

## DENEYSEL KRONİK FLOROZİS OLUŞTURULMUŞ TUJ IRKI KOYUNLARDA ERİTROSİT SÜPEROKSİT DİSMUTAZ, KATALAZ VE GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI<sup>(1)(2)</sup>

Sena ÇENESİZ\*

Ayla ÖZCAN\*

Geliş Tarihi: 27.10.2003

**Özet:** Bu çalışmada deneysel kronik florozis oluşturulmuş Tuj ırkı koyunlarda eritrosit süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmanın hayvan materyalini ortalama 1 yaşında ve canlı ağırlığı ortalama 31±2 kg olan 20 adet sağlıklı Tuj ırkı koyun oluşturdu. Deneme grubundaki koyunların içme suyuna 4 ppm NaF ilave edildi. Çalışma süresince kuru ot ve içme suyu *ad libitum* olarak verildi. Kronik florozis oluşum sürecinin saptanması amacıyla günlük olarak idrar flor konsantrasyonu ve idrar pH'sı ölçüldü. 38 haftalık çalışma sonucunda idrar flor konsantrasyonu ortalama 16 ppm düzeyine ulaştıktan sonra uygulama sonlandırıldı. Kontrol grubu koyunların eritrosit SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri sırasıyla 3234.5±27.9 U/gHb, 24.26±0.86 k/Hb, 83.1±2.8 U/gHb; deneme grubu koyunların ise sırasıyla 1365.9±27.7 U/gHb, 29.31±0.72 k/Hb, 118.2±10.4 U/gHb olarak bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneme grubu SOD aktivitesinde azalma (p<0,001), CAT ve GSH-Px aktivitelerinde artış (p<0,001) saptanmıştır. Florun hidroksil (·OH), süperoksit (·O<sub>2</sub>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radikallerini artırması sebebi ile eritrosit SOD aktivitesinin inhibe olabileceği, artan radikallerin ortamdaki uzaklaştırılması amacıyla GSH-Px ve CAT aktivitelerinin artmış olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Koyun, florozis, SOD, CAT, GSH-Px.

### Investigation of the Superoxide Dismutase , Catalase and Glutathione Peroxidase Activities of Erythrocytes in Tuj Sheep with Experimental Chronic Fluorosis

**Summary:** Aim of this study was to investigate the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities of erythrocytes of Tuj sheep that were placed under chronical experimental fluorosis.

For that purpose, one-year-old 20 healthy Tuj sheep, with a mean body weight of 31±2 kg, were used. Experimental sheep received 4 ppm NaF in daily prepared drinking water. Water and hay were provided *ad libitum* throughout the study period. For the observation of progress of chronic fluorosis, daily measurements were carried out in urine samples for the determination of level of fluor and pH. Addition of NaF into the drinking water was terminated when urine fluorine concentration reached up to mean 16 ppm after a study period of 38 weeks.

For the control group, SOD, CAT and GSH-Px activities of erythrocytes were 3234.5±27.9 U/gHb, 24.26±0.86 k/Hb, 83.1±2.8 U/gHb and for the experimental group they were 1365.9±27.7 U/gHb, 29.31±0.72 k/Hb and 118.2 ± 10.4 U/gHb, respectively. Mean SOD activities in the experimental group, comparing with those of control group, were found to be lower (p<0,001); however, mean CAT and GSH-Px activities were significantly higher (p<0,001).

In conclusion, as it is known that fluor increases hydroxyl (·OH), superoxide (·O<sub>2</sub>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) radicals in the cells, all of these radicals, especially H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, might inhibit SOD activity of erythrocytes. Additionally, increased GSH-Px and CAT activities might be due to an attempt to scavenge increased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Key words:** Sheep, Fluorosis, SOD, CAT, GSH-Px.

### GİRİŞ

Flor yer kabuğunun oluşumuna katılan temel elementlerden birisidir ve volkanik bölgelerdeki su kaynakları yüksek oranda flor ihtiva etmektedir<sup>1</sup>. Ayrıca florid, kömür madenlerinin ve endüstriyel bölgelerin; demir-çelik ve döküm, alüminyum, cam, seramik, tuğla-kiremit, petrokimya sanayi iş kollarında faaliyet gösteren fabrikalar, petrol ürünleri, süper fosfat fabrikaları, termik santraller, pestisid fabrikaları, uranyum tesisleri, demir taşı kalsinasyonu, boya üretimi, petrol rafinerileri, araç emülsiyonları, teflon tava fabrikaları, ilaç sanayi (prozac, anestezipler) çevresindeki geniş alanlarda da gözlenmektedir<sup>2,3</sup>.

