

Investigation of the Effect of Vitamin C and Vitamin E on Serum Protein Fractions in Rats with Experimental Fluorosis

Semiha DEDE^{1*}, Ahmet Cihat ÖNER², Veysel YÜKSEK³, Sedat ÇETİN¹, Ayşe USTA⁴

¹Van YüzüncüYilUniversity, Faculty of Veterinary Medicine, Biochemistry Department, 65090, Van, Turkey

²Van YüzüncüYilUniversity, Faculty of Veterinary Medicine, Pharmacology Department, 65090, Van, Turkey

³Van YüzüncüYilUniversity, Özalp Vocational High School, 65090, Van, Turkey

⁴ Van YüzüncüYilUniversity, Faculty of Science, Chemistry Department, 65090, Van, Turkey

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the effects of vitamins C (vit C) and E (vit E) on the serum protein fractions in rats with experimentally-induced chronic fluorosis. Wistar-Albino rats (male) were used as material (8 groups, each containing 8 rats). The experimental groups were control, protection groups (daily 150 ppm NaF containing drinking water for 16 weeks as ad-libitum, and, on alternate Vit C (100 mg/kg), Vit E (300 mg/kg) and Vit C + Vit E (100 mg/kg + 300 mg/kg) for 16 weeks) therapy groups (daily 150 ppm NaF containing drinking water for 16 weeks as ad-libitum, then normal drinking water as ad-libitum, Vit C (100 mg/kg), Vit E (300 mg/kg) and Vit C + Vit E (100 mg/kg + 300 mg/kg) on alternate for 4 weeks). The end of experimental period, blood samples were collected and serums were obtained. Serum protein fractions in blood samples were determined with cellulose-acetate electrophoresis. Alpha-1 was significantly decreased and beta globulins increased in the experimental fluorosis group. In the groups in which vitamin C, vitamin E and combine combination of vitamin C and vitamin E were given for prevention and treatment, it was observed that these changing values approach to the control group.

Keywords: fluorosis, rat, serum proteins, vitamin C, vitamin E

Deneysel Olarak Florozis Oluşturulan Ratlarda Vitamin C ve Vitamin E'nin Serum Protein Fraksiyonları Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

ÖZ

Bu çalışma, deneysel olarak kronik florozis oluşturulan ratlarda vitamin C (vit C) ve E (vit E)'nin serum protein fraksiyonları üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla planlandı. Materyal olarak Wistar-Albino ratlar kullanıldı (Her biri 8 rat içeren, 8 grup). Deneme grupları; kontrol grubu, deneysel florozis grubu, koruma grupları (16 hafta boyunca, içme suyu içeren günlük 150 ppm NaF içeren içme suyu/*ad-libitum* ile birlikte vit C (100 mg / kg), vit E (300 mg / kg) ve vit C + vit E (100 mg/kg + 300 mg/kg)) ve tedavi grupları (16 hafta boyunca 150 ppm NaF içeren içme suyu/*ad-libitum* verildikten sonra tedavi amacıyla 4 hafta vit C (100 mg/kg), vit E (300 mg / kg) ve vit C + vit E (100 mg/kg + 300 mg/kg)) olarak oluşturuldu. Deneme sonunda kan örnekleri toplandı ve serumlar alındı. Bu örneklerde serum protein fraksiyonları selüloz-asetat elektroforezi ile belirlendi. Deneysel florozis grubunda total protein yüzde gram açısından, alfa-1'in önemli oranda azaldığı ve beta globülinlerin arttığı tespit edildi. Korunma ve tedavi amacıyla vitamin C, vitamin E ve vitamin C+vitamin E birlikte verildiği gruplarda, değişen bu değerlerin kontrol grubuna yaklaştığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Florozis, rat, serum proteinleri, vitamin C, vitamin E

To cite this article: Dede S, Öner A.C, Yüksek V, Çetin S, Usta A. Investigation of the Effect of Vitamin C and Vitamin E on Serum Protein Fractions in Rats with Experimental Fluorosis. Kocatepe Vet J. (2021) 14(2):262-267

Submission: 17.11.2020 Accepted: 17.04.2021 Published Online: 30.05.2021

ORCID ID; SD:0000-0001-5744-6327, ACÖ: 0000-0001-5744-6327, VY:0000-0001-7432-4989, SÇ: 0000-0002-6102-8571, AU:0000-0002-5522-3469

