ml substrat konularak 37°C su banyosunda 5 dakika bekletildi. Sonra 0.1 ml serum ilave edilerek çalkalandı ve hemen su banyosuna konuldu. 30 dakika inkubasyondan sonra su banyosundan alınarak 0.5 ml renk ayırıcı eklendi. Karıştırılarak 20 dakika oda ısısında bek-

letildi. Üzerine 5 ml NaOH konularak karıştırıldı. 5 dakika sonra bidistile suya karşı 505 nm'de spektrofotometre de okundu. Standart eğriden, okunan optik dansitelere karşı gelen SGOT ünit/ml. değerleri bulundu.

Standart Eğrinin Çizilmesi:

Standart çözelti 0-22-55-95-150-215 ünit/ml. GOT aktivitesi olacak şekilde hazırlanarak bunlara karşı gelen optik dansiteleri okundu. Optik dansiteler ve bilinen GOT aktiviteleri kullanılarak standart eğri çizildi.



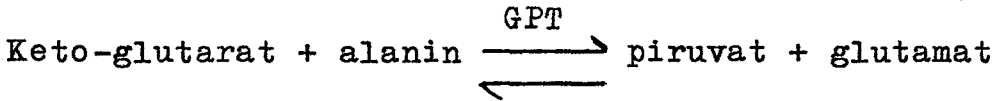
Sekil 4.1. GOT standart eğrisi.

4.3.2. Serum Glutamat-Piruvat Transaminaz
aktivitesinin tayini

Deneyin Prensibi:

SGPT aktivitesi tayini 2,4-Dinitrofenil hidrazinle kolorimetrik metotla yapılmıştır.

Bu metotla SGPT aktivitesi tayininin esası aşağıdaki reaksiyonda görülmektedir.



Yukarıdaki reaksiyonda oluşan piruvat, alkali ortamda 2,4-Dinitrofenil hidrazinle reaksiyona sokulur. Sonuçta meydana gelen fenilhidrazonların renk şiddeti transaminaz aktivitesi ile orantılıdır.

Kullanılan Ayıraçlar:

1. Substrat: Fosfat tamponunda 200 mmol/L alanin, 2 mmol/L keto-glutarat,
2. Renk ayıracağı: 1 mmol/L 2,4-Dinitrofenil hidrazin,
3. 0.4 N NaOH,
4. Standart: 2 mmol/L piruvat.

Deneyin Yapılışı:

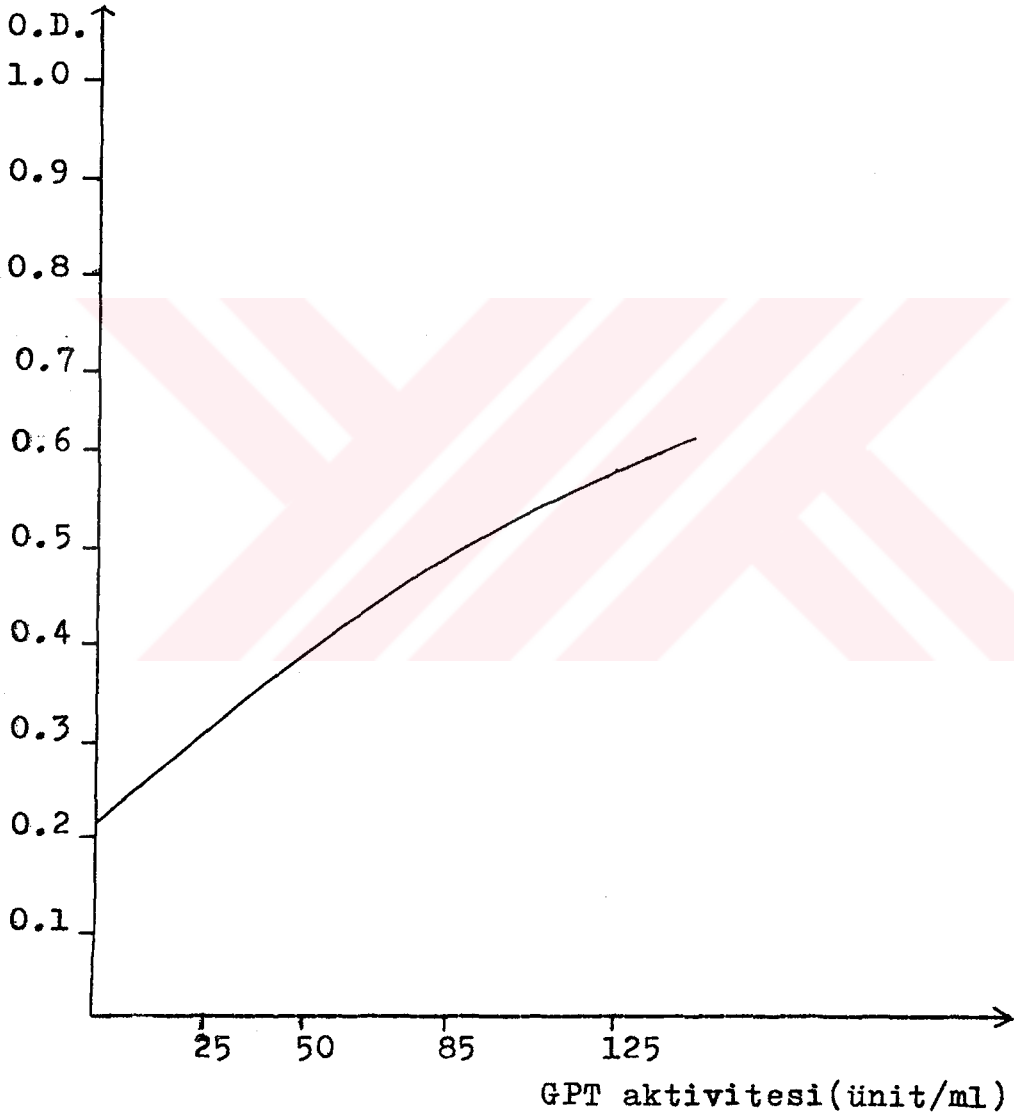
Deneyler Bioberg firmasının enzim kitleri (Cat. No: B 16015) ile yapılmıştır.

