

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FLOROZİSLİ KOYUNLARDA
OKSİDATİF DNA HASARI**

Biyolog Ayşegül ÖNER
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatmagül YUR

VAN- 2015

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FLOROZİSLİ KOYUNLARDA
OKSİDATİF DNA HASARI

Biyolog Ayşegül ÖNER
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatmagül YUR

VAN – 2015

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2014-SBE-YL107 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FLOROZİSLİ KOYUNLARDA
OKSİDATİF DNA HASARI**

Biyolog Ayşegül ÖNER
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Fatmagül YUR
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Semiha DEDE
Üye

Yrd. Doç. Dr. Leyla MİS
Üye

TEZ KABUL TARİHİ
19 / 01 / 2015

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında yoğun çalıőmalarına rağmen hiçbir zaman maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, özveriyle her konuda bana destek olan Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı, danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Fatmagül YUR ve eői Sayın Mustafa YUR'a, bilimsel desteklerini esirgemeyen Anabilim Dalımızın değerli Öğretim Üyelerine, tezimin saha çalıőması aőamasında yardımlarını esirgemeyen Ağrı İl Tarım Müdürü Murat DEMİRKIRAN'a, Doğu Beyazıt İlçe Tarım Müdürlüğü çalıőanlarına, tezimin istatistikleri konusunda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Memiő BOLACALI'ya, çalıőmama maddi destek veren Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Başkanlığı'na, özellikle hayatımın her anında yanımda olan maddi, manevi ve bilimsel desteğini esirgemeyen değerli eőim Yrd. Doç. Dr. Ahmet Cihat ÖNER'e ve her őeyleri ile yanımda olduklarını bildiğim aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	
Teşekkür	
İçindekiler.....	I
Simgeler ve Kısaltmalar	III
Tablolar Listesi.....	IV
Şekiller Listesi.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Flor	2
2.2. Florun Kaynakları.....	3
2.3. Florun Organizmadaki Görevi	4
2.4. Florun Metabolizması.....	5
2.5. Florun Birikimi ve Atılması.....	5
2.6. Florun Farklı Dokulara Etkisi.....	6
2.6.1. Florun Dişlere Etkisi.....	6
2.6.2. Florun Kemik Dokusuna Etkisi.....	9
2.6.3. Florun Diğer Dokulara Etkisi.....	9
2.7. Florozis	10
2.7.1. Akut Florozis.....	12
2.7.2. Kronik Florozis.....	13
2.7.3. Floroziste Teşhis.....	13
2.7.4. Floroziste Tedavi.....	14
2.7.5. Florozisten Korunma.....	15
2.8. DNA'nın Yapısı	16
2.9. Oksidatif stres ve DNA Hasarı	18
2.10. 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin (8-OHdG).....	19
2.10.1. 8-OHdG'in oluşum mekanizması.....	20
2.10.2. 8-OHdG'in oluşum nedenleri.....	21
2.10.3. 8-OHdG'in klinik önemi.....	22
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Gereçler	23
3.1.1. Hayvan materyali ve idrar/kan alınması.....	23

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler.....	24
3.1.3. Kimyasal maddeler.....	24
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. İdrarda flor ölçümü.....	25
3.2.2. 8-OHdG Elisa kiti ile DNA hasar tayini.....	25
3.3. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33
ÖZET.....	38
SUMMARY.....	39
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	50
EK-1 Araştırma Başvuru Onay Belgesi.....	51
EK-2 YÜHADYEK araştırma kesin sonuç onay belgesi.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

F	Flor
Al	Alüminyum
Cu	Bakır
Mg	Magnezyum
O₂⁻	Süperoksit
OH	Hidroksil
HF	Hidrojen florür
H₂O₂	Hidrojen peroksit
NaCl	Sodyum klorür
CaF₂	Kalsiyum florür
NaF	Sodyum florür
Fe_NTA	Demir nitrilotriasetat
ALP	Alkalen fosfataz
LDH	Laktat dehidrojenaz
GOT	Glutamat oksaloasetat transaminaz
GPT	Glutamat pirüvat transaminaz
A	Adenin
T	Timin
C	Sitozin
G	Guanin
DNA	Deoksiribo nükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
ROS	Reactive oxygen species
TISAB	Total Ionic strength adjustment buffer
WHO	Dünya sağlık örgütü
dl	Desilitre
ml	Mililitre
mg	Miligram
l	Litre
ppm	Per percent milion

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo1: Kontrol ve florozisli gruplara ait idrar flor düzeyleri.....	27
Tablo2: Kontrol ve florozisli gruplara ait serum 8-OHdG düzeyleri.....	27



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Florun organizmada izlediği yollar.....	6
Şekil 2.	Ağrı ili Demirtepe köyünde yaşayan 14 yaşında florozisten etkilenen bir gencin dişleri	7
Şekil 3.	Ağrı İli Demirtepe Köyünde florozis semptomu gösteren bir koyunun dişleri	7
Şekil 4.	Dişin anatomisi	8
Şekil 5.	DNA ipliği.....	16
Şekil 6.	DNA'nın Watson ve Crick 'in çift heliks yapısının diagramatik gösterimi.....	17
Şekil 7.	8-hidroksi- 2'deoksiguanozin (8-OHdG)	20
Şekil 8.	Oksijen radikalleri ile 8-OHdG oluşumu.....	21
Şekil 9.	8-OHdG ELISA testi linearite grafiği.....	26
Şekil 10.	Serum 8-OHdG düzeylerinin karşılaştırılması.....	28
Şekil 11.	İdrar flor düzeylerinin karşılaştırılması	28
Şekil 12.	Çiftlikköy Köyü idrar flor düzeyleri.....	29
Şekil 13.	Demirtepe Köyü idrar flor düzeyleri	29
Şekil 14.	Gölyüzü Köyü idrar flor düzeyleri	30
Şekil 15.	Çiftlikköy-Demirtepe-Gölyüzü Köyleri idrar flor düzeyleri karşılaştırılması.....	30
Şekil 16.	Çiftlikköy Köyü serum 8-OHdG düzeyleri.....	31
Şekil 17.	Demirtepe Köyü serum 8-OHdG düzeyleri.....	31
Şekil 18.	Gölyüzü Köyü serum 8-OHdG düzeyleri.....	32
Şekil 19.	Çiftlikköy-Demirtepe- Gölyüzü Köyleri 8-OHdG düzeyleri karşılaştırılması	32

1. GİRİŞ

Organizmanın canlılığını devam ettirebilmesi ve fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için birçok organik ve inorganik madde gerekir. Bu maddelerin organizmanın ihtiyacından az veya fazla alınması durumunda organizma için istenilmeyen olaylar ortaya çıkabilir. Organizmanın ihtiyaç duyduğu ve dışarıdan alınması gereken inorganik maddelerden biri de florudur.

Flor, doğada serbest halde bulunmayan, atom numarası 9, atom ağırlığı 18.99 ve elektronegativitesi çok yüksek bir iz elementtir. Flor'un organizmaya ihtiyaç duyduğundan fazla alınması durumunda organizmada "Florozis" şekillenir. Flor doğada çeşitli bileşikler halinde bulunur ve organizma bu bileşikleri bir şekilde alır. Bu nedenle florun organizmaya eksik alınma olasılığı çok düşüktür (Yılmaz, 2010).

Florozis ilk defa 1937 yılında Hindistan'ın Madras eyaletinde tanımlanmıştır (Uslu ve Göğüş, 1981). Dünyada florozis olgularının en sık saptandığı ülke Hindistan'dır. Hindistan' da halkın birkaç milyonunun florozis riskine maruz kaldığı tahmin edilmektedir (Krishnamachari, 1986).

Florozis akut ve kronik olmak üzere iki şekilde görülür. Genellikle doğal flor bileşiklerinin uzun süre normalin üzerindeki miktarlarda alınması sonucunda kronik florozis ortaya çıkmaktadır. Kronik florozis oluşumunda toprak, su ve bitkilerin doğal olarak içerdikleri flor konsantrasyonu önemli rol oynamaktadır. Doğal faktörlere bağlı olarak şekillenen kronik florozis olgularına dünyada ve Türkiye'de birçok yörede endemik olarak rastlanmaktadır (Oruç, 1977; WHO, 1984; Ergun ve ark., 1987; Fidancı ve ark., 1998). Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesinde, volkanik arazi yapısına sahip Van ve Ağrı illerine bağlı ilçelerde florozis yaygın şekilde görülmektedir (Şendil ve Bayşu, 1973; Oruç, 1977; Ergun ve ark., 1987; Altıntaş ve ark., 2000).

Ülkemizde florozisli hayvanlar üzerinde kan dokusunda oksidatif DNA hasarı ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada kronik florozis sonrası şekillenen oksidatif DNA hasarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Flor

Flor, insan ve hayvanlarda diş ve kemiklerin gelişimi, kalsifikasyonu, diş yüzeylerinde mineral kaybının önlenmesi, hücrel aktivasyon ve bakteriyel enzim aktivitesinin azaltılmasında önemli yeri olan esansiyel bir iz elementtir (Yaari, 1982; Kashani ve ark., 1998; Kalaycıoğlu ve ark., 2000). Laboratuvar hayvanları ile yapılan çalışmalarda florun hayvanlar için esansiyel bir element olduğu tespit edilmiştir (Underwood, 1977; Mc Dowel, 1985; Sel, 1991).

Periyodik cetvelde halojenlerin oluşturduğu 7A grubunun ilk ve en hafif elementi flordur. Bundan dolayı elektronegativitesi en yüksek olan elementtir. Florun elektronegativitesi çok yüksek olduğu için organik ve anorganik maddelerle çok çabuk bileşik oluşturabilir (Anonymus,1977; Jones,1977).

Flor elementi ilk olarak Henry Moisant tarafından 26 Haziran 1886 tarihinde Hidrojen Florür (HF) gazının elektroliziyle, sarı renkli bir gaz olarak serbest flor halinde elde edildi. Flor elementinin atom numarası 9, atom ağırlığı 18.99 ve valans değeri 1'dir (Cotton ve Wilkinson, 1988; Vlasow ve Trifonov, 1999). Flor yer kabuğunda %0.027 oranında bulunmaktadır (Uslu, 1982). Flor elementi, açık yeşilimsi sarı renkte bir gazdır. 120°C'de sıvılaşmakta ve -250°C'de donmaktadır (Waldbot, 1963).

Flor sözcüğü latince "akış" anlamına gelir, doğada serbest halde bulunmadığından yaygın olarak maden yataklarında maden filizleri ile birleşmiş şekilde bulunur (Şanlı, 1986). Doğada 3 şekilde bulunan doğal flor bileşikleri; florofat ya da florid denilen kalsiyum florür (CaF_2), kriyolit (Na_3AlF_6) ve floroapatit ($\text{CaF}_2 \cdot 3\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$)'dir (Özdemir, 1981).

Endüstriyel olarak üretilen flor bileşikleri motorlarda soğutucu akışkan, kimya endüstrisinde çeşitli aletlerde uzun ömürlü makine yağı, yalıtkan ve yapı malzemesi olarak ayrıca oksitleyici özelliklerinden dolayı roket yakıtlarında da kullanılır. Elementer flor, teflon gibi bazı yeni plastik maddelerin yapımında ve soğutma endüstrisinde Freon (CCl_2F_2) gibi soğutucu gaz olarak da kullanım alanına

sahip olmuştur (Özdemir, 1981). NaF zehirli bir bileşik olup, floroasetat ve floroasetamin şeklinde böcek ve fare öldürücü olarak kullanılır (Anonymus, 1977). Diş çürümelerini önlemek amacıyla bazı diş macunlarına da florürler katılmaktadır. Yine flor miktarı az olan içme sularına flor katılmaktadır (Martinez-Mier ve ark., 2003). Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) belirlediği, içme sularında olabilecek en yüksek flor miktarı 1,5 mg/l dir (WHO, 2006).

2.2. Florun Kaynakları

Flor değişik miktarlarda toprak, su, bitki ve hayvansal dokularda bulunmaktadır (Shupe ve ark., 1984; Kaya ve ark., 1995). Yüzey sularında flor düzeyi genellikle 1 mg/l'nin altındadır. Florürce zengin minerallerle temas eden derin yeraltı sularında veya daha sıcak kaynak sularında bu miktar 20–53 mg/l'e kadar çıkabilmektedir (Atabey, 2005).

Topraktaki total florür miktarı genellikle 100 ppm'dir. Volkanik bölgelerde bulunan fosfatlı kayaların parçalanmasıyla oluşan toprak 2000–4000 ppm arasında flor içermektedir. Özellikle Kuzey ve Güney Amerika ülkeleri, Kuzey Afrika, Fas, Çin ve İzlanda gibi ülkelerde fosfatlı kayaların flor oranı %0.15 olarak bildirilmiştir (Şanlı ve Kaya,1995).

Hayvanlar tarafından alınan fazla florun başlıca kaynakları şu şekilde sıralanabilir;

- a) Yüksek düzeyde flor içeren doğal ve endüstriyel kaynaklı suların içilmesi,
- b) Endüstriyel bölgedeki kirliliklerin rüzgâr, yağmur vs. ile bitki örtüsünü kontamine etmesi sonucu, bunlardan hazırlanan yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesi,
- c) Yeterli düzeyde deflorine edilmemiş yem katkıları ve mineral karışımların verilmesi,
- d) Yüksek düzeyde flor içeren toprakta yetişen bitkilerin yenmesi (Jones, 1972; Sel,1991).

2.3. Florun Organizmadaki Görevi

Canlı organizmalar floru su, bitkisel besinler veya mineral katkı maddelerinden alırlar (Ammerhnen, 1980). Bütün doku ve organlarda bulunan florun yaklaşık % 95'i inorganik floroapatit şeklinde iskelet ve dişlerde depolanmaktadır (Goodman ve Gilman, 1980; Maraşlı, 1992).

Flor, diş yapısının korunması ve diş çürümelerinin önlenmesi bakımından olumlu etki yapmaktadır (Aksoğan, 1972; Uslu ve Göğüş, 1981). Flor noksanlığında dişlerin kimyasal etkilere karşı direnci azalmaktadır. Florun diş çürümelerini önleyici etkisi çeşitli nedenlere bağlanmaktadır. Florun hidroksil floroapatit meydana getirmek suretiyle dişin dış yüzeyine etki ettiği ve mineyi sertleştirdiği, asitlere karşı hassasiyeti azalttığı, salyanın pH'sına etki ettiği ve çürük oluşumunun başlangıcında önemli olan ferment ve mikrobiyel enzimleri inhibe ettiği bildirilmektedir (Samsar, 1972).

Kemikte floroapatit olarak biriken florun uyarıcı etkisi sonucu, kemik yapan hücreler diye adlandırılan osteoblastlardan henüz kireçleşmemiş olan kemiksi doku yani osteosid şekillendiği, böylelikle de florun kemik dokusunun gelişmesinde olumlu etki yaptığı bildirilmiştir (Bildik 1992, Fisher ve ark. 1989, Sağlam 1993). Sağlıklı hayvanların kemik dokusunun flor içeriğinin 1-71 ppm arasında olduğu bildirilmiştir (Şanlı ve Kaya,1995).

Florun enzimler üzerine etkisi konsantrasyonuna bağlı olarak değişmekle birlikte, bu etki iki şekilde olmaktadır. Birincisi, flor direkt enzimler üzerine etki etmektedir. İkincisi ise flor, enzim metalleriyle kompleks oluşturarak etkilerini göstermektedir (Sel, 1991).

Florun en önemli görevi, diş çürüklerinin önlenmesidir. Bu etkisini, minenin direncini artırarak, dekalsifiye minenin remineralizasyonunu sağlayarak, karyojenik florayı azaltarak, serbest yüzey enerjisini düşürerek ve glikoliz enzimlerini inhibe ederek gösterir (Bozkurt ve ark., 2000; Aoba ve Fejerskov, 2002; Samur, 2006).

2.4. Florun Metabolizması

Organizmaya alınan florun yaklaşık olarak %80'i gastrointestinal kanaldan kana, basit diffüzyon yoluyla geçer. Emilen florun çoğu kemik dokusunda depo edilirken, bir kısmı da böbreklerden atılır (Fisher ve ark., 1989). Cu, Mg ve F içeren gıdalar florla az çözünen bileşikler oluşturduğundan flor emilimi azalır (Helfetz ve Horowitz, 1984). Kan dolaşımına geçen flor'un % 10'u biyolojik yönden aktif iyonize formda florü teşkil ederken, % 90'lık bölümü albümine bağlı halde bulunur (Oktay, 1977; Fisher ve ark., 1989). İyon olarak bulunan flor kemiklerdeki kalsiyum fosfatla birleşerek florapatit teşkil eder (Oktay, 1977; Uslu ve Göğüs, 1981).

