

ÇİNKO YETMEZLİĞİNİN BÜYÜME KIKIRDAĞI ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN DENEYSSEL OLARAK İNCELENMESİ

Ahmet

E. Kaya ALPAR **

Gülşen ÖNER ***

Naci BOR ****

Ö Z E T

Çinko yetmezliğine sokulan sıçanlarda yapılan deneysel çalışmada şu sonuca vardık :

1. Büyüme plağında hipertrofik hücrelerin yapı ve sayısında azalma olduğu proliferatif hücrelerin ise sıra takip eden düzenlerinin ise bozulduğu saptandı. Çinko tedavisi ile bu değişiklikler düzelmektedir.
2. Büyüme plaklarında değişiklik izlenen sıçanların serum çinko düzeyleri normale göre düşük idi.
3. Çinko eksikliğinin büyüme plağı üzerinde meydana getirdiği değişiklikleri büyük bir olasılıkla yapısına girdiği enzimler vasıtasıyla oluştuğu kanısına vardık.

G İ R İ Ő :

Nadir metallere olan çinkonun biyolojik etkileri bazı deneysel ve klinik çalışmalarla gösterilmiştir.

İlk olarak İnan daha sonra Mısır'da çinkonun büyüme ve cinsel gerilikte rol oynadığı yapılan araştırmalarla gösterilmiştir (1) durumunun varlığı Türkiye'de ÇAVDAR ve arkadaşları (2) tarafından bildirilmiştir.

HALSTED ve arkadaşları (4) da kronolojik yaşları 19-20 olan malnütrisyonlu çocuklarda ortalama kemik yaşının 10.6 olduğunu saptamışlardır. Bu yazarlar hastaların serum çinko düzeylerinin normale göre düşük olduğunu bulmuşlardır. Hastalara çinko verilmesi büyüme geriliğinin tedavisine yol açmıştır (7).

* H. Ü. Tıp Fakültesi Ortopedi Uzmanı

** H. Ü. Tıp Fakültesi Ortopedi Doçenti

*** H. Ü. Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Bölümü Doçenti

**** H. Ü. Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Bölümü Profesörü

— Dergiye geliş tarihi : 30 Aralık 1977

KIENHOLZ (6) civcivlerde, HURLEY (5) sıçanlarda çinko yetmezliğinin doğumsal deformitelere yol açtığını bildirmişlerdir.

Öte yandan çinko yetmezliğinin kemik büyümesini etkilediği halde büyüme plağında ne gibi değişikliklere yol açtığı derinlemesine incelenmemiştir. Bu yazımızda sıçanlarda çinko yetmezliği gelişince büyüme plağında gelişen değişiklikler ve bunların çinko tedavisine verdiği cevap bildirilecektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER :

Çalışmamız Hacettepe Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Deneylerimizde her iki cinsten üç aylık 180-220 gr ağırlığında Swiss Albino türü sıçanlar kullanıldı.

Çalışmamızda deneyler üç sıçan grubu üzerinde yapıldı :

I. GRUP : Kontrol Grubu

Normal diyet ve musluk suyu ile beslenen beş sıçanın eklemleri histopatolojik olarak incelendi.

II GRUP : Yetmezlik Grubu

SWENERTON'un (10) önerdiği çinkosu azaltılmış diyet ile sıçanlar üç hafta süre ile beslendi. Yetmezlik gelişince (11) beş sıçandan alınan biyopsi materyelinde büyüme plakları incelendi.

III. GRUP : Tedavi Grubu

Bu grupta beş sıçanda önce çinkodan eksik diyetle yetmezlik geliştirildi. Sonra sıçanların içtiği suya 100 μ gr/100 ml $ZnSO_4$ ilâve edildi ve hayvanlar klinik olarak normal görünümüne gelince biyopsi alınarak büyüme

Hayvanlar dekapite edildikten sonra kardiak ponksiyonla kan alındı. Santrifüje edilen kan numunelerinin serum çinko düzeyleri Perkin Elmer 103 Model atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin edildi.