Bir deney tüpüne 0.5 ml substrat konularak 37°C su banyosunda 5 dakika bekletildi. Sonra 0.1 ml serum ilave edilerek çalkalandı. Hemen su banyosuna konuldu. 30 dakika inkubasyondan sonra su banyosundan alınarak 0.5 ml renk ayıracağı eklendi. Karıştırılarak 20 dakika oda ısısında bekletildi. Üzerine 5 ml NaOH konularak karıştırıldı. 5 dakika sonra bidistile suya karşı 505 nm'de spektrofotometrede okundu. Standart eğriden, okunan optik dansitelere

karşı gelen SGOT ünit/ml değerleri bulundu.

Standart Eğrinin Çizilmesi:

Standart çözelti 0-25-50-83-126 ünit/ml GPT aktivitesi olacak şekilde hazırlanarak bunlara karşı gelen optik dansiteler okundu. Optik dansiteler ve bilinen GPT aktiviteleri kullanılarak standart eğri çizildi.

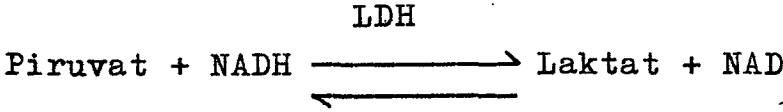


Şekil 4.2. GPT standart eğrisi.

4.3.3. Serum Laktat Dehidrogenaz aktivitesi tayini

Deneyin Prensipleri:

LDH aktivitesi tayini kolorimetrik metotla yapılmıştır. LDH aşağıda görülen reaksiyonla piruvatın laktata dönüşümünü katalize eder.



Değişme hızı ve miktarı LDH miktarı ile orantılıdır. Bu metotda piruvatın fazlası 2.4-Dinitrofenil hidrazinle reaksiyona girerek alkali ortamda renkli hidrazonları meydana getirir. Numunelerdeki LDH aktivitesi ile inkubasyondan sonra arta kalan piruvat miktarı ters orantılıdır.

Kullanılan Ayıraçlar:

1. Piruvat substratı: 0.75 mmol/L Sodyum piruvat,
2. Renk ayıracağı: 200 mg/L 2.4-Dinitrofenil hidrazin,
3. NADH: 1 mg β -Nikotinamid adenindinukleotid, redükte şekli, disodyum,
4. 0.4 N NaOH.

Deneyin Yapılışı:

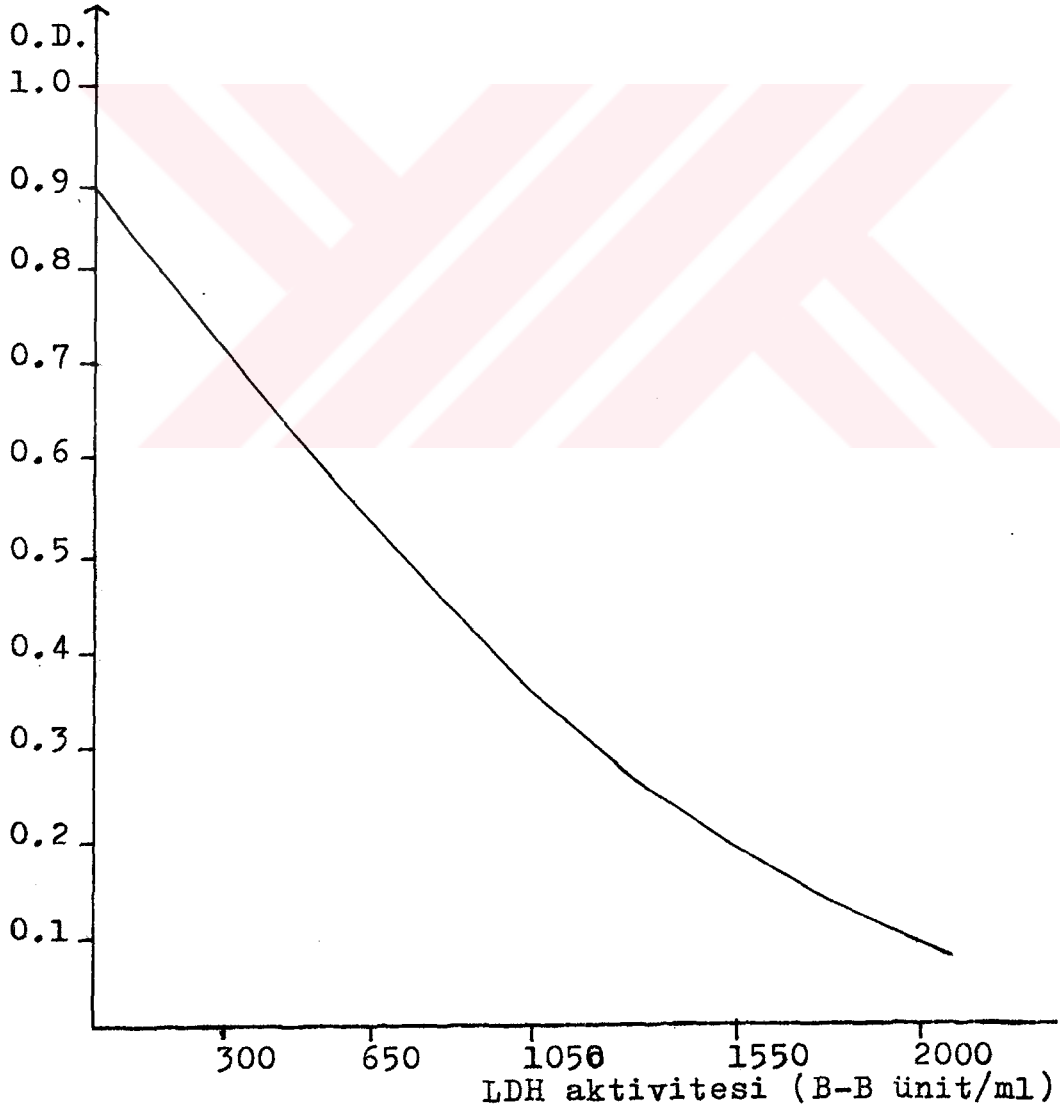
Deneyler Sigma enzim kitleri (Cat.No: 500-C) ile yapılmıştır.