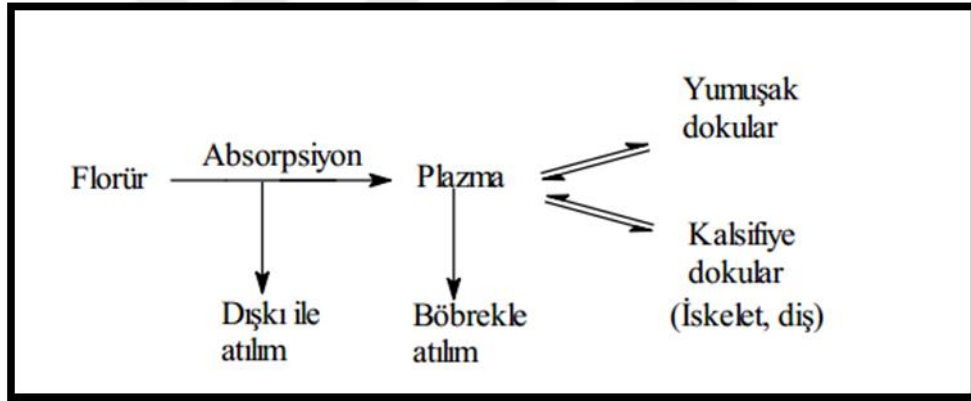
Kalsiyum iyonları, flor iyonları ile CaF_2 oluşturarak florun emilmesini engellemektedir (Fisher ve ark., 1989). Florun, gastrointestinal sistemden kalsiyum emilimini azaltarak ve kalsiyuma bağlanarak hipokalsemi yapabileceği, şayet kalsiyum alımında yetersiz olursa, sekonder paratiroid hormon artışına yol açabileceği belirtilmiştir (Varol ve Varol, 2010). Kalsiyum florür, florun emilmesini engellerken (Fisher ve ark., 1989), flor ise demirin bağırsaklardan emilimini artırmaktadır (Messer ve ark.,1973).

İnsanlarda Al ve F beraber alındığında tükürük flor miktarı hızla yükselmiştir. Aynı olay hayvanlarda da saptanmıştır (Brudevold ve ark., 1973). Ayrıca Al^{+3} florun mide bağırsak kanalından emilimini engeller (Goodman ve Gilman, 1980). Florun bir diğer emilim yolu akciğerle olur ve çok hızlıdır. İnhalasyon yoluyla hava kirliliğinin yoğun olduğu bölgelerde yoğun flor alımı söz konusudur (Oktay 1977; Whitford 1992). Florun deri yolu ile de emiliminin olduğu bildirilmektedir (Brudevold ve ark.,1973).

2.5. Florun Birikimi ve Atılması

Vücuttaki bütün doku ve organlarda bulunan florun %95'i, inorganik mineral florapatit halinde iskelet ve dişte depolanır. Flor vücut sıvıları ve yumuşak dokularda ise düşük konsantrasyonlarda bulunur (Underwood, 1966).

Flor başlıca idrarla atılmaktadır (Cerklewski, 1997), bu nedenle floroziste en fazla flor değerine sahip yumuşak doku, böbrek dokusudur (Goodman ve Gilman, 1980;Shupe, 1980). Günlük, idrar yoluyla atılan flor miktarı 0,4 mg'dır. Mide-barsak kanalından dışkı ile atılan flor miktarı ise çok azdır (günde 0,04 mg). Ayrıca florun ter ve süt yoluyla atılımı olduğu bildirilmiştir (Goodman ve Gilman, 1980; Helfetz ve Horowitz, 1984). Meme bezlerinden düşük düzeyde flor atılımı sütün tüketimindeki sakıncaları engeller. Meme dokusu, florun süte geçişini sınırlayan biyolojik bir engel görevi yapmakta ve bu nedenle, hayvanlardan elde edilen sütler, yem ve sulardaki flor varlığından hemen hemen hiç etkilenmemektedir. Dolayısıyla, florozisli hayvanlardan elde edilen sütler insanlarda herhangi bir sağlık sorunu oluşturmamaktadır (Şanlı ve Kaya,1995). Yapılan bir çalışmada, az ve fazla düzeyde florlu su içen annelerin sütlerinde flor miktarları ortalama 7 - 10,9 mg/ml olarak belirlenmiştir (Esala ve Vuori, 1982).



Şekil 1. Florun organizmada izlediği yollar (Yaşar, 2003).

2.6. Florun Farklı Dokulara Etkisi

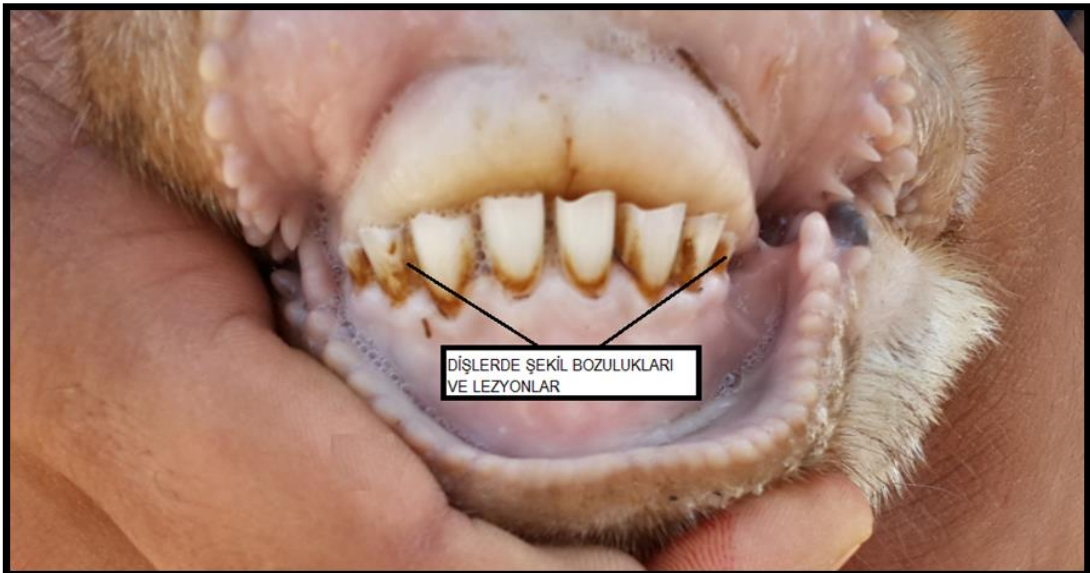
2.6.1. Florun dişlere etkisi

Yüksek flor düzeyinden en fazla alveolar kemik ve dişler etkilenmektedir (Reddy ve Grobler, 1988; Cerklewski, 1997). Hayvanlarda dişlerde şekillenen lezyonlar, florozisin en spesifik ve karakteristik belirtisidir (Kırvar, 1991). Dişlerin biçim, hacim, renk, parlaklık ve yapısında değişiklikler oluşmakta insisör dişlerde çukurlar, molar dişlerde aşınmalar meydana gelmekte ve kırık veya aşınmaya bağlı olarak diş köklerinin çürükleriyle de karşılaşmaktadır (Samsar, 1972).

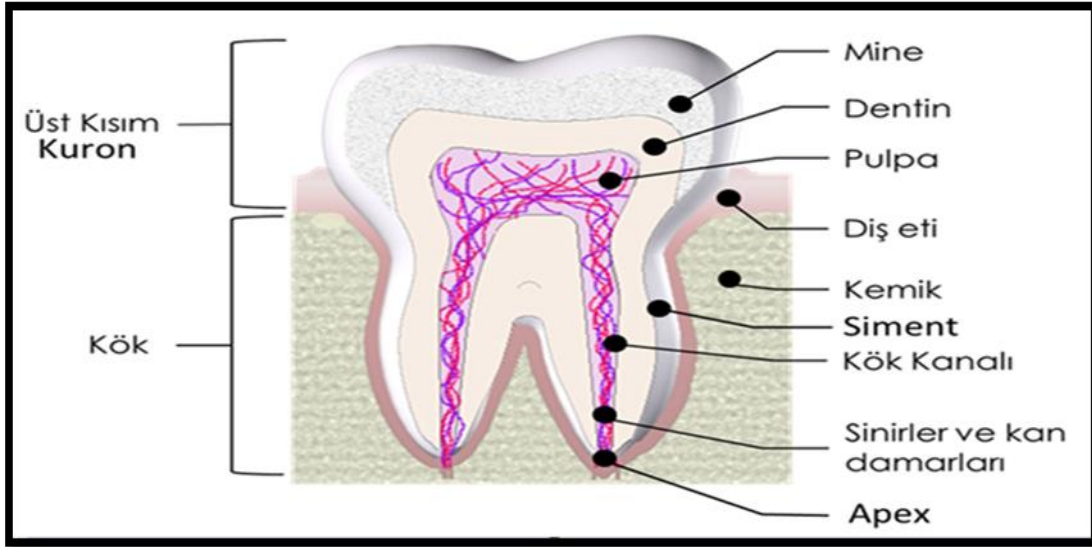


Şekil 2. Ağrı İli Demirtepe Köyünde yaşayan florozisten etkilenen 14 yaşındaki bir gencin dişleri.

Florozisin şiddeti her diş grubuna göre değişir. En fazla küçük azılar ondan sonra sırasıyla ikinci büyük azılar, üst kesiciler, kaninler, birinci büyük azılar ve en az olarakta alt kesici dişlerin etkilendiği görülür (Bayırlı ve Şirin, 1985). Süt dişlerinde florozis belirtileri çok az görülür. Bunun sebebinin plasentanın koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir. Kalıcı dişlerin hepsinde, süt dişlerinin %50'sinde florozisin belirgin şekli olan lekeler görülmektedir (McDowell, 1985; Brouwer ve ark., 1988).



Şekil 3. Ağrı ili Demirtepe köyünde florozis semptomu gösteren bir koyunun dişleri



Şekil 4. Dişin anatomisi (Anonim)

Ratlar, koyunlar ve domuzlar üzerinde yapılan ve plazma florid konsantrasyonuna bağlı olarak şekillenen dental lezyonları inceleyen bir çalışmada, yapısal farklılıklarına rağmen diş minesinin temel karakteristiğine benzerlik olduğu ve flor alımının diş minesine oluşum esnasında pozitif yönde, oluşum tamamlandıktan sonra ters yönde etki ettiği görülmüştür (Richard, 1990). Normal değerlerde alınan flor, dişleri çürük oluşmasından korur ve daha sağlam kemik oluşmasını hızlandırır (Edmunds ve Smedley, 2005).

Florun yeterli oranda alınması, ağız içindeki Streptococcus mutans gibi bakterilerin asit üretimini engelleyerek diş çürüklerini azaltır (Maraşlı ve ark., 1995). Flordan kaynaklanan diş renklenmelerinin olduğu bölgelerde, diş çürüğü ve dişeti hastalıklarının daha düşük olduğu bildirilmiştir. Florlu sudaki minerallerin diş çürüklerini önlemede önemli olduğu ve içme suyundaki flor miktarının 1 ppm olduğu durumlarda en iyi sonuçların alındığı bildirilmektedir (Ata 1982; Bayırlı ve Şirin, 1985; Bozkurt ve ark., 2000).

Çocuklar üzerinde yapılan bir çalışmada ise, flor yoğunluğu ile diş çürüme olayları arasında kantitatif bir ilişki saptanmıştır. İçme suyunda 1,3 ppm civarındaki flor, diş çürümelerinde azalmayı sağlarken aşırı flor alımının diş çürümesini ortadan kaldırmadığı gözlenmiştir (Cerklewski, 1997).

Flor iyonları, hidroksil grubu alarak hidroksifloroapatit şeklinde kemik dokusunun mineral yapısına yerleşir ve bu yapının bileşimini değiştirir (Chachra ve ark., 1999).

2.6.2. Florun kemik dokusuna etkisi

Kemikteki flor, kristalize yüzeyde kemik kristal büyümesinin inhibisyonuna engel olarak, mineral organik yüzeyler ve/veya kemik matrix proteinleri arası bağlanmayı etkileyebilir. Aksiyal kemik yoğunluğu üzerinde pozitif etkisi vardır. Flor osteoblastik stimülasyonla kemik yapımını uyarır, bu sayede osteoporozis gibi hastalıklarda düşük kemik yoğunluğunda tedavi edici olarak kullanılır (Dequeker ve Declerck, 1993; Phipps, 1995; Samur, 2006; Mousny ve ark., 2008).

Florozisten en fazla aktif olan kemikler etkilenir. Çiğneme ve solunumla görevli olan kemiklerde flor birikimi daha fazla olur. Kemikte büyüme ve damarlanmanın fazla olduğu bölgelerde birikim, diğer bölgelere göre fazladır. Flor alımındaki azalma ile lezyonlar normale dönebilir. Ancak floroziste şiddetli kemik lezyonu oluşmuşsa, genelde ölüm olacağından normale dönüş gözlenmez (Burns ve Allcroft, 1964).

Kemiklerde tebeşir görünümlü lezyonlar oluşabilir. Lezyonlar tek taraflı veya simetrik olarak şekillenir, en çok periostal yüzeyde değişim saptanmıştır. Kronik floroziste kemik deformasyonlarında, osteosklerozis, osteoporozis ve osteomalasi gibi farklı tipler oluşabilir (Reid, 1977; Milheud ve ark., 1987).

Yeterli flor alımı osteoporozu önlerken, aşırı flor alımı ise osteoporozu neden olur (Underwood, 1977; Blood ve ark., 1983; Kalaycıoğlu ve ark., 2000; Samur, 2006). Uslu (1984), şiddetli florozisli hastalarda bütün kemiklerde osteoskleroz ve tipik tebeşir manzarası tespit ettiğini bildirmiştir.

2.6.3. Florun diğer dokulara etkisi

Canlıların aldığı besin ve sulardaki flor miktarının artışı, diş ve kemiklerde yol açtığı olumsuzlukların yanında başta böbrek, tiroid, akciğer, karaciğer gibi organlarda da değişik şekillerde hasarlara sebep olur (Helfetz ve Horowitz, 1964;

Oktay, 1977; Reid1977, Tiwary ve ark., 1978). Florozis sonucu böbrek, karaciğer, kemik iliği, adrenal bezler, kalp kası, diş eti ve merkezi sinir sisteminde dejeneratif değişiklikler meydana geldiği bildirilmiştir (Blood ve ark.,1983, Aydın ve ark., 2014).

Florun atılmasında primer organ böbrek olduğu için etkilenme normal sayılırken floroziste karaciğerde peteşiyel kanamalar ve büyüme bildirilmiştir (Tiwary ve ark., 1978). Koyunlarda böbrek ve karaciğerde patolojik lezyonlar gözlenmiş (Kesseb ve Hamliri, 1986), sığırlarda herhangi bir lezyon saptanmamıştır (Hoogstratten ve ark., 1965; Fisher ve ark., 1989).

Su ve besinler ile 50 ppm veya daha fazla miktarda flor alınması tiroid bezinde fonksiyon bozukluklarına sebep olmaktadır. Bildik (1992), koyunlar üzerinde yaptığı bir çalışmada, florozisli hayvanlardaki protein bağlayıcı iyot değerlerinin normal hayvanlara göre daha düşük düzeyde tespit edildiği, böylece florla iyot arasındaki negatif bir ilişki olabileceği bildirilmiştir. Deneysel olarak hayvanlarda fazla miktarda flor alımı guatr oluştururken (Lhi-Lhong, ve ark., 1988), buna karşın süt ineklerinde tiroid hormonlarının floroziste azaldığı bildirilmiştir (Hillman ve ark., 1979).

2.7. Florozis

Florozis, evcil hayvanlarda ve insanlarda uzun süre yüksek miktarda flor alınması sonucu ortaya çıkan, dişlerde lekelenme, aşınma ve daha ileri safhalarda kemiklerde ve eklemlerde çeşitli bozukluklar ile karakterize bir problemdir. Dişlerin aşınarak kullanılamaz hale gelmelerinden dolayı iştahsızlık, verim kaybı hatta ölümler meydana gelebilir (Kırvar, 1991).

Florozis'in derecesi bazı faktörlere göre değişir. Bu faktörleri şöyle sıralayabiliriz:

- Alınan flor miktarı,
- Sindirim süresi,
- Zamanla flor alımındaki dalgalanmalar,
- Alınan florun eriyebilirliği,

- Yaş,
- Beslenme,
- Stres ve
- Bireysel farklılıklardır (Ergun ve ark., 1987).

İçme sularındaki maksimum flor miktarı, iklim şartlarına bağlı olarak değişir. Sıcak bölgelerde ortalama 0,7 ppm, soğuk iklimlerde ise 1,2 ppm flor saptanmıştır. Sıcak iklimlerde su ihtiyacı ve tüketimi fazla olduğundan, daha düşük düzeylerde flor içeren suların fazlaca alınmasıyla da florozis şekillenmektedir (Bildik, 1992; Sel, 1991).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılan bir açıklamada, içme sularındaki flor düzeyi 1,5 ppm üst değer olarak belirlenmiş olup ve bu değer üzerinde miktarların flor zehirlenmesine sebep olabileceği bildirilmiştir (Brouwer ve ark., 1988).

Flor zehirlenmesinde; idrar, serum, kemik ve dişte flor miktarı artarken, mental gerilik, inatçı ishal, kıllarda kabalaşma ve iştahsızlık görülür. Eklem ve kemik deformasyonları, uzun kemiklerde eğilmeler, aralıklı topallık, dişte lekeler, hipoplaziler, diş dökülmeleri, geri dönüşümsüz renk bozuklukları (açık sarı, yeşil kahverengi, siyah renkte nokta ve yatay şeritler halinde lekeler) ve deformasyonlar oluşur. Florozisin diş üzerine etkileri daha erken dönemde ortaya çıkarken, kemikler üzerine olan olumsuz etkileri daha geç dönemde ortaya çıkar (Tanyeri 1976; Underwood, 1977; Ersoy ve Bayşu, 1986; Milheud ve ark., 1987; Akyüz, 1997; Gültekin ve ark., 2004).