Florun fazla alınmasına bağlı olarak bir takım klinik belirtiler gözlenir ki bu durumda florozis şekillenir<sup>4</sup>. Akut florozis olgularına ender rastlanırken, kronik florozise sıklıkla rastlanmaktadır. Kronik florozis hayvansal verimde azalmaya sebep olurken ekonomik anlamda da kayıplara neden olmaktadır<sup>2,4</sup>.

Süperoksit radikalini H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de katalizleyen SOD' un fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri ·O<sub>2</sub>'in zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fağozite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde de rol oynar. Doku hasarı meydana geldiğinde, nötrofiller tarafından ·O<sub>2</sub> radikali üretilir, bu da SOD tarafından temizlenir<sup>5</sup>.

\* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

<sup>(1)</sup> Bu çalışma aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

<sup>(2)</sup> Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. Proje no: 2003-VF-010

CAT 4 tane hem grubu içeren, prostetik olarak Fe<sup>3+</sup> bulunduran porfirin enzimidir. Karaciğer, böbrek, myokart, çizgili kaslar ve eritrositler en fazla aktivite gösterdiği yerlerdir<sup>6</sup>. İki görevi vardır. Bunlardan birincisi peroksidatik fonksiyon, ikincisi ise katalitik fonksiyondur. Katalitik etkisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya ve oksijene parçalamaktır<sup>7</sup>.

GSH-Px seleno protein ailesindedir ve selenyum miktarı ile ilişkilidir<sup>8,9</sup>. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır<sup>10</sup>.

Yapılan literatür taramalarında ruminantlarla ilgili çalışmaların endemik florozisle ilgili olduğu, deneysel çalışmaların ise laboratuvar hayvanları üzerine yapıldığı görülmüştür. Metabolizması diğer hayvanlara göre oldukça farklı olan ruminantlarda deneysel kronik florozis oluşturarak, bunun SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri üzerine etkileri amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Araştırmada, ortalama 1 yaşında ve canlı ağırlığı ortalama 31±2 kg olan 20 adet Tuj ırkı koyun kullanılmıştır. Klinik muayenelerinin yapılmasının ardından iç ve dış parazit ilaçları uygulanmış, ayrı bir bölmeye alınarak iki gruba ayrılan hayvanlara kulak numaraları verilmiştir. Denemeye başlamadan önce adapte olmaları için 30 gün beklenmiştir. Çalışma süresince hayvanlara su ve kuru ot *ad libitum* olarak verilmiştir. Kontrol grubu hayvanlara sadece içme suyu verilir iken deneme grubu koyunların içme sularına 38 hafta süresince günlük 4 ppm NaF ilave edilmiştir<sup>11</sup>. Kronik florozisin oluşum sürecinin saptanması amacıyla günlük olarak idrar flor konsantrasyonu ve idrar pH'sı EDT Micro2 pH/ION Meter kullanılarak ölçülmüştür<sup>12</sup>. İdrarların toplanmasında polietilen kaplar kullanılmıştır<sup>13</sup>. İdrar flor düzeyi 16 ppm düzeyine ulaştığında uygulama sonlandırılmıştır.

Kronik florozis şekillenmesinin tespitinin ardından deneme ve kontrol grubu koyunların vena jugularisinden usulüne uygun olarak antikoagulanlı tüplere kan alınmıştır. Kanlar herhangi bir işleme tabi tutulmadan önce hemoglobin değerleri tespit edilmek üzere 0,5 ml'si ayrılmış, daha sonra tüpteki kan numuneleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları çıkarılmıştır. Hücre paketinde en üst tabaka olan lökosit tabakası eritrosit tabakasından ayrılarak saf eritrosit

numunesi elde edilmiştir. Daha sonra eritrositler % 0,9 NaCl ile 3 defa 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek yıkanmıştır. Yıkanan eritrositler + 4 °C'de soğutulmuş distile su ilavesi ile hemoliz edilmiştir<sup>14</sup>. Hemolizatlar -24 °C'de analiz yapılmaya cağa kaclar saklanmıştır.