*Corresponding author e-mail: sdede@yyu.edu.tr

GİRİŞ

Florozis, uzun süre yüksek dozda flora maruz kalan canlılarda normal fizyolojik ve metabolik fonksiyonları etkileyen, önemli sağlık problemlerine yol açan bir toksikasyondur. Florozisli bireylerde diş, kemik, yumuşak doku ve organlarda gözlenen fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin patogeneğinde netleştirilmesi gereken noktalar vardır. Bu dokular üzerinde yapılan moleküler çalışmalardan elde edilen veriler, florür zehirlenmesinin başka hastalıklara neden olabileceğini ve yaşam kalitesini düşürebileceğini ortaya koymaktadır (Guan ve ark., ark., 2000; Yur ve ark. 2013; Yüksek ve ark., 2017; Öner ve ark., 2020).

Florun, toksik mekanizması nedeniyle protein sentezini inhibe etmede önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Deneysel florozis oluşturmak amacıyla kullanılan NaF, iyi bilinen bir protein inhibitörüdür. Flor kaynaklı zehirlenmelerde aktif oksijen ve serbest radikallerin artmasına, lipid peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna ve DNA hasarına neden olduğu ve protein sentezini olumsuz etkilediği öne sürülmektedir. DNA hasarının, çift veya tek DNA ipliklerinin kırılması ile olduğu bildirilmektedir (Kleinsasser ve ark., 2001; Wang ve ark., 2004; Kubota ve ark., 2005; Abdel-Wahab, 2013; Yur ve ark., 2013).

Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında yer alan vitamin C ve vitamin E, gen ekspresyonunun düzenlenmesi aşamasından başlayarak, birçok önemli fizyolojik olayda önemli rol alır. Protein, kollajen sentezi, diş, kemik, kıkırdak, ciltte lif oluşumu, nörotransmitter maddeler, hormonlar, L-karnitin gibi önemli biyolojik maddelerin sentezine katılırlar (Møller ve ark., 2004; Li ve Schellhorn, 2007; Loft ve ark., 2008). Florozisli bireylerde özellikle kemik, diş, bağ doku, sinir vb. dokularda artan lipid peroksidasyonu ve azalan antioksidan kaynaklı hasarların önlenmesi ve tedavisinde, vitamin C ve vitamin E uygulamasının faydalı olabileceği yönünde çalışmalar yapılmıştır (Susheela ve Bhatnagar, 2002; Öner ve ark., 2020).

Normal serum proteinleri, elektroforez ile 5 ana protein fraksiyonuna (albümin, α_1 , α_2 , β ve γ -globülinler) ayrılır. Elektroforetik serum protein fraksiyonları konsantrasyonları, çeşitli patolojik ve fizyolojik koşullara bağlı olarak değişebilir. Hepatositler, kan proteinlerinin sentezinde ve salgılanmasında önemli rol oynarlar. Serum proteinleri bağışıklık, pıhtılaşma, küçük molekül taşınması, enflamasyon gibi fizyolojik olaylara katılır. Patolojik ve patolojik olmayan durumlar dahil olmak üzere çeşitli faktörler serumdaki protein konsantrasyonlarını, dolayısıyla serum proteinlerinin tüm profilini etkileyebilir. Albümin, çeşitli lipofilik bileşiklerin ve iki değerlikli katyonların taşınması ve endojen aminoasit deposu görevi görürken, globülinler de birçok önemli görevi yerine getirmektedirler (Manojlović ve ark., 1993; Karagül ve ark., 2000; Mehmetoğlu, 2002; Murray, 2003; Tóthová ve ark., 2017; Yüksek ve ark., 2019; Çetin ve ark., 2020).

Bu çalışma deneysel florozis oluşturulan ratlarda, tedavi ve korunma için vitamin C ve vitamin E uygulanmasının protein metabolizmasındaki etkilerinin anlaşılması amacıyla planlandı.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Bu çalışmada, deney hayvanları kullanımında 3R kuralı çerçevesinde, laboratuvarımızda daha önce yapılan başka bir çalışmadan (Öner ve ark. 2020) elde edilen ve uygun şartlarda saklanan serumlar materyal olarak kullanıldı.

Bir aylık, 100-125 gram ağırlığında, erkek, Wistar-Albino ratlar 20–24°C sıcaklıkta ve % 55–60 nem oranına sahip bir ortamda tutuldu. Tüm gruplar *ad-libitum* standart kemirgen yemiyle beslendi. Çalışma, 8'er hayvandan oluşan 8 grupla gerçekleştirildi.