Florozis ile ilgili en eski bulgular volkanik patlamalarla beraber görülmüştür. Amerika Birleşik Devletleri'nde Colorado Springs'de insanlarda, 1906'da "Mottled Enema" olarak isimlendirilen, dişlerde bozukluk ve lekelerle tanımlanmış hastalık görülmüştür (McDowell, 1985).

Ülkemizde florozis olayı ile ilgili ilk çalışma, Isparta'da Prof. Dr. Pertev Ata tarafından 1955 yılında yapılmıştır. Isparta bölgesinde sulara normalden fazla miktarda flor (4,03 ppm) olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda, Ağrı ilinin bazı sınır köylerinde, Van ili Muradiye ve Çaldıran ilçelerinin köylerinde,

suda 12,5 ppm miktarında flor olduğu belirlenmiştir (Şendil ve Bayşu, 1973; Oruç, 1977; Uslu 1984; Ergun ve ark., 1987).

Ülkemizde, Eskişehir'e bağlı Kızılcacöen ilçesi ve çevre köylerinde, Isparta bölgesinde, Van ili Çaldıran ve Muradiye ilçesinde (Tendürek Dağı etrafında), Ağrı İli Doğubeyazıt İlçesi köylerinde ve Edirne Habiller köyünde florozis görülmektedir (Uslu,1982; Atabey, 2005). Fazla flor alınmasına bağlı olarak oluşan flor zehirlenmesi akut ve kronik florozis diye ikiye ayrılmaktadır (Heifetz ve Horowitz, 1984).

2.7.1 Akut florozis

Akut florozis; bir defada fazla miktarda flor alınması sonucu oluşmaktadır. Flor tuzları içeren bazı insektisit, pestisitler, antihelmintikler, sodyum florid tabletleri ve rodentisitlerin fazlaca alınması ile oluşabilir. Fazla miktardaki florun midede hidroflorik asit oluşturması sonucu gastrointestinal kanalda lokal irritasyon oluşur ve bunun sonucunda bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal, yoğun tükürük oluşumu, gözyaşı, sık idrara çıkma, hipotermi gözlenebilir (Helfetz ve Horowitz, 1984; Oktay, 1977; Goodman ve Gilman, 1980; Shupe, 1980). Semptomlar flor alınımını izleyen 30 dakika içinde başlayıp 24 saat sürebilmektedir (Helfetz ve Horowitz, 1984).

Florun, enzim inhibitörü olarak görev yaptığı hücrede, aerobik glikoliz ve sellüler respirasyon bozulur; şok, koma, konvulsiyon ve aritmi gelişir, sonuçta ölüm şekillenir (Heifetz ve Horowitz, 1984). NaCl-glukoz solüsyonlarını intravenöz uygulamaları, tetaniye karşı yine intravenöz kalsiyum glukonat enjeksiyonları tavsiye edilir (Goodman ve Gilman, 1980).

Akut zehirlenmeler yönünden, özellikle sodyum floroasetat ve sodyum florür tehlikeli bileşikler olarak kabul edilmektedir. Antihelmintik amaçlarla % 4-5 oranlarında yemlere karıştırılarak verilen sodyum florür şiddetli toksik etki oluşturmaktadır. Akut zehirlenmelere yol açacak ölçülerde alınan sodyum floroasetat ve sodyum florür bir protoplazma ve enzim zehiri olarak etkimektedir. Flor, moleküler düzeydeki etkisiyle lipaz, fosfataz ve kolinesteraz enzimlerini inhibe ederek oluşturduğu metabolik bozukluklar nedeniyle ölüme yol açabilmektedir (Şanlı ve Kaya, 1995).

2.7.2 Kronik florozis

Kronik florozis, az miktarda florun uzun süre alınması ile oluşan durumdur. Kronik floroziste toksikasyon çok yavaş gerçekleşir. Bunun sonucu olarak da lezyonların ve semptomların ortaya çıkışı da uzun zaman alır. Kronik floroziste en fazla rastlanılan belirtiler; kilo kaybı, iştahsızlık ve bunlara bağlı kaşeksi ve dişi hayvanların kızgınlık döneminde gecikmedir (Jones, 1972; Hillman ve ark., 1979). Fosfor kaynağı olarak kullanılan yumuşak fosfatların tüketilmesiyle de flor zehirlenmesi oluşmaktadır. Flordan arındırılmayan fosfat kayaları da florozis için kaynak teşkil etmektedir. Niflumik asit gibi yüksek flor içeren nonsteroidal antiinflamatuvar analjezikler uzun süre kullanılırsa, kronik flor zehirlenmesi meydana geldiği bildirilmiştir (Ammerman ve ark., 1964).

Üretim aşamalarında florlu bileşiklerin kullanımını gerektiren endüstriyel faaliyetler, çevrenin florla kontaminasyonuna neden olmakta ve buna bağlı olarak gelişen kronik flor zehirlenmesine de endüstriyel florozis adı verilmektedir. Demir – çelik ve döküm, alüminyum, cam, seramik, tuğla-kiremit, petro–kimya sanayi iş kollarında faaliyet gösteren fabrikalar, petrol rafinerileri, süperfosfat fabrikaları ve termik santraller endüstriyel florozis olgularında önemli rol oynamaktadır (Fidancı ve ark.,1998).

2.7.3. Floroziste teşhis

Akut flor zehirlenmelerinin teşhisinde anemnez bilgileri büyük değer taşımaktadır. Ayrıca, gerekirse hasta hayvanlardan alınan dışkı, idrar ve kan örnekleri flor yönünden analiz edilmelidir (Şanlı ve Kaya, 1995).

Florozisin hastalığın iskelet-kas sisteminin klinik belirtileriyle seyrettiğini ve bu belirtilerin, dişlerin renksizleşmesi ve yumuşaması, çiğneme güçlüğü, kemik ekzostozları, topallık ve güç yürüme ile karakterize olduğunu ve aynı zamanda bu semptomlara ek olarak yüksek flor konsantrasyonlarında anemi, zayıflama, kuvvetten düşme, verim kaybı ve ölüm de görülebileceği bildirilmektedir. Canlı hayvanlardan alınan materyalin laboratuvar muayenesi teşhiste önemlidir (Patra ve ark., 1999).

Florozis belirtisi gösteren koyunlarda, florun serum GOT ve GPT aktivitelerini arttırdığı ve LDH aktivitesini azalttığı, ALP aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik tespit edilmediği bildirilmektedir. Sonuç olarak florozis belirtisi gösteren hayvanlarda serum GOT, GPT ve LDH enzim analizlerinin yapılmasının teşhiste yararlı olabileceği bildirilmiştir (Sel, 1991).

İnsan ve hayvanlarda, alınan flor ile idrarla atılan flor miktarları arasında pozitif bir ilişki vardır ve normal olarak idrarla atılan flor miktarı 5 ppm'den azdır. Bu nedenle florozisin teşhisinde, semptomlar ve lezyonların yanında idrarda flor miktarı tayini en kullanışlı laboratuvar yöntemidir (Fidancı ve ark., 1998).

Bu bilgilerin yanında, kandaki flor miktarı da florozisin teşhisinde kullanılan önemli laboratuvar bulgularından biridir. Normal sığırların kanındaki flor seviyesi 0,2mg/100 ml, idrarda 2-6 ppm'dir. Florla zehirlenen sığırlarda bu değerler, kanda 0,6 mg/dl ve idrarda 16-68 ppm değerlerinde tespit edilmiştir (Blood ve ark., 1983).

2.7.4. Floroziste tedavi

Floroziste başarılı bir tedavi yöntemi bilinmemektedir. Dişlerde oluşan lezyonlar geri dönüşümsüzdür. Kemiklerdeki lezyonlar flor alınımını azaltılmasıyla tekrar normal haline döndürülebilir (Shupe, 1980).

Kemiklerde biriken florun salıverilmesini sağlamak için yeterince etkili bir yol bilinmemesine rağmen, yalnız kalsiyum, fosfor, vitamin D, alüminyum sülfat ve alüminyum klorürün birlikte verilmesinin bir ölçüde yararlı olduğu bildirilmiştir (Kaya ve Akar 1998).

Akut flor zehirlenmelerinde, damar içi kalsiyum infuzyonları ile iyi sonuçlar elde edilebildiği (Aytuğ ve ark., 1990) ve floridin toksik etkilerine karşı hayvanların ihtiyaç duydukları normal kalsiyum miktarından daha fazlasının verilmesinin dişleri koruduğu bildirilmiştir (Ekambaram ve Paul, 2001). Kronik florozisten korunmada, günlük 30 gram alüminyum sülfat kullanılabilir ve daha yüksek dozları da tedavide yararlı olmaktadır (Şanlı ve Kaya, 1995). Bunun yanında alüminyum klorid, kalsiyum alüminat, kalsiyum karbonat ve deflorinad fosfat'ın hayvanlarda flor toksisitesini azaltabileceği ortaya konmuştur (Shupe ve Olson, 1971). Diş ve kemik

lezyonları tedavi edilememektedir, fakat diğer semptomlar biraz iyileştirilebilmektedir (Blood ve ark., 1983; Fisher ve ark., 1989). Allcroft ve Burns (1969) yaptıkları bir çalışmada alüminyum sülfatın kemiklerde floridin birikmesini % 22 oranında azalttığını, ancak istenmeyen düzeyde florun kemiklerde birikmesini önleyemediğini, buna karşın geciktirdiğini bildirmişlerdir.

2.7.5. Florozisten korunma

Korunma ve kontrol amacıyla, özellikle endüstri kuruluşları tarafından çevreye yayılan toz ve gaz halindeki baca artıklarını nötralize edecek ya da yayılmasını engelleyecek önlemler geliştirilmelidir. Bu tür atıkların en fazla görüldüğü dönemlerde, hayvanlar kirlenme olasılığı bulunan alanlardan uzak tutulmalıdır. Kontaminasyon sakıncası önlenemeyen ve süreklilik gösteren bölgelerde, kümes hayvanları gibi ekonomik verimliliği yüksek ve yaşam süresi kısa olan hayvanların yetiştirilmesine ağırlık verilmelidir. Flor içeriği 1 ppm'den fazla olan sular hayvanlara içirilmemeli, eğer içirilme zorunluluğu varsa bu durumdaki sular daha temiz sularla flor içeriği yarı yarıya seyreltilerek verilmeli, ya da pH'ı 6.25 -7,5 arasında alüminyum sülfat, kalsiyum hidroksit ile muamele edilerek flor içeriği sakıncasız hale getirilmelidir (Şanlı ve Kaya, 1995). Florozis saptanan bölgelerde, yer sularının flor yönünden rutin analizlerinin yapılması ve sağlığa elverişli olanların kullanılması gerekmektedir (Bardsen ve ark., 1999).

Diyete CaCO_3 , magnezyum veya alüminyum tuzlarının eklenmesi, gastrointestinal yolla flor bağlayarak florozis oluşmasını engelleyebileceği bildirilmektedir (Heifetz ve Horowitz, 1984; Şanlı ve Kaya, 1995). İnsanlarda yapılan bir çalışmada (Brudevold ve ark., 1973) alüminyumun florun gastrointestinal yolla absorpsiyonunu, zayıfça absorbe edilen Al-F kompleksleri oluşturarak azalttığı bildirilmektedir.

Suya kimyasal madde ilavesiyle flor çöktürülebilir. Kimyasal madde ilavesinde suya, kil, bentonit, diatom toprağı, kireç, kalsiyum, fosfat, magnezyum ile alüminyum tuzları tek başına veya yardımcı çöktürücülerle eklenir. Bu eklemelerden sonra çöktürme veya filtrasyon ile bunlar sudan ayrılır (Arceivala, 1977) . İçme

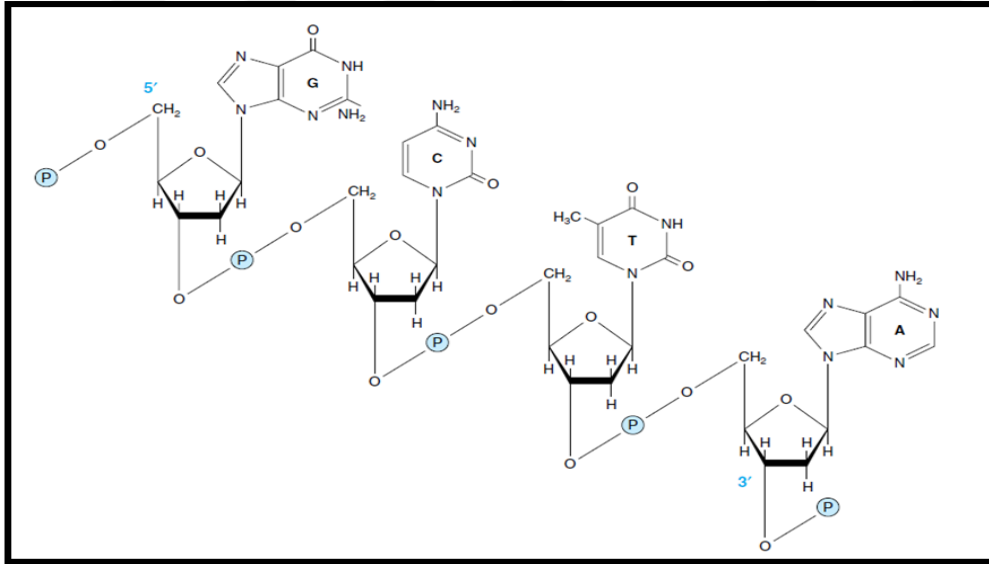
sularına 500-1000 ppm arasında kireç eklenmesi flor miktarını önemli derecede azaltabilmektedir (Blood ve Henderson, 1980).

Vitamin-C ve Vitamin-D florozisin kötü etkilerini hafifletebilmektedir. Vitamin-C bu etkisini kollagen biyosentezi üzerine florun kötü etkisini azaltmakla yapmaktadır (Oktay, 1977).

2.8. DNA 'nın Yapısı

DNA, dört farklı deoksiribonükleotidin her organizma için karakteristik olan belli bir sırada birbirine bağlanarak dizilmesi ile meydana gelmiş oldukça uzun bir moleküldür. DNA genellikle çift sarmal yapıya sahiptir (Murray ve ark., 1993; Murray ve ark., 2003; Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007).

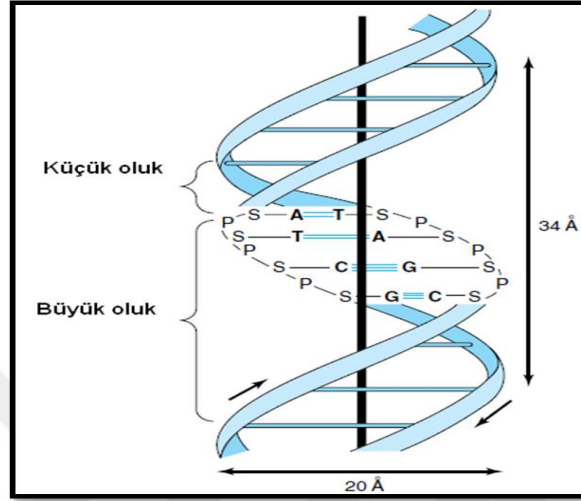
Bir DNA molekülünün bir iplikçik bölümü, pürin ve pirimidin bazları olan (guanin (G), sitozin (C), timin (T), ve adenin (A)) N-glikozidik bağla nükleobazlara bağlanmış 2-deoksiribozil birimlerinden kurulu fosfodiester iskeletten oluşmuştur (Şekil 5).



Şekil 5. DNA ipliği (Murray ve ark.,2003)

Yatay ok ile gösterilen çift sarmalın genişliği ve dikey ok ile gösterilen bir DNA iplikçığı yakından incelendiği zaman, on baz çifti (bp) nin yaklaşık olarak 4 Å^0 olduğu görülür. Çifte sarmalın merkezi eksen ile gösterilir (Şekil 6). DNA'nın

omurgasını oluşturan ve hidrofilik özelliğe sahip olan şeker ve negatif yüklü fosfat üniteleri çift sarmalın dışa bakan yüzünde ve kendilerini saran su molekülüne dönüktür. Hidrofobik olan pürin ve primidin bazları ise çift sarmalın içe bakan yüzünde ve ana eksene dikey olarak yer alırlar (Murray ve ark.,2003).



Şekil 6. DNA 'nın Watson ve Crick'in çift heliks yapısının diagramatik gösterimi (Murray ve ark.,2003).

Bir canlıda bulunan DNA molekülleri, o canlının hayatı boyunca hangi protein ve RNA'ları, organizmanın hangi vücut bölgesinde ve ne zaman sentez edeceğini, hangi doku ve organları oluşturacağını ve o canlının ne tip bir kişiliğe sahip olacağını tayin edecek bilgileri yapısında bulundurur. Genetik bilgiyi taşımalarının yanı sıra, kalıtım ve genetik hastalıklarının kimyasal temeli DNA'nın yapısında yer alır. Temel bilgi yolu, öncelikle DNA'dan RNA sentezi ve daha sonra protein sentezi gerçekleşir (Santral Dogma). Bu bilgi normal hücre fizyolojisi ile hastalıkların fizyopatolojisini moleküler düzeyde tanımlamak için kullanılır (Murray ve ark., 1993)

Stabil bir molekül olan DNA da lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde 10^3 kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (Burçak ve Andican, 2004).

2.9. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

Serbest radikaller, vücutta metabolizma sırasında meydana gelen son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir ve bunlara reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) adı verilmektedir (Gülbahar, 2007).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Endojen etmenler organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları ile oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında stres, virüsler, enfeksiyon, parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, pestisidler, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, sisplatin, nitrofurantoin, bleomisin lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Atmaca ve Aksoy, 2014).

