

283916

T. C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

**ÇİNKO EKSİKLİĞİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
Zn VE Ca KONSANTRASYONLARININ DEĞİŞİMİNİN VE
ÇENE GELİŞİMİNİN BİYOKİMYASAL, RADYOLOJİK VE
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

ORAL DİAGNOZ - RADYOLOJİ (DİŞ) PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

Dr. ÖZKAN ARIKANTÜRK

ANKARA 1982

T.C.
HACETTEPE UNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

ÇİNKO EKSİKLİĞİ OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
Zn VE Ca KONSANTRASYONLARININ DEĞİŞİMİNİN VE
ÇENE GELİŞİMİNİN BİYOKİMYASAL, RADYOLOJİK VE
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

ORAL DİAGNOZ-RADYOLOJİ (DİŞ) PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

Dt. ÖZKAN ARIKANTÜRK
REHBER ÖĞRETİM GÖREVLİSİ: Dr. IŞIK DEMİRÖZ

ANKARA 1982

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No:</u>
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
3. GEREÇLER ve YÖNTEM.....	16
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇLAR.....	50
7. ÖZET.....	51
8. KAYNAKLAR.....	52

GİRİŞ

Eser elementler arasında, canlıların büyüme ve gelişimi üzerinde en etkilisi çinkodur. Çinkonun bu özelliği ilk olarak 1869'da Raulin'in *Aspergillus Niger* bitkisinin büyümesi için çinkonun gerekli olduğunu bulmasından sonra ortaya çıkmıştır(75).

Giderek artan ve son yıllarda yoğunlaşan araştırmalarla (13,49,67,70) bu eser elementin tüm canlı organizmalarda olduğu gibi insanların da büyüme ve gelişiminde temel bir rol oynadığı ortaya çıkarılmıştır.

Özellikle beslenme problemlerinin olduğu sosyo-ekonomik yönden az gelişmiş ülkelerde(72,73,87) ve ülkemizde(30,31) yapılan çalışmalarda, malnütrisyonlu genç hastalarda çinko eksikliği tabloları ve bunlara bağlı gelişim bozuklukları görülmüştür.

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda annedeki çinko eksikliğinin sonucu olarak yavrularda doğumsal iskelet deformiteleri, kafatası ve çene anomalileri(48,50,85) ve özellikle genç hayvanların büyüme ve gelişiminde arızalar görülmüştür(13,15,49).

Çinko, canlı vücudundaki bütün dokularda mevcut olduğu gibi(16,87,90) en fazla olarak da kemik ve dişlerde bulunmaktadır(10,24,42). Yapılan çalışmalarda, bu eser elementin osteogenesis ve endokondral ossifikasyon üzerinde rolü olduğu ortaya çıkarılmıştır(20,25,47). Çinkonun kemik gelişimi üzerindeki bu önemli rolü, deneysel çalışmalarda hayvanların özellikle uzun kemiklerinin epifiz plâklarında incelenmiştir(24,61,89).

Çene kemiklerinin gelişimi ve mineral içeriği üzerinde çinko eksikliğinin etkileri, diğer ekstremitelerde kemikleriyle karşılaştırmalı olarak fark ve benzerlikleri yönünden yeterince araştırılmamıştır(12,14,90).

Bir başka eser element olan fluor'un kemik ve diş gelişimi, diş çürüğünün önlenmesi üzerindeki etkin rollerinin belirlenmesinden sonra(36), kemik ve diş dokularında fluor'a benzer bir dağılım ve fonksiyon gösteren çinko elementi de dişhekimliği alanında araştırmalara konu olmaya başlamıştır. Çinko üzerindeki çalışmaların fazla olmaması, eksiklik durumunda çene ve dişlerde görülen değişikliklerle ilgili verilerin azlığı ve kesin olmayışı, bizi bu çalışmaya yöneltmiştir. Laboratuvar hayvanları arasında çinko eksikliğinin en kolay oluşturulduğu ratlarda, diş ve çene gelişiminin en hızlı olduğu süttten kesilme sonrası döneminde görülen değişikliklerin bir kaç farklı parametreyle incelenmesi ve açıklanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızın birinci aşamasında, eksiklik şartlarında mandibulanın Zn ve Ca konsantrasyonlarındaki değişimler, ekstremitelerde kemiklerinden femur ile karşılaştırmalı olarak incelenecektir. Ayrıca vücudun en fazla mineralize olan dokularından dişlerin Zn ve Ca içerikleri de çalışmamıza katılmıştır.

İkinci aşamada da, eksiklik durumunda mandibuler gelişimin durumu, mandibuler kondil büyüme kırırdağı ve femur epifiz plaklarının etkilenmesi incelenecektir.

Bu amaçlarla planlanıp gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda elde edilen biyokimyasal, radyografik ve histolojik bulgular bilgilerinize sunulmuştur.

GENEL BİLGİLER

Yüzyıllı aşkın bir süredir devam eden araştırmalarla önce basit bitkilere, daha sonrada çeşitli hayvanlara kadar, canlıların büyüme ve gelişmesinde çinkonun yeri belirlenmiştir(82). 1934'te Todd, Zn'nun ratlar için önemli bir besin maddesi olduğunu keşfetmiştir(23). 1961'de Prasad'ın İran ve Mısır'da yaptığı araştırmalarla, insanlarda Zn eksikliği tabloları tarif edilmiştir(72,73). Bu eser element daha sonraları gelişen teknik olanakların da katkısıyla hayvan deneylerinden insanlardaki radyo-izotop çalışmalarına kadar geniş bir uğraş konusu olmuş ve temel bir besin maddesi olduğu kanıtlanmıştır(73).

Çinkonun canlı organizması üzerindeki etkilerinin açıklanabilmesi, herşeyden önce insan ve hayvanlarda, vücut dokularındaki normal konsantrasyonlarının bilinmesine bağlıdır. Bu nedenle konu üzerindeki çalışmalar son yıllarda bu yönde yoğunlaşmıştır.

Çinko doğada yaygın olarak, bileşikler halinde ($ZnO, ZnCO_3$) bulunur, yer kabuğunun % 0,004'ünü oluşturur(71). 70 kg.lık bir erkekte total vücut çinkosu 1,4-2,3 gr. arasında değişir. Bu oran demirin biyolojik toplamının yarısı kadar, bakırdan ise 20 misli fazladır(87). Bu durumda vücudun enzimatik fonksiyonları, protein sentezi, karbonhidrat metabolizması ve kemik yapımı normal olarak devam eder(42). Analiz edilen insan dokularının Zn içerikleri, hayvanlarınkı ile paralel bir dağılım gösterir(2,86). Toplam vücut çinkosunun % 20'si deri ve kıllarda bulunmaktadır(87).

İnsanın tüm kanı 100 ml.de yaklaşık 880 µg Zn içermektedir. Bu miktarın % 12'si serumda, % 88'i ise eritrosit ve lökositlerdedir(13). Bir çok araştırma, serum Zn düzeyinin şok, enfeksiyon ve malignite gibi çok çeşitli klinik hallerde ve stres şartları altında deprese olduğunu göstermiştir(74,80). Göz, karaciğer, epitel dokusu ve iskelet kasları ile erkek seks organlarında rölatif olarak yüksek Zn vardır(73). Kemikler diğer dokulara göre daha çok çinkoyu yapılarında bulundururlar (150-200 ppm) ve vücudun Zn deposudurlar(86). Kemik dokusunda yapılan eser element tayin çalışmaları bazı zorluklar gösterir; çünkü elde edilen sonuçlar kemiğin yaş, kuru veya kül ağırlık oluşuna göre değişir(13). Normal diyet şartlarındaki ratların taze kemiklerinde 77-233 ppm (2,86), kül halindeki kemiklerinde ise 237-424 ppm. arasında çinko vardır(2,35,84).

Vücut dokuları arasında en yüksek değerler, dişlerin mine ve dentinlerindedir. Bu oran % 0,02 kadardır(33). Bu konuda ilk çalışmalardan Cruickshank(1936), daimi dişlerde 211-260 ppm. Zn bulmuştur(53). Brudevold(1975) ise yine daimi dişlerde 430-2100 ppm. arasında Zn tespit etti(22). İnsan dişlerinin minelerinde yapılan başka bir çalışmada saptanan 21 eser element arasında en yüksek konsantrasyona çinkonun sahip olduğu (241 ppm), bunu silisyum, alüminyum ve demir gibi elementlerin takip ettiği görülmüştür(59). Dentinde ise daha az fakat önemli ölçüde çinko vardır(174 ppm) (32).

Kemik ve dişlerin çinko konsantrasyonları hayat boyunca aynı miktarda değildir(13,86). Zn eksik diyetle beslenen hayvanlar bazı dokularından, özellikle kemik ve dişlerinden çinko

kaybederler(16,42).. Diyetle çinko alımı fazla olursa kemik ve dentin değerleri de artış gösterir. Minede fazla artış olmaz; çünkü yapısı daha stabldır(51). Ratlarda incisiv dişler en fazla çinko içerir ve diyeter şartlardaki değişikliklerden de en az etkilenirler(16).

Çinko elementi, hidroksiapatit kristalleri yardımıyla kolayca mineye bağlanabilir ve diş dokularında fluora yakın konsantrasyonlarda bulunur(36). Çinkonun mevcudiyeti minenin asitte çözünürlüğünü oldukça azaltır(5,53). Bu eser elementin de fluor gibi, diş çürüğü üzerinde etkileri olabileceği düşünülerek bu konudaki çalışmalar başlatılmıştır(5).

Rat diyetlerine Zn eklenmesinin çürük üzerindeki etkileri araştırılmış, fakat belirgin bir ilişki gösterilememiştir(8). Brown'ın araştırmalarında ise rat yavruları, diş olgunlaşmasının kritik dönemi olan erüpsiyon öncesi Zn eksik diyetle beslenmişlerdir. Karyojen diyet uygulamasından 5 hafta sonra kemik, diş ve serum Zn konsantrasyonları azalmış ve molar dişlerde yaygın çürükler görülmüştür(21).

Fang'ın çalışmasında da, post-erüptif devrede ratlardaki Zn eksikliği sonucu, diş ve kemiklerdeki çinkonun kontrollere göre azaldığı, ayrıca uygulanan karyojenik diyetin molar dişlerde çürük sıklığını arttırdığı gösterilmiştir. Çinko bu dönemde diş minelerinin mineralizasyonunu etkilemekte ve eksikliğinde çürüğe karşı hassasiyet artmaktadır(34).

Huxley'in çalışmasında, diyet çinkosu canlının normal ihtiyacından fazla olunca mineralize dokuların Zn konsantrasyonlarının çok yüksek değerlere ulaştığı gösterilmiştir. (Kemik: 2408 ppm., Dentin: 1057 ppm.) (51).

İnsanların günlük çinko gereksinimlerinin belirlenmesi için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu miktar, diyetteki Ca ve protein oranına, çevre ısısına, yaşa, vücut ağırlığına ve şahsın fonksiyonel aktivitesine göre değişir. Ayrıca kronik enfeksiyon ve parazitler, stres, malign tümörler ve kan kaybı da ihtiyacı arttırır(24,87). Amerikan Milli Bilimler Enstitüsünün önerdiği günlük ihtiyaç, bebek ve çocuklarda 5-10 mg, yetişkinlerde 15 mg, hamilelerde ise 20-25 mg.dır(6). Bu ihtiyaçlar hayvansal proteini bol bir diyetle karşılanabilir(73). Normal bir insanda gıda ile alınan günlük Zn 12-13 mg.dır(82). Alınan Zn'nun 6 mg.ı vücutta kalır; geri kalan feçes, idrar ve ter ile atılır(87). Diyeter çinkonun % 40-50'si ince ve kalın barsaklardan absorbe edilir(87).

Bazı yazarlar Vitamin D'nin Zn absorpsiyonunu artırdığını rapor etmişlerdir(54,57). Bazıları ise bunu kabul etmezler (87). Hoekstra'ya göre bu artış Vitamin D'nin direkt etkisi ile değil, iskeletsel kalsifikasyon ve büyümenin stimülasyonuna refakat eden artan Zn ihtiyacına karşı bir cevabın sonucudur(46).

Çinkonun absorpsiyondan sonra dokulardaki birikimi, Zn⁶⁵ kullanılarak incelenmiş, en hızlı Zn alımı ve kaybı pankreas, dalak ve karaciğerde bulunmuştur. İskelet, saçlar ve dişlerde Zn daha yavaş birikir ve daha uzun dönemler için bağlanır(10,13,90).

1961 yılında Prasad, İran'da malnütrisyonlu çocuklar arasında demir eksikliği anemisi, hepatosplenomegali, hipogonadizm ve boy kısalığı gösteren 11 vaka yayınladı. Bu çocukların kemik büyümesi geri kalmış, epifizyal kapanma gecikmişti. İdrar ve kan çinkoları düşüktü(72). 1963'te yine Prasad, aynı belirtileri

gösteren bir gurup Mısırlı çocuğu yayınladı. Bunlarda ilk belirtilerinin dışında paraziter hastalıklarda vardı(73). Bu iki guruptaki hastalar, kepekli tahıl unu ile beslenip hemen hiç hayvansal protein almayan kimselerdi. Diyetlerine Zn ilave edilince büyüme ve gelişimleri hızlandı; belirtilerin çoğu kayboldu; saç ve serum çinkoları yükseldi(23,72).

Birçok gelişmemiş ülkenin ortak tarafı yaygın boy kısalığıdır. Ayrıca kronik enfeksiyonlar da sıktır. Beslenme sorunları olan, sosyo-ekonomik yönden gelişmemiş bütün ülkelerde Zn yetmezliği belirtilerinin yaygın olması beklenebilir(87). Benzer şartlara sahip ülkemizde de özellikle kırsal kesimde kız ve erkek çocuklarda aynı sendromun varlığı Çavdar ve Arcasoy'un araştırmalarıyla gösterilmiştir(30,31). Bizde ilk olarak 1943'te Tayanç, benzer bir sendrom tarif etmiş; fakat Zn seviyelerini araştırmamıştır(31). ABD'de de çinko malabsorbsiyonu sonucu veya kronik hastalıklara bağlı yetmezlik tabloları yayımlanmıştır(78).

