

Florozisli Koyunlarda ACE Aktivitesi

Fatmagül YUR¹ Semiha DEDE¹ Sevim ÇİFTÇİ YEĞİN² Yeter DEĞER¹

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya AD, Van, Türkiye

²Giresun Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Giresun, Türkiye

Geliş Tarihi: 21.12.2012

Kabul Tarihi: 10.01.2013

ÖZET

Bu çalışma, florozis tespit edilen koyunlarda proinflamatuvar bir enzim olan ACE (Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim) aktivitesinin belirlenmesi amacıyla planlandı. Hayvanların verimlerindeki kayıplar nedeniyle de ekonomik bir sorun oluşturan doğal florozis, endemik olarak Türkiye'de birçok bölgede insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Endemik florozisin gözlemlendiği Van ili ve çevresinde yetiştirilen florozis tespit edilen 15 koyun ve klinik olarak sağlıklı tespit edilen 10 koyun olmak üzere toplam 25 koyundan alınan kan örneklerinde serum ACE aktivitesi ölçüldü. Florozisli koyunlarda ACE aktivitesi çok az düşük olarak ölçülse de, istatistiki olarak değerlendirildiğinde florozisli koyunlar ile sağlıklı koyunlarda ACE aktivitesinde önemli bir fark tespit edilemedi.

Anahtar Kelimeler

Florozis, Koyun, ACE

ACE Activity In Sheep With Fluorosis

SUMMARY

This study has been planned to detect ACE (Angiotensin-Converting Enzyme) activity which is a pro-inflammatory enzyme in fluorosis-diagnosed sheep. Natural fluorosis constitutes an economic problem by causing efficiency losses in animals and it threatens human and animal health in several regions of Turkey endemically. Serum ACE activity was seen in blood samples taken from 15 fluorosis-diagnosed sheep bred in Van province and its neighboring areas where endemic fluorosis are seen and with 10 sheep clinically diagnosed as healthy, 25 sheep in total. Although ACE activity was detected low in sheep with fluorosis, no significant difference was found between fluorosis-diagnosed and healthy sheep statistically.

Key Words

Fluorosis, Sheep, ACE

GİRİŞ

Yüksek miktarda flor alınması sonucu şekillenen flor zehirlenmesi "Florozis" olarak adlandırılmaktadır (McDowell ve ark., 1983; Walton, 1988). Florun büyük çoğunluğu kalsifiye dokularda floroapatit şeklinde depo edilir ve bir kısmı özellikle idrarla atılır. İdrardaki flor miktarı ile kemiklerdeki flor yoğunlukları bir paralellik arz etmekte ve bu nedenle idrar flor konsantrasyonu, dental ve iskelet florozisi için bir kriter olarak kabul edilmektedir. Toprak yapısının zengin flor içeriğine bağlı olarak florozis görülebilir. Volkanik ve deprem bölgelerinde toprağın flor içeriği oldukça yüksektir (Şendil ve Bayşu, 1974; Ergun ve ark., 1987; Araya ve ark., 1990). Gerçekten de Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesinde, volkanik arazi yapısına sahip Van ve Ağrı iline bağlı ilçelerde florozis yaygın şekilde görülmektedir (Oktay, 1977; Uslu, 1982).

ACE; Kininase II ya da Peptidil Dipeptidaz A olarak da bilinen yüksek molekül ağırlığına sahip yapısında fruktoz, galaktoz, mannoz ve sialik asit bulunduran bir enzimdir. Çinko içeren ve glikoprotein yapısında olan ACE, çinko metalopeptidaz sınıfındadır. Enzimin 3 boyutlu yapısında merkezde bir Zn atomu bulunmaktadır. ACE, hücre zarına bağlıdır ve bir ekto-enzim olarak çalışır. Enzimin aktif merkezi hücrenin dış yüzeyine doğru yönelmiştir (Erdős, 1990).

ACE insan metabolizmasında Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAS) ve Kinin Kallikrein Sistemi (KKS)

olmak üzere başlıca iki sistemde görev alır (Burnier, 2001). ACE Anjiyotensin-II sentezi yanında aynı zamanda güçlü bir vazodilatatör olan bradikininin yıkarak inaktive eder. Böylece ACE iki farklı yoldan kan basıncını yükseltir. Anjiyotensin-II ve bradikinin düz kas hücre proliferasyonunda ve vasküler tonusun düzenlenmesinde birbirine zıt yönde çalışırlar (Başar ve Ayalp, 2006). ACE, vazodilatatör bradikinin inaktivasyonunda primer rolü oynamasından dolayı, kan basıncı ve elektrolit homeostazisinde önemlidir. Hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliği tedavisinde, ACE inhibisyonu başarıyı arttırır (Turgut, 2005).