Vücutta doğal metabolik yollarla oluşan serbest radikaller, normalde radikal parçalayan antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılmaktadır. Ancak, çeşitli nedenlerle reaktif oksijen türlerinin artması ve antioksidan mekanizmaların yetersiz kalması sonucu oksidatif stres adı verilen bir dizi patolojik olay meydana gelmektedir. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Williams ve Jeffrey, 2000; Cooke ve ark., 2003).

DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülen ve mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır. DNA, yaşam boyunca hücrenel metabolitler (ROS) ve ekzojen ajanlar tarafından sürekli olarak değişimlere maruz kalır. Bu değişimler, sonuçta tek hücreli organizmalarda hücrenel ölüme veya çok hücreli organizmalarda dejenerasyon ve yaşlanmaya sebep olabilir (Sancar ve ark., 2004; Rupp, 2006).

DNA'da oluşan başlıca hasarlar; kromatin yapısının bozulması, DNA bazlarının oksidasyonu, yanlış eşleşmesi ve tubulin polimerizasyonunun baskılanması,

bazların kimyasal olarak değişmesi, kromatin yapısındaki anomaliler, DNA zincirinin kırılması, DNA – DNA ve DNA-protein çaprazlaşmaları, DNA’da mutasyonlar gibi bir takım yapısal bozulmalardır (Turner ve ark., 2004; Kulaksız ve Sancar, 2007).

İnsan vücudundaki hücreler normal hücrenel enerji üretiminin doğal ürünleri olarak ve büyük miktarlarda geniş ayrıntılı egzersiz veya çevredeki kimyasal ajanlarla ortaya çıkan reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından sürekli saldırıya uğrar. Bununla birlikte, inflamatuvar hastalıkları, patofizyolojik mekanizmanın parçası olarak da ROS üretirler (Halliwell, 1996).

Oksidatif stresin, mutagenesis ve karsinogenesis ile seyredilen DNA hasarını indüklediği bilinmektedir (Matos ve ark., 2001). Normal aerobik solunumun yan ürünleri olan aktif oksijen türleri, süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH), oksidatif hasarlara ve dolayısı ile çeşitli hastalıklara neden olurlar. Bu mutasyonlar çeşitli hastalıklarda önemli rol oynarlar. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Dizdaroğlu, 1998; Williams ve Jeffrey, 2000; Cooke ve ark., 2003; Turner ve ark., 2004).

Reaktif oksijen türleri DNA’da 20’den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına yol açar (Dizdaroğlu, 1998). Bu hasara uğrayan bazlar arasında 8-hidroksi-2’-deoksiguanozin (8-OHdG) oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirteçidir (De Martinis ve De Lourdes Pires Bianchi, 2002).

2.10. 8-Hidroksi-2’-Deoksiguanozin

8-OHdG; serbest radikaller aracılığı ve doğrudan fotodinamik aksiyonla oluşan, oksidatif olarak hasara uğrayan bir DNA ürünüdür. 8-OHdG doku, serum, idrar ve diğer biyolojik materyalde bulunabilir (Kasai ve ark., 1986).

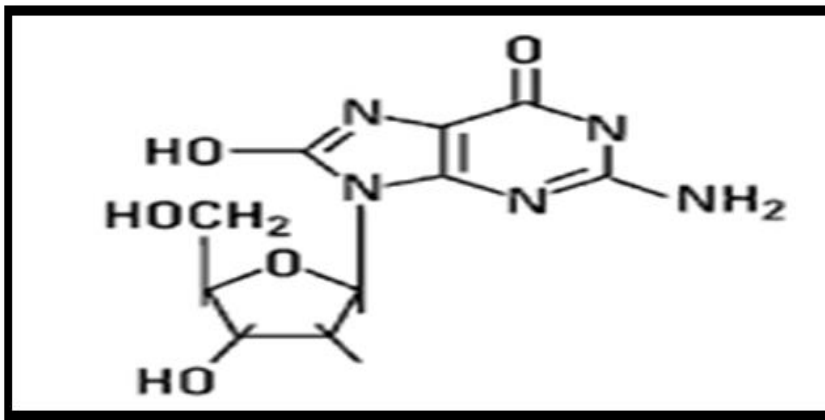
8-OHdG, en yaygın olarak bilinen oksidatif DNA hasarı biyomarkırıdır. 8-OHdG, reaktif oksijen ve hidrojen türlerinin DNA’ya verdikleri oksidatif hasarla

ortaya çıkar ve oksidatif stresin sabit bir göstergesidir. 8-OHdG mutasyona yol açan, deoksiguanozinin oksidasyonu ile üretilir. Guanozinin hidroksilasyonu; hem normal metabolik süreçlere hem de bir dizi çevresel faktörlere cevaben meydana gelir. 8-OHdG, miktarının artışı; yaşlanma sürecinin yanında, kanser, diyabet ve hipertansiyon dahil bir çok patolojik duruma bağlı olarak meydana gelebilir. Muhtemelen nükleer ve mitokondrial DNA serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif atak için en önemli hedefdir. 8-OHdG hücrel DNA'da oksidatif hasarın hassas, dengeli ve integral markırı olarak popülerdir (Floyd, 1990; Schneider ve ark.,1990; Kasai, 1997; Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000; Lee ve ark., 2005; Shen ve ark., 2007).

8-OHdG; DNA oksidatif hasarı ile DNA onarım oranı arasındaki dinamik dengeyi sağladığı gibi idrardaki ölçümü, bütün vücuttaki DNA hasarını belirlemek için önemlidir (Loft ve ark.,1998; Cooke ve ark., 2000).

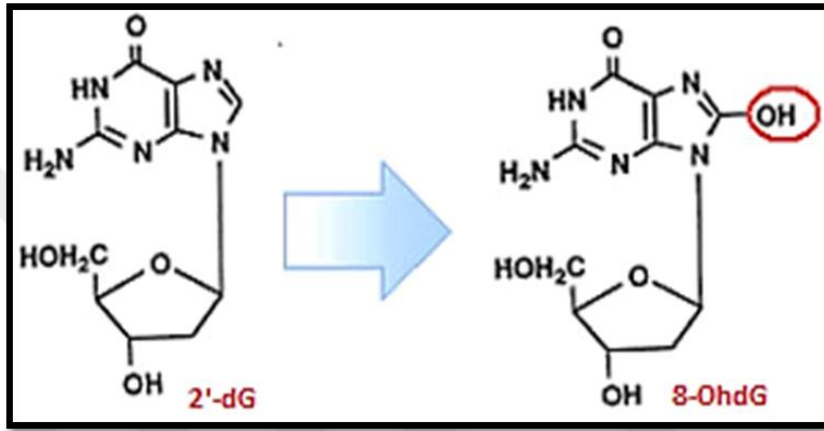
2.10.1. 8-Hidroksi 2'-Deoksiguanozin' in oluşum mekanizması

Reaktif oksijen türleri DNA'da 100'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşumuna neden olmakla beraber, en sık bozukluk guanozin biriminde gözlenir. 8-OHdG oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı göstergesidir (Şekil 7). 8-OHdG, adenin ile yanlış eşleşir ve yüksek sıklıkta G-T transversiyonuna neden olur (Dizdaroğlu, 1998; Williams ve Jeffrey, 2000; De Martinis ve De Lourdes Pires Bianchi, 2002; Cooke ve ark., 2003; Turner ve ark., 2004).



Şekil 7. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (Kasai, 2002)

8-OHdG modifiye bir bazdır. Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır. Oksidatif yıkım sonucu deoksiguanozin oluşur, dG (deoksiguanozin) dört doğal nükleotid içinde en kolay okside olandır. Belirlenen bölgelerde lezyonlar içeren oligonükleotidlerin biyokimyasal, biyofiziksel ve biyolojik incelenmesi, DNA lezyonlarının etkileri için bir moleküler temel oluşturmaktadır (Greenberg, 2004; Mc Dorman ve ark., 2005). Guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşur (Şekil 8).



Şekil 8. Oksijen radikalleri ile 8-OHdG oluşumu (Kasai, 2002)

2.10.2. 8-Hidroksi 2'-Deoksiguanozin'in oluşum nedenleri

8-OHdG oksidatif stres ve oksidatif DNA hasarının bir belirteci olarak önem kazanmaktadır. Nitekim çeşitli kimyasal maddelerin 8-OHdG düzeyinde artışa neden olduğu bildirilmektedir. Etil alkol, 3-metil alkol-4 dimetilaminoazobenzen, demirnitritotriasetat (Fe-NTA), asbestos gibi kimyasal maddelerin deneysel olarak uygulanmasından sonra, yemek borusu, karaciğer, böbrek ve akciğerde, 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu gözlenmiştir (Kasai, 2002). Doku DNA'sında 8-OHdG oluşumunun, oksidatif stresin karsinogenezisin oluşum mekanizmalarından biri olduğu düşünülmektedir (Kasai, 2002). Ayrıca sigara, kadmiyum, mazot gibi günlük hayatta sıkça maruz kalınan kimyasal maddelerin deneysel olarak uygulandığı çalışmalarda da 8-OHdG düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Kasai, 2002).

2.10.3. 8-Hidroksi -2'-Deoksiguanozin'in klinik önemi

Genetik bilgi taşıyıcısı olarak DNA'nın kimyasal bütünlüğünü korumak, yaşam için çok önemlidir. DNA sürekli olarak, biyopolimerler ile reaksiyona giren endojen ve eksojen etkenlere maruz kalmaktadır. DNA hasarı, yaşlanma ve kanser gibi pek çok farklı hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır (Greenberg, 2004). Bağırsak kanseri, diyabet, alzheimer hastalarında, 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır (Kasai; 2003; Nakano ve ark., 2003).

8-OHdG, DNA reaktif oksijen türleriyle (ROS) yıkımlandığı zaman meydana gelir. 8-OHdG insan ve hayvanlarda idrar, serum ve dokuda belirlenebilir ve oksidatif stresin en hassas biomarkırlarından biridir. Ayrıca dokudaki 8-OHdG düzeyleri de organlardaki oksidatif stresi gösterir (Kasai ve ark., 1986; Prabhakar ve ark., 2007; Tsukahara, 2007).

Oksidatif stres ve oksidatif DNA hasarının bir belirteci olan 8-OHdG'in, artan miktarına bağlı olarak idrarla da atıldığı bilinmektedir. Okside DNA devamlı onarılır ve okside bazlar idrarla devamlı olarak çıkarılır. Üriner 8-OHdG ölçümü oksidatif hasarın bir indikatörü olarak yararlı olabilir (Shigenaga ve ark., 1989; Chiou ve ark.; 2003).

Oksidatif DNA hasarı birçok yöntemle belirlenebilmektedir. Ancak bu tekniklerin çoğu ile yalnızca bir hasar ürünü ölçülebilmekte, bunun yanında kütle spektrometrik tekniklerle ise hem tanımlama hem de oluşan baz hasar ürünlerinin miktar tayini yapılabilmektedir (Dizdaroğlu ve ark., 2002).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1 Hayvan materyali ve idrar/ kan alınması

Araştırmada Ağrı İli Doğubeyazıt İlçesi'ne bağlı Çiftlikköy, Gölyüzü ve Demirtepe Köylerinde bulunan, dişlerinde ve vücudunda klinik olarak florozis hikâyesi gösteren, 2 ve 2 yaş üstü koyunlar tespit edildi. Bu koyunlardan kan ve idrar örnekleri alındı. İdrar flor seviyeleri ölçüldükten sonra, 20 adet koyun florozisli grup ve 10 adet koyun ise kontrol grubu olacak şekilde ayrılarak araştırma yapıldı. Kontrol grubu, sağlıklı ve idrar flor düzeyleri 0,6 ppm altında olan koyunlardan seçildi.

İdrarda flor düzeyini saptamak için idrar alma işlemi yapılırken, öncelikle hayvanların ağız ve burunları kapatılıp beklendi. İlk derin nefes sonrası, hayvanların ürinasyonları beklendi. İdrar örnekleri polietilen tüplere alınarak, flor analizi yapılmak üzere Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi ve florür iyon elektrodu ile ölçüm yapıldı. Bu analiz yöredeki flor problemini ispatladığı için klinik bulguları destekleyen bulgular olarak değerlendirildi.

Tüm koyunların kan örnekleri vena jugularisten usulüne göre alındı. Alınan kan örnekleri soğuk zincir muhafazasında laboratuvara getirildi. Analiz metoduna bağlı olarak soğutmalı santrifüjde +4 °C de 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı ve numaralandırılıp ependorf tüplere konuldu. Elde edilen serumların analizleri yapılmaya kadar numuneler -18 °C de muhafaza edildi.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

Etüv.....	Memmert 854 Schwaaback 220 °C
Otomatik pipetler	Eppendorf
ELISA.....	Anthos Zenyth 200 rt
Florür iyon elektrodu.....	Mettler Toledo
PH metre.....	Mettler Toledo
Soğutmalı Santrifüj.....	Hettich Zentrifugen UNIVERSAL 320 R
Karıştırıcı-Vorteks.....	(Genine)
Araç tipi buzdolabı.....	Cooler 8 warmer mini firdge
Derin dondurucu.....	Arçelik
8- OHdG (DNA hasar kiti).....	NeoBiolab™ Sheep 8-OHdG elisa kit Cat No:SH0014 (USA)
Plastik enjektör	
İdrar numune kabı	
Polietilen tüp	
Eppendorf tüp	

3.1.3. Kimyasal maddeler

Flor standart solüsyonu.....	Metter Toledo
TISAB 2 solüsyonu.....	Metter Toledo
Alkol.....	Alkomed
Elektrot dolum sıvısı	Metter Toledo
Deiyonize su, Bidistile su	
Wash Concentrate	
Standart A	
Standart B	
Standart C	
Standart D	
Standart E	
Standart F	
Balance solution	
Substrate A	
Substrate B	
Stop solution	
Enzyme Conjugate solution	

Kit İçeriği

3.2. Yöntem

3.2.1. İdrarda flor ölçümü

Flor iyon aktivitesi ölçülürken, çözeltinin toplam iyonik kuvvetinin sabit tutulması, pH'sının ayarlanması ve alüminyum, demir, magnezyum gibi metal katyonlarının flor iyonu ile verdikleri komplekslerin bozulması amacıyla, toplam iyonik kuvvet ayarlama tamponu, "Total Ionic Strength Adjustment Buffer" (TISAB) kullanıldı.

Flor tayini: Deneme ve Kontrol Grubu koyundan alınan idrar örneklerinden 5 ml alınıp, üzerine 5 ml TISAB II ilave edildi. Karışıma kombine pH ve kombine selektif flor elektrodu daldırılarak, önce pH'ın 5,0 - 5,5 arasında olup olmadığı kontrol edildi. Okunan değer sabit bir hal aldığı anda ölçüm tamamlandı. Flor elektrotu ile ppm cinsinden değerler okundu. İdrar düzeyinde flor değeri 2 ppm ve üzeri olan hayvanlar florozisli kabul edildi. Eşik değeri altında kalan hayvanlar ise kontrol grubu olarak belirlendi (Karagül ve ark., 2000).

3.2.2. 8-OHdG Elisa Kit ile DNA Hasar tayini:

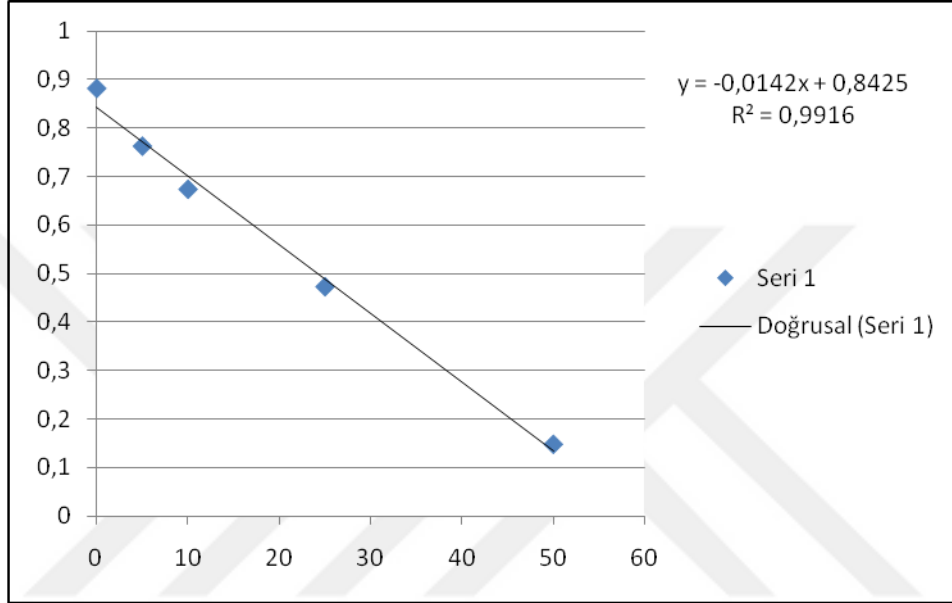
Alınan kan örneklerinden, santrifüj işleminden sonra serumları ayrılarak, ependorf tüplerine aktarıldı. Daha sonra kit prosedürüne uygun olarak ELISA cihazında okundu.