Biyopsi materyeli olarak alınan sağ diz eklemleri 24 saat % 10 nötral formalinde tesbit edilip 96 saat süre ile % 5 lik formik asitte dekalsifiye

ron kalınlığında kesilip Hematoksilen Eosin, Toluidin mavisi ile boyanıp ışık mikroskopunda incelendi.

BULGULAR :

1) Hayvanların görünüm ve ağırlıkları :

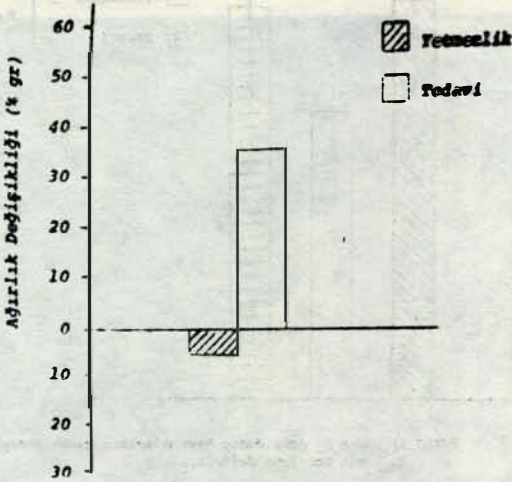
I. GRUP :

Bu grupta kullandığımız laboratuvar sıçan diyeti ve musluk suyu ile yaptığımız takiplerinde tüylerin parlak beyaz renkte olduğu, kilo-

larında bir azalma olmadığı, verilen günlük gıdalarının tamamını tükettikleri dikkati çekti.

II. GRUP :

Paslanmaz özel çelikten yapılmış kafeslerde takibe aldığımız ve gıdasında çinkosu azaltılmış sıçanların tüylerinin parlaklıklarını kaybettikleri, dökülmeye başladığı arka ayak tabanlarında daha fazla olmak üzere ödem teşekkül ettiği dikkati çekti. Deney grubundaki bütün sıçanların iştahlarının azaldığı günlük gıdalarını bitiremediği, üçüncü haftanın sonunda vücut ağırlıklarında ortalama % 5.58 oranında biri azalma olduğu da izlendi. (Tablo : I).



TABLO I : Yetmezlik ve tedavi grupları arasındaki % gr olarak vücut ağırlık değişikliği.

III. GRUP :

Önce yetmezliğe sokup daha sonra tedavi edilen sıçanların kilo- larının arttığı, günlük gıdalarını bitirdikleri, ayaklarındaki ödemlerin çözüldüğü beslemeden itibaren 4. hafta sonunda vücut ağırlıklarında ortalama % 35.92 lik bir artım olduğu (Tablo: I), tüylerindeki parlaklığın tekrar ortaya çıktığı gözlemlendi.

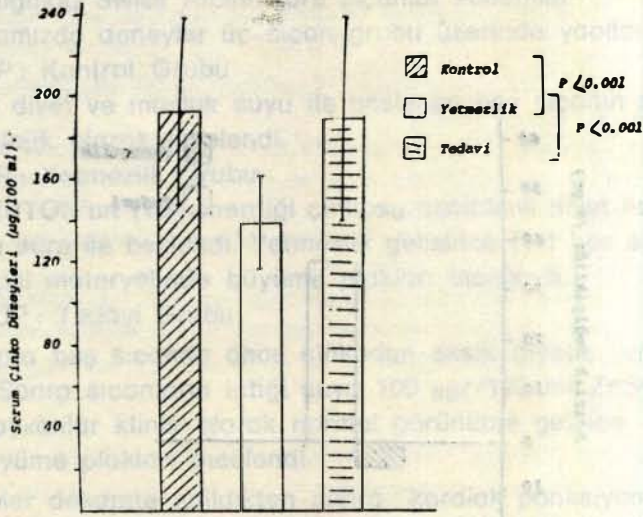
2. Serum - Çinko düzeyleri :

I. GRUP :

Kontrol grubundaki sıçanların ortalama serum düzeyleri $193 \pm 45.49 \mu\text{gr}/100 \text{ ml}$ olarak bulundu.