MATERYAL ve METOT

Araştırmada Van İli ve çevresinde klinik olarak kronik florozis teşhisi konmuş, 3-4 yaşlarında, 15 koyun florozisli grup olarak değerlendirilirken, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çiftliğinden florozis belirtisi göstermeyen sağlıklı, 3-4 yaşlarında, 10 koyun kontrol grubu olarak kullanıldı.

Buhlmann ACE kolorimetrik test; enzim (ACE) etkinliğinin serum, idrar ve dokulardaki dönüşümünü yapan anjiyotensin kantitatif saptama amacıyla kullanılır. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) anjiyotensin I'in (Ang I), anjiyotensin II'ye (Ang II) dönüşümünü katalizler. Bu reaksiyon, hidroklorik asit (HCl) katkısıyla durdurulmuş ve hippurik asit serbest kaldıktan sonra

siyanürik klorür ile kompleks oluşturur. Bu kompleksin emilimi/soğurganlığı 382 nm de ölçülür. Bir ünite ACE aktivitesi, 37°C serumdaki dakikada ve litre başına bir µmol hippurik asiti serbest bırakmak için gerekli enzim miktarı olarak tanımlanır. Spektrofotometrede kontrol/örnek ve kontrol blank/örnek blank okumaları hesaplanır (Anonim).

BULGULAR

Kronik florozisli grup ve kontrol grubu koyunlara ait elde edilen verilerin düzeyleri Tablo 1'de sunuldu. İstatistiksel analiz sonucunda P değeri 0.05 den büyük olup, önemli bir fark görülmemiştir.

Tablo 1. Florozisli ve Kontrol Grubu ACE Aktiviteleri

Table 1. ACE activities of sheep with fluorosis and control group

Gruplar	N	ACE (U/L)
Kontrol Grubu S±SE	10	21.85±0.98
Florozisli Grup S±SE	15	22.45±0.94
P		P>0.05

TARTIŞMA ve SONUÇ

Flor, esas olarak kemik ve dental dokular olmak üzere birçok doku ya da organın metabolizmasını etkileyen toksik bir elementtir. Karaciğer ve böbrek florun önemli hedef organlarından (Kato ve ark., 1991).

Florun organizmadan atılımında en önemli organ böbrek olduğundan, burada etkilenmenin olması olasıdır. Ratlarda altı aydan daha uzun sürelerde yüksek dozda (100 ppm) flor verildiğinde böbreklerde değişikliklerin arttığı bildirilmiştir (Ishiguro ve ark., 1994). Ayrıca floroziste karaciğerde peteşiyel kanamalar ve büyüme bildirilmiştir (Singer ve Armstrong, 1963). Koyunlarda böbrek ve karaciğerde patolojik lezyonlar gözlenmiş (Hargreaves ve Goodis, 2002), sığırlarda herhangi bir lezyon saptanmamıştır (Buzalaf ve ark., 2001; Mjör, 2002).

Akut ve kronik flor uygulamasının böbrek dokusunda neden olduğu harabiyetin patogenezinde oksidatif stres ve hücre membran lipid bileşimindeki değişikliklerin rolü olduğunu bildiren kanıtlar vardır (Vogel ve ark., 1990; Vieira ve ark., 2005). Ayrıca, bu araştırmalarda flor uygulamasının bir sonucu olarak böbrek dokusunda lipid peroksidatif hasarın bir göstergesi olan MDA (TBARS) düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Vogel ve ark., 1990; Vieira ve ark., 2005).

ACE, renin-anjiyotensin sisteminin (RAS) bir komponentidir ve vasküler dokularda anjiyotensin-I'in anjiyotensin-II'ye dönüşümünü sağlar. Anjiyotensin-II en önemli vazokonstriktör maddelerden biridir ve damar duvarında ve pulmoner vasküler yapıda endotel hücrelerinde üretilen, patolojik olaylarda etkili bir dipeptidazdır (Skeggs ve ark., 1956; Müller ve ark., 2004; Turgut, 2005; Başar ve Ayalp, 2006; Görür, 2006). ACE enzimi akciğerler başta olmak üzere beyin, testis, böbrek vb. dokularda; plazma, semen gibi fizyolojik sıvıların yanı sıra, makrofajlar ile kan damarlarında, endotelial hücreler ve plazmada önemli oranlarda bulunur.