DNA hasar kiti prosedürü

1. Elisa mikropleytinin uygun boşluklarına, standart ve örneklerden 100 µl eklendi. Her çukura 50 µl balans solüsyonu eklendi
2. Numaralandırılmış çukurlara konjugat solüsyonundan 50 µl eklendi.
3. 37 °C' de 1 saat inkübasyon edildi.
4. Her çukur 300 – 400 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı ve son yıkamadan sonra playt ters çevrilip kurutma kağıtının üzerine vurularak kurutuldu.

NOT: Yıkama solüsyonu; 10 ml yıkama solüsyonundan ve 990 ml distile sudan alınarak 100 kat sulandırıldı.

5. 50 µl substrat A'dan eklendi. Daha sonra substrat B'den 50 µl eklendi ve 15 dakika oda ısısında inkübe edildi. Substrat ışığa duyarlı olduğu için bu işlem karanlıkta gerçekleştirildi.
6. 50 µl stop solüsyonu her çukura eklendi.
7. Pleyt 450 nm'de ELISA cihazında okundu.
8. Standart eğrisi kullanıldı ve istatistikleri hesaplandı. (hassasiyet: 0,1 ng/mL)



Şekil 9. 8-OhdG ELİSA testi linearite grafiği

3.3. İstatistik Analiz:

Elde edilen tüm veriler SPSS 17.0 Evaluation paket programında GLM (General Linear Model) prosedürü kullanılarak analiz edildi. Grup ortalamaları arasındaki farklılığın önem kontrolü, Duncan çoklu karşılaştırma testiyle yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmada Ağrı ili Doğubeyazıt ilçesine bağlı 3 ayrı köyden alınan idrar ve kan örneklerinde (idrар flor düzeyi – kan DNA hasarı) alınan sonuçlar tablo olarak aşağıda verildi.

Tablo1. Kontrol ve florozisli gruplara ait idrar flor düzeyleri

FLOR			
	n	X	Sx
ÇİFTLİKKÖY KÖYÜ	10	2,66490a	0,086083
DEMİRTEPE KÖYÜ	10	2,83960a	0,174297
KONTROL (GÖLYÜZÜ KÖYÜ)	10	0,45910b	0,040489

Aynı satırda bulunan harfler arasında fark istatistiki olarak önemlidir ($P<0.001$).

Üç ayrı köyden alınan idrar örneklerinde, flor oranı yüksek su ile beslenen koyunlarda WHO tarafından belirtilen flor düzeyinin üzerinde sonuçlar bulundu. Bir köyde ise su kaynağının ıslah edilmesine bağlı olarak daha az düzeyde flor tespit edildi (Tablo 1). İdrar flor düzeylerinde Çiftlikköy ve Demirtepe Köyleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmaz iken ($P>0.001$), Gölyüzü Köyünde (kontrol grubu) diğer köylere göre belirgin düşüş ve istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($P<0.001$).

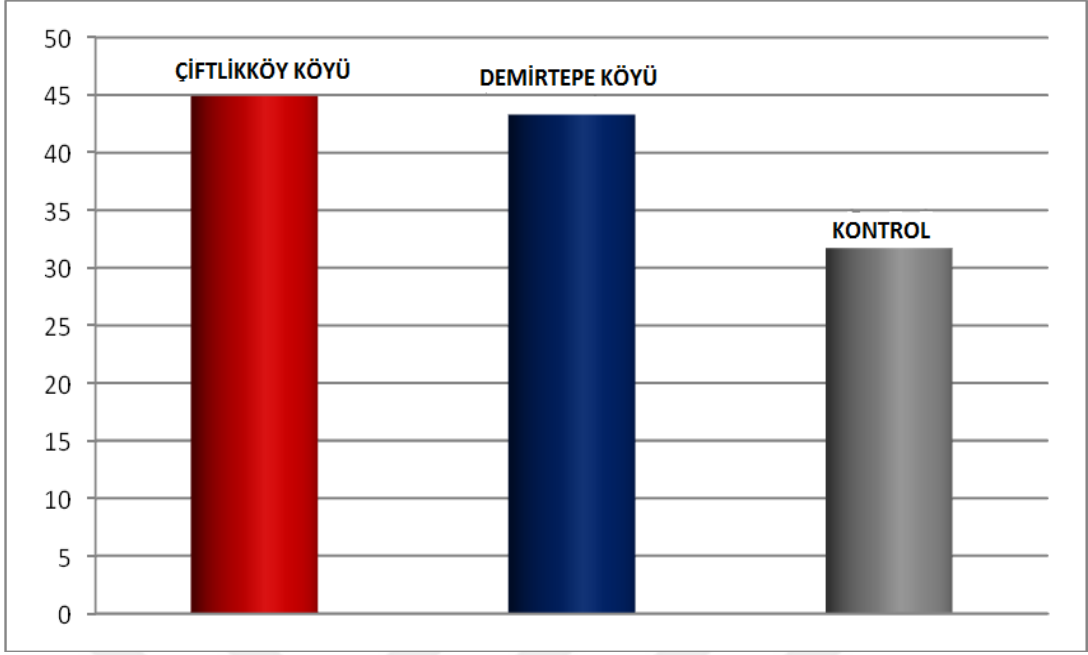
Tablo 2. Kontrol ve florozisli gruplara ait serum 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

DNA HASARI (8-OHdG)			
	n	X	Sx
ÇİFTLİKKÖY KÖYÜ	10	44,9014080a	2,33051296
DEMİRTEPE KÖYÜ	10	43,3028180a	2,04557456
KONTROL (GÖLYÜZÜ KÖYÜ)	10	31,7112680b	1,42020948

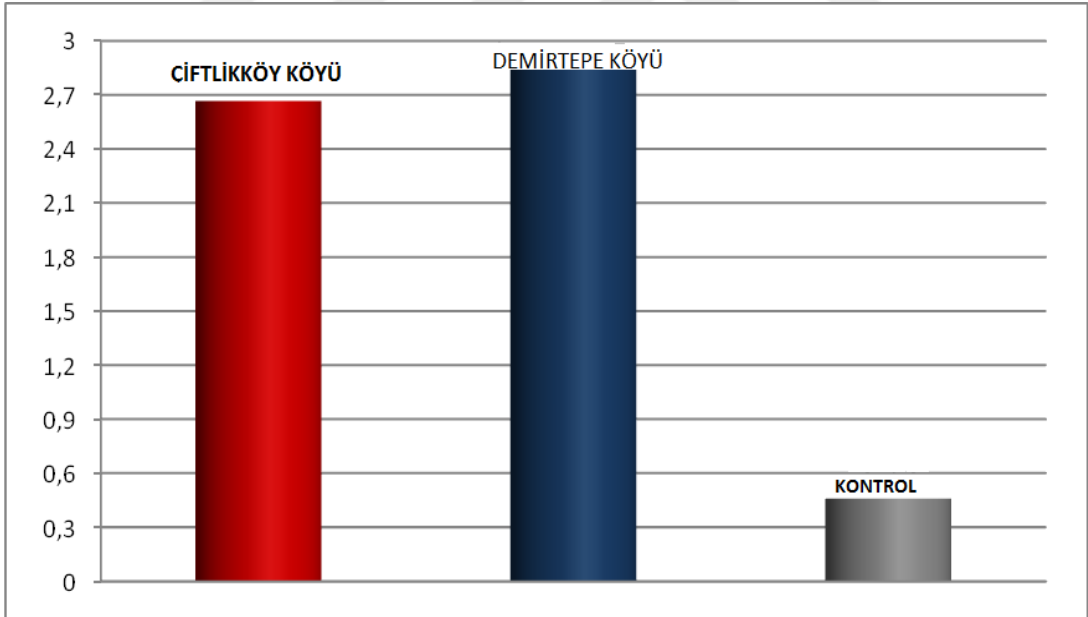
Aynı satırda bulunan harfler arasında fark istatistiki olarak önemlidir ($P<0.001$).

Alınan kan örnekleri DNA hasarı yönünden incelendiğinde ise idrar flor düzeylerindeki yükseklik ve düşüklük ile doğru orantılı olarak, Çiftlikköy ve Demirtepe köylerinde DNA hasarı yüksek bulunmasına rağmen, iki köy arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildi ($P>0.001$). Gölyüzü köyü (Kontrol grubu)'nde ise Çiftlikköy ve Demirtepe köylerine göre, DNA hasarı istatistiksel olarak daha düşük bulundu ($P<0.001$) (Tablo 2).

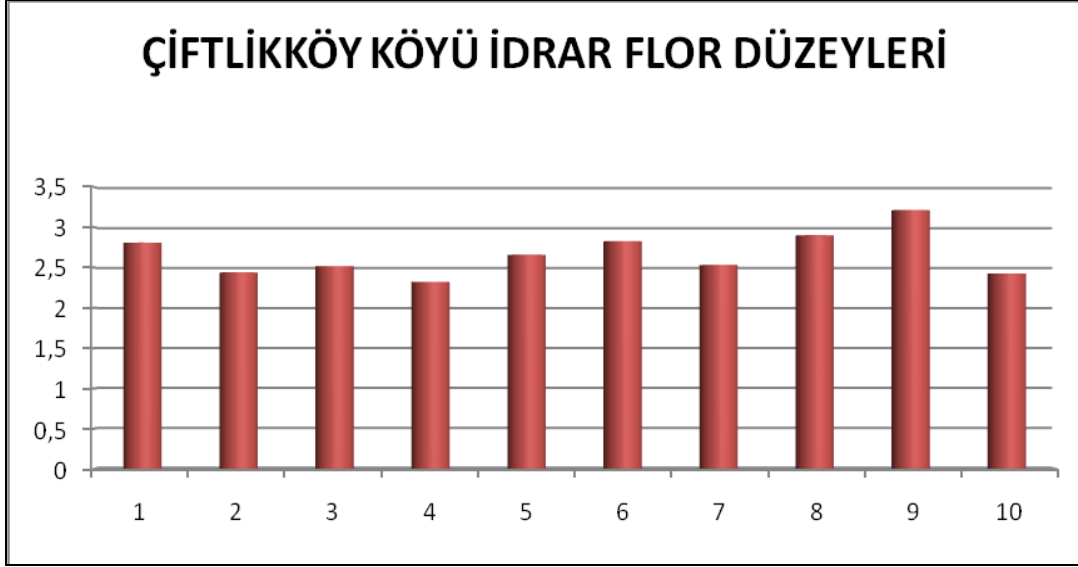
Şekil 10 - 19'da alınan örneklerin idrar flor düzeyleri ve DNA hasarı yönünden köylere göre dağılımı ve oranı grafik olarak verildi.



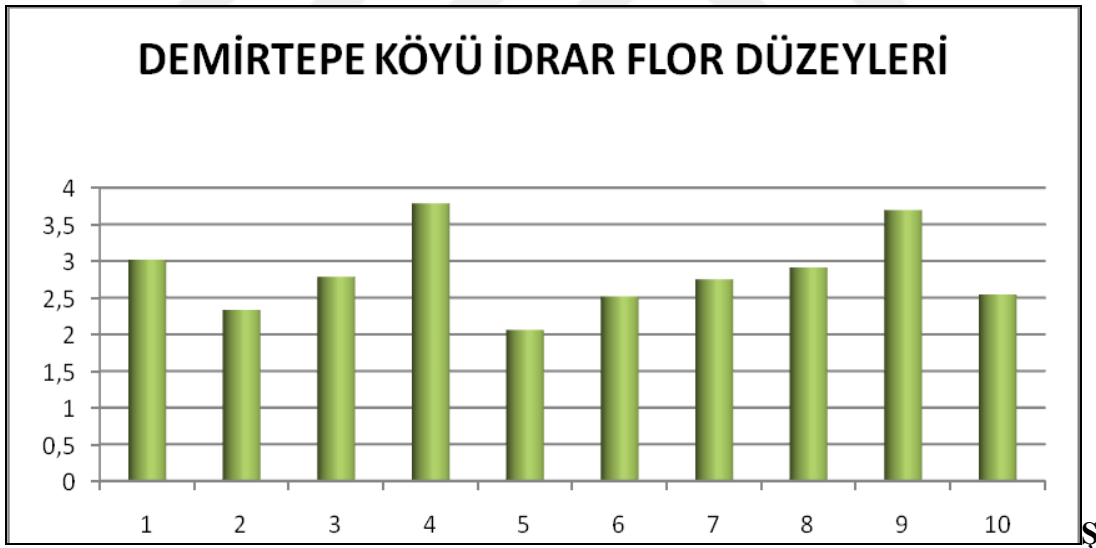
Şekil 10. Serum 8-OHdG düzeylerinin karşılaştırılması (ng/ml)



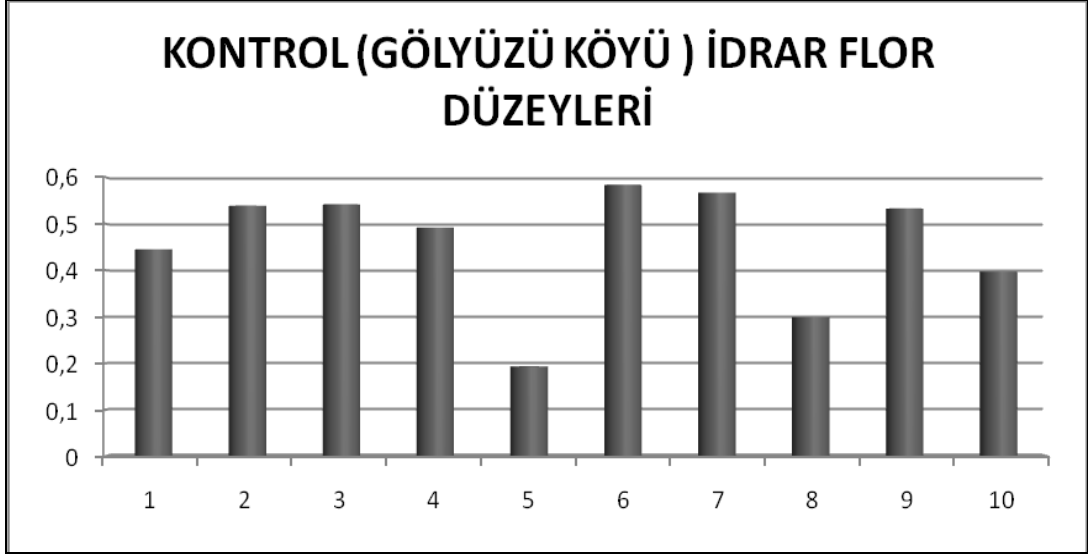
Şekil 11. İdrar flor düzeylerinin karşılaştırılması (ppm)



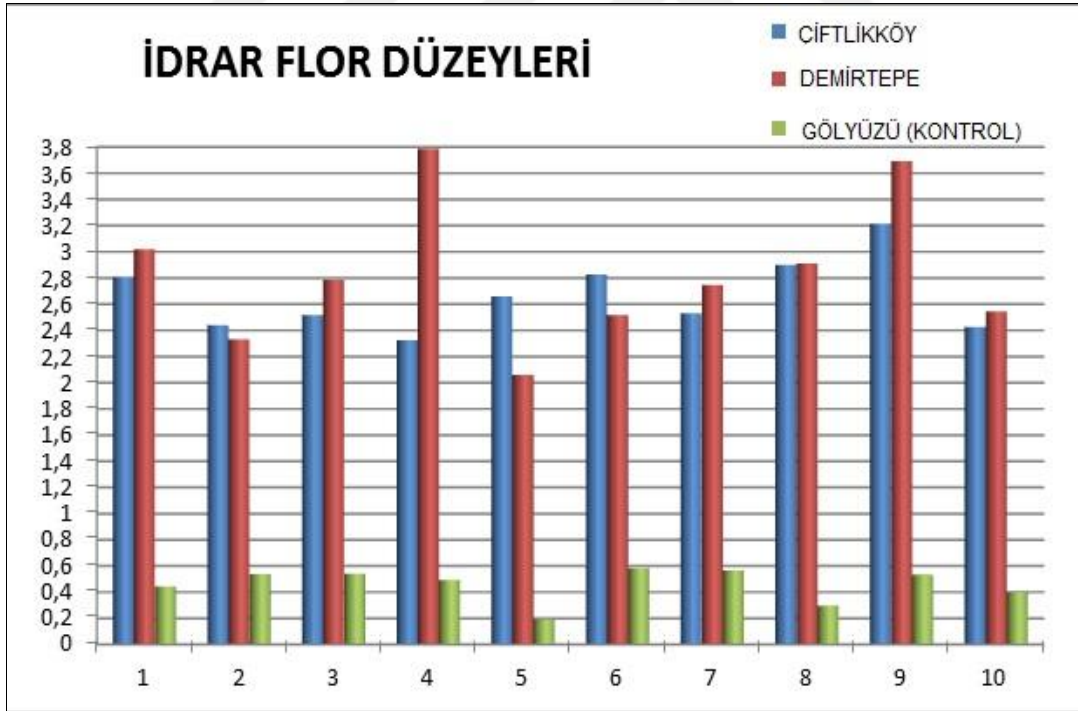
Şekil 12. Çiftlikköy Köyü idrar flor düzeyleri (ppm)