Deney Grupları

Çalışmanın deneysel düzeni Tablo 1'de özetlendi.

Tablo 1. Deney Grupları

Gruplar	NaF=150 ppm	vitamin C= 100 mg/kg	vitaminE= 300 mg/kg	Normal içme suyu
Kontrol				16 hafta
NaF	16 hafta			
Korunma grubu 1	16 hafta	16 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte		
Korunma grubu 2	16 hafta		16 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte	
Korunma grubu 3	16 hafta	16 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte	16 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte	
Tedavi grubu 1	16 hafta	4 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte		4 hafta vitamin C
Tedavi grubu 2	16 hafta		4 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte	4 hafta vitamin E
Tedavi grubu 3	16 hafta	4 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte	4 hafta (seçili günlerde)- NaF ile birlikte	4 hafta vitamin C+E

Üç koruma grubu için 16 hafta boyunca 150 ppm NaF içeren su *ad libitum* ve vitamin C (100 mg/kg), vitamin E (300 mg/kg) ve vitamin C + vitamin E (100 mg/kg + 300 mg/kg) her gün ilgili gruplara uygulandı. Vitamin C suda çözündürülerek, vitamin E mısırozü yağında çözündürülerek oral gavaj ile uygulandı. Üç tedavi grubuna 16 hafta süreyle 150 ppm NaF suda çözündürülerek, *ad-libitum* olarak verildi ve ardından 4 hafta boyunca normal içme suyu *ad libitum* ve vitamin C (100 mg/kg), vitamin E (300 mg/kg) ve vitamin C + vitamin E (100 mg/kg + 300 mg/kg) gün aşırı olarak ilgili gruplara uygulandı (Öner ve ark., 2020).

İdrar Flor Analizi

Florozisin varlığını belirlemek için idrar örnekleri toplandı ve flor seviyeleri, florür elektrotu (Mettler Toledo, ABD) ile ölçüldü. İdrar flor konsantrasyonları kontrol grubunda 0,79 ppm, NaF toksikasyon grubunda 29,71 ppm'di. Korunma ve tedavi amacıyla vitamin uygulanan gruplarda ise 11,5-15,3 ppm olarak saptandı (Öner ve ark. 2020).

Kan Örneği Toplama

Kontrol grubu 16. hafta sonunda, NaF ve koruma grubu ve tedavi grubu ratları ise çalışmanın sonunda ketamin HCl + Ksilazin anestezisi altında, kanlar usulüne uygun olarak alındı. Kan örnekleri 3.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve serum örnekleri

ayrıştırılarak elektroforezde kullanıldı (Öner ve ark., 2020).

Biyokimyasal Analizler

Toplam protein konsantrasyonları biüret yöntemi kullanılarak analiz edildi. Serum protein fraksiyonları, Helena Lab-Titan III® Serum Protein Elektroforez cihazı (Kat No. 3023), Helena Lab-Titan III Selüloz asetat kartları ve Electra HR Buffer (Kat No. 5805) tampon çözeltileri kullanılarak ayırt edildi ve daha sonra Ponceau S Stain solüsyonu ile boyandı. Elektroforez sonrası elde edilen bantlar Platinum 3.0 programında serum protein fraksiyonları açısından değerlendirildi ve protein konsantrasyonları belirlendi. (Helena, Bioscience Europe, İngiltere)

İstatistiksel Analiz

Veriler Tek Yönlü Varyans analizi ile analiz edildi. Çoklu karşılaştırmalar için Duncan testi uygulandı. Farklar P <0.05'te istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (SPSS 22.0, IBM Corporation, ABD).

BULGULAR

Toplam protein içindeki serum protein fraksiyonlarının yüzdesinin ve konsantrasyonunun değerlendirilmesinden sonra elde edilen veriler Tablo 2 ve 3'te özetlendi.