CAT aktivitesi Aebi<sup>14</sup>, GSH-Px aktivitesi Paglia and Valentine<sup>15</sup>, SOD aktivitesi Padozasy<sup>16</sup>, Hb tayini ise spektrofotometrik oksihemoglobin metodu<sup>17</sup> ile yapılmıştır.

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiki hesaplamaları bilgisayarda istatistik paket programı kullanılarak<sup>18</sup> hesaplanmış, kontrol ve deneme grupları arasındaki farklar Student's t testi kullanılarak yapılmıştır.

## BULGULAR

Deneme ve kontrol grubu koyunlarda flor uygulamasının yapıldığı 38 hafta boyunca herhangi bir enfeksiyon durumuna rastlanılmamıştır. Deneme grubu koyunlarda klinik bakıda herhangi bir bozukluk görülmemiş iken sadece dişlerde enine çizgili lekelenmeler tespit edilmiş, 38 hafta sonunda ağırlık azalışı saptanmıştır. Başlangıçta idrar flor konsantrasyonu ortalama 0.9 ppm iken, 12. hafta sonuna kadar yavaş seyreden bir artışla ortalama 1.27 ppm'e ulaşmıştır. Daha sonra hızlı bir artışla 38. haftada ortalama 16 ppm olarak tespit edilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneme grubu SOD aktivitesinde istatistiki olarak düşme (p<0,001) gözlenirken, GSH-Px ve CAT aktivitelerinde yükselme (p<0,001) tespit edilmiştir.

Kontrol ve deneme grubuna ait canlı ağırlık, eritrosit SOD, CAT, GSH-Px aktiviteleri Tablo 1'de sunulmuştur.

**Tablo 1.** Deneme ve kontrol grubu koyunlarda canlı ağırlık, idrar flor düzeyi ve eritrosit SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri  
**Table 1.** Body weight, fluor level in urine, SOD, CAT, GSH-Px activity of erythrocytes in experimental and control groups.

n=10 deneme	Canlı Ağırlık (kg)	İdrar F düzeyi (ppm)	SOD (U/gHb)	CAT (k/gHb)	CAT (k/gHb)
Kontrol	43.7±0.5	0.9±0.05	3234.5± 27.9	2426± 0.86	8315± 2.8
Deneme	35.7±0.5 ***	16.0±0.10 ***	1365.9± 27.2***	29.31± 0.72***	107.69± 1.9***

\*\*\* p<0.001

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğal ya da endüstriyel yollarla florun yüksek dozda ve uzun süreli alımı kronik florozise neden ol-

makta<sup>2</sup>, bu da önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır<sup>2,4</sup>. Yüksek düzeydeki flor miktarı  $H_2O_2$ ,  $\cdot O_2$ ,  $\cdot OH$  üretimini artırmaktadır<sup>19,20</sup>.

İçme sularındaki flor miktarındaki artışa bağlı olarak idrar flor miktarında da artış olduğu 1944'ten beri bilinmektedir<sup>21</sup>. Florozisin klinik tanısında, klinik bulgular yanında idrar flor miktarı ölçümlerinin de güvenli ve hassas bir yöntem olarak kullanılabilceği önerilmiştir<sup>4</sup>.

Ergun ve ark.<sup>22</sup> normal koyun idrar flor düzeyini ortalama 1,4 ppm olarak bildirmişken, Fidancı ve ark.<sup>2</sup> İç Anadolu Bölgesinde doğal ve endüstriyel florozis çalışmasında kontrol koyunlarında idrar flor miktarını ortalama 1 ppm olarak saptamışlardır. Florozis gözlenmeyen koyunların idrar flor düzeyleri Van/Çaldıran'da ortalama 0,5 ppm, Eskişehir/Kızılcaören'de 1,67 ppm, Muğla/Yatağan'da ortalama 1,45 ppm olarak ölçülmüştür<sup>13</sup>. Ayrıca Kaya ve ark.<sup>23</sup> ise Kars ve yakın çevresinde Tuj ırkı koyunların idrar flor düzeyini ortalama 0,91 ppm olarak ölçmüşlerdir. Yapılan araştırmada da kontrol ve deneme grubu koyunların başlangıç idrar flor miktarı 0,9 ppm ölçülmüş olup, bu sonuçlarla uyum göstermektedir.