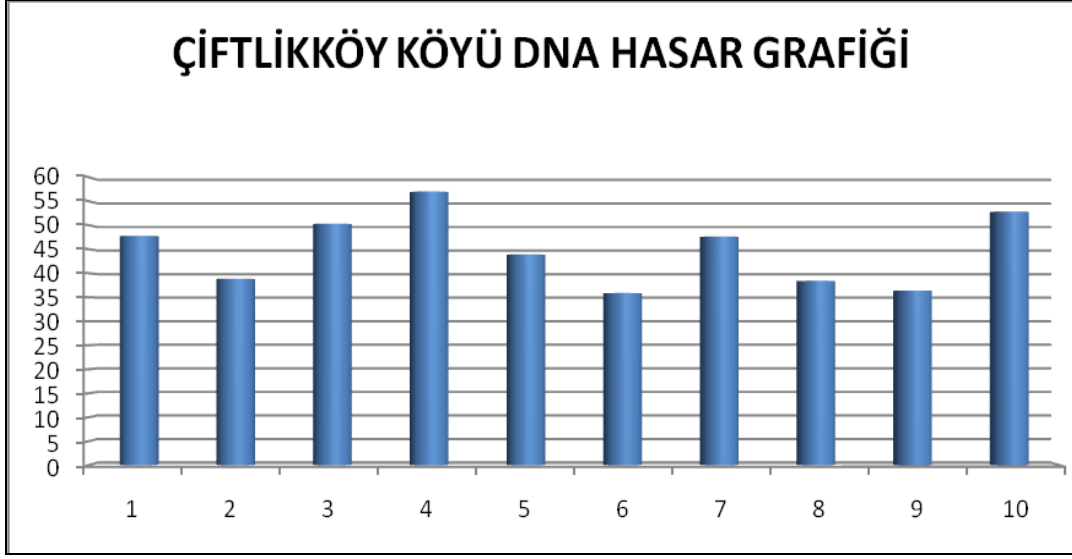
Şekil 13. Demirtepe Köyü idrar flor düzeyleri (ppm)



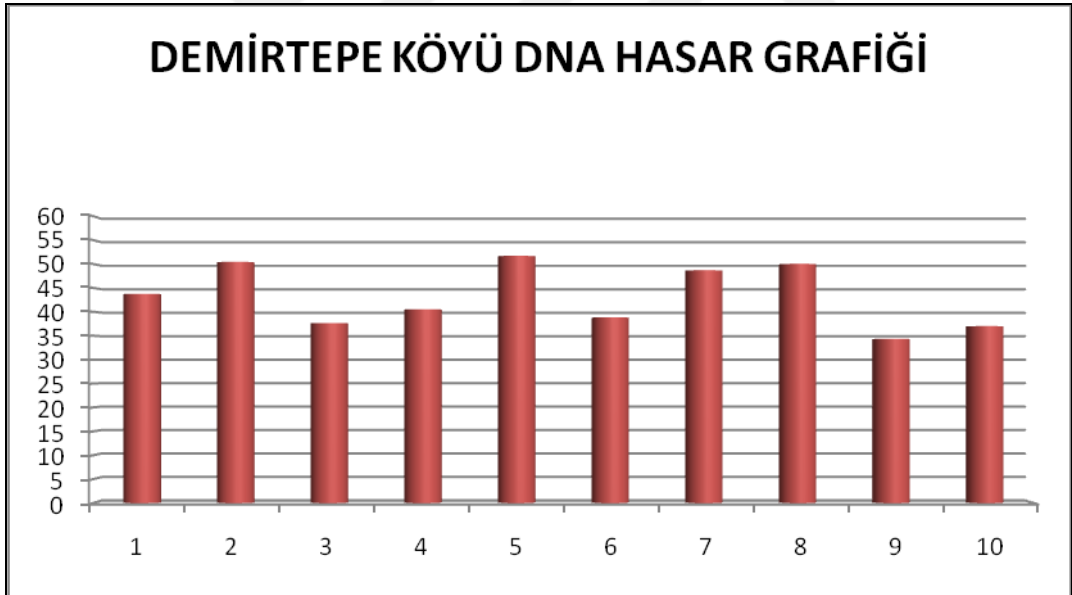
Şekil 14. Gölyüzü Köyü idrar flor düzeyleri (ppm)



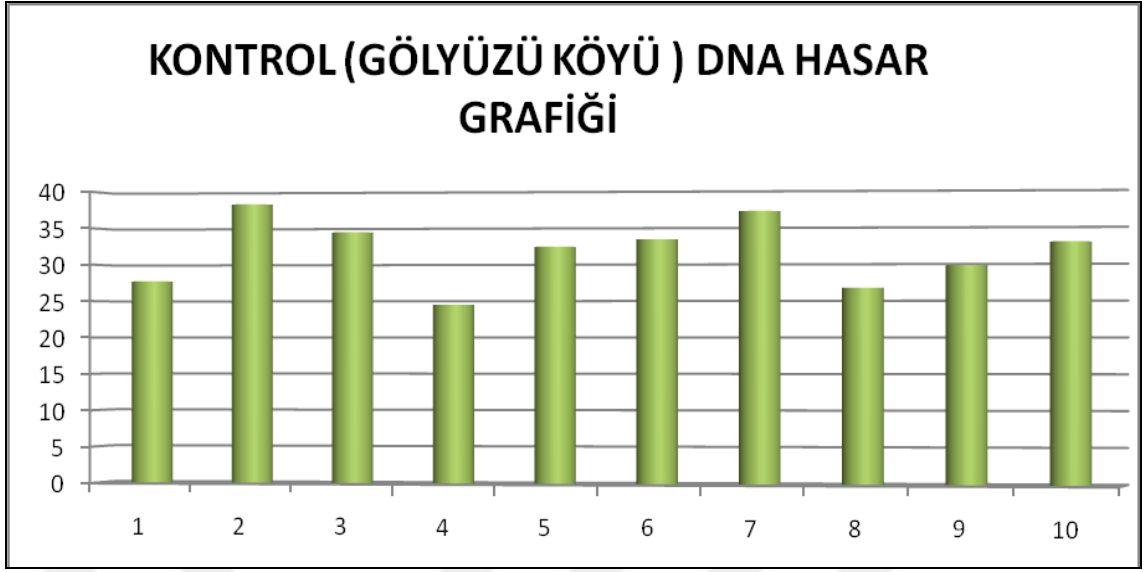
Şekil 15. Çiftlikköy – Demirtepe – Gölyüzü (Kontrol) Köyleri idrar flor düzeylerinin karşılaştırılması (ppm)



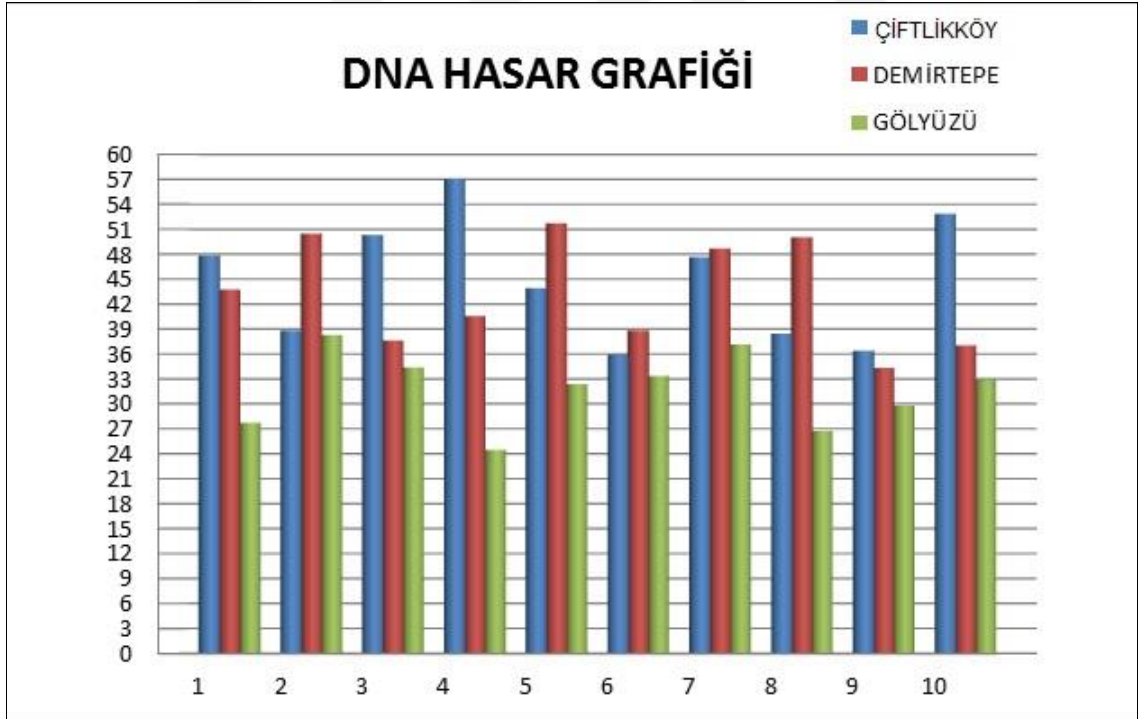
Şekil 16. Çiftlikköy Köyü 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)



Şekil 17. Demirtepe Köyü 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)



Şekil 18. Gölyüzü Köyü 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)



Şekil 19. Çiftlikköy – Demirtepe – Gölyüzü (Kontrol) Köyleri 8-OHdG düzeylerinin karşılaştırılması (ng/ml)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Flor zehirlenmesi ile ilgili en eski bulgular, volkanik patlamalarla beraber görülmüştür. Amerika Birleşik Devletleri'nde Colorado Springs'de yaşayan insanlarda, 1906'da dişlerde bozukluk ve lekeler görülmüş, "Mottled Enema" olarak isimlendirilmiştir (McDowell, 1985).

Ülkemizde florozis olayı ile ilgili ilk çalışma, 1955 yılında Isparta'da Prof. Dr. Pertev Ata tarafından yapılmıştır. Isparta bölgesinde sularda normalden fazla miktarda flor (4,03 ppm) olduğu tespit edilmiştir. Bu durumla ilgili daha sonra yapılan çalışmalarda Ağrı ilinin bazı sınır köylerinde, Van ili Muradiye ve Çaldıran ilçelerinin köylerinde suda 12,5 ppm miktarında flor olduğu anlaşılmıştır (Şendil ve Bayşu, 1973; Oruç, 1977; Uslu, 1984; Ergun ve ark., 1987).

Endemik florozisin yoğun olarak görüldüğü bölgemizde, florozise maruz kalan hayvanlarda, sağlık durumlarının bozuk, verim özelliklerinin normalin altında olduğu gözlenmektedir. Bu tez çalışmasında, Ağrı İli Doğubeyazıt ilçesi Çiftlikköy, Demirtepe ve Gölyüzü köylerinde yetiştirilen ve florozis teşhisi konulan koyunlardan alınan idrar örneklerinde flor düzeyleri tespit edilerek, alınan kan örneklerinde oksidatif DNA hasarı araştırıldı.

Kronik flor zehirlenmelerinde kemik ve dişlerde bozukluklar şekillendiği bilinmektedir (Blood ve ark., 1983; Kaya ve ark., 1995). Lezyonların önce dişlerde ortaya çıktığı, dişler üzerinde sarı yeşilimsiden siyaha kadar değişen renkte lekeler şeklinde yatay veya vertikal çizgiler halinde pigment birikimleri olduğu, zehirlenmenin derecesine göre beneklenmelerin dişin her iki yanında olduğu bildirilmiştir. Benekli kesimlerde dişlerin çok kolay aşındığı, dişlerin zamanından önce döküldüğü, çiğneme gücünün nedeniyle hayvanların yemden yeteri kadar yararlanamadığı ve zayıf kaldığı saptanmıştır. Kemiklerdeki bozukluklar nedeniyle hayvanlarda ağrı, tutuk yürüyüş ve topallığın görüldüğü, ilerlemiş olgularda kemiklerin deforme olduğu, kalınlaştığı, üzerinde ekzostozların meydana geldiği, kemiklerin çabuk kırılabildiği rapor edilmiştir (Aytuğ ve ark., 1990; Dwivedi ve ark., 1997; Schultz ve ark., 1998).

Dwivedi ve ark. (1997), Hindistan'ın Unnao bölgesinde flordan etkilenmiş mandalarda yaptıkları bir çalışmada, florotik mandaların tümünde diş lezyonlarının şekillendiğini, hayvanların %28.17'sinde topallık, %8.45'inde kemik ekzostozları ve %76'sında zayıflamanın görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Kronik floroziste diş lezyonları ve periostal hiperostosis doğrudan flor etkisi ile meydana gelirken, iştahsızlık ise dişlerdeki bozukluktan dolayı, dolaylı olarak meydana gelmektedir (Blood ve Henderson, 1980). Uslu (1984), kronik florozisin iskelet sisteminde osteosklerozis, ekzositoz, membran ve ligamentlerde kalsifikasyon meydana getirdiğini, diş ve kemik gelişmesinde doğrudan bir gerilemeye sebep olmadığını, ancak gerilemenin, florozise bağlı bir beslenme yetersizliğine sebep olabileceğinin anlaşıldığını belirtmiştir.

Florozisin tanısında, idrar, plazma, içme suları ve kemik külünde flor seviyelerinin ölçümü, güvenli bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Şendil ve Bayşu,1973).

Doğu Anadolu bölgesinde Kars ve çevresinde Tuj ırkı koyunların normal idrar flor seviyeleri 0,9 ppm olarak bildirilmiştir (Başaran, 2003). Van-Muradiye ilçesinde ve Ağrı ilinde yapılan bir çalışmada (Ergun ve ark., 1987), normal koyun idrar flor düzeyini 1.4 ppm, florozisli koyunların idrar seviyelerini 8,13 ppm, insan idrarlarında 4,3 ppm flor ve koyun kemik külünde 3374-5149 ppm flor tespit etmişlerdir. Yaşar'ın (2003) yaptığı çalışmada, kontrol grubundaki koyunların idrar flor düzeyleri 1,65 ppm, florozisli koyunların idrar flor düzeyleri 23,84 ppm olarak saptanmıştır.

Oruç'un 1974 yılının temmuz ayında Van İli Çaldıran İlçesine bağlı Aşağımutlu, Alakaya ve Soğuksu Köylerinden aldığı su örneklerindeki flor düzeylerini kolorimetrik yöntemle sırasıyla 7,5 ppm, 5 ppm ve 2,5 ppm olarak saptadığını bildirmesine karşın (Oruç 1976), spesifik flor elektrodu ile yapılan başka bir çalışmadaki ölçümlerde, 2001 yılı temmuz ayında saptanan değerler sırasıyla 2,404 ppm, 1,213 ppm ve 1,599 ppm olarak bulunmuştur (Oto, 2002)

Oto (2002) yaptığı çalışmada, Van İli Muradiye ve Çaldıran İlçelerindeki köylerden alınan koyunların kan plazmasındaki flor düzeylerinin mevsime bağlı değişimlerini incelemiş, kan flor düzeylerinin Ocak, Nisan ve Temmuz aylarında 0,55-0,02 ppm düzeylerinde olduğunu Ekim ayında ise 0,93-0,05 düzeyine yükseldiğini bildirmiştir.

Sunulan çalışmada su örneklerindeki flor düzeyleri, Ağrı İli Doğubeyazıt İlçesi Demirtepe Köyünde 1,826 ppm, Çiftlikköy Köyünde 1,071 ppm düzeylerinde tespit edilmiştir.

Mansfield (1999), idrar flor konsantrasyonu 4 ppm seviyesine çıktığında sistemik florozis şekillendiğini belirtmiştir.

Çalışmada Ağrı İli Doğubeyazıt İlçesi Çiftlikköy ve Demirtepe Köylerinde florozisli koyunlarda ortalama 2,752 ppm olan idrar flor miktarı, kontrol grubunda (Gölyüzü Köyü) 0,459 ppm olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$).

Florun fazla alınması, solunum patlamasını artırmakta ve dolayısı ile süperoksit radikallerinin daha fazla üretilmesine neden olmaktadır (Rzeuski ve ark., 1998). Süperoksit radikali direkt olarak zarar vermez, fakat hidrojen peroksit kaynağı olması sebebi ile zararlı etkileri vardır. Hidrojen peroksit membran lipitlerinde lipid peroksidasyonuna, enzim inaktivasyonuna, DNA hasarına neden olmaktadır (Akkuş, 1995; Joenje, 1989; Lunec, 1990).

Hoeldtke ve ark. (2009), DNA hasarı ve lipit peroksidasyonu arasında bir ilişki olmadığını bildirmelerine rağmen, pek çok araştırmacı deneysel diyabet ve in vitro çalışmalar sonucunda, oksidatif stresin DNA hasarına yol açtığını gösterdiler. Diyabetik hastalarda, oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG dokular ve vücut sıvılarında artar (Park ve ark., 2001; Andican ve Burçak, 2005). Reaktif oksijen radikalleri; DNA, proteinler, yağ asitleri ve sakkaridler ile oksidatif reaksiyona girerek, ileri inflamatuvar ve dejeneratif patolojik olaylara neden olurlar (Akçay ve ark., 2007).

8-OHdG; reaktif oksijen ve hidrojen türleri aracılığı ile oluşan bir DNA hasar ürünüdür ve oksidatif stresin sabit bir göstergesidir. 8-OHdG doku, serum, idrar ve diğer biyolojik materyalde bulunabilir (Kasai ve ark., 1986; Schneider ve ark.,1990; Kasai, 1997; Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000; Lee ve ark., 2005; Shen ve ark., 2007).

8-OHdG miktarının artışı; muhtemelen nükleer ve mitokondrial DNA'nın serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif atakların bir sonucu olarak hasarlı hale gelmesine bağlıdır (Kasai, 1997; Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000; Lee ve ark., 2005; Shen ve ark., 2007).