Tablo 2. Çalışma gruplarından elde edilen protein fraksiyonları yüzde gram değerleri (%)

Parametreler	Korunma grupları					Tedavi grupları		
	Kontrol grubu	NaF grubu	NaF +Vit C	NaF +Vit E	NaF +VitE+Vit C	NaF +Vit E	NaF +Vit C	NaF +Vit E+C
Albumin	37,86±1,17 ^a	37,35±2,78 ^a	49,11±2,11 ^{cd}	50,39±2,81 ^d	49,58±1,45 ^{cd}	43,90±1,76 ^{bc}	41,08±1,33 ^{ab}	37,22±1,53 ^a
Alfa 1- globulin (%)	12,56±,92 ^{ab}	10,84±0,84 ^a	13,99±1,03 ^b	14,95±0,87 ^b	13,18±0,82 ^{ab}	13,51±1,29 ^{ab}	13,48±0,68 ^{ab}	14,09±0,54 ^b
Alfa 2- globulin (%)	17,56±1,52 ^d	15,90±1,38 ^{cd}	10,74±0,99 ^a	9,47±1,25 ^a	10,99±0,80 ^{ab}	13,01±1,06 ^{abc}	14,58±0,89 ^{bcd}	17,45±1,39 ^d
Beta - globulin (%)	19,10±0,94 ^{abc}	23,92±1,43 ^d	18,68±0,66 ^{abc}	18,01±0,55 ^{ab}	19,16±0,52 ^{bc}	21,84±0,70 ^c	21,07±0,68 ^{bc}	20,08±0,78 ^{abc}
Gama- globulin (%)	12,92±0,77 ^d	11,98±0,97 ^{cd}	7,51±0,87 ^{ab}	7,16±1,01 ^a	7,08±0,46 ^a	7,74±0,59 ^{ab}	9,78±0,71 ^{bc}	11,15±0,76 ^{cd}
A/G	0,61±0,03 ^a	0,63±0,09 ^a	0,98±0,09 ^{cb}	1,05±0,11 ^c	0,99±0,06 ^{cb}	0,79±0,06 ^{ab}	0,70±0,04 ^a	0,598±0,048 ^a

Serum protein fraksiyon % değerleri bakımından, albümin seviyesi kontrole göre; florozis grubunda değişmezken, korunma grupları ve tedavi vitamin E ve C gruplarının kontrolden fazla olduğu görüldü. Alfa 1 globülin düzeyi florozis grubunda kontrole göre azalırken, korunma ve tedavi grubunda vitamin verilmesi ile arttı ve kontrole yaklaştı. Alfa 2 globülin düzeyi florozis grubunda ve tedavi gruplarında kontrole göre değişmedi. Korunma gruplarında

önemli oranda azaldı. Beta globülin seviyesi kontrole göre; florozis grubunda arttı. Korunma ve tedavi gruplarında azaldı ve kontrole yaklaştı. Gama-globülin seviyeleri kontrol grubuna göre, florozis grubunda değişmezken, korunma ve tedavi (vitamin C ve E) gruplarında azalma olduğu görüldü. A/G oranı ise sadece korunma gruplarında kontrol, florozis ve tedavi gruplarına göre önemli oranda arttığı tespit edildi.

Tablo 3. Protein fraksiyon konsantrasyonları (gr/dl)

Parametreler	Korunma grupları					Tedavi grupları		
	Kontrol grubu	NaF grubu	NaF +Vit C	NaF +Vit E	NaF +VitE+Vit C	NaF +Vit E	NaF +Vit C	NaF +Vit E+C
Total protein	10,199±0,689 ^{bc}	10,038±0,746 ^{bc}	12,655±0,515 ^d	9,202±0,707 ^{abc}	10,264±0,688 ^c	7,220±0,466 ^a	8,160±0,778 ^{abc}	8,042±0,630 ^{ab}
Albumin	3,880±0,335 ^{ab}	3,738±0,364 ^{ab}	6,235±0,443 ^d	4,673±0,517 ^{bc}	5,081±0,368 ^c	3,187±0,281 ^a	3,360±0,323 ^a	2,977±0,213 ^a
Alfa 1-globülin	1,278±0,122 ^{ab}	1,083±0,112 ^{ab}	1,777±0,169 ^c	1,365±0,110 ^b	1,363±0,128 ^b	0,960±0,089 ^a	1,086±0,098 ^{ab}	1,143±0,127 ^{ab}
Alfa 2- globülin	1,785±0,1789 ^d	1,619±0,210 ^{cd}	1,347±0,115 ^{bcd}	0,850±0,110 ^{ab}	1,121±0,101 ^{ab}	0,931±0,080 ^{ab}	1,193±0,141 ^{abc}	1,413±0,177 ^{bcd}
Beta – globülin	1,933±0,125 ^b	2,398±0,242 ^b	2,357±0,091 ^b	1,652±0,131 ^a	1,970±0,155 ^{ab}	1,577±0,119 ^a	1,719±0,175 ^a	1,625±0,159 ^a
Gama- globülin	1,323±0,122 ^d	1,199±0,126 ^{cd}	0,938±0,094 ^{bc}	0,658±0,102 ^{ab}	0,727±0,076 ^{ab}	0,564±0,063 ^a	0,806±0,108 ^{ab}	0,882±0,057 ^{ab}