II. GRUP :

Çinko yetmezliğine soktuğumuz sıçanların serum çinko düzeyleri ortalama $139.28 \pm 22.91 \mu\text{gr}/100 \text{ ml}$ olarak bulundu. Birbiri ile mukayese ettiğimiz zaman kontrol grubuna göre çinko yetmezliğine soktuğumuz sıçanların serum çinko düzeylerinde görülen % 28 lik bir azalış çok önemli idi ($P < 0.001$) (Tablo: II).



TABLO II : Her üç grup deney hayvanlarının çinko düzeylerinin ortalama değerleri.

III. GRUP :

Yetmezliğe sokulmuş hayvanlardan tedavi edilen sıçanların ortalama serum çinko düzeyleri $189.60 \pm 49.76 \mu\text{gr}/100 \text{ ml}$ bulundu. Kontrol grubu ile çinko tedavisine aldığımız sıçanların serum çinko düzeylerinde görülen % 2,08 lik bir fark ise önemsizdi ($P < 0.05$) (Tablo: II).

Çinko yetmezliğindeki sıçanlarla tedaviye serum çinko düzeyleri arasındaki % 26.37 lik bir fark önemli bulundu ($P < 0.001$) (Tablo: II).

3 — Büyüme plaklarındaki histopatolojik değişiklikler :

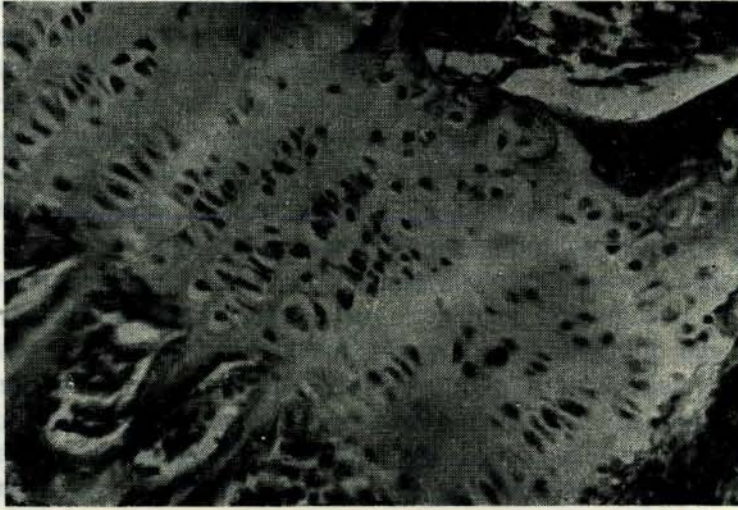
I. GRUP :

Histopatolojik olarak normal görünüm izlendi.

II. GRUP :

Yetmezlik grubundaki sıçanların büyüme kıkırdaklarının kalınlığının normale göre azaldığı, hipertrofik tabakanın bazı yerlerde incelendiği, bazı yerlerde normal görünümünün muhafaza ettiği bazı yerlerde ise kaybolup, tamamen proliferatif kıkırdak hücrelerinin hakim olduğu dikkati çekti.

Hipertrofik tabakadaki kıkırdak hücrelerinin sitoplazmasının azaldığı vaküollerin meydana geldiği görüldü. Bir çok yerde proliferatif hücrelerin sahaya hakim olduğu halde, normal kolumnar yapısının bozulduğu dikkati çekti (Resim: 1)