1 mg NADH ile kaplı vialde 1 ml piruvat substratı konularak bir kaç dakika 37°C su banyosunda bekletildi. 0.1 ml 6 kez sulandırılmış serum (1 kısım serum + 5 kısım su) ilave edilerek karıştırıldı. Tekrar su banyosuna konuldu ve tam 30 dakika bekletildi. Su banyosundan çıkarılınca üzerine 1 ml renk ayıracağı eklenerek çalkalandı. Oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra 10 ml NaOH ilave edildi. Bir kaç kez alt üst edilerek karıştırıldı. 5 dakika sonra spektrofotometrede bidistile suya karşı 458 nm'de optik

dansitesi ölçüldü. Okunan değere karşı gelen Berger-Broide (B-B) ünit/ml LDH miktarı standart eğriden bulundu.

Standart Eğrinin Çizilmesi:

Piruvat substratı 0-280-640-1040-1530-2000 B-B ünit/ml LDH aktivitesi olacak şekilde hazırlandı. Standartın 1 numaralı (LDH aktivitesi 0) tüpü ile dalga boyu ayarlandı. Bunun için; bidistile suya karşı standart 1'in optik dansitesinin 0.9 olduğu dalga boyu tesbit edildi. Bu çalışmada dalga boyu 458 nm olarak bulundu ve okumalar buna göre yapıldı. Optik dansiteler ve bilinen LDH aktiviteleri kullanılarak standart eğri çizildi.



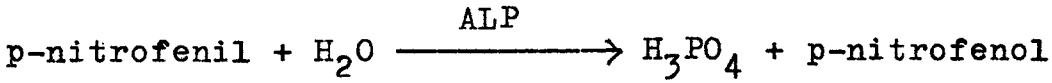
Şekil 4.3. LDH standart eğrisi.

4.3.4. Serum Alkalen Fosfataz aktivitesinin tayini

Deneyin Prensipleri:

ALP aktivitesi tayini p-nitrofenil ile kolorimetrik metotla yapılmıştır.

Bu metotla ALP aktivitesi tayininin asası aşağıdaki reaksiyonda görülmektedir.



Yukarıdaki reaksiyonda oluşan p-nitrofenol renkli bir bileşik olduğu için direkt olarak ölçülür. Sonuçta meydana gelen renk şiddeti ile alkalen fosfataz aktivitesi orantılıdır.

Kullanılan Ayıraçlar:

1. Substrat: pH 10.5 Buffer'da (50 mmol/L glisin, 0.5 mmol/L MgCl₂) p-nitrofenil fosfat 5.5 mmol/L,
2. 0.02 N Sodyum Hidroksit (NaOH),
3. Standart: 2 mmol/L p-nitrofenol.

Deneyin Yapılışı:

Deneyler Bioberg firmasının enzim kitleri ile (Cat. No: B 11030) yapılmıştır.

Bir deney tüpüne 0.5 ml substrat konularak 37°C su banyosunda 5 dakika bekletildi. 0.05 ml serum ilave edilerek çalkalandı ve hemen su banyosuna konuldu. 20 dakika inkubasyondan sonra su banyosundan alınarak 5 ml 0.02 N NaOH eklendi ve karıştırıldı. Aynı işleme tabi tutulmuş blank'e karşı 405 nm'de spektrofotometrede okundu. Yine aynı işleme tabi tutulmuş standartın optik dansitesine göre $\frac{\text{numunenin O.D.}}{\text{standartın O.D.}} \times 6$ formülü ile ALP Bessay units

(BU) ml değerleri hesaplandı. BU/ml değerleri 16.67 ile çarpılarak serum ALP aktivitesi internasyonal nite (U/L) cinsinden elde edildi.

4.3.5. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan istatistik analiz yöntemleri

Analizler sonucunda elde edilen serum GOT, GPT, LDH ve ALP aktivitelerinin tesadüf parsellerinde varyans analizi ile F değerleri bulundu (13).



5. BULGULAR

Çalışmalarda elde edilen serum GOT, GPT, LDH ve ALP değerlerine ait bulgular ve istatistik değerlendirmeleri Tablo 5.1. ve Şekil 5.1. 'de verilmiştir.

Florozis belirtisi gösteren koyunların ortalama GOT ve GPT enzim aktiviteleri normal koyunlara ait değerlerden istatistik bakımdan önemli derecede ($P < 0.001$) yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 5.1.).