Halsted, kronolojik yaşları 19-20 olan malnütrisyonlu çocuklarda büyüme ve cinsel gelişmede gerilik, kapanmamış büyüme kırkırdakları yanında, ortalama kemik yaşının 10,6 olduğunu görmüş ve serum çinkolarını düşük bulmuştur. Zn tedavisinden sonra büyüme ve cinsel gelişimin hızlanması, klinik tablodan çinkonun sorumlu olduğunu göstermektedir(40). Ronaghy'de benzer bulgulara sahip hastalarının Zn tedavisine cevap verdiğini bildirmiştir(76).

Bütün bu verilerden, Zn eksikliği halinde ortaya çıkan klinik tablonun en belirgin şekilde, gelişmekte olan çocuk ve gençlerde görüldüğü anlaşılmaktadır. Erginlerde gelişmeye ilişkin olgunlaşma tamamlanmış olduğundan olay daha sinsi seyreder(73).

Çinkonun insanlar için gerekli olduğu gösterildikten sonra bu elementin canlı organizmadaki görevleri deney hayvanları üzerinde daha ayrıntılı olarak incelenmiştir. Esasen bir elementin biyolojik önemi, en iyi şekilde, hayvanlara bu elementin hiç bulunmadığı veya çok az bulunduğu besinler verilerek anlaşılabilir(13).

Hayvan deneylerinde de benzer bulgular ortaya çıkmıştır. Hamilelik dönemindeki çinko eksikliği, yeni doğan yavrularda konjenital malformasyonlara yol açmaktadır(48,51). Bu konudaki ilk gözlem, Zn eksik beslenen tavukların yumurtalarındaki embriyonik anomalileri gösteren Blamberg(18) tarafından yapılmıştır. Hurley ve Swenerton'da araştırmalarında(48,49,50) çinkodan mahrum diyetle beslenen gebe ratların fetüslerinin % 90'ında rezorbsiyon veya önemli konjenital malformasyonlar bulmuşlardır. Gebelik sırasında geçici gıdasal eksiklik dönemleri bu duruma yol açmaktadır. Vak'aların % 43'ünde cleft pale, % 28'inde kısa mandibula veya mandibulanın yokluğu görülmüştür. Bugün için bu konudaki en iyi hipotez, bozulmuş nükleik asit sentezinin, gelişmenin farklı hızlarında değişikliklere yol açtığı, bununda histogenez ve organogenezde senkronizasyonu bozduğudur(48). Çinko eksik rat embriyolarında 3H-Thymidine ile yapılan ölçümlerde DNA ve protein sentezinin deprese olduğu gösterilmiştir(33,77). Çinkodan mahrum fetüslerin karaciğerlerin den hazırlanan kromozom yaymalarında, kromozom kusurları, özellikle eksiklikler ve terminal kopukluklar görülmüştür(48). Bunlar malformasyonların esas nedeni olabilir.

İnsanlarda gebelik süresi çok uzun olduğundan malformas-

yonları göstermek çok güçtür; fakat bazı yazarlar insanlardaki merkezi sinir sistemi anomalileri ile annedeki Zn eksikliği arasında ilişki olabileceğini ileri sürmüşlerdir(48,85).

Çinko eksikliğinin en önemli sonuçlarından biri hayvan ve insanlarda büyüme geriliğine yol açmasıdır. Ratlarda büyüme için çinkonun gerekli olduğu, eksiklik durumunda büyümenin geri kaldığı gösterilmiştir(13,49,70). Bu durum muhtemelen hücre bölünmesinde bir azalma sonucu ortaya çıkar(87). Ayrıca iskelet gelişiminin, epifiz hatlarındaki gelişimin duraklamasına bağlı olarak geri kalmasında başka bir etkidir(13,89). Zn eksik diyetle beslenen anaların emzirdiği rat yavrularında da büyüme duraklar(49).

Memeli canlılarda büyüme hormonu gelişim ve büyüme üzerinde önemli bir rol oynar; fakat Zn eksikliğinde, hipofizden salgılanan bu hormonun etkilendiği gösterilememiştir(4). Bu hormonun etkilerini gösterebilmesi için, polipeptid yapılı faktörlere ihtiyaç vardır. Bunlardan en önemlisi karaciğerde yapılan ve lineer büyümeden sorumlu olan Somatomedin-A'dır(70). Hall ve arkadaşları(39), büyüme hızı ile Sm-A aktiviteleri arasındaki pozitif ilgiden bahsederek, kemik ve diş gelişimi geri kalmış çocuklarda Sm-A'nın serum seviyelerinin azalmış olduğunu bildirmişlerdir. Öner'in çalışmasında da Zn eksikliğinde ratlarda görülen büyüme geriliğinin nedeninin protein sentezinin bozulması yanında Sm-A'nın da azalışı olduğu gösterilmiştir(70).

Çinko, çeşitli besinlerde yaygın olarak bulunur; fakat esas olarak hayvansal proteinli gıdalarda yoğunlaşmıştır(82).

Diyet kimyasal analizinde, yeterli miktarda total Zn içerse bile, bitkisel proteinlerde doğal olarak bulunan fitat'lar (inozitol hekzofosfat) çinko ile suda erimeyen kompleksler yaparak çinkonun absorpsiyonunu inhibe ederler(23). Bu durum hayvan deneylerinde de gösterilmiştir(68). Prasad'ın orijinal incelemeleri, Zn eksikliğine sık rastlanan İran köylülerinin kepekli undan mayasız ekmele beslendiklerini ve bunun çok yüksek miktarda fitat içerdiğini göstermiştir(68). Önemli bir besin maddesi olan soya fasulyesi proteinide, içerdiği fitik asit nedeniyle yapısındaki çinkonun alınmasını engellemektedir(60).

Diyeter çinkonun normal absorpsiyon ve dağılımını etkileyen bir başka önemli faktörde diyetin Ca içeriğidir. Yüksek düzeylerdeki diyeter kalsiyumun deney hayvanlarında Zn eksikliği belirtilerini ortaya çıkardığı gösterilmiştir(51). Diyeter Ca iki misli arttırılırsa, ağırlık artışında önemli oranda azaldığı belirlenmiştir(35,51). Bu durumda diyeter çinkonunda arttırılması gerekmektedir(51). Diyetteki kalsiyumun azaltılması ise çinkonun kemik ve dişlerde dahafazla toplanmasına yol açmaktadır(6,83). Hurley ve arkadaşları, çinko eksikliğinin teratojenik etkilerinin diyetteki kalsiyumun azaltılması ile hafifletilebildiğini ileri sürmüşlerdir(50). Yapılan bu çalışmalarda, çinkonun kalsiyum ile antagonizm gösterdiği bulunmuştur.

Diyeter Zn ilavesinin insandaki cerrahi yaraların iyileşmesini hızlandırdığı, ilk kez Pories tarafından belirtilmiştir (74). Ayrıca yanık yaraları ve cilt ülserlerinin tedavisinde de oral Zn ilavesinin olumlu sonuç verdiği yayınlanmıştır(80).

Rat ve farelerde, Zn eksikliğinin erken dönemlerinde

kaba ve kırık kıllar, kıl dökülmesi, ayak tabanları ve ağız çevresinde ödem görülür(70,73,87). Histolojik incelemelerde deri, ağız ve özofagus mukozalarında epitelyal hiperkeratinizasyon ve parakeratoz geliştiği, epitel kalınlığının arttığı gözlenmiştir(3,26,64,87).

1971 yılında Henkin, azalmış tad (hipogözia) ve koku alma (hipozmia) ile karakterize, Zn eksikliğine benzer bir sendrom tanımlamıştır. Bu olgularda iştah ve kilo kaybı görülmekte, saç ve serum çinkoları azalmaktadır. Tad ve koku duyularındaki azalma, daha önce gösterilen histolojik değişikliklere bağlı olabilir. Oral Zn tedavisi bu hastalarda yararlı olmuştur(44). Henkin bu bozuklukların yetişkinlerde yaygın rahatsızlıklar olduklarını ve bu şekilde tedavi edilebileceklerini bildirmektedir. Hambidge'de genç çocuklarda benzer belirtiler gösteren bir sendrom tanımlamış ve bu olguların daha önce kronik bir enfeksiyon geçirdiğini açıklamıştır. Bu çocukların da büyümeleri çinko ilavesi ile düzelmiştir(41).

Son çalışmalar, çinko eksikliğinde görülen tad duyusu bozukluklarında tükürük bezlerinin etkilendiğini(27,43), viskozitenin arttığını ve ağız florasındaki bakterilerin çoğaldığını göstermiştir(73).

Son 15 yıl içinde 70'den fazla metalloenzimin Zn ile ilişkili olduğu bulunmuştur(7,71). Uluslararası Biyokimya Birliğinin tanımladığı 6 ana enzim gurubunun herbirinde en az bir adet çinko enzimi örneği vardır. Bunlar tüm canlılarda mevcut olup karbonhidrat, lipid, protein ve nükleik asit sentez veya yıkımını kapsayan çeşitli metabolik olaylara katılırlar(75).

Enzimler, çinko gibi bir metal iyonunu, sadece katalitik sistemlerinin tamamlayıcı bir parçası olarak değil, aynı zamanda yapılarının düzenini devam ettiren bir faktör olarak gereksinirler(75). Çinko eksikliğinde oluşan hücre membranı harabiyeti, hücresel transportta anomalilere ve enzim aktivitelerinde azalmalara sebep olabilir(87).

Çinkonun biyolojideki her yerde bulunma ve temel olma özelliği periyodik cetveldeki yerinden ileri gelir. IIB grubu bir element olup "d" alt yörüngesi tamamen doludur. Daima + 2 yükseltgenmiş olup biyolojik tepkimelerde herhangi bir reaksiyona girmez. En önemli karakteristiği kompleks iyonlar oluşturabilme yeteneğidir. Bu özelliği nedeniyle, diğer elementlerden farklı olarak saptanması güçtür(75).

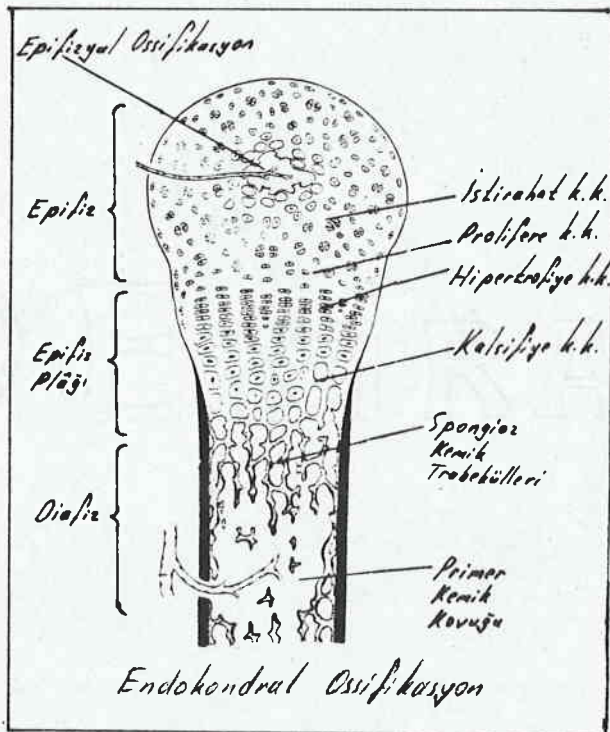
Eser elementlerden bazıları ve özellikle çinko, kemik ve kıkırdak hücrelerinin normal fonksiyonlarıyla ilgili olan enzim sistemlerinin ana unsurlarıdır(24,87). Çinko ile kemik matriksinin organik ve inorganik unsurları arasında belirgin bir ilişki vardır ve bu durum kemiğin fiziksel özelliklerini etkileyebilir(45).

DeneySEL eksiklik durumlarında laboratuvar hayvanlarının kemiklerinde çeşitli morfolojik bozukluklar görülmüştür(61,65). Yapılan histolojik incelemelerde en belirgin olarak epifiz plağının daraldığı(13,61), osteoblastik aktivitenin, kollagen formasyonunun ve kondrogenezin azaldığı, kıkırdak matriksi miktarının arttığı gözlenmiştir(24,25,47). Eser element dengesizliklerinin canlıdaki kemik gelişimini nasıl etkilediğini incelemeden önce, yeni kemik yapımı (osteogenez) olayının nasıl olduğunu incelemek gerekir.

Yeni kemik yapımı, kondral ve intramembranöz ossifikasyon olarak ikiye ayrılır.

I. Kondral Ossifikasyon: Mezenşim içinde önce kıkırdak dokusu teşekkülü ve bu dokunun yavaş yavaş rezorbsiyonu ile yerini kemik dokusunun almasından meydana gelir(52). Kemikleşme, kıkırdak modelin yüzeyinde olursa, Perikondral Ossifikasyon adını alır; enine büyümeyi sağlayarak kompakt kemiği oluşturur(19).

Endokondral Ossifikasyonda ise ilk önce kıkırdak modelin içine giren kan damarları etrafında yerleşen, mezenşimden farklılaşmış kondroklastlar, kıkırdak hücrelerini parçalayarak primer kemik kovuğunu oluşturur(şekil 1). Bu safhada epifiz bölgesindeki kıkırdak hücreleri de düzensiz, farklı guruplar halinde hücre yatakları içerisine yerleşmişlerdir. Bu bölgeye istirahat



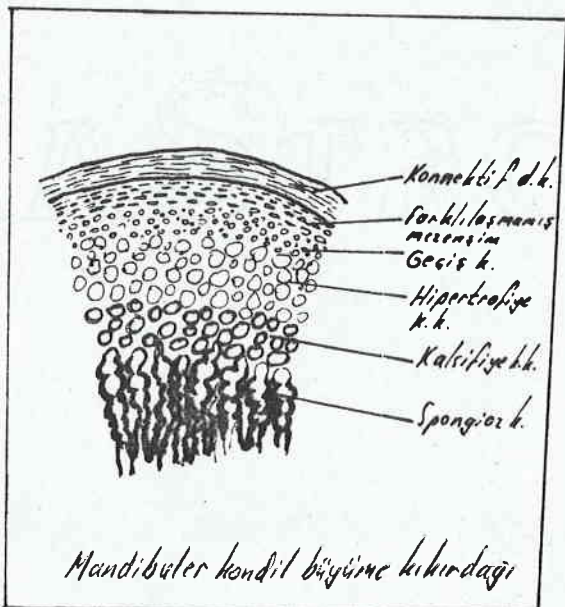
Şekil: 1

kıkırdağı kuşağı(RC) adı verilir. Diafizde hücre kaybı başlayınca bu tabakadaki hücrelerde de çoğalma başlayarak prolifere kıkırdak kuşağı(PC) oluşur. Kıkırdak hücreleri sert kemik kabuğu nedeniyle yassılaşıp kolonlar halinde dizilirler. Sitoplazmalarına madde toplayarak irileşirler ve hipertrofiye kıkırdak kuşağını(HC) yaparlar. Hücrelerde vakualizasyon ve kalsiyum çökmesi sonucu

kalsifiye kıkırdak kuşağı(CC) ortaya çıkar. Primer kemik kovu-
ğuna yaklaşıncaya, kondroblastların etkisiyle erozyon başlar.
Bu sırada osteoblastlar kan damarları boyunca dizilerek diafiz-
de spongioz kemik trabeküllerini(SB) meydana getirirler. Bütün
bu olaylar kemiğin uzunlamasına büyümesini sağlar(52).