Deneysel olarak florozis şekillendirmek için florid verilmesi sonrasında, genotoksik aktivitenin yükseldiği, yani 8-OHdG düzeyinin yükseldiği ve oksidatif hasarın şekillendiği tespit edilmiştir (Loft ve Poulsen, 1996; Manivannan ve ark., 2012; Atmaca ve ark., 2014).

Kronik flor maruziyeti sonrasında (memeli ve rodent hücrelerinde) kromozomal aberrasyonların ve gen mutasyonların şekillendiği bildirilmektedir (Zeiger ve ark. 1993). Kemik iliği hücrelerinde yapılan bazı çalışmalarda da içme sularında 4 – 12 ve 20 mg/L dozunda NaF'ün toksik etkileri araştırılmış, kemik iliği hücrelerinde yapısal kromozom aberrasyonları, polikromatik eritrositlerin içinde micronükleus frekanslarında artış gözlenmiştir (Manivannan ve ark., 2013).

Hong ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, (0,25 – 4.00 mmol/L) doz aralığında beş farklı dozda NaF'a maruz bırakılan osteoblast hücrelerinde antioksidan enzim sistemi aktivitesinde azalma ve 8-OHdG seviyesinde artış tespit edildiğini bildirmiştir (Hong ve ark., 2011).

Resveratrol'ün NaF verilen ratlar üzerindeki nörotoksisite, hepatotoksisite ve oksidatif stress üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada ise, resveratrol'ün antioksidant etkisini gösterirken, fenton reaksiyon ürünleri ile lipid peroksidasyonunu önlenmesine bağlı olarak 8-OHdG düzeyini azalttığı belirtilmiştir (Atmaca ve ark., 2014).

Yapılan başka bir çalışmada yüksek florid verilmesi sonrasında beyin ve DNA hasarı incelenmiş, floridin beyin bariyerine penetre olmasının yanında, DNA hasarını da indüklediği tespit edilmiştir (Ge ve ark., 2005).

Çalışmada Ağrı İli Doğubeyazıt İlçesi Çiftlikköy, Demirtepe ve Gölyüzü Köylerinden florozis belirtileri gösteren hayvanlardan alınan kan örnekleri DNA hasarı belirteci olarak 8-OHdG yönünden incelendi. Elde edilen sonuçlara göre ise; Çiftlikköy ve Demirtepe Köylerinde 8-OHdG değerlerinde istatistiksel olarak fark bulunmaz iken ($P>0.001$), kontrol grubu olarak seçilen Gölyüzü Köyünde 8-OHdG değeri diğer köylere göre istatistiksel olarak farklı görüldü ve 8-OHdG düzeyi (DNA hasarı) düşük tespit edildi. ($p<0.001$).

Lipid peroksidasyonunun DNA hasarı üzerine indükleyici ve artırıcı etkisi olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Güney ve ark. 2007; Shivarajashankara ve ark. 2001). Bir çok araştırmacı çalışmalarında, florozisin lipid peroksidasyonu artırdığını ifade etmektedir (Shanthakumari ve ark., 2004; Zhan ve ark., 2005). Bu çalışmada florozisli koyunlarda DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG'nin yüksek olduğu gözlemlendi. DNA hasarı artışının; florozisin neden olduğu ve tetiklediği oksidatif stres ve lipid peroksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Zhao ve ark. (2014) florozisin, farelerin genel yaşamını ve büyümesini, ayrıca timusta bazı hücreleri yok ederek immun fonksiyonları etkilediğini; timusta, kemik iliğinde, kan lenfositlerinde DNA hasarı meydana getirdiğini ve serum 8-OHdG düzeyini artırdığını, ayrıca WBC miktarında azalmaya neden olduğunu bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2014). Yapılan çalışmada da DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG'nin yüksek oluşu bu araştırmacıların çalışmalarını destekler niteliktedir.

Sonuç olarak çalışılan bölgenin önemli hastalıklarından birisi olan florozis ile ilgili, sorunun halen devam ettiği ve bölgede yaşayan insan ve hayvanların florozisten etkilendiği gözlemlendi. Alınan kan örneklerinde florozisin oksidatif DNA hasarını yükselttiği tespit edildi. Daha ileri düzeyde moleküler çalışmalar ve florozis sonrasında oluşacak sorunları ortadan kaldıracak ya da minimize edecek ilaç seçenekleri ile ilgili çalışmalar yapılması gerektiği düşünülmektedir.

ÖZET

Öner A. Florozisli koyunlarda oksidatif DNA hasarı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2014. Bu çalışmada, endemik florozis görülen bölgede yetiştirilen ve florozis teşhisi konulan koyunlardan alınan kan örneklerinde, oksidatif DNA hasarının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla Ağrı İli Doğubeyazıt İlçesi'ne bağlı köylerde dişlerinde ve vücudunda klinik olarak florozis hikâyesi gösteren 2 ve 2 yaş üstü koyunlar tespit edildi. Toplamda 30 adet koyun olmak üzere 20 koyun florozisli grup ve 10 koyun ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Kontrol grubu sağlıklı hayvanlardan seçildi. Koyunların idrarlarında flor miktarı ölçüldü. İdrar flor miktarları 2,5 ppm değerinin üzerinde olan koyunlar florozisli grup olarak kullanıldı. Serumda oksidatif DNA hasar belirteci 8-OHdG, ELİSA da ölçüldü. Florozisli koyunlarda DNA hasarı yüksek bulundu. Kontrol grubu ile florozisli grup arasında istatistiksel olarak fark gözlemlendi ($P<0.001$). Sonuç olarak kronik florozisli koyunlarda oksidatif DNA hasarı yönünden ve moleküler düzeyde daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Florozis, Koyun, 8-OHdG



SUMMARY

Oner A, Oxidative DNA Damage in sheep with flurosis, Yüzüncü Yıl University, Health Science Institute, Department of Biochemistry, MSci. Thesis, Van 2014. In this study it was aimed to determined of DNA damage in blood simple of sheep, diagnosed with fluorosis and which were grown in the area where endemic fluorosis is commonly seen. For this purpose, in the village of Dogubeyazit district in Agri Province, clinical fluorosis story showing the body and dental, 2 and over 2 years of age sheep were identified. To be put in total 30 sheep 20 sheep with fluorosis group and 10 sheep were used as a control group. The control group was selected from healthy animals. The amount of fluoride in the urine of sheep were measured. Fluorine amount of urine, which is above the 2,5 ppm sheep were used as set fluorosis. Serum oxidative DNA damage marker 8-OHdG, ELISA was also measured. DNA damage was significantly higher in sheep fluorosis. Between fluorosis groups and control group was observed statistically significant difference ($P < 0.001$). In conclusion, in patients with chronic fluorosis sheep, in terms of oxidative DNA damage and at the molecular level, it was concluded that further studies should be done.

Keywords: Fluorosis, Sheep, 8-OHdG



KAYNAKLAR

- Akçay DY, Sağın GF, Sönmez EY, Keser G, Aksu K (2007). Behçet hastalıklarında hastalık aktivitesi ile nitrik oksit metabolitleri, oksidatif hasar ve inflamasyon göstergelerinin birlikte değerlendirilmesi. Proje No,106, 239.
- Akkuş İ (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yay., Konya.
- Aksoğan S (1972). İçme suyunda flor, YSE Derg, 77. 4-9.
- Akyüz S (1997). Dünden Bugüne Flor. İstanbul, 69-70
- Allcroft R, Burns KN (1969). Alleviation of industrial fluorosis in a her. *Fluoride*, 2 1, 55-59.
- Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T, Duru Ö, Başıatan A (2000). Doğal ve Endüstriyel Florozisli Koyunlarda Böbrek Fonksiyonu ve Serum Protein Elektrofrezisi. *Ankara Ü Vet Fak Derg*, 47, 105-114.
- Ammerhnen CB (1980). Introductory remarks for the symposium on fluoride toxicosis in cattle. *J Anim Sci*, 51, 3, 744-745.
- Ammerman CB, Arrington LR, Shirley RL, Davis GK, (1964). Comparative effects of fluorine from soft phosphate, calcium fluoride and sodium fluoride on steers. *J Anim Sci.*, 23, 409-413.
- Andican G, Burçak G (2005). Oxidative damage to nuclear DNA in streptozotocin-diabetic rat liver. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 32 8, 663-666.
- Anonim,<http://www.dtleventbingol.com/wp-content/uploads/normal-dis-300x260.jpg> (Erişim tarihi, 02.12.2014)
- Anonymus (1977). Seminar on problems of high fluoride waters, Cento Scientific Programme, Report No, 28. S, 18-22, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Turkey.
- Aoba T, Fejerskov O (2002). Dental fluorosis. chemistry and biology. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2, 155-170.
- Arceivala S (1977). Defluoridation methods for small communities, In Seminar on "Problems of high fluoride waters", 10 September, Erzurum.
- Ata P (1982). Konservatif Diş Tedavisi. *İstanbul Üniv. Diş Hekimliği Fak. Yayınları* No,54,144-153.
- Atabey E (2005). Tıbbi Jeoloji, Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları, 216, Ankara.
- Atmaca E, Aksoy A (2009). Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20, 2, 79 – 83.

Atmaca N, Atmaca HT, Kanici A, Anteplioğlu T (2014). Protective effect of resveratrol on sodium fluoride-induced oxidative stress, hepatotoxicity and neurotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 70, 191-197.

Aydın N, Dede S, Tanrıtanır P (2014). The distribution of minerals in some tissues of sheep with fluorosis, *Fluoride* 47(1) 43-48.

Aytuğ CN, Alaçam E, Özkoç Ü, Yalçın BC, Gökçen H, Türker H (1990). Koyun Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği, Tüm Vet Hayv Hiz San Tic Ltd Şti, Yayın No 2, 311-313.

Bardsen A, Klock KS, Bjorvatn K (1999). Dental fluorosis among persons exposed to high and low fluoride drinking water in Western Norway. *Community Dent Oral*, 27, 259-267.

Başaran B (2003). Deneysel kronik florozis oluşturulmuş tuğ ırkı koyunlarda serum paratiroid hormon ve kalsitonin tayini, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kars.

Bayırlı GŞ, Şirin Ş (1985). Restoratif Tedavi. İstanbul Ün. Diş Hekimliği Yayınları No,3347.

Bayşu-Sözbilir N, Bayşu N (2007). Biyokimya. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara

Bildik A (1992). Florozisli koyunlarda kan serumundaki iyot değerleri ile bazı spesifik karaciğer enzimleri aktivitelerinin araştırılması, Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bilimleri Enst., Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora tezi.

Blood DC, Henderson JA (1980). *Veterinary Medicine*. 5th Ed, Ballie're Tindall, Cassell, London.

Blood DC, Radostitis O M, Henderson JA (1983). Fluorine Poisoning. *Veterinary Medicine*, Sixth Edition, London.

Bozkurt FY, Gürsel M, Erdemir E, Fentoğlu Ö, Kıran M, Güngör Ğ (2000). Florozisin periodontal duruma etkilerinin klinik olarak incelenmesi. *Ankara Ü Diş Hek Fak Derg*, 27, 2, 215-225.

Brouwer ID, Backerdırks O, Debruin A, Hautuast JG (1988). Unsuitability of World health organization guidelines for fluoride concentrations in drinking water in Senegal. *Lancet*, 30, 223-225.

Brudevold F, Bakhos Y, Gron P (1973). Fluoride in human saliva after ingestion of aluminium chloride and sodium fluoride or sodium monofluorophosphate. *Archs Oral Biol*, 18, 699-706.

Burçak G, Andican G (2004). Oxidative DNA damage and aging. *Cerrahpaşa J Med*. 35, 159-169.

Burns KN, Allcroft R (1964). Fluorosis, *Vet Rec*, 76, 18, 507-509.

- Cerklewski FL (1997). Fluoride bioavailability-nutritional and clinical aspects. *Nutrition Research*, 17, 5, 907-929.
- Chachra D, Turner CH, Dunipace AJ, Grynepas MD (1999). The effect of fluoride treatment on bone mineral in rabbits. *Calcif Tissue Int*, 64, 345–351.
- Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT (2003). Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress, development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta*, 334, 87-94.
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003). Oxidative DNA damage, Mechanism, mutation and disease. *FASEB J*, 17, 10, 1195-1214.
- Cooke MS, Evans MD, Herbert KE, Lunec J (2000). Urinary 8-oxo-2'-deoxyguanosine source, significance and supplements. *Free Radic Res*, 32, 381–397.
- Cotton FA, Wilkinson G (1988). *Advanced Inorganic Chemistry 5nd* Walter J.Jhonson Inc.
- De Martinis BS, De Lourdes-Pires Bianchi M (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacol Res*, 46, 2, 129-31.
- Dequeker J, Declerck K (1993). Fluor in the treatment of osteoporosis. An overview of thirty years clinical resear ch. *Schweiz Med Wochenschr*, 123,47, 2228-2234
- Dizdaroglu M (1998). Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free Radic Res*, 29, 6, 551-563.
- Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H (2002). Free radical-induced damage to DNA, Mechanism and measurement. *Free Radic Biol Med* 32, 11, 1102-15.
- Dwivedi SK, Dey S, Swarup D (1997). Hydrofluorosis in Water Buffalo (*Bubalus bubalis*) in India. *The Science of The Total Environment*, 207, 105–109.
- Edmunds WM, Smedley PL (2005). Fluoride in natural waters, in, Selinus O (ed) *Essentials of Medical Geology*, Burlington MA. *Elsevier Academic Press*, 301–329.
- Ekambaram P, Paul V (2001). Calcium preventing locomotor behavioral and dental toxicities of fluoride by decreasing serum fluoride level in rats. *Environmental Toxic and Pharma*, 9, 4, 141–146.
- Ergun H, Rüssel HA, Bayşu N, Dündar Y (1987). Studies on the fluoride contents in water and soil urine, bone, and teeth of sheep on Dtsch. *Tierörztl Wschr*, 94, 416-420
- Ersoy E, Bayşu N (1986). *Biyokimya*. Ankara Ü. Vet Fak Yayınları, Ankara.

Esala BS, Vuori E (1982). Effects of maternal fluoride intake on breast milk fluoride content. *Br. J. Nutr.*, 48, 201-204.

Fidancı UR, Salmanoğlu B, Maraşlı Ş, Maraşlı N (1998). İç Anadolu Bölgesinde doğal ve endüstriyel florozis ve bunun hayvan sağlığı üzerindeki etkileri. *Tr J Vet and Anim Sic*, 22, 537-544.

Fisher RL, Medcalf WT, Henderson MC (1989). Endemic Fluorosis with spinal cord compression. *Arch. Intern Med*, 149, 697-700.

Floyd RA (1990). Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J*, 4, 2587-2597.

Ge Y, Ning H, Wang S, Wang J (2005). Comet assay of DNA damage in brain cells of adult rats exposed to high fluoride and low iodine. *Fluoride*, 38 3, 209-214.

Goodman LS, Gilman A (1980). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 6th Edition. Macmillan Publishing Co INC P, 15.

Greenberg MM (2004). In vitro and in vivo effects of oxidative damage to deoxyguanosine. *Biochem Soc Trans*, 32, 46-50.

Gülbahar Ö (2007). Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 10, 1, 43-48.

Gültekin F, Delibaş N, Akdoğan M, Altuntaş İ, Karakoyun İ, Şavik E (2004). Kronik florozisin birinci ve ikinci kuşak Ratların akciğer dokularında lipid peroksidasyonuna etkisi. 18. Ulusal Biyokimya Kongresi Özetleri. 039.

Güney M, Oral B, Take G, Giray SG, Mungan T (2007). Effect of Fluoride Intoxication on Endometrial Apoptosis and Lipid Peroxidation in Rats, Role of Vitamins E and C. *Toxicology*, 231(2-3), 215-23.

Halliwell B (1996). Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res*, 25, 57-74.

Heifetz SB, Horowitz HS (1984) The amounts of fluoride in current fluoride therapies, Safety considerations for children. *J Dent Child*, 257-269.

Heifetz SB, Horowitz HS (1984). The amounts of fluoride in current fluoride therapies safety considerations for children. *J Dentistry for Children*, 257-269.

Hillman D, Bolenbough DL, Convey EM (1979). Hypothyroidism and anemia related to fluoride in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 62, 416-423.

Hoeldtke RD, Bryner KD, Corum LL, Hobbs GR, Van Dyke K (2009). Lipid peroxidation in early type 1 diabetes mellitus is unassociated with oxidative damage to DNA. *Metabolism*, 58,5,731-734.