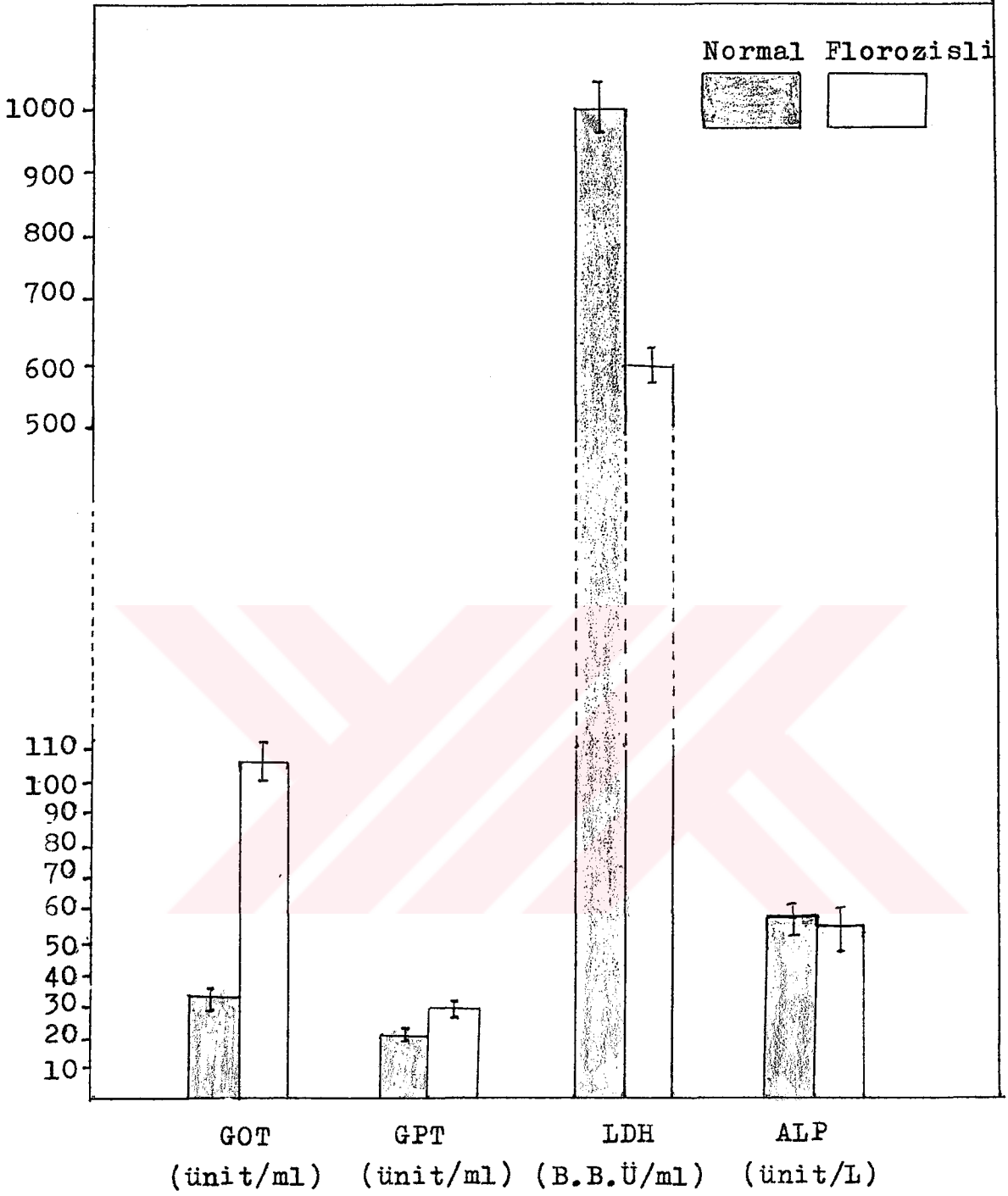
Serum ALP aktivitelerinde iki grup arasında istatistik bakımdan önemli bir değişiklik ($P > 0.05$) görülmemiştir (Tablo 5.1.).

LDH aktivitesinde ise florozis belirtisi gösteren koyunlarda normal gruba göre istatistik bakımdan önemli derecede ($P < 0.001$) bir azalma göstermiştir (Tablo 5.1.).

Tablo 5.1. Normal ve florozis belirtisi gösteren koyunlarda serum GOT, GPT, LDH ve ALP aktivitelerinin ortalama değerleri ve istatistik önemliliği.

	Normal Grup			Florozis Belirtisi Gösteren Grup			F
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	
GOT ünit/ml	20	31.23	1.85	27	104.57	5.71	115.04*
GPT ünit/ml	20	20.30	0.61	27	27.94	1.02	34.95*
LDH B.B.Ü/ml	20	992.30	44.20	27	596.50	21.11	76.75*
ALP Ü/L	20	56.43	4.98	27	52.83	6.00	0.19

* $P < 0.001$



Şekil 5.1. Ortalama serum GOT, GPT, LDH ve ALP aktiviteleri.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Floroziste kemik ve dişlerde şekillenen lezyonlara bağlı olarak yem tüketiminde azalma olmaktadır(23,27,35,36). Yem tüketiminin azalması sonucu hayvanın kendisi için gerekli enerjiyi endojen kaynaklardan sağlayacaktır. Bu durumda glukoneogenezisin etkili olması elasıdır (10,31,50).

Transaminazlar ile glukoneogenezis arasında paralellik vardır ve glukoneogeneziste artış gösterirler(50). Glukoneogenezis karaciğerde aktiftir (17,31). Glukoneogeneziste karaciğerde lipid birikimi olmaktadır (10).

Çalışmamızda florozis belirtisi gösteren koyunların serum GOT, GPT ve LDH aktivitelerinde kontrol grubuna göre değişiklikler görülmüştür ($P < 0.001$). Serum ALP aktivitesinde ise istatistiksel olarak önemli bir değişiklik bulunamamıştır ($P > 0.05$).