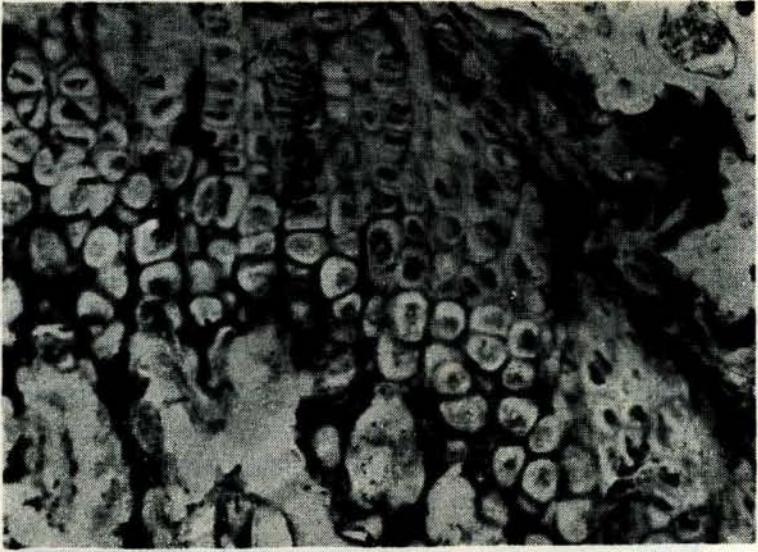
Resim : 1 — Çinko yetmezliği meydana getirilmiş sıçanın büyüme plağının görünümü., H.E. x200

Subkondral kemik dokuda kemik iliği dokusunun arttığı osteoid dokunun azaldığı, bazal tabakanın incelendiği tesbit edildi.

Kıkırdak ve sinovyal yapıda herhangi bir değişikliğe rastlanmadı.

III. GRUP :

Tedaviye alınan gruptaki sıçanların büyüme kıkırdaklarının tekrar normal yapıya döndüğü görüldü (Resim: 2)



Resim : 2 — Çinko tedavisi yapılmış sıçanın büyüme plağının görünümü. H.E. x200

TARTIŞMA :

Kemiklerin uzunlamasına büyümesi, büyüme kıkırdağındaki fizyolojik olaylar sonucu gelişir. Bu fizyolojik olaylar, diyet ve ilgili faktörlerle endokrin faktörler olmak üzere iki ana grupta incelenir (9) Bu karışık ve çeşitli fizyolojik olaylar bir veya birkaç maddenin eksikliği ile bozulmakta, kemiklerin uzunlamasına büyümesi yavaşlamakta veya durmaktadır. Bu arada diyetle metabolik bozukluklara, akut veya kronik hastalıkların ortaya çıkmasına dolayısıyla kemik büyümesine engel olmaktadır (9)

Son yıllarda çinko eksikliğinin kemik metabolizmasında bazı etkilere sebep olacağı öne sürülmüş ve bu konuda pek çok çalışmalar yapılmıştır (1).

Bizde çinkonun kemiklerin uzunlamasına büyümesi üzerine etkisini araştırmak için bu çalışmayı yaptık. Çalışmamızda çinkodan fakir diyetle beslediğimiz sıçanların üç hafta gibi kısa bir süre içinde genel büyümelerinin etkilendiği ve bu hayvanların normal gıda alan kontrollere göre çok daha küçük yapıya sahip oldukları saptanmıştır. Bu arada büyüme kıkırdağlarının incelenmesinde üç ve dördüncü tabakayı teşkil eden hipertrofik ve kalsifiye kıkırdağ tabakasının çok inceliyor bazı yerlerde tamamen ortadan kalktığını, buna karşın proliferatif tabakanın normal sütun tarzındaki yapısının düzensizleştiği izlendi.

Deney hayvanlarında çinkodan fakir diyetle beslenen hayvanların yavrularında iskelet sistemi dahil, çeşitli anomaliler teşekkül etmektedir

memektedir. Çinkonun yaraların iyileşmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (3). Aynı zamanda çinko fazlalığı ektopik kemik teşekkülünü arttırdığı gibi eksikliği ektopik kemik teşekkülünü geciktirmektedir (1). Büyüme kıkırdağındaki hipertrofik ve kalsifiye tabakaların azalması sepongioz kemiklerde azalmaya ve sepongioz kemik aralarının aşırı kemik iliği ile dolmasına sebep olmaktadır (11). Büyüme kıkırdağının kalınlığının azalmasına sebep olacak faktörlerin etkilerinin daha ziyade enzimatik yoldan olabileceğini düşündürmektedir. Cücelerde yapılan çalışmalarda, hipognodizm serum alkalin fosfatase seviyesinin düşüklüğüne ilâveten çinko yetmezliğine de rastlanmıştır (4).