ACE, Ang II aracılığıyla proinflamatuvar sitokinleri de arttırmaktadır. Nitekim pek çok inflamatuvar hastalığın (hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, ateroskleroz, miyokard infarktüsü, diabetes mellitus, kanser, romatoid artrit, deri lezyonları, kaşıntı, egzama, atopik ve non-atopik

dermatit, obezite, demans, şizofreni, Huntington hastalığı, peptik ülser) patogenezinde sitokinler önemli rol oynamaktadır (Das, 2005). Serum ACE aktivitesinin retinopatili diyabetik bireylerde kontrole göre önemli oranda arttığı bildirilmiştir. Bu durumun diyabetik damar hasarının bu enzim aktivitesini önemli oranda artmasına yol açtığı da düşünülmüştür (Scherthner ve ark., 1984).

Yapılan çalışmada, florozisli koyunlarda ACE aktivitesi çok az düşük olarak ölçülse de, istatistiki olarak değerlendirildiğinde florozisli koyunlar ile sağlıklı koyunlarda ACE aktivitesinde önemli bir fark tespit edilemedi.

Ayurvedic ilaç olan Pankajakasthuri (PK)'nin uygulandığı, florid toksisitesine etkisi ve ACE aktivitesininin araştırıldığı çalışmada, flor intoksikasyonunun ACE aktivitesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Vasant ve ark., 2011)

Yapılan literatür taramasında florozisde ACE aktivitesinin araştırılması yönünde çok fazla çalışmaya rastlanılmamıştır. Araştırmacılar flor toksisitesinin neden olduğu böbrek yetmezliğinin özel mekanizmasını tespit etmek için ACE polimorfizmini araştırmayı amaçlamışlar ve çalışmalarının sonunda flor alımına bağlı oluşan böbrek yetersizliklerinin ACE I/D polimorfizmi ile ilişkili olmadığını tespit etmişlerdir (Jaganmohan ve ark., 2010).

Chandrajith ve ark çalışmalarında floridin renal tubuler hasara neden olduğu ancak tek başına hareket etmediğini bildirmişlerdir. Hatta bazı durumlarda floridin sitoprotektif etki gösterdiğini de söylemektedirler. Sri Lanka gibi kuru bölge olarak tropikal bölgelerde kronik böbrek hastalıklarına neden olan hipertansiyon ve diyabet gibi üçüncü büyük neden olarak floridin etkili olduğu şeklinde bilgi vermişlerdir (Candrajith ve ark., 2011).

ACE aktivitesi özellikle böbrek dokusu hasarlarında ve inflamatuvar hastalıklardan etkilenmektedir. Florozis, böbrek hasarına neden olduğu için ACE aktivitesinin de etkileneceği düşünülebilir. Çalışmamızda serumda ACE aktivitesi yönünden bir florozis de herhangi bir farklılık tespit edemedik. Fakat bu çalışmanın yeterli olmadığı, bir ön çalışma olarak kabul edilebileceğini düşünmekteyiz. Kronik ve akut florozis, başta dokular olmak üzere özellikle böbrek dokusu yönünden geniş kapsamlı çalışmalar yapılmasının faydalı olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Anonim.** <http://www.skafta.se/products/buhlmann/ACE%20Kolorimetri.htm>
- Araya O, Wittwer F, Villa A, Ducam C, (1990).** Bovine fluorosis following volcanic activity in the southern Andes. *Vet. Rec*, 126, 641-642.
- Başar Y, Ayalp K, (2006).** Venöz trombo embolizmin plazma ACE düzeyleri ve ACE gen polimorfizmi ile ilişkisi. *Damar Cer. Der*, 15(1), 1-6.
- Burnier M, (2001).** Angiotensin II type 1 receptor blockers. *Circulation*, 103, 904-912.
- Buzalaf MA, Granjeiro JM, Damante CA, de Ornelas F, (2001).** Fluoride content of infant formulas prepared with deionized, bottled mineral and fluoridated drinking water. *ASDC J Dent Child*, 68(1), 37-41.
- Candrajith R, Dissanayake CB, Asiyarathna T, Herath HMJMK, Padmasiri JP, (2011).** Dose-Dependant Na and Ca in fluoride-rich drinking water-another major cause of chronic renal failure in tropical arid regions. *Fluoride*, 409 (4), 671-675.
- Das UN, (2005).** Is angiotensin-II an endogenous pro-inflammatory molecule. *Med Sci Monit*, 11, 155-162.
- Erdős EG, (1990).** Angiotensin I converting enzyme and the changes in our concepts through the years. *Hypertension*, 16, 363-370.
- Ergun HS, Russel-Sinn HA, Bayşu N, Dündar Y, (1987).** Studies on the floride contents in water and soil, urine, bone and teeth of sheep and urine of human from eastern and western parts of Turkey. *DTW*, 94, 416-420.