Kontrol grubu koyunların serum GOT aktivitesi ortalama değer olarak 31.23 ± 1.85 ünit/ml bulunmuştur. Flo-rozis belirtisi gösteren koyunlarda bu değer 104.57 ± 5.71 ünit/ml olarak oldukça yüksek bir artış göstermiştir ($P < 0.001$).

Serum GPT aktivitesinde de aynı durum gözlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama değer 20.3 ± 0.61 ünit/ml iken florozis belirtisi gösteren koyunlarda 27.94 ± 1.02 ünit/ml bulunmuştur.

Araya (5) florozisli sığırlarda serum GOT aktivitesini önemli derecede yüksek bulurken, bazı araştırmacılar (47) ise floroziste transaminaz aktivitesinde bir değişme tesbit etmemişlerdir.

Fazla miktarda flor alındığında karaciğerde akut hepatit ve hafif bir dejenerasyon bildirilmektedir(27).

Çalışmamızdaki transaminaz aktivitesindeki artış bu iki etkinin ortak sonucu olabilir.

Flor kuvvetli bir enzim inhibitörüdür (23). Flor-

un LDH'yı kompetatif olarak inhibe ettiği bildirilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar ile LDH'nin inhibisyonunun enzim-NAD-flor kompleksi teşkili sonucu olduğu, florun piruvatın bağlandığı yer için piruvatla yarıştığı gösterilmiştir (2).

Çalışmamızda da serum LDH aktivitesinde önemli düzeyde azalma tesbit edilmiştir ($P < 0.001$). Serum LDH aktivitesi normal koyunlarda 992.3 ± 44.20 Berger-Broida ünit/ml, florozis belirtisi gösteren koyunlarda 596.5 ± 21.11 Berger-Broida ünit/ml dir. Serum LDH aktivitesindeki azalma, LDH'nin katalitik aktivitesinin inhibisyonu sonucu (2) olabilir.

Serum ALP aktivitesi ise normal ve florozis belirtisi gösteren koyunlarda sırasıyla 56.43 ± 4.98 ünit/L, 52.83 ± 6.0 ünit/L olarak hesaplanmıştır.

Yapılan florozisle ilgili çalışmalarda bir çok araştırmacı (25, 42, 47, 63) serum ALP aktivitesinde herhangi bir değişim bulamazken, bazı araştırmacılar (3, 5.8, 19, 40, 41, 46) ise serum ALP aktivitesinde yüksek düzeyde artışlar kaydetmişlerdir. Serum ALP aktivitesindeki artışların yüksek flor konsantrasyonlarında olduğu bildirilmektedir (5, 40, 41).

Florun vücuttaki değişik olaylara etkileri florun alınma yoluna, miktarına ve süresine bağlı olarak değişiklikler göstermektedir (54). Mineral toksisitesinin kontrolü, yetersizliklerine göre özellikle mera şartlarında çok zordur (38).

Çalışmamızda bulunan sonuçlar araştırmanın yapıldığı bölgede normal ve florozisli koyunlarda elde edilen ilk SGOT, SGPT, SLDH ve SALP enzim bulgularıdır. Bu çalışmalar sonucunda florozis belirtisi gösteren hayvanlarda serum GOT, GPT ve LDH enzim analizlerinin yapılmasının teşhiste yararlı olabileceği düşünülmektedir. Canlılık olaylarının devamlılığı ve düzenlenmesinde önemli rolü olan enzimler (17, 20, 31, 55, 60) üzerine florozisin etkileride göz önünde tutularak bölgedeki hayvanlarda enzim taramalarının yapılması florozisin meydana getirebile-

ceği etkileri izleyebilmek açısından önem taşıyacağı kanaatine varılmıştır.

Doğu Anadolu Bölgesinde önemli ekonomik kayıplara neden olan floroziste probleme köklü bir çözüm getirmek için suların flordan arındırılması gereklidir. Bu amaçla, flor düzeyi düşük yeni kaynak suları bulunmalıdır. Fazla flor içeren sular flor bakımından temiz sularla karıştırılarak flor konsantrasyonu düşürülmelidir.



7. ÖZET

Bu çalışmada, Doğu Anadolu Bölgesinde büyük bir sağlık ve ekonomik problem oluşturan endemik florozisin kemik ve karaciğer fonksiyonlarına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun içinde Doğu Anadolu Bölgesi Van ili Muradiye ilçesi Başeğmez ve Soğuksu köylerindeki florozis belirtisi gösteren koyunlar ile aynı bölgedeki sağlıklı koyunların serum GOT, GPT, LDH, ve ALP enzim aktiviteleri birbirleriyle kıyaslanmıştır.

Araştırmada, Doğu Anadolu Bölgesi Van ili, ilçe ve köylerinden sağlanan 2-3 yaşları arasında değişen 27 adet florozis belirtileri gösteren, 20 adet klinikman sağlıklı gözükten Morkaraman koyunlardan alınan kan serumları kullanılmıştır.

Serum numunelerinde kolorimetrik yöntemlerle serum GOT, GPT, LDH ve ALP enzimlerinin aktiviteleri tayin edilmiştir.

Normal koyunların serum GOT, GPT, LDH ve ALP aktiviteleri ortalama değerleri sırasıyla 31.23 ± 1.85 ünit/ml; 20.3 ± 0.61 ünit/ml ; 992.3 ± 44.20 Berger-Broida ünit/ml ve 56.43 ± 4.98 ünit/L olarak hesaplanmıştır.