Korunma gruplarında; Total protein, albümin, alfa 1 globülin düzeylerinin, vitamin C verilen grupta kontrol ve florozis grubuna göre önemli oranda arttığı görüldü. Total protein tedavi vitamin E düzeyi önemli oranda düşük bulundu. Albümin düzeyleri korunma vitamin E ve C gruplarında yüksek bulundu. Alfa 2-globülin seviyesi, koruma gruplarında ve tedavi sonrası E ve vitamin C gruplarında kontrole kıyasla anlamlı olarak daha düşüktü. Beta ve gama globülin düzeyleri, önleme kombine ve tedavi vitamin gruplarında, kontrol ve florozis gruplarına göre daha düşük bulundu.

TARTIŞMA

Flor maruziyeti, protein sentezini ve salgılanmasını engellemekte ve proteinlerin bir zar bölmesinden diğerine taşınmasını etkilemektedir. NaF'ın toksik etkileri nedeniyle, standart yemle yetiştirilen farelere göre florüre maruz kalan farelerde daha az tüylü, soluk beyaz, parlak olmayan kürk ve siyah tırnak gibi protein yetmezliği belirtilerine rastlandığı bildirilmektedir (Mendoza ve ark., 2009; Karn ve Narasimhacharya, 2015; Sharma ve ark., 2018; Tian ve ark., 2020).

Wei ve ark. (2016), inflamatuvar cevap, pıhtılaşma, yara iyileşmesi gibi önemli tepkimelerde majör proteinlerin rol aldığını ve florozis patogeneğinde bu reaksiyonların etkilenmesinin önemli rolü olabileceğini, florür toksisitesi mekanizmasının anlaşılmasına katkıda bulunabileceğini ve florozis için potansiyel biyobelirteçler olarak hizmet edebileceğini bildirmektedir.

Florozisli bireylerde bazı polimorfik serum proteinlerinin konsantrasyonlarında farklılıklar olduğu, bir proteinaz inhibitörü olan transferrin (TF) konsantrasyonunun ve haptoglobulin (HP) konsantrasyonunun azaldığını bildiren bir çalışma mevcuttur (Makarov ve ark., 1999).

Serum proteinleri fizyolojik, beslenme, cinsiyet, çevresel ve genetik faktörlerden kolaylıkla etkilenir. NaF'ın nefrotoksik etkileri vardır ve nefropatinin neden olduğu protein kaybı; serum albümin, alfa 1, beta ve gama-globülin düzeylerinde düşüşe neden olur

(Karagül ve ark., 2000; Onat ve ark., 2002; Tian ve ark., 2020). Toplam protein, albümin, alfa 1, alfa 2 ve beta globülin fraksiyonlarının pek çok durumda değiştiği ve antioksidan tedavisi ile kontrol grubuna yaklaştığını bildiren çalışmalar vardır (Yüksek ve ark., 2017). Deneysel olarak indüklenmiş kronik florozisli ratlarda, vitamin C ve E'nin koruyucu ve terapötik tedavi uygulamaları ile anlamlı pozitif sonuçlar elde edilmiştir. (Öner ve ark., 2020). Bu olumlu sonuçlarla uyumlu olacak şekilde idrar flor düzeyleri de vitamin verilen bütün gruplarda anlamlı şekilde azalmıştır. Bu olumlu sonuçlarda rol oynayan moleküler mekanizmaları açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışma yapılması önerilmektedir.

Sunulan bu çalışmada, toplam protein düzeyi (gr/dl), tedavi sonrası vitamin E grubunda kontrolden düşük olarak, vitamin C koruyucu grubunda ise kontrole göre yüksek bulunmuştur. Total proteindeki bu değişimin, koruma ve tedavi gruplarında bulunan vitamin E ve vitamin C'nin NaF metabolizmasına katılması ve olası antioksidan işlevleri yerine getirirken protein mekanizmasını etkilemesinden kaynaklanmış olduğu düşünülebilir.