- Görür A, (2006).** Tip I aort diseksiyonu ve anjiyotensin dönüştürücü converting enzim (ACE) gen polimorfizmi (I/D). Uzmanlık Tezi, İstanbul, Sağlık Bakanlığı, Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- Hargreaves KM, Goodis HE, (2002).** Seltzer and Bender's dental pulp. Quintessence Publishing Co., Inc., China, 63-93.
- Ishiguro K, Nakagaki H, Takeuchi K, Mukai M, Yoshioka I, Miyauchi K, Robinson C, Weatherell JA, (1994).** Distribution of fluoride in the dental tissues and their supporting mandibular bone from the same individual. *Arch Oral Biol*, 39(6), 535-537.
- Kato K, Nakagaki H, Weatherell JA, Robinson C, (1991).** Distribution of fluoride in the cementum of human deciduous canines. *Caries Res*, 25(6), 406-409.
- McDowel LR, Conrad JH, Ellis GL, Loosli JK, (1983).** Minerals for grazing ruminants in tropical regions. Library of congress catalog number 84-70238, Gainesvilli.
- Mjör IA, (2002).** Pulp-dentin biology in restorati ve dentistry. Quintessence Publishing Co., Inc., China, 1-37.
- Müller AM, Gruhn K, Lange S, Franke FE, Müller KM, (2004).** Angiotensin converting enzyme in the regular pulmonary vasculature. *Pathology*, 25, 141-146.
- Oktay C, (1977).** Effect of high flouride containing drinking water on skental and dental age. In: Seminar on 'problems of high flouride waters' 6-10, September, Erzurum.
- Schernthaler G, Schwarzer C, Kuzmits R, Müller MM, Klemen U, Freyler H, (1984).** Increased angiotensin-converting enzyme activities in diabetes mellitus: analysis of diabetes type, state of metabolic control and occurrence of diabetic vascular disease. *J Clin Pathol*, 37(3), 307-312.
- Singer L, Armstrong WD, (1969).** Relation between the fluoride contents of rat calcified tissues. *J Dent Res*, 48(5), 947-50.
- Skeggs LT, Kahn JR, Shumway NP, (1956).** Preparation and function of the hypertensin converting enzyme. *J Exp Med*, 103, 295-299.
- Şendil Ç, Bayşu N, (1973).** İnsan ve hayvanlarda Ağrı ili Doğubeyazıt ilçesi köylerinde görülen flor zehirlenmesi ve bunu Van İli Muradiye ilçesi köylerinde de saptamamızla ilgili ilk tebliğ. *AÜ Vet Fak Derg*, 10, 474-489.
- Turgut S (2005).** Anjiyotensin dönüştürücü enzim ve I/D polimorfizmi. *SDÜ Tıp Fak. Derg*, 12(4), 53-57.
- Uslu B (1982).** Endemik fluorozis. *Ege Tıp Fak. Derg*, 21, 1019-1028.
- Vasant RA, Khajuria MC, Narasimhacharya A VRL (2011).** Antioxidant and ACE enhancing potential of Pankajakasthuri in floride toxicity: An in vitro study on mammalian lungs. *Toxicol Industrial Health*, 27(9), 793-801.
- Vieira APGF, Hancock R, Dumitriu M, Schwartz M, Limeback H, Grynepas M, (2005).** How does fluoride affect dentin microhardness and mineralization, *J. Dent. Res.*, 84(10), 951-957.
- Vieira APGF, Mousny M, Maia R, Hancock R, Everett ET, Grynepas MD, (2005).** Assessment of teeth as biomarkers for skeletal fluoride exposure. *Osteoporos Int*, 16(12), 1576-1582.
- Vogel GL, Carey CM, Chow LC, Ekstrand J, (1990).** Fluoride analysis in nanoliter- and microliter-size fluid samples. *J Dent Res*, 69, 556-557.
- Walton KC, (1988).** Enviromental fluoride and fluorosis in mammals. *Mammal Rev*, 18, 77-90.
- Jaganmohan P, Narayana Rao SVL and Sambasiva Rao KRS, (2010).** Studies on the evaluation of angiotensin-I converting enzyme polymorphism under fluorosis mediated renal failures in nellore district andhra pradesh, India. *Global J Mol Sci*, 5 (2), 74-79.