Van ili, ilçe ve köylerinde yapılan çalışmalarda Ergün ve ark.<sup>22</sup> koyunların idrar örneklerinde ortalama flor miktarını 8,13 ppm, Şendil ve Bayşu<sup>1</sup> 3,8-30,6 ppm olarak bildirmişlerdir. Muğla/Yatağan termik santrali çevresindeki endüstriyel florozis görülen koyunlardaki idrar flor miktarını ise ortalama 5,33 ppm olarak ölçülmüştür<sup>13</sup>.

Bu araştırmada günlük 4 ppm NaF içme sularına katılması sonucu ortalama 0,9 ppm idrar flor düzeyinin ortalama 16 ppm'e çıktığı bulunmuştur. Çalışmada 13. haftaya kadar idrar flor düzeylerinde artış meydana gelmemiş, 13. haftadan sonra idrar flor düzeyleri artmaya başlamıştır. 38. haftada ise idrar flor düzeyi ortalama 16 ppm olarak saptanmıştır. Denemenin ilk 10 gününde değişiklik bulunmamış, 12. haftaya kadar ise ancak ortalama 1,78 ppm değerine ulaşması sebebiyle ilk 12 haftada her gün flor ölçümü yerine 15 gün aralıklarla ölçüm yapılması yeterli olabilir. Denemenin sonundaki ortalama 16 ppm değeri doğal ve endüstriyel florozis gözlenen bölgelerde yetiştirilen koyunların idrarlarında saptanan flor düzeyleri ortalamasının üzerindedir. Bu nedenle araştırma materyalini oluşturan koyunlarda kronik florozisin şekillendiğine dair bir kanaat oluşması açısından yeterli görülmüştür.

Yapılan bu çalışmada kontrol grubu koyunların eritrosit SOD aktivitesi ortalama  $3234.5 \pm 27.9$  U/gHb, deneme grubunda  $1365.9 \pm 27.7$  U/gHb bulunmuştur. SOD aktivitesindeki bu düşüş, Bo ve ark.'nın<sup>24</sup> endemik florozisli sığırlarda yaptıkları çalışmada buldukları eritrosit SOD aktivitesindeki azalma ile benzerlik göstermektedir. Shivarajashankara ve ark.<sup>20</sup> kronik florozis oluşturulan ratlarda eritrosit, beyin ve karaciğer dokularında SOD aktivitesinde azalma olduğunu kaydetmişlerdir. Benzer şekilde Vani ve ark.<sup>25</sup> kronik florozisli fare beyin ve gastrocnemius kasında, Liu ve ark.'ları<sup>26</sup> florozis oluşturulmuş ratların karaciğer ve böbrek dokularında, Shivarajashankara ve ark.'ları da<sup>27</sup> endemik florozisli çocukların eritrosit SOD aktivitesinde anlamlı bir azalma kaydetmişlerdir. Bu da yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir.

Florun fazla alınması solunum patlamasını artırmakta ve dolayısı ile  $\cdot O_2$ ' in daha fazla üretilmesine neden olmaktadır<sup>19</sup>.  $\cdot O_2$  direkt olarak zarar vermez fakat  $H_2O_2$  kaynağı olması sebebi ile zararlı etkileri vardır.  $H_2O_2$  membran lipidlerinde lipid peroksidasyonuna, enzim inaktivasyonuna, DNA hasarına neden olmaktadır<sup>10,28,29</sup>. Solunum patlaması sırasında artan  $H_2O_2$ ,  $O_2$ ,  $\cdot OH$  radikalleri, özellikle  $H_2O_2$  SOD'un inhibisyonuna<sup>19</sup>, dolayısıyla SOD aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır.

Deneyel kronik florozisli ratlarda serum SOD aktivitesinde herhangi bir değişiklik olmadığını<sup>30</sup> veya artma olduğunu bildirenlerde vardır<sup>30</sup>.