Kan albümini, kan ve diğer dokular arasındaki sıvı dengeleyici özelliğini korur. Protein kaybına neden olan fizyolojik ve patolojik durumlarda albümin azalır ve bu azalma immünoglobulin fraksiyonu ile dengelenir (Manojlović ve ark. 1993; Karagül ve ark. 2000; Onat ve ark., 2002; Murray 2003). Bu çalışmada, NaF ile vitamin E verildiğinde, albüminin arttığı görüldü. Bu durum, albüminin vücut bölmeleri arasındaki dengeleyici etkisi ve taşıyıcı rolünün vitamin E tarafından desteklenmiş olması ile ilgili olabilir.

Serum globülin seviyeleri, karaciğer hastalıklarının belirlenmesinde önemli olan diğer testlerle birlikte bilgi sağlayabilir. Akut ve kronik karaciğer hastalıkları, kronik enfeksiyonlar, akut yaygın glomerülonefrit, sarkoidoz, karsinom ve otoimmün hastalıklarda serum globülin fraksiyonu artar. Karaciğer hastalıklarında özellikle β-globülin fraksiyonunda önemli artış gözlenir (Karagül ve ark.,2000; Onat ve ark., 2002).

Alfa1 ve alfa2 bantlarında bulunan alfa1-antitripsin, alfa2-makroglobulin, haptoglobulin ve C3 proteinlerinin

birçok patolojik vakada azaldığı bilinmektedir. Serum lipoproteinindeki artışa bağlı olarak alfa globülin konsantrasyonları da artar. Protein kaybı olan enteropati ve nefropatilerde sentezin azalması veya kayıpların artması nedeniyle tüm bantlarda solukluk görülmektedir (Karagül ve ark. 2000; Onat ve ark. 2002).

Gama (γ) globülinler grubunda immünoglobulinler (Ig A, Ig M, Ig G, Ig E) yer almaktadır. Serum protein fraksiyonlarının değerlendirilmesinde; albümindeki azalma, gama fraksiyonundaki immünoglobulinlerin artışı ile dengelenir. Nefropati, protein kaybına neden olduğundan dolayı, gama globülünde de azalmaya neden olur (Karagül ve ark. 2000; Onat ve ark. 2002). Florür, diş florozisi olan çocuklarda tükürük immünoglobulin düzeyleri üzerindeki artırıcı etkisi nedeniyle, dental florozisli deneklerde çürüğün ilerlemesini durdurabileceği (Güzel ve ark., 2017), bildirilmiş olmakla beraber, florozisin inflamasyon yanıtına neden olduğunu bildiren çalışmalar vardır. iskelet florozisli hastalarda, bağışıklığın etkilenmesine bağlı olarak subklinik inflamatuvar reaksiyon, bir ihtimal olarak bildirilmiştir (Susheela ve Jethanandani, 1994). NaF, serum immünoglobulin A (IgA), immünoglobulin G (IgG) ve immünoglobulin M'yi (IgM) düşürmesi nedeniyle, farelerde kan hücrel ve humoral bağışıklık fonksiyonunu azaltabilir (Guove ark., 2017; Kuang ve ark., 2017). Bu çalışmada ise NaF uygulanması ile gama globülinlerinde herhangi bir değişiklik olmadığı, ancak NaF ile vitamin C ve E uygulanmasının, gama globülinlerini etkilediği ve azalmasına yol açtığı saptandı.

Bu çalışmada uygulanan dozda ve sürede gerçekleşen ve idrar flor düzeylerine göre florozisli olarak kabul edilen ratlarda, mevcut florozis düzeyine bağlı olarak literatür verilerinde belirtilen düzeyde albümin ve total protein düzeylerinde konsantrasyon ve % olarak kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü.