Florozis belirtisi gösteren koyunların serum GOT, GPT, LDH ve ALP aktiviteleri ortalama değerleri sırasıyla 104.57 ± 5.71 ünit/ml ; 27.94 ± 1.02 ünit/ml ; 596.5 ± 21.11 Berger-Broida ünit/ml ve 52.83 ± 6.00 ünit/L olarak hesaplanmıştır.

Florun serum GOT ve GPT aktivitelerini arttırdığı ($P < 0.001$), LDH aktivitesini azalttığı ($P < 0.001$) bulunmuştur. Serum ALP aktivitesinde ise istatistiksel olarak önemli bir değişiklik tesbit edilmemiştir ($P > 0.05$).

8. SUMMARY

SERUM LEVELS OF SPECIFIC LIVER ENZYMES (GLUTAMATE OXALACETATE TRANSAMINASE, GLUTAMATE PYRUVATE TRANSAMINASE, LACTATE DEHYDROGENASE) AND ALKALINE PHOSPHATASE IN NORMAL SHEEP AND SHEEP SHOWING SIGNS OF FLUOROSIS IN EASTERN ANATOLIA

In this study an investigation was carried out on the effects of endemic fluorosis seen in eastern Anatolia, which constitutes an important health and economic problem, on bone and liver function. For this purpose the activities of serum GOT, GPT, LDH and ALP enzymes were compared between sheep showing signs of fluorosis obtained from the villages of Başegmez and Soğuksu, Muradiye, Van county and healthy sheep from the same area.

Blood sera for the investigations were obtained from 27 sheep showing signs of fluorosis and 20 clinically healthy Morkaraman sheep 2 to 3 years old from villages in Van county, eastern Anatolia.

The activities of serum GOT, GPT, LDH and ALP enzymes were measured colourimetrically.

The serum activities of GOT, GPT, LDH and ALP for the normal sheep were 31.23 ± 1.85 units/ml, 20.3 ± 0.61 units/ml, 992.3 ± 44.20 Berger-Broida units/ml and 56.43 ± 4.98 units/L respectively.

The serum activities of GOT, GPT, LDH and ALP for the affected group were 104.57 ± 5.71 units/ml, 27.94 ± 1.02 units/ml, 596.5 ± 21.11 Berger-Broida units/ml and 52.83 ± 6.00 units/L respectively.

It was seen that fluoride increased serum activities of GOT and GPT ($P < 0.001$), decreased serum activity of LDH ($P < 0.001$), but did not significantly affect serum ALP activity ($P > 0.05$).

9. KAYNAKLAR

1. AMMERMAN, C. B. : Introductory Remarks for the Symposium on Fluoride Toxicosis in Cattle. *J. Anim. Sci.*, 51(3): 744-745, 1980.
2. ANDERSON, S. R. : Effects of Halides on Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Binding Properties and Catalytic Activity of Beef Heart Lactate Dehydrogenase. *Biochemistry*. 20: 464-467, 1981.
3. ANONİM: Calcium-Fluoride Interactions in Kittens. *Nutrition Reviews*. 27(10): 295-297, 1969.
4. ARAS, K., ERŞEN, G.: *Klinik Biyokimya*. A. Ü. Diş Hek. Fak. Yayınları, Ankara, 1975.
5. ARAYA, O., WITWER, F., VILLA, A., DUCOM, C.: Bovine Fluorosis Following Volcanic Activity in the Southern Andes. *Vet. Rec.*, 126: 641-642, 1990.
6. ARCEIVALA, S.: Defluoridation Methods for Small Communities. in Seminar on "Problems of High Fluoride Waters". 6-10 September. Erzurum, 1977.
7. BELL, M. C., MERRIMAN, G. M., GREENWOOD, D. A.: Distribution and Excretion of F^{18} Fluoride in Beef Cattle. *J. Nutrition*. 73: 379-385, 1961.
8. BLOOD, D. C., HENDERSON, J. A.: *Veterinary Medicine*. 5th ed. London, 1979.
9. BROUWER, I. D., BACKERDIRKS, O., DEBRUIN, A., HAUTVAST, J. G. A. J.: Unsuitability of World Health Organisation Guidelines for Fluoride Concentrations in Drinking Water in Senegal. *Lancet*. 30: 223-225, 1988.
10. CORNELIUS, C. E.: Liver Function. In: KANEKO, J. J.: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 3rd ed. New York, London, Academic Press, pp. 230-242, 1980
11. DOWNS, R. W., SPIEGEL, A. M., SINGER, M., REEN, S., AURBACH, G. D.: Fluoride Stimulation of Adenylate Cyclase is Dependent on the Guanine Nucleotide Regulatory Protein. *J. Biol. Chemistry*. 255(3): 949-954. 1980.
12. DUNIPACE, A. J., ZHANG, W., NOBLITT, T. W., LI, Y.,