- Hong Y, Zhong W, Chen B, He L, Dai W, Wang J, Yu R (2011). Effects of fluoride on oxidative stress and 8-OHdG production in cultured rat osteoblasts. *China Occupational Medicine*, 154.
- Hoogstratten B, Leone NC, Shupe JL, Greenwood DA, Lieberman J (1965). Effect of fluorides on hematopoietic system, liver and thyroid gland in cattle. *JAVMA*, 192, 1,112-118.
- Joenje H (1989). Genetic toxicology of oxygen. *Mutation Res*, 219, 193-208.
- Jones WG (1972). Fluorosis in dairy herd. *Vet Res*, 90, 503–507.
- Jones WG (1977). Fluorosis in dairy cattle. *Vet, Res*, 100, 84-89.
- Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik A M (2000). Biyokimya, Nobel Yayın Dağıtım, 2. Baskı, Yayın no 153, Ankara.
- Karagül H, Fidancı UR, Altıntaş A, Sel T (2000). Klinik Biyokimya. Medisan Yay, Ankara
- Kasai H (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage 8-hydroxy- 20-deoxyguanosine as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat Res*, 387, 146–163.
- Kasai H (2002). Serial review, oxidative DNA damage and repair, Chemistry-based studies on oxidative DNA damage, formation, repair, and mutagenesis. *Free Radical Biol Med*, 33(4), 450-456.
- Kasai H (2003). A new automated method to analyze urinary 8 - hydroxydeoxyguanosine by a high-performance liquid chromatography - electrochemical detector system. *J Radiat Res*, 44, 185-189.
- Kasai H, Crain PF, Kuchino Y, Nishimura S, Ootsuyama A, Tanooka H (1986), Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. *Carcinogenesis*, 7, 11, 1849-1851.
- Kashani H, Birkhed D, Petersson LG (1998). Fluoride concentration in the approximal area after fluoride-containing products. *Eur J Oral Sci*, 106, 564-570.
- Kaya S, Akar F (1998). Metaller, diğer inorganik ve radyo etkin maddeler, Bölüm 2, “Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji” edt, Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A, 1.baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Kaya S, Şanlı Y, Pirinçci İ, Yavuz H, Baydan E, Demet Ö, Bilgili A (1995). Veteriner Klinik Toksikoloji, Medisan Yayınevi, Ankara, 80-85.
- Kesseb M, Hamliri A (1986). Experimental fluorosis in sheep, alleviating effects of aluminium. *Vet Hum Toxicol*, 28, 4, 300-304.

Kırvar E (1991). Doğu Anadolu Bölgesinde normal ve florozis belirtisi gösteren koyunlarda serum kalsiyum, fosfor, sodyum, potasyum, üre ve ürik asit düzeyleri ile ilgili araştırma, Ankara Üniv, Sağlık Bilimleri Ens, Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

Krishnamachari KA (1986). Skeletal fluorosis in humans, A review of recent progress in the understanding of the disease. *Prog Food Nutr Sci*, 10(3-4), 279-314

Kulaksız G, Sancar A (2007). Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser. *Turk J Biochem*, 32 3, 104-111.

Lee J, Lee M, Kim JU, Song KI, Choi YS, Cheong SS. (2005). Carvedilol reduces plasma 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in mild to moderate hypertension. A pilot study. *Hypertension*, 45, 986-990

Lhi-Lhong G, Long-Jie Peishi, Sony P (1988). Synergistic action of iodine deficiency and fluorine-intoxication on rat thyroid. *Chinese Med J*, 101, 9, 679-684

Loft S, Deng XS, Tuo J, Wellejus A, Sorensen M, Poulsen HE (1998). Experimental study of oxidative DNA damage. *Free Radic Res*, 29, 525-539.

Loft S, Poulsen HE (1996). Cancer risk and oxidative DNA damage in man. *J.Mol. Med.* 74, 297-312.

Lunec J (1990). Free radicals their involvement in disease process. *Ann. Clin. Biochem.* 27, 173-182.

Manivannan J, Sonali S, Ghosh M, Mukherjee A (2013). Evaluation of multi-endpoint assay to detect genotoxicity and oxidative stress in mice exposed to sodium fluoride. *Mutagenesis Research*, 751, 59-65.

Mansfield P (1999). Molecular mechanism of action of fluoride on bone cells, *J Bone And Mineral Res.*, 13(11), 1660-1667.

Maraşlı Ş, Maraşlı N, Yenigün A (1995). Enzootik florozisli koyunlarda rastlanan hipokupremi tablosuna ilişkin ilk rapor. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 1-2, 79-81.

Martinez-Mier EA, Soto-Rojas AE, Ureña-Cirett JL, Stookey GK, Dunipace AJ (2003). Fluoride intake from foods, beverages and dentifrice by children in Mexico. *Commun Dent Oral Epidemiol*, 31, 3, 221-30.

Matos HR, Capelozzi VL, Gomes OF, Di Mascio P, Medeiros MHG (2001). Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys*, 396 2, 171-177.

Mc Dorman KS, Pachkowski BF, Nakamura J, Wolf DC, Swenberg JA (2005). Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in long-evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products. *Chem Biol Interact*, 152, 2-3, 107-117.

McDowell LR (1985). Calcium, phosphorus and fluorine in nutrition of grazing ruminants in warm climates, *Academic Pres*, 205–212.

Messer HH, Armstrong WD, Singer L (1973). Influence of fluoride intake on reproduction in mice. *J Nutr*, 103, 1319-1326.

Milheud GE, Borba MA, Krishnaswamy S (1987). Effect of fluoride ingestion on dental fluorosis in sheep. *Am, J, Vet, Res*, 48 5, 873-879.

Mousny M, Omelon S, Wise L, Everett ET, Dumitriu M, Holmyard DP, Banse X, Devogelaer JP, Grynpas MD (2008). Fluoride effects on bone formation and mineralization are influenced by genetics. *Bone*, 43, 6, 1067-1074

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (2003). Harper's Illustrated Biochemistry. Twenty-sixth ed., Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division.

Murray, RK, Granner, DK, Mayes, PA, Rodwell VW (1993) Harper'in Biyokimyası. Çev, Prof. Dr. G.Menteş, Prof. Dr. B. Ersöz, Barış Kitabevi, İstanbul.

Nakano M, Kawanishi Y, Kamohara S, Uchida Y, Shiota M, Inatomi Y, Komori T, Miyazawa K, Gondo K, Yamasawa I (2003). Oxidative DNA damage (8-hydroxydeoxyguanosine) and body iron status, a study on 2507 healthy people. *Free Radic Biol Med*, 35 7, 826-832.

Oktay C (1977). Effect of high fluoride containing drinking water on skeleton and dental age in seminar on “problems of high fluoride waters”, 6-10 September, Erzurum.

Oruç N (1976). Van Gölü Çevresinde bazı doğa sularında flor konsantrasyonu ve önemi, *Atatürk Üniv, Ziraat Fak, Derg*, 7, 3, 25-32.

Oruç N (1977). A preliminary study on the effect of water borne fluoride on the fluoride content of soils and plants. Seminar on problems of high fluoride waters. Cento Scientific Programme. Atatürk Üniversitesi Erzurum-Turkey.

Oto G (2002). Muradiye ve Çaldıran yöresinde alınan su ve koyunların kan örneklerindeki flor düzeyine mevsimsel değişimlerin etkisi. YYÜ Sağlık Bil Enst, Yüksek Lisans Tezi, Van.

Özdemir İ (1981). Genel Anorganik ve Teknik Kimya. Tüday yayınları, 643-647.

Park KS, Kim JH, Kim MS, Kim JM, Kim SK, Choi JY, Chung MH, Han B, Kim SY, Lee HK (2001). Effects of insulin and antioxidant on plasma 8-hydroxyguanine and tissue 8-hydroxydeoxyguanosine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 50(12), 2837-2841.

Patra RC, Dwivedi SK, Bhardwaj B, Swarup D (2000). Industrial fluorosis in cattle and buffalo around Udaipur, India, *The Science of the Total Environment* 253, 145–150.

- Phipps K (1995). Fluoride and bone health. *J Public Health Dent*, 55, 1, 53 -56.
- Prabhakar S, Starnes J, Shi S, Lonis B, Tran R (2007). Diabetic nephropathy is associated with oxidative stress and decreased renal nitric oxide production. *J Am Soc Nephrol*, 18, 2945-2952.
- Reddy J, Grobler SR (1988). The relation of the periodontal status to fluoride levels of alveolar bone and tooth roots, *J Clin Periodontal*, 15, 217–221.
- Reid JR (1977). The effects of fluorides on human health. In Seminar on “problems of high fluoride waters” 6-10 September, Erzurum, 1977.
- Richard A (1990). Nature and mechanism of dental fluorosis in animals, *J Dent Res.*,69, 701–705.
- Rupp DW (2006). Molecular mechanism of DNA damage, October 2006, Web erişim, http://radonc.yale.edu/training/pdf/molecular_mechanisms.pdf Erişim Tarihi, 10 Mart 2008.
- Rzeuski R, Chlubek D, Machoy Z (1998). Interactions between fluoride and biological free radical reactions, *Fluoride*, 31,1, 43-45.
- Sağlam M (1993). Genel Histoloji, Ayrı Basım 177, Ankara.
- Samsar E (1972). Isparta bölgesindeki okul çocuklarında DMF indeksinin tayini. *Diş Hek Derg*, 3, 195-198.
- Samur G (2006). Vitaminler, Mineraller ve Sağlığımız. Sinem Matbaacılık, Ankara.
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S (2004). Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*, 73, 39-85.
- Schneider JE, Price S, Maitt L, Gutteridge JM, Floyd RA (1990). Methylene blue plus light mediates 8-hydroxy-20-deoxyguanosine formation in DNA preferentially over strand breakage. *Nucleic Acids Res*, 18, 631–635.
- Schultz M, Kierdorf U, Sedlacek F, Kierdorf H (1998). Pathological bone changes in the mandibles of wild of red deer (cervus elaphus l.) exposed to high environmental levels of fluoride. *J Anat.*, 193, 431–442.
- Sel T, (1991). Doğu Anadolu Bölgesinde normal ve florozis belirtisi gösteren koyunlarda serum spesifik karaciğer enzimleri ve alkalin fosfataz düzeylerinin araştırılması, Ankara Üniv Sağlık Bil Enst, Doktora Tezi, Ankara.
- Shanthakumari D, Srinivasalu S, Subramanian S (2004). Effect of fluoride intoxication on lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats, *Toxicology*, 204, 219–228.

Shen J, Deininger P, Hunt JD, Zhao H (2007). 8-hydroxy-2-deoxyguanosine(8-OH-dG) as a potential survival biomarker in patients with nonsmall-cell lung cancer. *Cancer*, 109 3, 574-580.

Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci*, 86, 9697-9701.

Shivarajashankara YM, Shivashankara AR, Gopalakrishna PB, Hanumanth RS (2001). Effect of Fluoride Intoxication on Lipid Peroxidation and Antioxidant Systems in Rats. *Fluoride*, 34, 2, 108–113.

Shupe JL (1980). Clinicopathologic features of fluoride toxicosis in cattle. *J Anim Sci*, 51 3, 746–758.

Shupe JL, Olson AE (1971). Clinical aspects of fluorosis in horses. *J Am Vet Med Assoc*, 158 2, 167–174.

Shupe JL, Olson AE, Peterson HB, Low JB (1984). Fluoride toxicosis in wild ungulates. *JAUMA*, 185(11), 1295–1300.

Şanlı Y (1986). Veteriner Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara.

Şanlı Y, Kaya S (1995). Veteriner Klinik Toksikoloji, Medisan Yayınevi, 80–85.

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. *Ankara Ü Vet Fak Derg*, 20, 4, 474-485.

Tanyeri K (1976). Doğu Anadolu bölgesindeki endemik fluorosis. XIV. Türk Pediatri Kongresi Tebliğler Kitabı, Sermet Matbaası, İstanbul, 413-424.

Tiwary SN, Singh CDN, Jhe GJ, Sınha BK (1978). Some observations on the on the pathology of experimental fluorine poisoning in sheep. *Ind J Anim Health*, 17, 2, 141-143.

Tsukahara H (2007). Biomarkers for oxidative stress, clinical application in pediatric medicine. *Curr Med Chem*, 14 3, 339-351.

Turner PC, Mc Lannan AG, Bates AD, White MRH (2004). Moleküler Biyoloji. 2. baskıdan çeviri, çeviri editörü, Prof. Dr. M. Konuk, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

Underwood EJ (1966). The Mineral Nutrition of Livestock, Central Press. Aberdeen Lt, Great Britain.

Underwood EJ (1977). Fluorine, In “Trace Elements in Human and Animal Nutrition”. 2nd Ed. Academic Pres, New York.

Uslu B (1982). Endemik florozis. *Ege Univ. Tıp Fak. Derg*, 21, 1019-1028.

- Uslu B (1984). Floroziste iskelet gelişmesi. *T. Kl. Tıp Bil. Araş. Derg*, 2, 37-40.
- Uslu B, Göğüş T (1981). Endemic fluorosis, Hacettepe Bulletin Of Medicine/surgery, 14,3-4.
- Varol E, Varol S (2010). Çevresel bir hastalık olarak florozis ve insan sağlığı üzerine etkisi. *TAF Prev Med Bull*, 9, 3, 233-238.
- Vlasow L, Trifonov D (1999). 107 Kimya Öyküsü, Türdav Yayınları, 28-31.
- Waldbott G L (1963). Fluoride in food. *Am J Clin Nutr*, 12, 455-461
- Whitford GM (1990). The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J.Dent Res*, 69, 539-44.
- WHO (World Health Organization) (1984). Fluorine and Fluorides. IPCS International programme on chemical safety, environmental health criteria 36, Geneva.
- Williams GM, Jeffrey AM (2000). Oxidative DNA damage, Endogenous and chemically induced. *Regul Toxicol Pharmacol*, 32, 3, 283-292.
- World Health Organization (2006). Guidelines for drinking-water quality, third edition, Geneva, 221-459.
- Yaari AM (1982). Effect of fluoride on phosphatidylserine mediated calcium transport. *Biochim Biophys Acta*, 686, 1-6.
- Yaşar S (2003). Florozisli koyunlarda vitamin ve mineral düzeylerin incelenmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van.
- Yılmaz S (2010) Florozisli koyunlarda nitrik oksit oksidasyon ürünleri, katalaz ve karbonik anhidraz aktivitelerinin araştırılması, YYÜ Sağlık Bilimleri Enst. Y.L. Tezi.
- Zeiger E, Shelby MD, Witt KL (1993). Genetic toxicity of fluoride. *Enviro and Mole Mutagen*, 21, 309-318.
- Zhan X, Xu Z, Li J, Wang M (2005). Effects of fluorosis on lipid peroxidation and antioxidant system in young pigs. *J Trace Elem Med Bio*, 38 2, 157-161.
- Zhao J, Wang H, Tian E, Dong F, Zhou B (2014). Toxic effects of fluoride on primary lymphoid organs and white blood cells in female mice. *Res Report Fluoride* 47 3, 227-234.

ÖZGEÇMİŞ

Samsun ili Bafra ilçesinde 1987 yılında dünyaya geldi. İlk - orta öğretimini tamamladıktan sonra 2007-2008 eğitim ve öğretim yılında Kafkas Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandı. 2008-2009 eğitim ve öğretim yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesine yatay geçiş yaptı. 2011 yılında mezun oldu. 2012-2013 eğitim ve öğretim yılı bahar döneminde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Evlidir.

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

Araştırmannın Adı	Florozisli Koyunlarda Oksidatif DNA Hasarı
Araştırmannın Yürütücüsü	Prof. Dr. Fatmagül YUR
Yardımcı Araştırmacılar	Ayşegül ÖNER
Kurumu	Veteriner Fakültesi
Araştırmannın Tahmini Süresi	6 Ay
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Koyun 30 Adet
Destekleyecek Kuruluş (lar)	
Başvuru Tarihi	20.05.2014

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2014/06-...	Tarih:29.05.2014
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Prof. Dr. Fatmagül YUR sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Tez projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği /oy çokluğu ile karar verildi. <ol style="list-style-type: none">1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması.2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar da değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması.3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi.4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması.5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ	
<u>BASKAN</u> Prof. Dr. İdris TÖREL	<u>BASKAN YARDIMCISI</u> Prof. Dr. Hasan ÜLKER
ÜYELER	
Prof. Dr. Duran BOLAT	Prof. Dr. Sıddık KESKİN
Doç. Dr. Fatma İLHAN	Doç. Dr. Fazıl ŞEN
Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	Doç. Dr. M. Ertiğ GARÇA
Doç. Dr. Barış Atalay USLU	Yrd. Doç. Dr. Birkan Taha ÖZKAN
Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	Vet. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
Orhan SOFUOĞLU (Sivil Üye)	

*Bu form YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Florozisli koyunlarda oksidatif DNA hasarı <i>Oxidative Dna Damage in sheep with flurosis</i>
Araştırmacı(lar) <i>Investigator(s)</i>	Yürütücü / Chief investigator : Prof. Dr. Fatmagül YUR Yardımcı Araştırmacı / Co-investigator(s): Ayşegül ÖNER
Araştırmanın Başlama Tarihi / Research Starting Date:	15.06.2014
Araştırmanın Bitiş Tarihi / Research Completion Date:	15.12.2014
Proje Süresi / Total Time of Project:	1 yıl / 1 year
Proje No / Project Number:	2014-SBE-YL107
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / Funding institution(s) (if available): Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Başkanlığı <i>University of Yüzüncü Yıl Scientific Research Projects Unit</i>	
Destek Şekli ve Miktarı / Type and amount of funding: Yüksek Lisans Tez Projesi 11 000 TL <i>Master Thesis Project 11 000 TL</i>	
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 08 / 01 / 2015 tarih ve 2015/01 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Decision: <i>Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 08 / 01 / 2015 (decision number 2015/01).</i>	
Başkan / Chair Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYELER	
Prof. Dr. Duran BOLAT	Prof. Dr. Sıddık KESKİN
Doç. Dr. Fatma İLHAN	Doç. Dr. Fazıl ŞEN
Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	Doç. Dr. M. Fatih GARÇA
Doç. Dr. Barış Atalay USLÜ	Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU
Vet. Hek. Yrd. Doç. Dr. Yıldray BAŞBUĞAN	Orhan SOFUOĞLU (Sivil Üye)