Diafiz bölgesi henüz embriyo safhasında kemikleşmeye
başlarken, epifiz bölgesi ancak doğum sonrası kemikleşir. Bir
süre sonra epifiz ile diafiz arasında kemikleşmemiş bir tabaka
kalır. Büyüme olayında çok önemli rolü olan ve farklı tabaka-
lardan oluşan bu disk şeklindeki kıkırdak yapıya Epifiz Plağı
denir. Radyolojik olarak kemik dokusundan daha radyolüsenttir.
Büyüme çağıının sonunda bu plağın kemikleşmesiyle büyüme durur(19).

II. Intramembranöz Ossifikasyon: Doğrudan doğruya me-
zenşim veya bağ dokusu içinde oluşur. Kafatasının yassı kemik-
lerinin gelişmesinde rolü vardır(52). İlkönce embriyodaki me-
zenşim taslaklarının ortasında kemikleşme başlar. Osteoblast-



Şekil: 2

lar, kalsifiye olmamış osteo-
id dokuyu meydana getirir.
Kan damarları çevresinde tra-
bekülalar ve spongioz kemik
oluşur. Mezenşim membranı da
periostu ve kompakt kemiği
yapar. Maksilla ve mandibu-
lanın önemli bir kısmı, int-
ramembranöz ossifikasyon ile
oluşur(19). Mandibulanın en
aktif büyüme merkezi olan

mandibuler kondil, başlangıçta intramembranöz ossifikasyon ile meydana gelmiş olsa dahi sonradan endokondral ossifikasyona benzer bir gelişim gösterir. Sekonder bir büyüme kıkırdığı olarak fonksiyon görür. Epifiz plâğından bazı farklılıklar gösterir(14,15,38).

Gelişim çağındaki mandibuler kondilde şu tabakalar gözlenir: Kondilin yüzeyini örten konnektif doku kuşağı(CTL), bunun altında farklılaşmamış mezenşim(UM), geçiş kuşağı(TL), kıkırdak hücrelerinin guruplar halinde dizildikleri hipertrofiye kıkırdak kuşağı(HC), kalsifiye kıkırdak kuşağı(CC) ve spongioz kemik(SB). Uzun kemiklerin epifizindeki proliferasyon bölgesi kondilde yoktur; farklılaşmamış mezenşim bu rolü yüklenir. Kondilin gelişimiyle beraber kondil sathı geriye, yukarı büyür, mandibula da öne, aşağı itilir (17,28).

Ratlarda yapılan çalışmalar, bazı farklılara rağmen kondil kıkırdığının insanınkiyle benzerlik gösterdiğini göstermiştir(29). Ratlarda doğum sonrası 23 ile 30. gün arası kondil gelişimi hızlanır, 45. günden sonra ise iyice yavaşlar(28,29). Kondil kıkırdığı fibröz örtünün yeni doku meydana getirmesiyle büyürken, epifiz plakları interstisiyel bir büyüme gösterir(58). Yani kondilde bağ dokusu proliferasyonu varken, epifizde kıkırdak proliferasyonu vardır(81) Olgun yaşa ulaşıncaya epifiz hattı kapanırken kondilde tam bir kemikleşme hiç bir zaman olmaz. Aralarındaki bütün bu farklılıklara rağmen bu iki endokondral büyüme bölgesi de nütrisyonel, hormonal ve fonksiyonel çeşitli uyarılara, deneysel bozukluklara cevap verirler(13,15,28,29).

Büyüme ve iskelet gelişimini etkilediği daha önce gösterilen çinko eksikliği şartlarında, mandibuler gelişimin araştırılması için, epifiz plaklarıyla karşılaştırmalı olarak mandibuler kondil büyüme kıkırdığının da incelenmesi yararlı sonuçlar sağlayabilir.

GEREÇLER ve YÖNTEM

Bu çalışma, Hacettepe Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezinin katkısı ile gerçekleştirilmiştir.

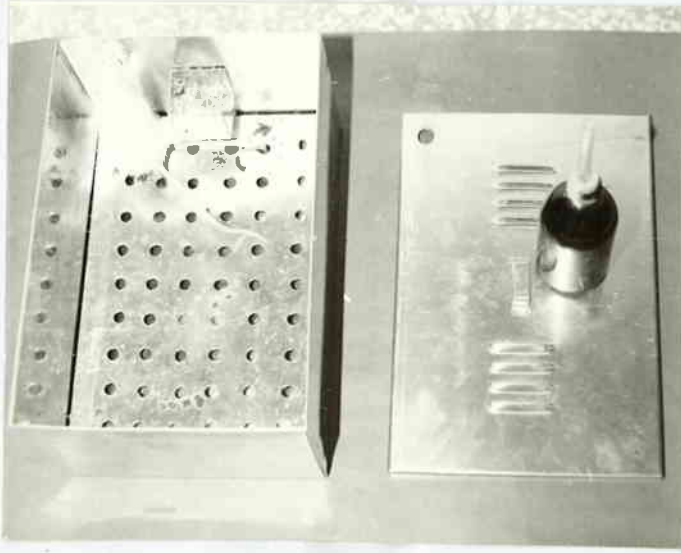
Çinko eksikliği en iyi olarak ratlarda oluşturulabildiğinden, çalışmalarımızda deney hayvanı olarak Swiss Albino tipi, ortalama 75,3±7,6 gr. olan 30 adet süttten yeni kesilmiş, yaklaşık 21 günlük erkek rat yavrusu kullanılmıştır. Bu hayvanlar iki guruba ayrılmıştır. 15 tanesi deney süresince emaye laboratuvar kafeslerinde, normal laboratuvar diyeti ve musluk suyu ile beslendiler ve kontrol gurubu olarak kullanıldılar(Resim 1).



Resim: 1

Resim 1: Paslanmaz çelik ve normal laboratuvar kafesleri.

Diğer 15 rat ise deney gurubunu oluştuyordu. Bunlar 30x20x15 cm. boyutlarındaki paslanmaz çelikten, lehimsiz olarak yapılmış özel kafeslere, her kafese bir hayvan düşecek şekilde yerleştirildi. Böylece çevresel çinko kontaminasyonu olasılığı azaltıldı. Kafes kapakları delikti; ayrıca tabandan 1 cm. yukarıya yerleştirilen delikli bir taban yardımıyla, hayvanların gaita yeme (koprofaji) olasılığı ortadan kaldırıldı(Resim 2). Kafes yetersizliği nedeniyle deney gurubu iki ayrı bölümde deneye alındı.



Resim: 2

Resim 2: Özel paslanmaz çelik deney kafesi ve deney hayvanı.

Deney gurubu ratlara aşağıda terkibi verilen, Swenerton tarafından önerilmiş(84,85) ve modifiye edilerek özel hazırlanan diyetten her gün 10 gr. verildi. Bu deney diyetinin çinko seviyesi Perkin Elmer 300 Model Atomic Absorbtion Spectrophotometer cihazı yardımıyla ölçüldüğünde 0,75-1,2 ppm/gr. Zn içerdiği görüldü. Plastik şişelerde verilen ve 0,11-0,15 ppm/ml. Zn içeren deiyonize sudan istedikleri kadar içmelerine izin verildi.

Çinkosu az diyetin terkibi:

Soya fasulyesi proteini	30,0 gr.%
Glukoz	57,3 gr.%
Mısır özü yağı	8,0 gr.%
Tuz karışımı	4,0 gr.%
DL-Methiamine	0,7 gr.%
Vitamin karışımı (Sayfa 19, bölüm c'de)	

a. Soya fasulyesi proteininin hazırlanışı: Yem sanayi-
inden temin edilen yağı alınmış soya fasulyesi küspesinin 8
volüm musluk suyu içinde süspansiyonu yapılarak pH 4,3'e
ayarlandı. 5 gr/kg. Na₄EDTA (disodium ethylenediamine tetra-
acetat) ilave edilerek 30 dakika ısıtılmaksızın karıştırıldı.
Çökmesi beklendikten sonra posa atıldı. Edta ile muamele 3 de-
fa tekrarlandıktan sonra 5 defa deiyonize su ile yıkandı; su
oda ısısında uçurulup kullanılmak üzere plastik bir kaba kondu.

Ayrıca günlük ihtiyaçları karşılamak için aşağıda belir-
tilen miktarda vitamin karışımı %5'lik glukoz içinde, A,D ve E
vitaminleri mısır özü yağında eritilip günlük diyetlere kondu.

b. Tuz karışımı terkibi:

CaCO ₃	600 gr.
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	220 gr.
K ₂ HPO ₄	650 gr.
NaCl	336 gr.
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	250 gr.
FeSO ₄ ·7 H ₂ O	50 gr.
MnSO ₄ ·7 H ₂ O	4,6 gr.
KI	1,6 gr.
CuSO ₄	0,6 gr.

c. Vitamin karışımı terkibi:

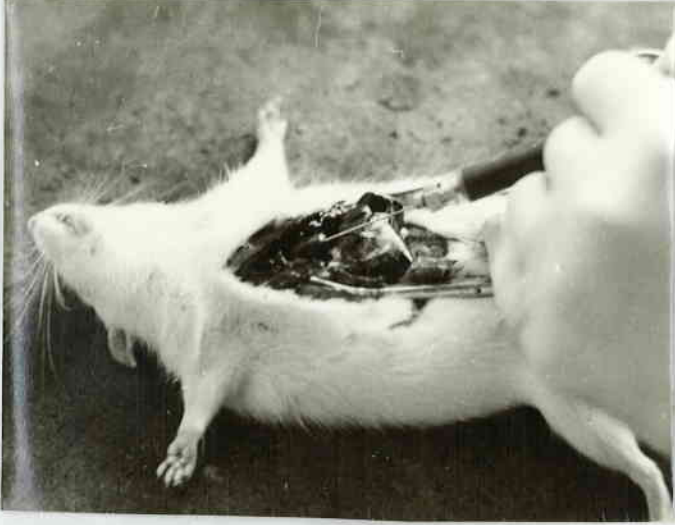
Vitamin A palmitate	150 Ü/gün
Vitamin D	15 Ü/gün
Alfa-Tacopherol	1 mg/gün
Calcium Pentothenate	500 µg/gün
Thiamine HCL	300 µg/gün
Paraamino benzoic asit	100 µg/gün
Riboflavin	100 µg/gün
Nicotinic asid	300 µg/gün
Folic asid	6 µg/gün
Biotin	2,5 µg/gün
Vitamin B 12	0,3 µg/gün
Cholin Chloride	10,0 mg/gün
İnositol	5,0 mg/gün
Ascorbic asid	1,0 mg/gün

Deney süresi olan iki hafta boyunca ratlar iki günde bir, hassas bir terazi ile tartılarak ağırlık değişimleri kaydedildi.

Kafesler hayvan bakıcısı tarafından iki günde bir, eldiven kullanılarak deiyonize su ile yıkandı. Beslenme esnasındaki çinko kontaminasyonunu en aza indirmek için, paslanmaz çelikten iki ayrı yem kabı kullanıldı. Bu beslenme işlemleri sırasında da eldiven kullanılarak, hayvanların bakıcının elini yalayarak çinko almasının önüne geçildi. Ratlar haftada iki kere muayene edilerek fiziki bulgular kaydedildi.

Deneyin bundan sonraki safhalarında kan alma ve laboratuvar işlemleri için kullanılan cam gereçleri çinkodan arıtmak için, potasyum bikromat ile doymuş hale getirilen H_2SO_4 solüsyonunda 24 saat bekletildikten sonra defalarca musluk suyu, 2-3 defa distile ve 3 defa da deiyonize su ile yıkandı ve etüvde kurutuldu.

İki haftalık deney süresinin sonunda, deney gurubunda çinko eksikliğinin beklenen belirtileri meydana geldikten sonra, her iki gurup hayvandan hafif eter anestezisi altında, göğüs açılarak kardiyak ponksiyonla kan alındı(Resim 3).



Resim: 3

Resim 3: Kardiyak ponksiyonla kalp'ten kan alınması.



Resim: 4

Resim 4: Perkin Elmer 300 Atomic Absorption Spectrophotometer.

Kan örnekleri paslanmaz çelik iğneler ve polietilen disposable şiringalarla toplandı. Her örneğe antikoagülan olarak iki damla % 30 sodyum sitrat ilave edildi; hemoliz olan örnekler tekrarlandı. Kan numuneleri 3000 dakika/devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve çalışılincaya kadar -20°C'de saklandı. Daha sonra deiyonize su ile 200 defa dilüe edilen serumda Zn ve Ca değerlerinin tayini için, Perkin Elmer 300 Model Atomic Absorption Spectrophotometer cihazından faydalandı(Resim 4). Kan alma işleminden sonra, ölen hayvanların sağ femurları yerinden çıkarıldı; dikkatlice dokularından sıyırıldı ve densitometrik çalışma için hazırlandı. Ayrıca kafatasları, Kranyumun orta sagittal suturasından başlayarak, sagittal plana paralel şekilde bistürü yardımıyla ikiye ayrıldı (Resim 5).