Araştırmada kontrol grubu eritrosit GSH-Px aktivitesi ortalama  $83.1 \pm 2.8$  U/gHb, deneme grubunda ise  $118.2 \pm 10.4$  U/gHb olarak bulunmuştur. Shivarajashankara ve ark.<sup>20</sup> rat eritrosit GSH-Px aktivitesinde benzer şekilde artış olduğunu kaydetmişlerdir. Aynı şekilde Yu ve ark. da<sup>31</sup> kronik florozis oluşturulmuş rat eritrositlerinde, Shivarajashankara ve ark.<sup>27</sup> kronik florozisli çocuklarda eritrosit GSH-Px aktivitesinde artış tespit etmişlerdir. Eritrositlerde GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller<sup>10</sup>. Florozisde solunum patlaması meydana gelmekte, bu nedenle  $H_2O_2$  radikali artmaktadır<sup>19</sup>. GSH-Px' deki bu artış, florozisde artan  $H_2O_2$ ' in azaltılmaya çalışılmasına bağlı olabilir.

Buna karşın Liu ve ark.<sup>26</sup> florozisli ratlarda yapmış oldukları çalışmada karaciğer ve böbrek dokularında

GSH-Px aktivitesinde azalma tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Zhi-Zhong ve ark.<sup>30</sup> florozisli ratlarda kan GSH-Px aktivitesinde düşüş olduğunu rapor etmişlerdir. Bo ve ark. da<sup>24</sup> florozisli sığırlarda yapmış oldukları çalışmada kanda GSH-Px değerinde azalma kaydetmişlerdir.

Kontrol grubu koyunların eritrosit CAT aktivitesi ortalama 24.26±0.86 k/gHb, deneme grubu koyunların 29.31±0.72 k/gHb olarak bulunmuştur. Bo ve ark.<sup>24</sup> sığır kanında, Vani ve ark.<sup>25</sup> ise fare beyin ve gastrocnemius kasında CAT aktivitesinde azalma bildirmişlerdir.

CAT'ın görevi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i suya ve oksijene parçalamaktır<sup>7</sup>. Artan flor konsantrasyonunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yoğunluğu da artmaktadır<sup>19</sup>. Ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i azaltmaya çalışması nedeni ile CAT aktivitesinde artış meydana gelmiş olabilir.

Sonuç olarak ülkemizde özellikle Doğu Anadolu Bölgesi olmak üzere pek çok bölgede endemik ve endüstriyel florozis görülmektedir. Koyunlarla ilgili endemik ve endüstriyel florozis vakalarında çalışılmış, kontrollü deneysel çalışmalara ise rastlanılmamıştır.