Diğer yandan biokimyasal çalışmalar çinkonun metallo enzimlerin molekülünün önemli bir kısmını teşkil ettiği ve me komplekslerinde ise gevşek bir şekilde moleküle bağlı olan iyon olarak yer aldığı gösterilmiştir (5).

WESTMORELAND ve HOEKSTRA () nın yaptığı çalışmalarda büyüme plağında olgunlaşan hücre yakınlarındaki proliferatif epifiz tabakasında alkalin fosfatase aktivitesi saptanmıştır. Bu durum normal civciv büyüme kıkırdaklarının dejeneratif hücrelerinde gösterilmiştir. Buna karşın proliferasyon gösteren tabakada bu enzime hiç rastlanmamıştır. Çinkodan fakir diyetle beslenen civcivlerde ise büyüme kıkırdağında normal alkalin fosfatase aktivitesi yalnız damar çevresindeki hücrelerde bulunmuştur.

Öte yandan alkalin fosfatase, aktif zincirinde çinko bulunan bir enzimdir. Bazı biyolojik olaylarda alkalin fosfatase yapısındaki çinkonun çeşitli maddeler tarafından inaktive edilebileceği gösterilmiştir. (8). Bu maddenin başında glutation gelmektedir. Deney hayvanları çinkodan fakir diyetle besleyerek alkalin fosfatase enziminin sentezinde bir azalma olacağı ve bunun da büyüme kıkırdağındaki hücresel olayları olumsuz yönde etkileyeceği ortaya çıkmaktadır.

Kantitatif mikrokimyasal çalışmalar tavşan epifizlerinin büyüme kıkırdağında hekzokinaze inorganik pirofosfatase, izositrik dehidrogenoz, aldolaz, fosfoglikoizomeraz., asit fosfatase, alkalin fosfatase gliko-6-fosfatase, laktik ve malik dehidrogenazın bulunduğunu ve bu enzimlerin çeşitli tabakalarda yer aldığını göstermiştir (9).

Büyüme kıkırdağının hipertrofik tabakalarında karbonhidrat oksidatif enzimleri ve fosfatase enzimleri tesbit edilmiştir. Bu bölge endokral ossifikasyona, dolayısıyla uzunlamasına büyümeye en fazla etki eden bölgedir (9). Çinkodan fakir diyetle beslenen sıçanların ke-

miklerinde dehidrogenaz, malik dehidrogenaz, alkol dehidrogenaz ve alkalin fosfataz enzimlerinin aktiviteleri biyokimyasal olarak düşük bulunmuştur. Bu enzimlerin aktiviteleri diyetle çinkonun katılması ile tekrar artmıştır. Bu durumda çinkonun bazı enzim yapılarına girip hücrenin çeşitli görevlerini yürüten bu enzim faaliyetlerinin aksamasına büyüme plağındaki hücre düzeninin bozulmasına ve dolayısıyla uzunlamasına büyümenin diyetdeki çinko miktarı ile orantılı olarak azalmasına veya tamamen durmasına sebep olmaktadır.

Hayvan deneylerinin yanı sıra altı insanda çinko yetmezliğinin saptanmasından sonra diyetle çinko ilavesi ile serum alkalin fosfataz aktivitesinin artması yukarıdaki önerileri ve gözlemleri kanıtlamaktadır. Ancak serum alkalin fosfataz kemikten başka karaciğer, ince barsak ve böbreklerde de yapılmaktadır. Bu bakımdan kemik alkalin fosfatazının yukarıda sayılan organlar tarafından hangi konsantrasyonda ve ne şekilde etkilendiği bilinmemektedir.