Resim:5

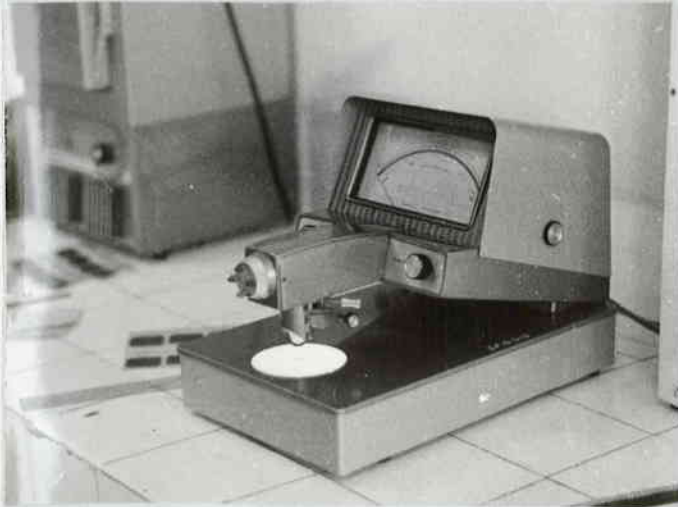
Resim 5: Sagittal yönde ikiye ayrılmış kafatası.

Hayvanların sağ yarım kafaları, Kodak Ultraspeed-D gurubu periapikal röntgen filimleri üzerine, kesit yüzü filme gelecek



Resim: 6

Resim 6: Lateral kafa ve femur radyograflarının çekilmesi.



Resim: 7

Resim 7: Filimlerin densitometrik analizlerinin yapılması.

şekilde yerleştirildi. Mikrodensitometrik kemik ölçümlerinde voltaj ve banyo şartlarından ileri gelen değişimleri gidermek amacıyla filimlerde 6 mm alüminyuma eşdeğer kalibrasyon sağlayan step-wedge kullanıldı. 50 Kvp, 7 mA'lik Siemens-Heliodont röntgen cihazında 20 cm. target-filim mesafesinde, 0,50 sn. ışınlanarak lateral standart kafa grafileri elde edildi(Resim 6) Aynı şekilde, hazırlanan sağ femurların da standart pozisyonda filimleri çekildi. Deney ve kontrol gurubu filimlerinin banyosu aynı süre ve ısıda yapıldı. Filimler daha sonra Ankara Nükleer Araştırma Merkezinde Macbeth Quanto log-R Densitometer cihazında (Model No: TD-102) diffüz transmisyon densitesi (D.T.D.) olarak okundu(Resim: 7)

Ölçümler, lateral kafa filimlerinde angulus mandibula bölgesinde ve incisiv dişin minesini üzerinde yapıldı. Femurların ise proksimal ve distal uçlarının orta noktasında, iki kortekse eşit uzaklıktaki bir noktadan yapıldı(Resim:8,9)



Resim: 8



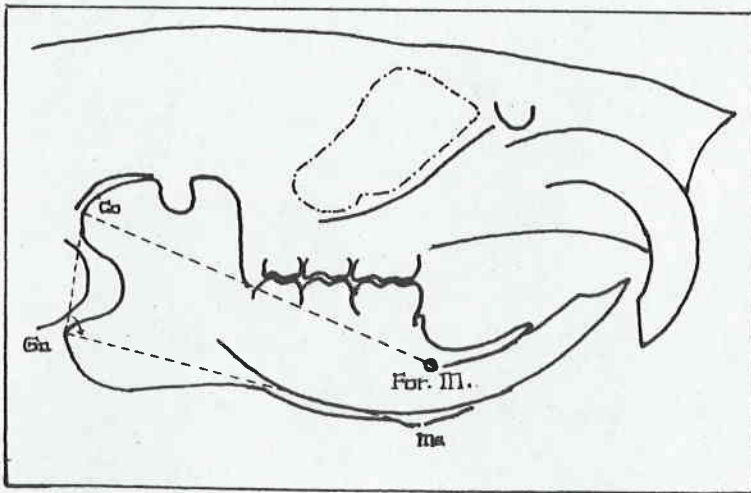
Resim: 9

Resim 8: Lateral kafa grafisi ve step-wedge.

Resim 9: Femur grafisi ve step-wedge.

Her noktadan üç defa yapılan ölçüm sonuçlarının ortalaması alınarak densite değerleri bulundu. Ayrıca filimlerdeki step-wedge'in 6 mm.lik basamağının ölçümü de yapıldı. Çıkan bu step-wedge densite değerlerinin ortalama değerlerden sapmaları, kemik densite sonuçlarına ilave edilerek veya çıkarılarak hata payı hesabı yapıldı.

Diyete bağlı olarak mandibulanın büyüme ve gelişiminde oluşan değişiklikleri gözlemek için, elde edilen standart sefalogramlar üzerinde, Ohyama(69) ve Schlienger'in(79) metodlarından modifiye edilen bir teknikle sefalometrik ölçümler yapıldı. Literatürde, Zn eksikliğinin belirtileri arasında mandibula kısalığı ve mandibula açısının büyümesi belirtildiği(48) ve kondil, mandibulanın büyümesinde esas rolü oynadığı için(29), çalışmamızda kondil boyu ve mandibula açılarının ölçümü yapıldı. Mandibula açısı için, kondil kırırdağının altında kalan kemik trabeküllerinin esas eksenine ile mandibuler düzlem arasındaki açı ölçülmüştür(Co-Go-Me açısı). Kondil boyu içinde, kondil kırır-

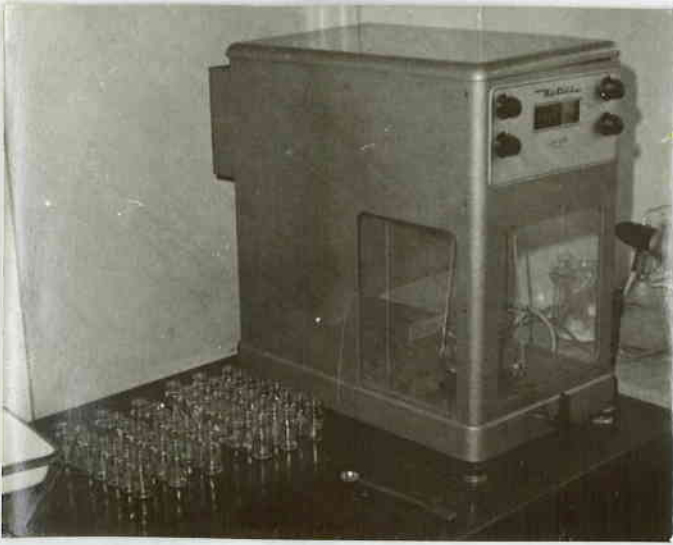


Şekil: 3

Şekil 3: Lateral kafa grafisi üzerinde sefalometrik çizim.

dağının posterior kısmı ile büyüme ve gelişimden pek fazla etkilenmeyen for.mentale noktası arasındaki mesafe ölçülmüştür. Ölçümlerde kolaylık sağlamak için, lateral filimler standart 7x9 cm. ebadında büyütülerek fotoğrafkartlarına basılmış ve ölçümler bunların üzerinde, noktalar işaretlenerek yapılmıştır(Şekil 3).

Sağ yarım kafanın lateral radyogramlarının çekiminden hemen sonra mandibulalar 15x diseksiyon mikroskopunda dikkatlice disseke edilerek yumuşak dokularından sıyrıldı. Sağ mandibulalar ve maksiller insisiv dişler özel penslerle soketlerinden çıkarıldı; dişlerin pulpalari çıkarıldıktan sonra hassas terazide ayrı ayrı tartıldı(Resim 10). Geri kalan mandibulanın daha çok kompakt kemik içeren ramus mandibula ve kondil bölgesi de ayrılıp tartıldı. Aynı şekilde sağ femurların proksimal epifiz uçları kırılıp ayrılarak tartıldı. Bütün kemik ve diş örnekleri standart ve temiz cam şişelerde numaralanıp elektrik



Resim: 10

Resim 10: Kemik ve diş örneklerinin hassas terazide tartılması.

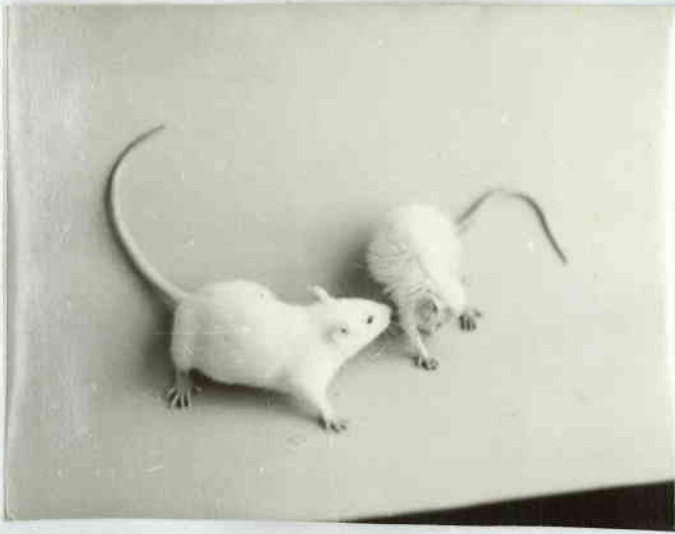
fırınında 70°C'de ağırlığı değişmez hale gelene kadar 48 saat kurutuldu. Bu örnekler, McBean'ın(63) tanımladığı yönteme göre hazırlanan asit karışımında (%70 HClO₄.%30 2.H₂O₂) eritilip Atomic Absorbtion Spectrophotometer'da Zn ve Ca değerleri tayin edildi. Geri kalan sol yarım kafadaki mandibulalar aynı yöntemle disseke edildikten sonra çıkarılan sol femurlarla beraber içerisinde %10 nötral formalin bulunan solüsyona (%37-40 formaldehit sol.100 cc.+ Su 900 cc.) konuldu. Bu solüsyon içerisinde 48 saat bekletilerek tespit edildi. Tespit işi tamamlandıktan sonra kemik ve dişlerin yumuşaması için sulandırılmış dekal (%90 formik asit+ distile su 950 cc.) içerisine konularak 96 saat bekletildi. Kemik ve dişlerde yumuşama olduktan sonra su ile yıkanarak yoğunluğu gittikçe artan alkolden geçirildiler ve dehidre edildiler. Xylol içerisinde iki saat tutulan doku örnekleri, parafine gömülerek bloklama gerçekleştirildi. Gömme işlemi standart olarak yapıldı. Mandibulalar ve femurlar longitudinal olarak yönlendirilip kesite hazırlandı. Kesitler 6 mikron kalınlığındaydı. Böylece boyamaya hazır hale getirilen parçalar, Hematoxylen-Eosin boyası ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda incelendi. En aktif büyüme alanları olan femurun proksimal epifiz plağı ve mandibular kondilin siyah-beyaz fotoğrafları çekildi ve 7x9 cm. büyüklüğünde fotoğraf kartlarına basıldı.

Histolojik incelemelerin dışındaki parametrelerin sonuçlarının istatikselsel değerlendirilmesinde, verilerin dağılımının çan eğrisine uygunluğu "F" testi ile sınıandıktan sonra, sonuçlar student "t" testine uygulandı.

BULGULAR

I. Hayvanların genel görünümüleri: Normal laboratuvar rat diyeti ve musluk suyu ile beslenen kontrol gurubundaki 15 rat, deney süresince sağlıklı, beyaz, parlak tüylü olup iştah ve aktiviteleri normaldi. Bu hayvanların kilolarında bir azalma olmadı; günlük gıdalarınının tümünü tükettiler(Resim 11).

Deney gurubunu oluşturan ve çinkosu az diyet verilen 15 ratta ise, birinci haftanın sonundan itibaren iştah ve aktivite azaldı; tüyler parlaklığını kaybederek dökülmeye başladı, seyrekleşti. Ayrıca arka ekstremitelerde, ayak tabanlarında ve ağız çevresinde ödemler meydana geldi. Deney süresinin sonunda ise hayvanların bir kısmında kanguruya benzer bir tablo oluştu(Resim12)



Resim: 11

Resim 11: Kontrol ve deney guruplarından ratların görünüşü.



Resim: 12

Resim 12: Çinko eksikliğine giren ratlarda kanguru pozisyonu.

II. Ağırlık değişiklikleri: Deney süresince kontrol gurubundaki 15 ratın ortalama ağırlıklarında anlamlı bir artış görülürken ($p < 0,05$), deney gurubundaki hayvanların ortalama ağırlıklarında aynı ölçüde anlamlı bir azalış görüldü ($p < 0,05$).

III. Serum çinko düzeyleri: Kontrol gurubunu oluşturan 15 ratın serum çinko seviyesi ortalama $152,9 \pm 22,7 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. iken, çinko eksikliği yapılan ratlarda bu değer $90,4 \pm 9,3 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. olarak saptandı. Deney gurubundaki bu azalış, istatistik olarak oldukça büyük önem taşıyordu ($p < 0,01$).

IV. Femur çinko düzeyleri: Kontrol gurubunun 1 gr. kuru femurlarındaki ortalama çinko düzeyi, $100,8 \pm 4,4 \mu\text{g}/\text{gr}$. olarak

hesaplanırken, deney gurubunda ortalama $81,2\bar{7} 7,4 \mu\text{g}/\text{gr.}$ a düştü. Deney gurubundaki bu azalış oldukça önemliydi ($p < 0,01$).

V. Mandibula çinko düzeyleri: 1 gr. kuru mandibulanın içerdiği çinko miktarı kontrol gurubunda $109,5\bar{7} 6,0 \mu\text{g}/\text{gr.}$, çinko eksikliği olan grupta ise $98,9\bar{7} 3,9 \mu\text{g}/\text{gr.}$ olarak hesaplandı. Deney gurubunu oluşturan 15 ratın ortalama mandibula çinko seviyelerindeki bu azalış önemli bulundu ($p < 0,05$).

VI. İncisiv diş çinko düzeyleri: Kontrol gurubundaki ratların incisiv diş ortalama çinko düzeyleri $75,5\bar{7} 4,4 \mu\text{g}/\text{gr.}$ iken, deney gurubunda $71,8\bar{7} 6,5 \mu\text{g}/\text{gr.}$ olarak bulundu. Bu iki grup arasında istatistiki bir fark bulunamadı ($p > 0,05$).

VII. Serum kalsiyum düzeyleri: Kontrol gurubundaki ratların ortalama serum kalsiyum düzeyleri $13,2\bar{7} 1,8 \text{mg}/100 \text{ml.}$ iken, deney gurubundaki değer $8,5\bar{7} 1,1 \text{mg}/100 \text{ml.}$ olarak bulundu. İki grup arasındaki bu fark önemliydi ($p < 0,01$).