Yapılan bu kontrollü kronik florozis çalışmasında florun H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ·O<sub>2</sub>, ·OH radikallerini artırması sebebi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in eritrosit SOD aktivitesini inhibe ettiği, artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i ortamdaki uzaklaştırmak amacıyla GSH-Px ve CAT aktivitelerini artmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Shupe JL, Olson AE, Peterson HB, Low JB: Fluoride toxicosis in wild ungulates. *Am Vet Med Assoc*, 185(11): 1295-1300, 1984.
- Fidancı UR, Salmanoğlu B, Maraşlı Ş, Maraşlı N: İç Anadolu bölgesinde doğal ve endüstriyel florozis ve bunun hayvan sağlığı üzerindeki etkileri. *Tr J Vet Anim Sci*, 22: 537-544, 1998.
- Mokrzynska AM: Fluoride in toxicology, medicine, and environment protection. *Fluoride*, 32(4): 248-250, 1999.
- Şendil Ç, Bayşu N: İnsan ve hayvanlarda Ağrı ili Doğubeyazıt ilçesi köylerinde görülen flor zehirlenmesi ve bunu Van ili Muradiye ilçesi köylerinde de saptamamızla ilgili ilk tebliğ. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 20(4): 474-489, 1973.
- Fridovich I: Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 23: 239-257, 1983.
- Jenkins RR, Tegri J: Catalase activity in sclerol muscle of varying fiber types. *Experientia*, 37: 67-68, 1981.
- Lüick H: Catalase. *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd Edition, New York, USA, 1963.
- Suzuki T, Agar NS: Glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase in red blood cells of GSH-normal and GSH-deficient sheep. *Experientia*, 39: 103-104, 1983.
- Yu BP: Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 74(1): 139-162, 1994.
- Akkuş İ: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimosya Yay., Konya, 1995.
- Kessabi M, Hamliri A: Experimental fluorosis in sheep: Alleviating effects of aluminum. *Vet Hum Toxicol*, 28(4): 300-304, 1986.
- Karagül H, Fidancı UR, Altıntaş A, Sel T: Klinik Biyokimya. Medisan Yay, Ankara, 2000.
- Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T, Duru Ö, Başsatan A: Doğal ve endüstriyel florozisli koyunlarda böbrek fonksiyonu ve serum protein elektroforezi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 47: 105-114, 2000.
- Aebi H: Catalase In Vitro Assay. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126, 1984.
- Paglia DE, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Lab Clin Med*, 70: 158-169, 1967.
- Podczasy JJ, Wei R: Reduction of iodinitrotetrazolium violet by superoxide radicals. *Biochem Biophys Res Com*, 150: 1290-1301, 1988.
- Yılmaz K, Otlu A: Veteriner Hematoloji El Kitabı. Hatiboğlu Ya., Ankara, 1989.
- Minitab Inc, Version 12.1, State Collage, Pennsylvania, USA, 1998.
- Rzeuski R, Chlubek D, Machoy Z: Interactions between fluoride and biological free radical reactions. *Fluoride*, 31(1):43-45, 1998.
- Shivarajashankara YM, Shivashankara AR, Bhat, PG, Rao SH: Effect of fluoride intoxication on lipid peroxidation and antioxidant systems in rats. *Fluoride*, 34(2): 108-113, 2001.
- Mansfield P: The distribution of urinary fluoride concentration in the UK. *Fluoride*, 32(1): 27-32, 1999.
- Ergun HS, Russel-Sinn HA, Bayşu N, DüNDAR Y: Studies, on the fluoride contents in water and soil, urine, bone and teeth of sheep, and urine of human from Eastern and Western parts of Turkey. *Dtsch Tierarztl Wschr*, 94: 416-420, 1987.
- Kaya N, Utlu N, Maraşlı N, Güldür T, Maraşlı Ş: Kars ve yakın çevresindeki morkaraman ve tuş ırkı koyunların serumlarında T3, T4, Na, K, Ca ve P ile idrar ve su numunelerinde F profili. *Tr J Vet Anim Sci*, 20: 449-454, 1996.
- Bo H, Manyu L, Yan S: Studies on the toxicology of endemic fluorosis in cattle. XXII World Buiatrics Congress 18-23 August, Hannover, Germany, 2002.
- Vani ML, Reddy KP: Effects of fluoride accumulation on some enzymes of brain and gastrocnemius muscle of mice. *Fluoride*, 33(1): 17-26, 2000.
- Liu K, Wang G, Ma L, Jang P, Xiao B, Zhang C: Adverse effects of combined arsenic and fluoride on liver and kidney in rats. *Fluoride*, 32(4): 243-247, 1999.
- Shivarajashankara YM, Shivashankara AR, Rao SH, Bhat PG: Oxidative stress in children with endemic skeletal fluorosis. *Fluoride*, 34(2): 103-107, 2001.
- Joenje H: Genetic toxicology of oxygen. *Mutation Res*, 219: 193-208, 1989.
- Lunec J: Free radicals: Their involvement in disease processes. *Ann Clin Biochem*, 27: 173-182, 1990.
- Zhi-zhong G, Pei-Si Y, Nai-den Y, Zong-jie Z: An experimental study of blood biochemical diagnostic indices for chronic fluorosis. *Fluoride*, 22(3): 112-118, 1989.
- Yu YN, Liu JJ, Wang SL: Study of the free radical and morphological changes in the bone of rats with chronic fluorosis. *Chinese J Endemiol*, 19(5): 337-339, 2000.

## Yazışma Adresi (Correspondence address)

Dr. Sena ÇENESİZ  
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Biyokimya A.B.D. Kars - Türkiye 36040  
Tel: +90 474 2426800  
Fax: +90 474 2426839  
E-mail: mcenesiz@kafkas.edu.tr