- STOOKEY, G. K.: Genotoxic Evaluation of Chronic Fluorid Exposure: Micronucleus and Sperm Morphology Studies. *J. Dent. Res.*, 68(11): 1525-1528, 1989.
13. DÜZGÜNEŞ, O.: Bilimsel Çalışmalarda İstatistik Prensipleri ve Metotlar. İzmir, Ege Üniversitesi Matbaası, 1963.
14. ECKERLIN, R. H., MAYLIN, G. A., KROOK, L.: Milk Production of Cows Fed Fluoride Contaminated Commercial Feed. *Cornell Vet.*, 76: 403-414, 1986.
15. ERDİK, E., SARIKAYA, Y.: Temel Üniversite Kimyası. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 1986.
16. ERGUN, H. S., RUSSEL-SINN, H. A., BAYŞU, N., DÜNDAR, Y.: Studies on the Fluoride Contents in Water and Soil, Urine Bone and Teeth of Sheep and Urine of Human from Eastern and Western Parts of Turkey. *DTW.* 94 (7): 416-420, 1987.
17. ERSOY, E., BAYŞU, N.: Biyokimya. Ankara, A.Ü. Basımevi, 1986.
18. FACCINI, J.M., TEOTIA, S. P. S.: Histopathological Assessment of Endemic Skeletal Fluorosis. *Calcified Tissue Research.* 16(1):45-57, 1974.
19. FISHER, R. L., MEDCALF, T.W., HENDERSON, M.C.: Endemic Fluorosis with Spinal Cord Compression. *Arch. Intern Med.*, 149:697-700, 1989.
20. GUYTON, A.: Tıbbi Fizyoloji. 7th ed., Merk Yayıncılık, Saunders, İstanbul, 1986.
21. HAIMANOT, R. T., FEKADU, A., BUSHRA, B.: Endemic Fluorosis in the Ethiopian Rift Valley. *Trop. Geogr. Med.*, 39(3): 209-217, 1987.
22. HEIFETZ, S. B., HOROWITZ, H. S.: The Amounts of Fluoride in Current Fluoride Therapies: Safety Considerations for Children. *J. Dentistry for Children.* :257-269, 1984.
23. HILLMAN, D., BOLENBAUGH, D.L., CONVEY, E. M.: Hypothyroidism and Anemia Related to Fluoride in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 62: 416-423, 1979.
24. HOOGSTRATTEN, B., LEONE, N. C., SHUPE, J. L., GREENWOOD, D. A., LIEBERMAN, J.: Effect of fluorides on Hematopoietic System, Liver, and Thyroid Gland in Cattle. *JAMA.* 192(1): 112-118. 1965.

25. JIMENEZ, L. E., SPINKS, T. S., BOWLEY, N. B., JOPLIN, G. F.: Total Body Calcium in Skeletal Fluorosis. *Lancet*. 25(1): 1443, 1983.
26. JONES, W. G.: Fluorosis in a Dairy Herd. *Vet. Rec.*, 90: 503-507, 1972.
27. KESSABI, M., HAMLIRI, A.: Experimental Fluorosis in Sheep: Alleviating Effects of Aluminum. *Vet. Hum. Toxicol.*, 28(4): 300-304, 1986.
28. KING, J.: *Practical Clinical Enzymology*. London, D. Van Nostrand Co. Ltd., 1965.
29. KRAMER, J. W.: *Clinical Enzymology*. In: KANEKO, J. J. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 3rd ed., New York, London, Academic Press, pp. 183-186, 1980.
30. KULMBACH, R. H.: Lactatdehydrogenase und ihre Bedeutung in der Fleischforschung. 1. Eigenschaften des Muskelenzyms und die Bestimmung der Aktivitat. *Fleischwirtsch.* 70(9): 1073-1077, 1990.
31. LEHNINGER, A. L.: *Biochemistry*. 2nd ed., New York, Worth Publishers, Inc., 1975.
32. MARTIN, D. W., MAYES, P. A., RODWELL, V. W.: *Harper's Review of Biochemistry*. 18th ed., Maruzen Asion Edition, 1981.
33. MARTIN, B. R., STEIN, J. M., KENNEDY, E. L., DOBERSKA, C. A.: The Effect of Fluoride on the State of Aggregation of Adenylate Cyclase in Rat Liver Plasma Membranes. *Biochem. J.*, 188: 137-140, 1980.
34. MAURER, P. J., NOWAK, T.: Fluoride Inhibition of Yeast Enolase. 1. Formation of the Ligand Complexes. *Biochemistry*. 20: 6894-6900, 1981.
35. MAYLIN, G. A., ECKERLIN, R. H., KROOK, L.: Fluoride Intoxication in Dairy Calves. *Cornell Vet.* 77:84-98, 1987.
36. MAYLIN, G. A., KROOK, L.: Milk Production of Cows Exposed to Industrial Fluoride Pollution. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 10: 473-478, 1982.
37. McDOWELL, L. R.: Calcium, Phosphorus and fluorine in Nutrition of Grazing Ruminants in Warm Climates. *Academic Press*. pp. 205-212, 1985.

38. McDOWELL, L. R., CONRAD, J. H., ELLIS, G. L., LOOSLI, J. K.: Minerals for Grazing Ruminants in Tropical Regions. Library of Congress Catalog Card Number 84-70238, Gainesvilli, 1983.
39. MILHAUD, G. E., BORBA, M. A., KRISHNASWAMY, S.: Effect of Fluoride Ingestion on Dental Fluorosis in Sheep. *Am. J. Vet. Res.*, 48(5):873-879, 1987.
40. MILLER, G. W., EGYED, M. N., SHUPE, J. L.: Alkaline Phosphatase Activity, Fluoride, Citric Acid, Ca and P Content in Bones of Cows with Osteoporosis. *Fluoride*. 10(2): 76-82, 1977.
41. MILLER, G. W., SHUPE, J. L.: Alkaline Bone Phosphatase Activity as Related to Fluoride Ingestion by Dairy Cattle. *Am. J. Vet. Res.* 23: 24-30, 1962.
42. MOHIUDDIN, S. M., REDDY, M. V.: Heamatological and Biochemical Studies on Fluoride Toxicity in Sheep. *Ind. Vet. J.*, 66: 1089-1091, 1989.
43. NOWAK, T., MAURER, P. J.: Fluoride Inhibition of Yeast Enolase.2. Structural and Kinetic Properties of the Ligand Complexes Determined by Nuclear Relaxation Rate Studies. *Biochemistry*. 20: 6901-6911, 1981.
44. OKTAY, C.: Effect of High Fluoride Containing Drinking Water on Skeletal and Dental Age. in Seminar on "Problems of High Fluoride Waters", 6-10 September, Erzurum. 1977.
45. ORUÇ, N.: Fluoride Content of Some Spring Waters and Fluorosis in the eastern Anatolia. in Seminar on " Problems of High Fluoride Waters " 6-10 September, Erzurum,1977.
46. ÖZTOPÇULAR, M.: Evaluation of the Chronic Fluoride Intoxication in the Doğubeyazıt Region from the Neurological Standpoint. in Seminar on "Problems of High Fluoride Waters", 6-10 September, Erzurum, 1977.
47. POEY, J., ELSAIR, J., MORGAN, P., REGGABI, M., HATTAB, F.: The Biological Balance in Relation to Radiological Status in a Population Living in a Zone of Endemic Fluorosis in Southern Algeria. *European Journal of Toxicology and Environmental Hygiene*. 9(3):179-186,1976.