VIII. Femur kalsiyum düzeyleri: Kontrol gurubunda 1 gr. kuru femurun ortalama kalsiyum düzeyi $211,2\bar{7} 9,4 \text{mg}/\text{gr.}$ olarak bulunurken, deney gurubunda ortalama $181,7\bar{7} 5,6 \text{mg}/\text{gr.}$ a düştü. Deney gurubundaki bu azalış önemliydi. ($p < 0,01$).

IX. Mandibula kalsiyum düzeyleri: Kontrol gurubunun 1 gr. kuru mandibulasındaki ortalama kalsiyum $209,1\bar{7} 4,9 \text{mg}/\text{gr.}$ iken, deney gurubunda $194,5\bar{7} 5,2 \text{mg}/\text{gr.}$ a düştü. Deney gurubundaki kalsiyum miktarı önemli bir azalış göstermişti ($p < 0,01$).

X. İncisiv diş kalsiyum düzeyleri: Kontrol gurubundaki 15 ratın incisiv dişlerinin kalsiyum seviyeleri ortalama $415,6\bar{7} 28,9 \text{mg}/\text{gr.}$, çinko eksikliği oluşturulan grupta ise $408,3\bar{7} 13,5 \text{mg}/\text{gr.}$ olarak bulundu. Deney ve kontrol grupları arasında

istatistiki olarak bir fark bulunamadı ($p > 0,05$).

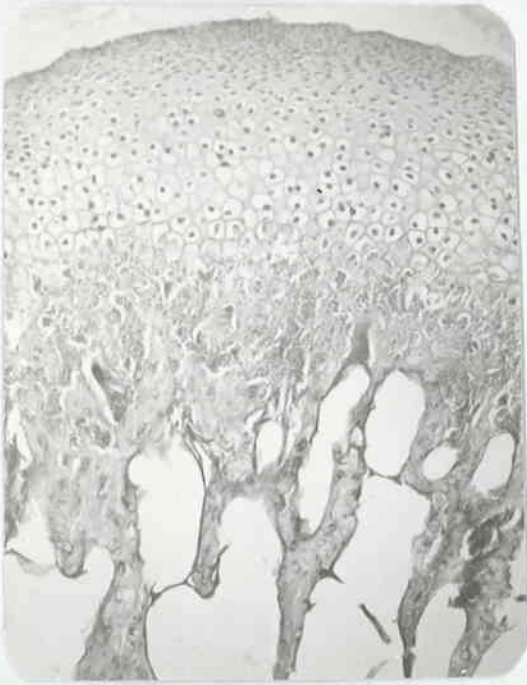
XI. Femur kemiği densitesi değerleri: Kontrol gurubunun ortalama femur densitesi $109,4\bar{7} \ 3,3$ DTD. olarak ölçülürken, deney gurubundaki ratlarda bu değer $127,9\bar{7} \ 8,2$ DTD.ye yükselmiş olarak bulundu. Bu sonuç da, aradaki fark bakımından oldukça önemliydi ($p < 0,01$).

XII. Mandibuler kemik densitesi değerleri: Kontrol gurubundaki 15 ratın ortalama mandibula densitesi $96,3\bar{7} \ 6,6$ DTD. iken, çinko eksik diyetle beslenen deneklerin ortalama mandibuler kemik densitesi $106,6\bar{7} \ 5,0$ DTD. olarak saptandı. Deney gurubundaki densite değeri artışı oldukça önemliydi ($p < 0,01$).

XIII. İncisiv diş densitesi değerleri: Kontrol gurubundaki ölçümlerde ortalama incisiv diş densitesi $101,4\bar{7} \ 6,2$ DTD. olarak bulundu. Deney gurubundaki ölçümlerde elde edilen $106,0\bar{7} \ 5,9$ DTD değeri ile kontrol gurubu değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$).

XIV. Mandibula açısı değerleri: Kontrol gurubunu oluşturan 15 ratın sefalogramları üzerindeki ölçümlerde ortalama mandibula açısı $84,5\bar{7} \ 4,0$ derece olarak bulunurken, deney gurubunda ortalama $89,3\bar{7} \ 2,5$ derece elde edildi. Bu iki grup arasında da önemli bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

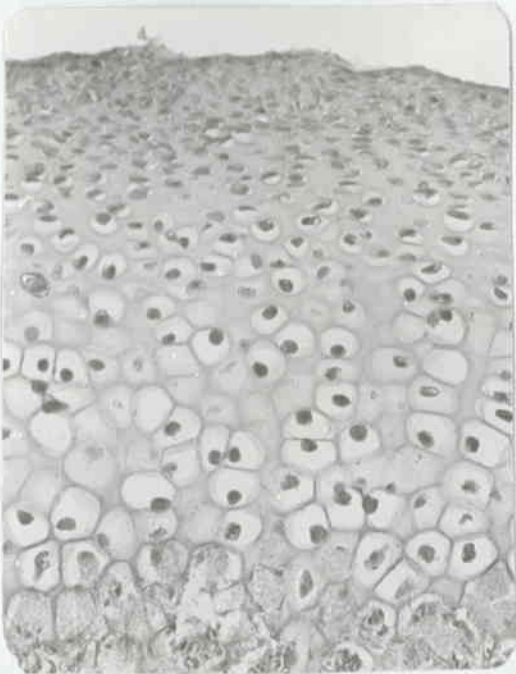
XV. Kondil boyu ölçümleri: Kontrol gurubunda kondil boyu ortalama uzunlukları $45,0\bar{7} \ 2,3$ mmx3 olarak elde edilirken, deney gurubuna ait diagramlardaki ölçümlerde ortalama uzunluk $38,3\bar{7} \ 3,0$ mmx3'e düşmüştü. Deney ve kontrol gurupları arasında önemli bir fark vardı ($p < 0,05$).



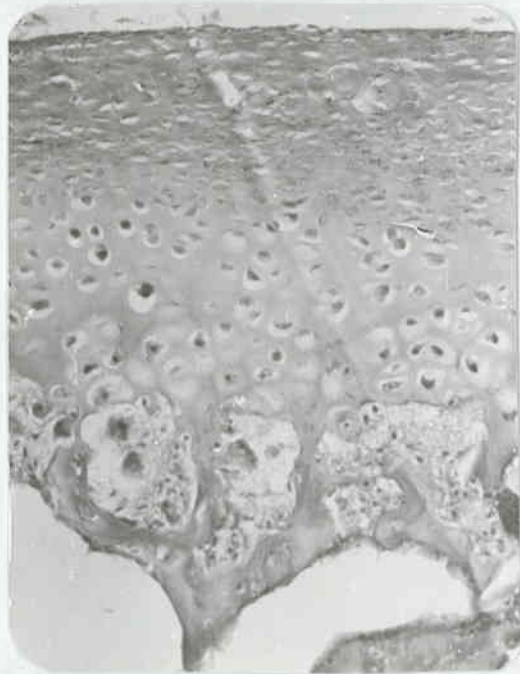
Resim 13: Kontrol gurubu
Mandibuler kondil.
x180 H.E.



Resim 14: Deney gurubu
Mandibuler kondil.
x180 H.E.



Resim 15: Kontrol gurubu
Mandibuler kondil
x450 H.E.



Resim 16: Deney gurubu
Mandibuler kondil.
x450 H.E.

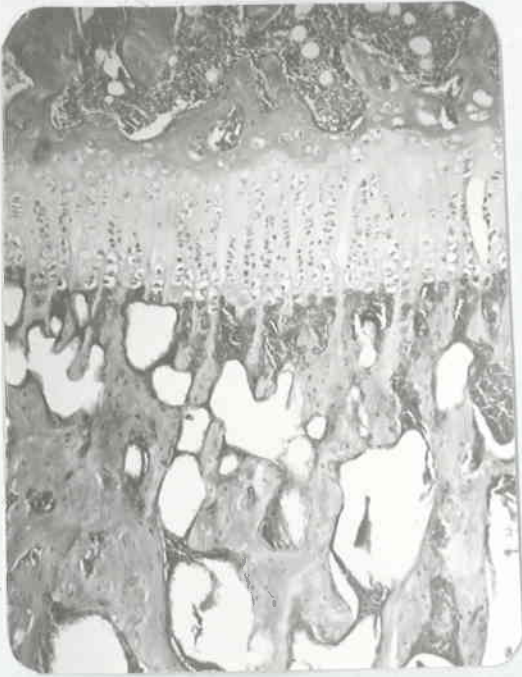
XVI. Mandibuler kondil kıkırdığı histolojik bulguları:

Deney hayvanlarının mandibuler kondilleri, kontrollardan daha kısa idi. Kondilin posterior kısmının büyüme tabakalarının total kalınlığının, kontrollerle karşılaştırıldığında, deney ratlarında azaldığı dikkati çekti. Bununla uygun olarak hipertrofiye kıkırdak kuşağında da bir azalma mevcuttu (Resim: 13,14,15,16). Bu kuşakta hücreler daha azdı ve kontrol gurubunda hipertrofi daha fazlaydı. Geçiş tabakası da azalmıştı. Farklılaşmamış mezenşimin görünüş ve kalınlığında aşikâr bir değişiklik yoktu. Kalsifiye kıkırdakta hücreler küçük ve deney gurubunda daha seyrek yerleşmişti. Metafizyal spongiosanın trabekülleri daha az ve kaba idi. Kartilajinöz öz materyali daha seyrek, osteoblastlar da sayıca azalmıştı. Ayrıca nematopoetik kemik iliği hemen hemen erozyon çizgisine kadar uzanmıştı.

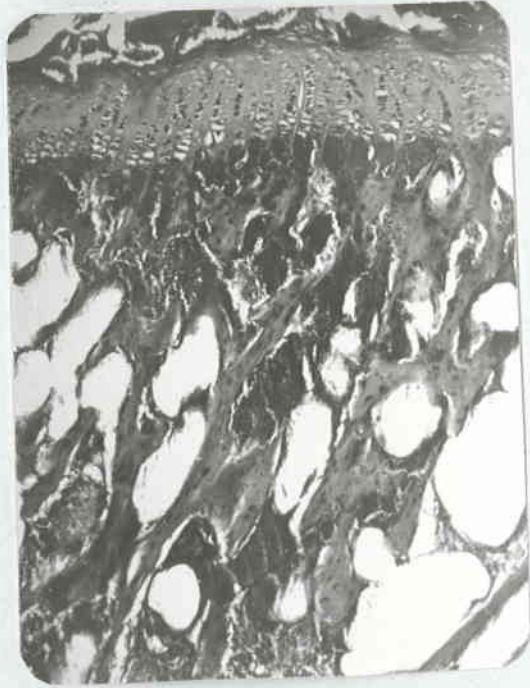
XVII. Femur proksimal epifiz plağı histolojik bulguları:

Deney gurubundaki hayvanların femurlarının proksimal uçları, mikroskopik incelemede küçük büyültmede, kontrollere göre biraz deforme ve küçülmüş bulundu. Ayrıca proksimal uçdaki epifiz plakları da kontrol gurubuna göre önemli ölçüde incelmış bulundu (Resim: 17,18,19,20).

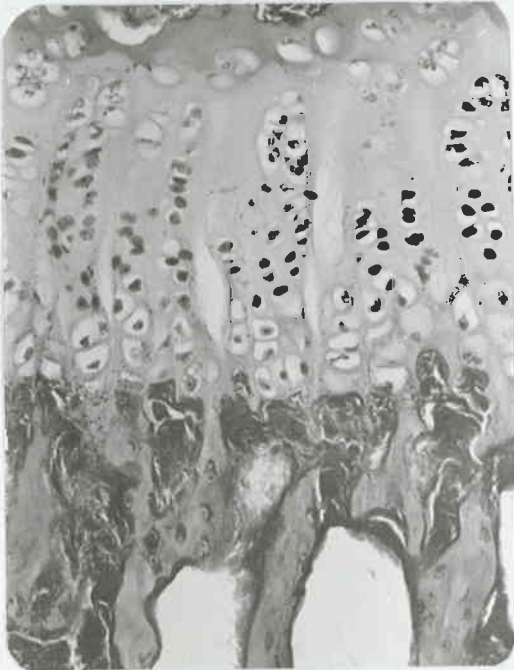
Kesitlerin mikroskopik incelemesinde, deney hayvanlarındaki kondrositlerin, epifiz plağının bütün kuşaklarında özellikle prolifer ve hipertrofiye kıkırdak kuşaklarında azaldığı görüldü. Hipertrofiye kıkırdak kuşağındaki kıkırdak hücrelerinin sitoplazmalarının azaldığı, vakuoller meydana geldiği görüldü. Normal kolumnar yapı biraz bozulmuştu.



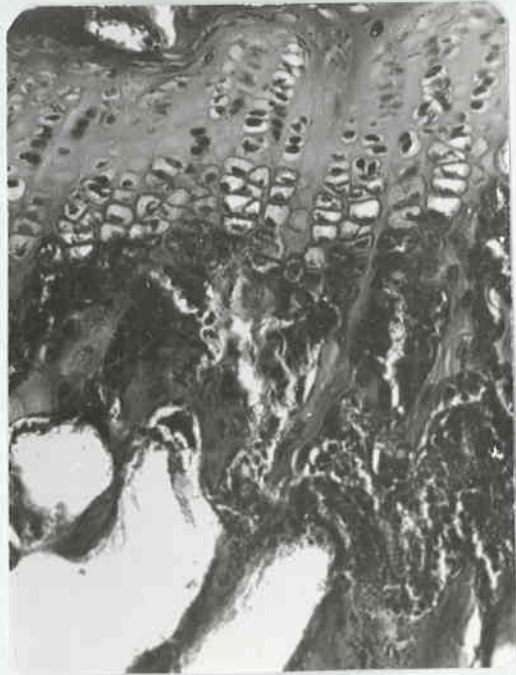
Resim 17: Kontrol gurubu
Femur proksimal epifiz plağı
x180 H.E.



Resim 18: Deney gurubu
Femur proksimal epifiz plağı
x180 H.E.