Çinkodan fakir diyetle beslenen hayvanlarda deformitelerin teşekkülü % 1'lik histidin ilavesi ile yavaşlatılabilmektedir (6). Bu durum çinkonun enzim sistemleri dışında çeşitli metabolik regülatörlerle etkinleştiğini göstermektedir.

Riboflavin yetmezliği de çinko yetmezliğine benzer kemik malformasyonlarına sebep olmaktadır (1). Vitamin A ve Vitamin D ile de bazı etkileşimden bahsedilmişse de bu konuda henüz deneysel çalışmalar yapılmamıştır.

Bütün bu çalışmalar çinkonun kemik metabolizmasında etkin bir rol oynadığı ve bu etkiyi de büyük bir olasılıkla enzim sistemleri üzerinden yaptığını desteklemektedir.

Çinko eksikliğinde büyüme kıkırdağında tesbit edilen değişiklikler içme suyuna çinko ilavesi ile 5 haftada düzelmiştir. Bu da göstermektedir ki çinko eksikliğine bağlı büyüme geriliği ve özellikle büyüme plağındaki değişiklikler kalıcı değil ve tedaviye cevaplıdır.

S U M M A R Y

The effects of zinc deficiency on epiphyseal plates of Rats.

The changes in the epiphyseal plate of the rats with zinc deficiency were investigated histopathologically.

The proliferative and hypertrophic zone cells were found to be affected by zinc deficiency. The early changes are reversible and responded well to zinc therapy.

L İ T E R A T Ü R

- 1 — CALHAUN, N. R., SMITH, G. C.: The role of zinc in bone metabolism, Clinical Orthopaedics

- 2 — ÇAVDAR, A. O., ARCASOY, A. : Haematologic and Biochemical Studies of Turkish Children with Pica. A presumptive explanation for the syndrome of idiopathic iron deficiency anemia. Clin. Pediatr., 11:2215, 1972.
- 3 — FERNANDEZ, F., PRASAD, A. : Effect of zinc deficiency on collagen metabolism. J. Ba. Clin. Med., 78: 853, 1971.
- 4 — HALSTED : Human Zinc deficiency. Trans. Am. Clin. Climatol. Ass., 82:170, 1970.
- 5 — JAMES, F., RIORDAN, Ph. D. : Çinkonun biyokimyası. The Medical Clinics of North America (Dahiliye klinikleri), 60: 4: 615-629, 1976.
- 6 — KIENHOLZ, TURK, D. E., SUMDE, M. L. AND HOEKSTRA, W. G. : Effects of zinc deficiency in the diets of hens. J. Nutr., 75:211, 1961.
- 7 — RONANKY, H., FOX, M. R. S., GARN, S. M., ISRAEL, H., HARP, A., MOC, P. G., and HALSTED, J. A. : Controlled zinc supplementation for malnourished school boys : a pilot experiment. Am. J. Clin. Nutr., 22:1279, 1969.
- 8 — SHEDDEN, L. : Changes in alkaline phosphatase activity in periosteal cells in healing fractures calcified. Tissue Research, 22:19-25, 1976.
- 9 — SIBSONS, H. A. : The growth of bone chapter 4 the Biochemistry and Physiology of bone 2nd Edition. Vol. III. Edited by G. Bourne Academic Press. New York, 1971.
- 10 — SWENERTON, H. AND HURLEY, L. S. : Severe Zinc deficiency in male and female rats. J. Nutr., 95:9, 1968.
- 11 — WESTMORELAND, N. : Pathological defects in the epiphyseal cartilage of zinc deficient chicks, J. Nutr., 98:75, 1969.
- 12 — WESTMORELAND and HOEKSTRA, N. G. : Histochemical studies of alkaline phosphatase in epiphyseal cartilage of normal and zinc deficient chicks. J. Nutr., 98: 83, 1969.