48. REID, J. R.: The Effects of Fluorides on Human Health. in Seminar on "Problems of High Fluoride Waters" 6-10 September, Erzurum, 1977.
49. ROHOLM, K.: Fluorine Intoxication. H. K. Lewis. London, 1937: Alınmıştır: WALTON, K. C.: Environmental Fluoride and Fluorosis in Mammals. Mammal Rev., 18: 77-90, 1988.
50. ROSEN, F., ROBERTS, N. R., NICHOL, C. A.: Glucocorticosteroids and Transaminase Activity. 1. Increased Activity of Glutamic-pyruvic Transaminase in Four Conditions Associated with Gluconeogenesis. JAMA. 234(3):476-480, 1959
51. SHUPE, J. L.: Clinicopathologic Features of Fluoride Toxicosis in Cattle. J. Anim. Sci., 51(3):746-758, 1980.
52. SHUPE, J. L., CHRISTOFFERSON, P. V., OLSON, A. E., ALLRED, E. S., HURST, R. L.: Relationship of Cheek Tooth Abrasion to Fluoride-induced Permanent Incisor Lesions in Livestock. Am J. Vet. Re., 48(10): 1498-1503, 1987.
53. SHUPE, J. L., OLSON, A. E., PETERSON, H. B., LOW, J. B.: Fluoride Toxicosis in Wild Ungulates. JAVMA, 185(11): 1295-1300, 1984.
54. STODDARD, G. E. , HARRIS, L. E., BATEMAN, G.Q., SHUPE, J. L., GREENWOOD, D. A.: Effects of Fluorine on Dairy Cattle. 1. Growth and Feed Consumption. J. Dairy Sci., 46: 1094-1102, 1963.
55. STRYER, L.: Biochemistry. 2nd ed., New York, W.H. Freeman and Co., 1981.
56. SUKETA, Y., SATO, M.: Changes in G-6-P-ase Activity in Liver and Kidney of Rats Treated With a Single Large Dose of Fluoride. Toxic. Appl. Pharm. , 52:386-390, 1980.
57. SUKETA, Y., YAMADA, M., HASEGAWA, J., ASAD, Y.: A Possible Mechanism for Elavation of G-6-P-ase Activity in Kidney and Liver of Fluoride-Treated Rats. Mol. Pharm., 22: 116-120, 1982.
58. ŞENDİL, Ç., BAYŞU, N.: İnsan ve Hayvanlarda Ağrı İli Doğubeyazıt İlçesi Köylerinde Görülen Flor Zehirlenmesi ve Bunu Van İli Muradiye İlçesi Köylerinde de Saptamamızla İlgili İlk Tebliğ. A.Ü. Vet. Fak. Dergisi. 20(4) : 474-489. 1973.

59. TIWARY, S. N., SINGH, C.D.N., JHA, G.J., SINHA, B. K.:
Some Observations on the Pathology of Experimental
Fluorine Poisoning in Sheep. *Ind. J. Anim. Health.*
17(2): 141-143, 1978.
60. TÖRE, İ. R.: Enzim Testleri ve Veteriner Kliniğinde
Uygulanmaları. *İst. Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 4(2):39-62,1978.
61. USLU, B.:Endemik Fluorosis. *Ege Tıp Fak. Derg.*
21: 1019-1028, 1982.
62. USLU, B.: Fluorozis'de İskelet Gelişmesi. *T.Kl. Tıp Bil.*
Araşt. Derg. , 2: 37-40, 1984.
63. USLU, B. GÖĞÜŞ, T.: Endemic Fluorosis. *Hacettepe Bulletin*
of Medicine-Surgery. 14(3-4): 45-54, 1981.
64. WALTON, K. C.: Environmental Fluoride and Fluorosis in
Mammals. *Mammal Rev.*, 18(2): 77-90, 1988.
65. WEI, S. H. Y.: Conference Report: Special Symposium.
Scientific Update on Fluoride and the Public Health. *J.*
Dent. Res. 69: 1343-1344, 1990.
66. WHO: Prevention Methods and Programmes for Oral Diseases.
Technical Report Series. No: 713, 1984.
67. YAARI, A. M.: Effect of Fluoride on Phosphatidylserine-
Mediated Calcium Transport. *Biochimica et Biophysica*
Acta. 686: 1-6, 1982.

10. TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, yakın ilgi ve destek veren tez danışmanım Biyokimya Ana-Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hilal ERGUN'a, tez projemin hazırlanmasında büyük katkıları olan kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Ethem ERSOY'a, numunelerin toplanması ve enzim analizlerinin yapılmasında her türlü imkânı sağlayan 100. Yıl Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Nihat BAYŞU'ya, Van ili ve çevresinde yapmış olduğum çalışmada kıymetli destekleri olan 100. Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Hayati ÇAMAŞ'a teşekkür ederim.