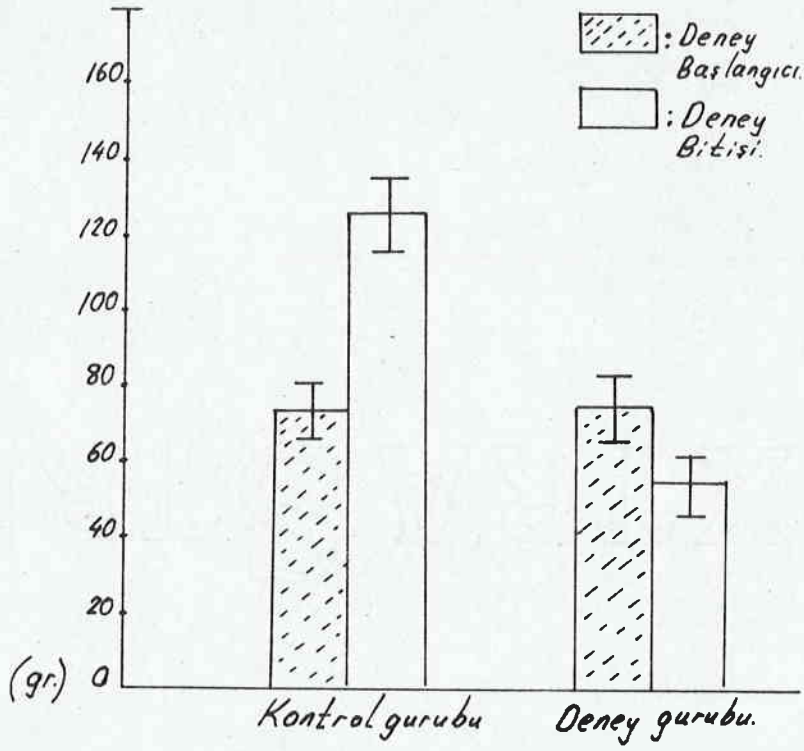
Resim 19: Kontrol gurubu
Femur proksimal epifiz plağı
x450 H.E.



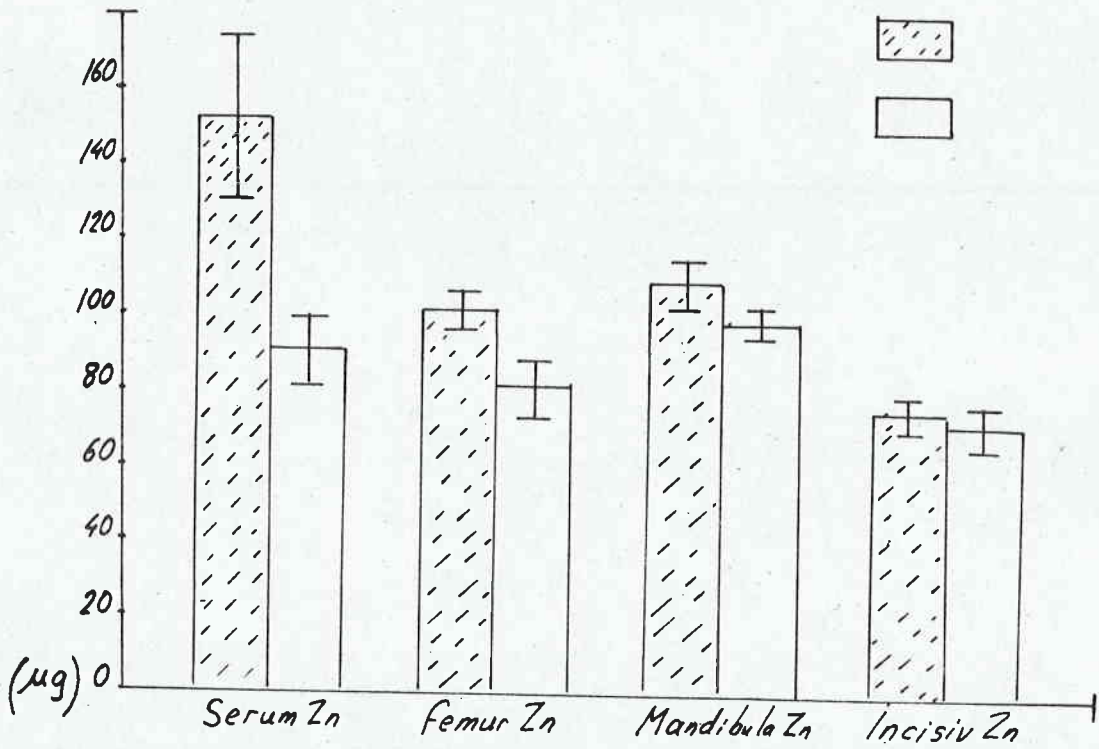
Resim 20: Deney gurubu
Femur proksimal epifiz plağı
x450 H.E.

İstirahat kıkırdığı kuşağında düzensiz yayılmış olan kondrositler, çoğu kez tek başlarına "hücre yataklarında" yerleşmiş olarak görüldüler. Kalsifiye kıkırdak kondrositleri daha ufak ve seyrek olarak oluşmuşlardı.

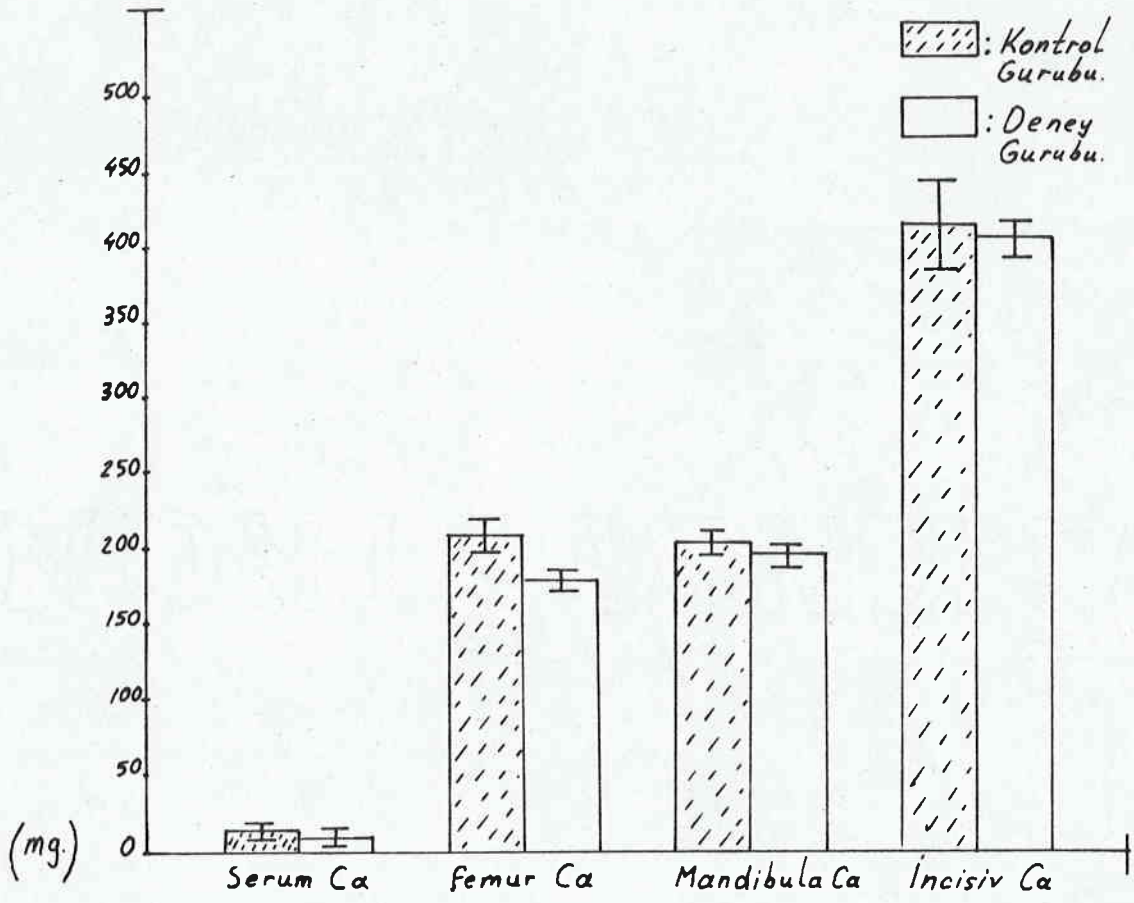
Metafizyal spongiosada da bazı değişiklikler saptandı. Spongioz kemiğin trabekülaları, kontrollere göre daha az sayıda, kısa, kalın ve düzensiz dizilmişlerdi. Osteoblastlar deney gurubunda daha az sayıda bulundu. Kemik iliğinin daha geniş boşlukları doldurduğu, hemen hemen erozyon çizgisine kadar uzandığı tespit edildi.



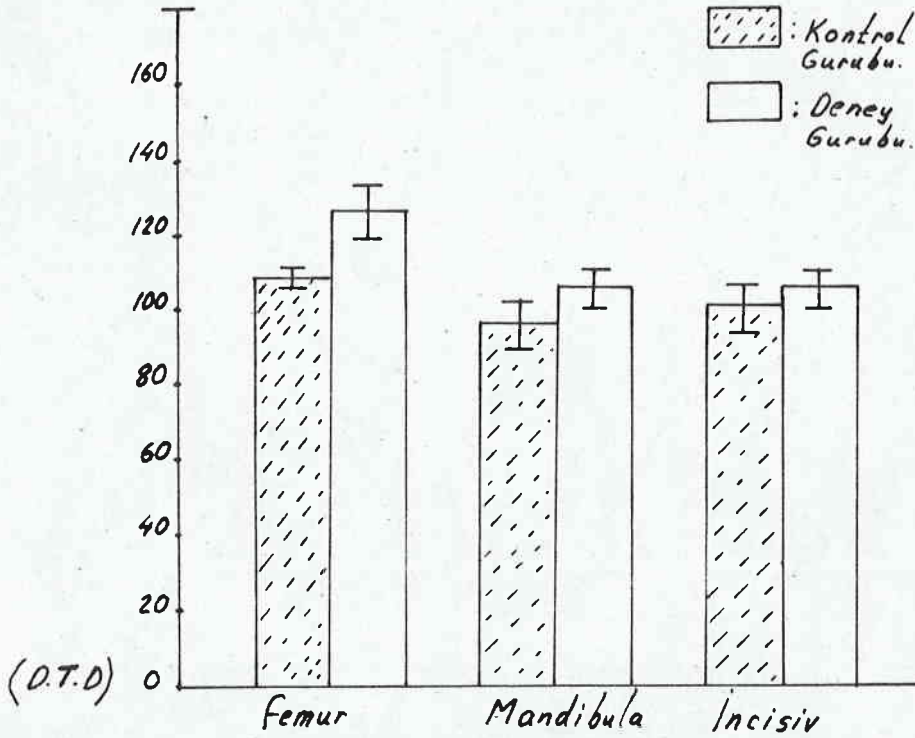
Tablo 1: Kontrol ve deney guruplarının ağırlık değişimleri.



Tablo 2: Çinko konsantrasyonları.



Tablo 3: Kalsiyum konsantrasyonları.



Tablo 4: Densitometrik değerler.

No	Ağırlık Değişimi (% gr.)		Ağırlık Değişimi (% gr.)		Femur Densitesi (Diffüz Transmisyon) Densitesi		Mandibula Densitesi (Dişsiz Transmisyon) Densitesi		İncisiv Dis Densitesi (Diffüz Transmisyon) Densitesi		Mandibula Acısı (Derece)		Kondil Boyu (x 3 mm.)	
	Kontrol Grubu	Deney Grubu	Deney Başlangıç	Deney Bitişi	K	D	K	D	K	D	K	D	K	D
1	75	136	69	45	110	133	91	108	103	105	82	89	36,5	32
2	63	126	67	56	102	124	96	109	98	120	89	81	39	36
3	93	160	74	59	112	122	96	103	96	99	88	87	46	44
4	81	130	82	67	102	123	97	98	90	105	85	89	46	41
5	58	117	80	66	112	114	96	102	100	97	85	88,5	45	35
6	81	120	65	43	114	152	88	110	103	106	83,5	89	47,5	41,5
7	63	107	77	62	115	152	128	123	123	117	89	87	44	40
8	78	115	65	46	107	122	94	102	103	103	79	91	45	33
9	86	121	83	56	105	123	90	94	94	120	87,5	91	46	39
10	82	148	94	69	117	130	90	112	108	105	82	97	48	41
11	67	124	90	67	111	141	93	105	105	98	85	88,5	44	43
12	81	122	53	41	109	119	91	108	112	92	95	95	48	43
13	94	138	68	48	106	125	98	116	104	108	90	88,5	47	34
14	65	114	72	52	106	118	101	103	93	102	76	91	48	32
15	70	121	83	57	114	121	96	107	90	114	72,5	88	45	41
Ortalama	75,8	126,6	74,8	55,6	109,4	127,9	96,3	106,6	101,4	106,0	84,5	89,3	45,0	38,3
Standart Sapma	11,1	10,8	10,8	9,4	4,6	11,7	9,4	7,1	8,7	8,4	5,7	3,6	3,2	4,2
Standart Hata	± 7,8	± 7,6	± 7,6	± 6,6	± 3,3	± 8,2	± 6,6	± 5,0	± 6,2	± 5,9	± 4,0	± 2,5	± 2,3	± 3,0
P	$P < 0,05$ (Anlamli)	$P < 0,05$ (Anlamli)	$P < 0,01$ (Anlamli)	$P < 0,01$ (Anlamli)	$P < 0,01$ (Anlamli)	$P < 0,01$ (Anlamli)	$P < 0,01$ (Anlamli)	$P < 0,01$ (Anlamli)	$P > 0,05$ (Anlamli)	$P > 0,05$ (Anlamli)	$P > 0,05$ (Anlamli)	$P < 0,05$ (Anlamli)		