Bu çalışmada; deneysel florozis grubunda sadece, total serum proteinde yüzde (%) fraksiyon olarak alfa-1 önemli oranda azalırken ve beta globülinlerin arttığı tespit edildi. Korunma vitamin C, korunma kombine (Vit C+E) ve tedavi kombine (Vit C+E) gruplarında alfa 1 düzeyinin artarak kontrole yaklaştığı belirlendi. Beta globülin fraksiyonunun deneysel florozis grubunda önemli oranda arttığı ve vitamin verilen bütün gruplarda azalarak kontrol grubuna yaklaştığı tespit edildi. Diğer bütün yüzdeler bakımından, albümin ve A/G oranının korunma vitamin gruplarında anlamlı oranda arttığı, alfa 2'nin korunma grubunda azaldığı ve gama globülünün ise hem korunma hem de tedavi grubunda azaldığı gözlemlendi. Konsantrasyon olarak serum proteinlerinin, florozis grubunda kontrole göre değişmediği görüldü. Vitamin C gruplarında, albümin, total protein ve alfa 1'in arttığı, total proteinin ise vitamin E tedavi grubunda azalırken, diğer bütün tedavi gruplarında değişmediği belirlendi. Alfa 2, beta ve gama globülinler vitamin

C'den etkilenmezken, diğer gruplarda kontrol ve florozis gruplarında azalma olduğu saptandı.

SONUÇ

Bu çalışmada, NaF ve vitamin C, vitamin E'nin birlikte verildiği gruplarda, serum proteinlerinin miktar ve yüzdelik olarak etkilendiği, hem korunma hem de tedavi amaçlı vitamin kullanımının floroziste protein metabolizmasını etkilediği gösterilmiştir. Sonuç olarak, serum fraksiyonlarında yer alan proteinlerin spesifik olarak florozisten etkilenmesinden dolayı, önemli bir tanı ve tedavi takip parametresi olarak değerlendirilebileceği ve bu konuda daha ileri çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Etik Kurul Bilgileri: Tüm çalışma aşamaları ilgili kural ve yönetmeliklere uygun olarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu gözetiminde yürütülmüştür (13.11.2014-2014/12).

Çıkar Çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Abdel-Wahab WM.** Protective effect of thymoquinone on sodium fluoride-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *J Basic Appl Zool.*2013; 66: 263-270.
- Çetin S, Usta A, Ekici P, Dede S, Yüksek V.** Sarcptes ovis ile enfekte koyunlarda serum protein fraksiyon profili. *Atatürk ÜnivVet Bil Derg.* 2020;15(1):70-75
- Guan ZZ, Xiao KQ, Zeng, XY, Long YG, Cheng YH, Jiang SF.** Changed cellular membrane lipid composition and lipid peroxidation of kidney in rats with chronic fluorosis. *Arch Toxicol.* 2000; 74: 602-608.
- Guo H, Kuang P, Luo Q, Cui H, Deng H, Liu H, Lu Y, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L.** Effects of sodium fluoride on blood cellular and humoral immunity in mice. *Oncotarget.* 2017;8(49):85504-85515.
- Güzel KGU, Kirzioğlu Z, Adiloğlu AK, Ertürk MSÖ.** Effect of fluoride on salivary immunoglobulins and sialic acid. *Rev Assoc Med Bras.* 2017;63:320-323.
- Karagül H, Altintas A, Fidancı UR, Sel T.** Klinik Biyokimya. 2000;161-164. Medisan, Ankara.
- Karn SS, Narasimhacharya AV.** Physiologic and metabolic benefits of formulated diets and *Mangifera indica* in fluoride toxicity. *J Dietary Suppl.* 2015;12.
- Kasai K, Field JB.** Discrimination of multiple forms of phosphoproteinphosphatase in bovine hyroid. *Metabolism.* 1983; 32: 296-307.
- Kleinsasser NH, Weissacher H, Wallner BC, Kastenbauer ER, Harréus UA.** Cytotoxicity and genotoxicity of fluorides in human mucosaand lymphocytes. *Laryngorhinootologie.* 2001;80(4):187-190.
- Kuang P, Deng H, Cui H, Chen L, Fang J, Zuo Z, Deng J, Wang X, Zhao L.** Sodium fluoride (NaF) causes toxic effects on splenic development in mice. *Oncotarget.* 2017;8(3):4703-4717.
- Kubota K, Lee DH, Tsuchiya M, Young CS, Everett ET, Martinez-Mier EA, Snead ML, Nguyen L, Urano F, Bartlett JD.** Fluoride induces endoplasmic

- reticulum stress in ameloblasts responsible for dental enamel formation. *J Biol Chem.* 2005;280(24):23194-23202.
- Li Y, Schellhorn HE.** New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr.* 2007;137:2171–2184.
- Loft S, Møller P, Cooke MS, Rozalski R, Olinski R.** Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker? *Eur J Nutr.* 2008;47:19-28.
- Makarov SV, Spitsyn VA, Kravchuk OI, Bychkovskaia LS.** Qualitative and quantitative variation of serum proteins in fluorosis patients. *Genetika.* 1999;35(9):1305-1308.
- Manojlović Z, Kopitar Z, Lenardic A, Plavsić F.** Changes in plasma proteins and drug distribution in kidney and liver diseases. *Lijecnicki Vjesnik.* 1993;115:366–369.
- Mehmetoğlu I.** *Clinical Biochemistry Manual.* 2002;124–129. Konya: İnci Offset.
- Mendoza-Schulz A, Solano-Agama C, Arreola-Mendoza L, Reyes-Marquez B, Barbier O, Del Razo LM.** The effects of fluoride on cell migration, cell proliferation, and cell metabolism in GH4C1 pituitary tumour cells. *Toxicol Lett.* 2009;190:179-186.
- Møller P, Viscovich M, Lykkesfeldt J, Loft S, Jensen A, Poulsen HE.** Vitamin C supplementation decreases oxidative DNA damage in mononuclear blood cells of smokers. *Eur J Nutr.* 2004;43:267–274.
- Murray RK.** Plasma proteins and immunoglobulins. Chapter 50. In RK Murray, DK Granner, PA Mayes, VW Radwell (Eds.). *Harper's Illustrated Biochemistry.* 2003;(26th ed., pp. 580–582). New York: Mc Graw Hill Co.
- Onat T, Kaya E, Sozmen EY.** *Human Biochemistry,* 2002;p.184-218. Palme Publishing, Ankara,
- Öner A, Dede S, Yur F, Oner A.** The effect of vitamin C and vitamin E on DNA damage, oxidative status, and some biochemical parameters in rats with experimental fluorosis. *Fluoride.* 2020;53(1 Pt 2):154-163.
- Sharma S, Parashar P, Sharma S, Sharma KP.** Ameliorating role of lycopene, tomato puree, and spirulina + tomato puree on the hematology of fluoride-exposed swiss albino mice. *J Diet Suppl.* 2018;15(6):827-841.
- Susheela AK, Bhatnagar M.** Reversal of fluoride induced cell injury through elimination of fluoride and consumption of diet rich in essential nutrients and antioxidants. *Mol Cell Biochem.* 2002;234/235:335–340.
- Susheela AK, Jethanandani P.** Serum haptoglobin and C-reactive protein in human skeletal fluorosis. *Clin Biochem.* 1994;27(6):463-468.
- Tian X, Xie J, Chen X, Dong N, Feng J, Gao Y, Tian F, Zhang W, Qiu Y, Niu R, Ren X, Yan X.** Deregulation of autophagy is involved in nephrotoxicity of arsenite and fluoride exposure during gestation to puberty in rat offspring. *Arch Toxicol.* 2020;94(3):749-760.
- Tóthová C, Mihajlovičová X, Nagy O.** The Use of Serum Proteins in the Laboratory Diagnosis of Health Disorders in Ruminants. Inbook: *Ruminants – The Husbandry, Economic and Health Aspects.* DOI: 10.5772/intechopen.72154, 2017.
- Wang AG, Xia T, Chu QL, Zhang M, Liu F, Chen XM, Yang KD.** Effects of fluoride on lipid peroxidation, DNA damage and apoptosis in human embryohepatocytes. *Biomed Environ Sci.* 2004;17:217-222.
- Wei Y, Zeng B, Zhang H, Chen C, Wu Y, Wang N, Wu Y, Shen L.** iTRAQ-based proteomics analysis of serum proteins in Wistar rats treated with sodium fluoride: insight into the potential mechanism and candidate biomarkers of fluorosis. *Int J Mol Sci.* 2016;17(10):E1644.
- Yukse V, Dede S, Ceylan E.** The electrophoretical determination of serum protein fractions in lycopene treated experimental diabetic rats. *Cell Biochem Biophys.* 2013;67(3):1283-1289.
- Yur F, Mert N, Dede S, Deger Y, Ertekin A, Mert H, Yaşar S, Doğan I, Işık A.** Evaluation of serum lipoprotein and tissue antioxidant levels in sheep with fluorosis. *Fluoride.* 2013; 46: 90-96.
- Yüksek V, Ekici P, Dede S, Çetin S, Usta A.** Profiles of serum protein fractions pre-treatment and post-treatment in lambs with pica disorder. *Turk J Vet Res.* 2019;3(2):67-71.