Tablo: 5

No	Serum Ginko Düzeyleri (µg/100 ml.)		Femur Ginko Düzeyleri (µg/gr.)		Mandibula Ginko Düzeyleri (µg/gr.)		İncisiv Ginko Düzeyleri (µg/gr.)		Serum Kalisyum Düzeyleri (mg/100 ml.)		Femur Kalisyum Düzeyleri (mg/gr.)		Mandibula Kalisyum Düzeyleri (mg/gr.)		İncisiv Kalisyum Düzeyleri (mg/gr.)	
	K	D	K	D	K	D	K	D	K	D	K	D	K	D	K	D
1	130	75	90,8	78,3	110,8	108,8	65,7	67,1	11	9	216,3	176,3	202,3	204,1	407,0	420,1
2	138	75	92,1	87,4	93,7	113,6	73,5	82,4	11	6	194,7	170,2	215,1	201,0	349,1	403,7
3	206	82,5	101,4	86,2	100,7	99,3	74,5	67,8	13	11	225,1	181,4	207,7	197,0	413,4	395,0
4	158	112,5	93,6	94,7	119,4	95,0	83,7	51,8	11	8	230,0	185,1	219,4	191,5	476,2	382,0
5	152	105	109,6	75,0	112,8	97,0	79,3	63,0	14	8	203,1	180,7	210,8	196,3	422,3	397,0
6	130	90	102,0	92,7	125,4	109,0	70,3	68,1	18	8	198,3	196,2	199,2	182,5	451,0	436,5
7	200	95	107,9	69,0	111,8	93,7	81,9	65,6	15	10	211,5	182,0	209,2	189,2	390,8	424,1
8	130	75	108,7	76,3	108,0	92,1	78,8	69,2								
9	145	105	103,6	70,4	108,2	103,1	73,3	81,1								
10	180	98	98,6	89,3	123,0	98,5	66,2	80,4								
11	122,5	95	100,5	65,1	116,4	94,0	68,1	62,5								
12	210	70	108,0	73,2	99,1	95,2	75,4	79,3								
13	125	105	94,1	91,1	109,4	94,1	81,0	76,1								
14	158	90	97,2	98,2	105,0	101,8	74,0	82,8								
15	110	83	104,5	72,3	120,2	100,4	86,2	80,3								
Ortalama	152,9	90,4	100,8	81,2	109,5	98,9	75,5	71,8	13,2	8,5	211,2	181,7	209,1	195,5	415,6	408,3
Standart Sapma	32,1	13,2	6,3	10,5	8,5	5,6	6,2	9,2	2,6	1,6	13,3	8,0	6,9	7,3	41,0	19,1
Standart Hata	±22,7	±9,3	±4,4	±7,4	±6,0	±3,9	±5,4	±6,5	1,8	1,1	9,4	5,6	4,9	5,2	28,9	13,5
P	P < 0,01 (Anlamlı)		P < 0,01 (Anlamlı)		P < 0,05 (Anlamlı)		P > 0,05 (Anlamsız)		P < 0,01 (Anlamlı)		P < 0,01 (Anlamlı)		P < 0,01 (Anlamlı)		P > 0,05 (Anlamsız)	

Tablo: 6

TARTIŞMA

Eser elementler, canlıların büyüme ve gelişimi üzerinde büyük bir rolü olan beslenme olayında, miktarlarının azlığına göre çok önemli fonksiyonlara sahiptirler(87).

Temel bir eser element olan ve son yıllarda üzerindeki çalışmaların yoğunlaştığı çinkonun diyeter eksikliği durumunda kemik dokusunda, giderek çene kemiklerinde ve yine bir mineralize doku olan dişlerde meydana gelen değişimleri incelemek için bu çalışmaya başlandı.

Deney hayvanı olarak ratların tercih ediliş nedeni, çinko eksikliğinin klinik belirtilerinin genç hayvanlarda 1-2 hafta içinde ortaya çıkması(49) ve teminlerindeki kolaylıktır. Bergman, 21 günlük süttten yeni kesilmiş ratlarda diş, çene ve kemik gelişimi ile mineralizasyonunun en hızlı döneminde olduğunu ve eksikliğin etkilerinin daha rahat gözlenebileceğini belirtmektedir(13).

Eksikliğin erken klinik belirtilerinden tüy dökülmesi ve iştahsızlık(13,49) ilk haftada görüldü. Dana ileri belirtilerden zayıflama, göz, ağız çevresi ve ayak tabanlarında ödem ile kanguru pozisyonu(48,49), deney gurubundaki ratların çoğunda, son safhalarda gözlendi. Deneye devam edilmesi hayvanların bazılarının ölümü ile sonuçlandı.

Macapinlac(61), Hurley(49) ve diğer araştırmacıların(13,20) bulgularıyla uyum gösteren bu belirtiler, eksiklik şartlarının

deneyimizde yerine getirilebildiğini göstermektedir. Çalışmamızda deneysel eksikliğin yaratılması için, düşünülebilen tüm çinko kaynakları ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. İçme ve temizlik için kullanılan deiyonize su önemsiz miktarda (0,11 ppm/ml) Zn içeriyordu. Yemle alınan çinko da (günlük ortalama 7,5-12 ppm.) Underwood'un belirttiği, ratlar için gerekli günlük minimum 18 ppm.den daha azdı(87). Özel olarak hazırlanan yem, çinko dışında tüm nütrisyonel faktörleri dengeli bir şekilde içeriyordu. Gerekli yağ, karbonhidrat, vitamin ve mineraller ilave edilmişti. Çeşitli araştırmacılar, diyetle kullanılan soya fasulyesi proteininin, içerdiği yüksek oranda fitik asit nedeniyle çinkonun alınmasını azalttığını göstermişlerdir(13,55, 60,85). Çalışmamızda, bu araştırmacıların bulgularına uygun şekilde, diyetin fitat içeriği nedeniyle Zn eksikliği daha belirgin şekilde ortaya çıkmıştır.

Çevresel kontaminasyonda, özel kafesler kullanılması ve deney tekniği sayesinde minimuma indirilmiştir. Çinkonun vücuttan en fazla atıldığı yol olan feçesin hayvanlar tarafından tekrar yenmesi (koprofaji) intimali de(12) delikli kafes tabanı ile önlenmiştir.

Gözlenen ilk belirtilerden olan iştah kaybı, giderek gıda ve buna bağlı çinko alınmasını azaltmıştır. Deney süresinin sonunda, çinko eksik guruptaki ortalama ağırlık (\bar{x} : 55,6 gr), kontrol gurubuna göre (\bar{x} : 126,6 gr.) çok önemli bir azalma göstermiştir. ($p < 0,05$) (Tablo: 1).

İştahdaki azalma, çinko eksikliği durumunda tad ve koku duyularındaki kayıp(26) ile dil, yanak ve özofagus mukozalarının-

daki hiperkeratoz(64) ve tükürük miktarındaki azalmaya(27) bağlanabilir. Mills ve arkadaşları, iştah azalmasında gastrointestinal sistemde en fazla Zn içeren "Paneth Cell"lerin rolü olabileceğini bildirmektedir(66). Seçilen deney süresinin kısalığı, gıdasızlıktan ileri gelen zayıflamanın yan etkilerini en aza indirmek yönünden yararlıdır(13). Macapinlac'da, 2-3 hafta sonunda, Zn eksikliğine sokulan ratların büyümesinin tamamen durduğunu göstermiştir(61). Öner'de, gelişim ve büyüme olayında önemli rolü olan büyüme hormonunun etkili olabilmesi için gerekli olan Somatomedin-A faktörünün karaciğerde sentezinin Zn eksikliğinde azaldığını bildirmiştir(70).

Çinko eksikliği oluşturulduğunun en iyi belirtisi, klinik gözlemlerden daha kesin olarak deney gurubu serum Zn seviyelerinin (\bar{x} : 90,4 $\mu\text{g}/100$ ml.), kontrol gurubuna göre (\bar{x} : 152,9 $\mu\text{g}/100$ ml.) anlamlı bir azalma göstermesidir ($p < 0,01$). Kontrollerin serum değerleri, çalıştığımız laboratuvarın normal değerlerine uyum göstermektedir(70,88).

Canlı organizmasında sürekli olarak bulunan ve kemiğin yapısına iştirak eden 23 elementten biri olan çinko, normal iskelet gelişimi ve korunmasında temel bir rol oynar(45). Çinko elementinin diyeter eksikliğinde kemiklerde çeşitli morfolojik değişiklikler görülür. O'dell ve Miller'in civciv ve yavru domuzlarda yaptığı çalışmalar, eksikliğin derecesiyle orantılı olarak özellikle uzun kemiklerin kısalıp kalınlaştığını göstermiştir. (65,68)

Underwood, çinkonun kemik metabolizmasındaki rolünün aydınlatılmasında atılacak ilk adımın, bu elementin kemik dokularındaki dağılımının incelenmesi olduğunu belirtmiştir(87).

Bu tip çalışmalarda en sık kullanılan gamma sintillasyon (12) ve nötron aktivasyon analizi(10) tekniklerine göre daha az masraflı, çabuk sonuç alınan ve güvenilir bir metod olan Atomic Absorbtion Spectrophotometer'i çalışmamızda tercih ettik(16).

Hurley ve Swenerton, normal gelişimini tamamlamış, olgun ratlarda kemik mineralizasyonu tamamlandığı için, çinkonun kemiğe çok sıkı bağlandığını, serbest bırakılmadığını bildirmektedir(50,84). Brown(20) ve Calhoun(24) ise, genç hayvanlarda, mineralizasyonu tamamlanmamış kemikteki bir miktar çinkonun eksiklik durumunda serbest bırakılabildiğini ve vücudun ihtiyacının bu kaynaktan karşılandığını belirtmişlerdir.

Araştırmamızda belirgin bir şekilde deney gurubundaki femur Zn konsantrasyonunun düştüğü gösterilmiştir(Tablo 2). (Zn eksik gurup: \bar{x} : 81,2 $\mu\text{g}/\text{gr.}$, Kontrol gurup: \bar{x} : 100,8 $\mu\text{g}/\text{gr.}$). ($p < 0,01$). Bu azalma, serumdaki düşüğe göre daha dikkat çekicidir. Brown, genç ratlarda 23 günlük bir eksiklik sürecinde femoral Zn konsantrasyonunun ortalama % 61 azaldığını belirtmiştir(20). Çalışmamızda ise % 19,4 azalma gözlenmiştir. Bu sonucu, deney süremizin daha kısa olması ile izah edebiliriz. Calhoun'da, gelişen ratlarda diyeter çinkoyla kemik Zn konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ileri sürmektedir (24,25). Daha bir çok araştırmacının belirttiği gibi femoral Zn konsantrasyonu diyeter eksiklik durumlarını belirten hassas bir parametre olarak kabul edilebilir(2,35,84,86).

Mandibuler kemikte elde ettiğimiz Zn değerleri, kontrollere göre anlamlı bir düşüş göstermesine rağmen, bu farklılık femurdaki kadar belirgin değildir(Tablo 2) (Deney gurubu: \bar{x} : 98,9 $\mu\text{g}/\text{gr.}$,

kontrol gurubu: \bar{x} : 109,5 $\mu\text{g}/\text{gr.}$) ($p < 0,05$). Bergman'ın çalışmasında, diyeter çinko eksikliğinde tibia çinkosu kontrollere göre % 16,6 düşerken, mandibula çinkosunun % 14,7 düştüğü gösterilmiştir(13). Bizim bulgularımızda ise, femurdaki düşüşe göre (% 19,4) mandibulada çok daha az bir düşüş vardır (% 9,7).

Kemik ve dişlerin % 37-39'unu oluşturan ve en önemli mineral olan kalsiyum ile çinko elementi arasında da yakın bir ilişki vardır(24). Calhoun, mineralize olmamış dokulardaki ektopik kemik formasyonu ile ilgili çalışmalarında, yeni kemikleşen alanlarda çinkonun, kalsiyum ile aynı oranda ve hızda toplandığını belirtmiştir(25). Zn eksikliği oluşturulan hayvanlarda, dokulardaki çinko seviyelerinin azalmasına eşlik eder şekilde pek çok enzimlerin aktivitelerinin de azaldığı görülür. Kemik dokusunda da laktik dehidrogenaz, malik dehidrogenaz ve alkalin fosfataz gibi önemli enzimlerin aktiviteleri azalır(1,7,71). Bu azalma, kemik mineral dengesini bozar, bu enzimlerle ilgili olarak Ca seviyeleri düşer(24). Bu nedenle, serum kalsiyum (Deney gurubu: \bar{x} : 8,5 mg/100 ml, Kontrol gurubu: \bar{x} : 13,2 mg/100 ml.) ve femur kalsiyum (Deney gurubu: \bar{x} : 181,7 mg/gr., Kontrol gurubu: \bar{x} : 211,2 mg/gr.) değerlerindeki azalmalar beklenen sonuçlardır. Mandibula kalsiyumundaki azalma (Deney gurubu: \bar{x} : 194,5 mg/gr., Kontrol gurubu: \bar{x} : 209,1 mg/gr.) aynı şekilde, femur kalsiyumundan daha azdır. (Femurda % 13,9, Mandibulada % 6,9 azalma) (Tablo: 3).

Çalışmamızda, deney diyetine yeterli miktarda Ca tuzları ilave edildiği için, kalsiyumun diyeter eksiklik veya fazlalığına bağlı herhangi bir mineral dengesi bozukluğu ihtimali önlenmiştir(35,50,83).

Zn eksikliğinde, kemik Ca konsantrasyonlarındaki değişimleri inceleyen araştırmacıların bulgularıyla, elde ettiğimiz sonuçlar uyum göstermektedir(13,16,35,51). Bu sonuçların, daha önceki Zn konsantrasyonu sonuçlarıyla beraber yorumlanması, diyet Zn eksikliği şartlarında organizmanın, çene kemiklerinin mineral dengesini ekstremite kemiklerine göre daha çok koruduğunu göstermektedir.

Mineralize dokulardan olan ve yüksek oranda çinko içerdiği gösterilen diş dokuları da incelememize dahil edilmiştir(53). Doku örnekleri, rat incisiv dişinden alınmıştır. Bu diş, doğum sonrası 10. günde sürerek, hayvanın hayatı boyunca haftada 2,8mm. uzar; devamlı olarak da insizal kenardan abraze olur. Büyüme hızı nedeniyle, 50-60 günlük bir periyod içerisinde tamamen yenilenir(37). Yapılan incelemelerde diğer sert dokular arasında en yüksek Zn konsantrasyonu ve aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir(13).

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, diş dokularının çinko (Deney gurubu: \bar{x} : 71,8 $\mu\text{g}/\text{gr.}$, Kontrol gurubu: \bar{x} : 75,5 $\mu\text{g}/\text{gr.}$) ve kalsiyum (Deney gurubu: \bar{x} : 408,3 $\text{mg}/\text{gr.}$, Kontrol gurubu: \bar{x} : 415,6 $\text{mg}/\text{gr.}$) konsantrasyonlarında kontrollere göre deney gurubunda bir azalma gözlenmesine rağmen, iki gurup arasında istatistikî olarak önemli bir fark yoktur. Bergman(13) ve Huxley'in(51) araştırmalarında ise, Zn eksikliği şartlarında genç hayvanların diş dokularının Zn ve Ca konsantrasyonlarında belirgin bir azalma olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda görülen, diş mineral içeriğindeki önemsiz farklılığı, analiz metodumuzun değişik oluşu ve deney süremizin kısalığı ile izah edebiliriz(16). Ayrıca diş dokularının kemik-

lere göre daha stabil çabuk kalsifiye olması da bir başka etkidir. Kemik dokusu dişlere göre daha uzun bir süreyle dinamik bir yapı gösterir; rezorbsiyon ve yeniden kemikleşme süreçleri devam eder(52)

Kemik ve dişlerin mineral analizleri, araştırmacıların değişik teknikler kullanmaları yüzünden farklı sonuçlar vermiştir(87). Çalışmamızda dokuların mineral içeriğinin tayininde daha hassas ve güvenilir sonuçlar vermesi açısından(62) kemik ve dişlerin çekilen radyograflarının mikrodensitometrik analizi yapılmıştır. Dokuların radyografik incelemesinde, film üzerindeki görüntülerin koyuluk derecesi, densitesini oluşturur(91). Bir başka ifadeyle, densite, film üzerine gelen ışık ünitesinin filmden geçen ışık ünitesine oranının 10 tabanına göre logaritmik ifadesidir(91). Bu ölçüm işlemini yapan alete Densitometre denir. Filmlerin densite farklılıkları, dokuların mineral içeriklerini tayinde yararlı olabilir. Kemik densitesinde oluşan farklılıklar, kantitatif olarak ölçülüp değerlendirilebilir. Krischnamachari, beslenmeye bağlı olarak kemiklerdeki mineral dengesinin değişmesinin, kemik densitesini etkileyeceğini belirtmiştir(56). Matsue'de(62), mikrodensitometrik analizin, kemik mineral içeriğini tayinde hassas bir metod olduğunu göstermiştir. Elde edilen sonuçların güvenilir olması için film çekiminin standartize edilmesi ve voltaj, banyo şartlarının sabitleştirilmesi gerekir(91). Çalışmamızda bu durum sağlanmıştır.

Densitometrik analizde incelenen kemik dokusu, organik bir esas madde ile onun içine çökmüş kalsiyum tuzlarından oluşur. Kemikte en fazla bulunan mineral olan kalsiyum, stabil bir durum göstermez, metabolizmaya göre kan ile kemik arasında yer değiştirir. (52)

Çalışmamızda elde edilen densitometre sonuçları, atomik absorpsiyon sonuçları ile uyum göstermektedir. Ossifikasyonun durması ile kalsiyum miktarı da azaldığından, bu minerale bağlı densite değerlerinin yükselmesi normaldir.

Rat femurlarının densite değerleri, deney gurubunda \bar{x} : 127,9 DTD., Kontrol gurubunda \bar{x} : 109,4 DTD., mandibula densite değerleri deney gurubunda \bar{x} : 106,6 DTD., Kontrol gurubunda \bar{x} : 96,3 DTD., İncisiv diş değerleri ise Deney gurubunda \bar{x} : 106,0 DTD., Kontrol gurubunda \bar{x} : 101,4 DTD. olarak bulunmuştur. Femur ve mandibula sonuçları, iki gurup arasında önemli bir fark gösterirken ($p < 0,01$), incisiv dişlerde istatistiki bir fark bulunamamıştır. (Tablo: 4).

Zn eksikliğine sokulmuş hayvanlarda daha önce densitometrik inceleme yapılmadığından, sonuçlarımızı karşılaştırma olanağı bulunamamıştır.

Dokulardaki Zn konsantrasyonlarının tayini dışında, kalitatif gözlemler içinde histokimyasal boyama metodları kullanılmış veya radyoaktif Zn65 verilmesinden sonra otoradyografi yapılmıştır. Ayrıca Zn eksikliğinin iskelet büyüme merkezlerinde oluşturduğu morfolojik değişiklikler de, histolojik olarak incelenmiştir. İlk olarak Haumont(1963), çinkoya hassas bir boya olan Dithizone'u kullanarak, rat ve köpeklerin henüz kalsifiye olmayan preosseoz dokularında, epifiz plaklarının kalsifiye kıkırdak tabakalarında ve yeni kalsifiye olan haversian sistemlerde yüksek oranda çinkonun depolandığını göstermiştir(7,42). Zn65 kullanarak yapılan incelemelerde, en yüksek radyoaktivitenin kompakt kemiklerin mineralizasyon sahalarında ve endokondral büyüme bölgelerinde bulundu-

gu belirtilmektedir. Dana önceden kalsifiye olan kemik dokusunda Zn⁶⁵'e rastlanmamıştır(25). Bergman'ın otoradyografik çalışmalarında da, en yüksek değerler uzun kemiklerin epifiz plaklarında ve mandibuler kondilde bulunmuştur(10,13).

Zn eksikliği oluşturduğumuz deney hayvanlarının femur proksimal uçlarındaki epifiz plaklarının histolojik incelemesinde, direkt olarak büyüme ve gelişimi etkileyen bu merkezlerin eksiklik şartlarında deprese olduğu, kontrollere göre belirgin bir daralma ile özellikle proliferere ve hipertrofiye kıkırdak tabakalarında değişiklikler olduğu farkedildi. Bu gözlemlerimiz, Macapinlac ve Westmoreland'ın bulgularıyla da uyum göstermektedir(61,89)

Deney gurubu hayvanlarında kemik trabeküler yapısında da bozulma vardı. Epifiz plağında özellikle kan damarlarına uzak olan tabakalarda eksikliğe bağlı bozuklukların görülmesi, buradaki nücrelerin kan yolu ile gelen çinkoyu, eksiklik şartlarında daha az elde edebilmesi ile izah edilir(24). Bergman'ın çalışmalarında da, ratlarda üç haftalık Zn eksikliği sonucu vücudun tüm endokondral büyüme bölgelerinde, proliferasyon alanlarındaki hücre sayılarında azalma gösterilmiştir(11,12,14). Prasad' da, Mısır'daki hastalarda epifizlerin kapanmasının geciktiğini belirtmektedir(73). İnsanlarda da gözlenen, iskelet gelişimi ve büyümesindeki bu duraklamalar, çinkonun kemik gelişimindeki önemli rolünü vurgulamaktadır.

İncelediğimiz bir başka önemli endokondral büyüme merkezi olan mandibuler kondil kıkırdığı, çene ve yüz gelişiminde önemli bir fonksiyon yerine getiren, bazı bakımlardan epifizden farklı bir bölgedir. Eksiklik durumunda, kondilin posterior bölgesinde

büyüme tabakasında bir azalma gözlenmiştir. Hipertrofiye kırık-
dak kuşağında da bir azalma vardır. Trabeküler yapı bozulmuştur.
Bu alanda yapılan Zn65 çalışmaları da, kondilin etkilendiğini,
gelişimin gerilediğini göstermektedir(12,13).

Çinko eksikliğinin kemik gelişiminde, özellikle uzun ke-
miklerin epifiz plakları ve mandibuler kondil kırıkdağı gibi is-
kelet büyüme merkezleri üzerindeki olumsuz etkileri, genel ola-
rak büyüme ve özel olarak çene gelişiminde önemli sonuçlar yara-
tabilmektedir. Mandibuler kemiğin gelişimindeki duraklama ve bo-
zulma da, fonksiyonel bir bütün olarak diğer çene ve yüz kemik-
leri, kaslar ve diş sistemine etki eder(81).

Moss'un " fonksiyonel matriks" teorisinde, iskelet büyüme
merkezlerinin büyüme ve gelişimde sekonder bir rol oynadığı, esas
rolün yumuşak dokular, organlar ve görev yapan boşlukların oluş-
turduğu fonksiyonel matrikslere ait olduğu, bunlar tarafından
yerine getirilen fonksiyona bağlı olarak büyüme merkezlerinin
aktive olduğu belirtilmiştir. Direkt olarak genetik kontrol al-
tında olan fonksiyonel matriks, dolaylı olarak iskelet ünitesini
destekler(38).

Bu açıklamaya karşın, Baume'de kondil kırıkdağının özel
bir büyüme merkezi olduğunu, çene gelişiminde önemli rolü oldu-
ğunu, kondilin çeşitli iç ve dış faktörlerden etkilenmesinin man-
dibula gelişimini bozabileceğini belirtir(9).

Çalışmamızda eksikliğin büyüme merkezlerini etkilemesini
incelemek için yapılan sefalometrik incelemede, kontrol gurubunun
ortalamakondil boyu uzunluğu \bar{x} : 45,0x3 mm. iken, deney gurubunda
 \bar{x} : 38,3x3 mm.ye düşmüştür. Arada istatistiki olarak önemli bir

fark vardır($p < 0,05$). Mandibula açısı dereceleri ise, kontrol gurubuna (\bar{x} : $84,5^\circ$) göre, deney gurubunda biraz artma göstermesine rağmen (\bar{x} : $89,3^\circ$) iki gurup arasında önemli bir fark yoktu.

Kondil boyu ölçümlerini gözönüne alırsak, Zn eksikliğinin deney hayvanlarının çene gelişiminde kısıalma şeklinde bir etki yaptığını söyleyebiliriz. Bu sonuç, Hurley'in gözlemlerine de uyum göstermektedir(48). Mandibula açısı üzerindeki tesiri çok belirgin değildir. Fakat bu konuda daha kesin yorumlar yapabilmek için, sefalometrik incelemelerin farklı analizlerini yapmak gerekmektedir.

Daha ileride yapılacak çalışmaların, insanların çeşitli dokularının, özellikle kemik ve dişlerin Zn konsantrasyonlarının analizi çevresinde toplanacağı söylenebilir. Bu konuda, punch biyopsi tekniğiyle alınacak kemik örneği analizlerinin yardımcı olabileceğini, bu analiz sonuçlarının insanlardaki total Zn beslenmesinde ve suboptimal çinko durumunun tayininde kullanılabileceğini söyleyebiliriz(24).

Kemik metabolizması üzerinde çinkonun esas rolünün matriks oluşumu veya kalsiyum metabolizması yolu ile olduğuna dair belirtiler vardır. Fakat bu konudaki çalışmalar henüz yetersizdir(87).

Çinkonun en belirgin özelliklerinden biri olan, kemik iyileşmesinin hızını arttırması üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Zn eksik ratlarda kemik kırıklarının iyileşmesinin geciktiği(88), hamsterlerde diş çekim yaralarının iyileşmesinin Zn sülfatın diyeter ilavesiyle hızlandığı gösterilmiştir(24,74).

İnsanlarda da diş çekim yaralarının iyileşmesi, çinko ilavesi alan ve kontrol olarak seçilen guruplarda incelenebilir.

Kemik iyileşmesinin hızının tayininde yararlı olabilecek hassas bir metod olarak, çekilen filmlerin üzerindeki densitometrik tayinler kullanılabilir.

Çinkonun yine bir mineralize doku olan dişlerdeki etkileride açık bir şekilde gösterilmiştir. İnsanlarda pre-erüptiv ve post-erüptiv devrelerde Zn verilmesinin çürük sıklığına etkisinin araştırılması da oldukça önemli sonuçlar sağlayabilir(5,21,34). Bu eser elementin, diş gelişiminin hangi safhasında daha etkili olduğu, henüz çözümlenmemiş sorulardan biridir.

Önemli bir eser element olan çinko, son yıllarda yoğunlaşan araştırmalarında gösterdiği gibi, dişhekimliği alanında uzun süre ilgiyi üzerine çekebilecek ve çinko metabolizmasındaki henüz karanlıkta kalan noktalar açığa çıkabilecektir.

SONUÇLAR

Deneyisel çalışmamızda elde edilen sonuçlar şunlardır:

1. Diyeter çinko eksikliğine bağlı olarak, deney gurubunu oluşturan ratlarda büyüme ve gelişim geri kalmıştır. Normal diyetle beslenen kontrol ratlarında büyüme ve gelişim normaldir.

2. Çinko eksikliği oluşturulan grupta serum, femur ve mandibuler kemik Zn değerleri azalma gösteriyordu. Dişlerin Zn değerlerinde de bir azalma olmasına rağmen, aradaki fark istatistiki olarak önemli değildi.

3. Deney gurubu ratlarında, Zn eksikliği sonucu serum, femur ve mandibuler kemik Ca değerleri azalırken, dişlerdeki Ca azalması istatistiki bir önem taşımıyordu.

4. Çinko eksik gurubun femur ve mandibulalarının mineral içeriklerindeki değişime uygun olarak, radyografik densitelerinde de artış meydana gelmiştir. Dişlerin densitelerinde ise iki gurup arasında önemsiz bir fark vardı.

5. Mandibuler kondil büyüme kıkırdığının çinko eksikliğinden etkilenmesi sonucu, alt çene gelişiminin geri kaldığı, mandibula uzunluğunun azaldığı gözlemlendi. Mandibula açısı değerlerinde, iki gurup arasında bir farklılık kaydedilmedi.

6. Histolojik incelemelerde, mandibuler kondil ve epifiz plağı büyüme kıkırdaklarında, Zn eksikliğine bağlı olarak önemli değişiklikler gözlenmiştir. Büyüme merkezlerindeki gelişimin, kontrol gurubuna göre geri kaldığı izlenmiştir.

ÖZET

Bu çalışmada, çinko eksikliği oluşturulan ratlarda, çene kemikleri, dişler ve uzun kemiklerdeki Zn ve Ca konsantrasyonlarının değişimi ile mandibuler kondil ve epifizyal büyüme kıkırdaklarında oluşan değişiklikler, normal diyetle beslenen kontrol gurubu ile karşılaştırmalı olarak, çeşitli parametreler yardımı ile incelendi.

Çinko eksikliği oluşturulan ratlarda çene kemikleri ve femurların çinko ve kalsiyum konsantrasyonlarının, kontrol gurubu ratlarına göre önemli ölçüde azaldığı gözlemlendi. Densitometrik incelemelerde bu gözlemi doğruladı. Dişlerin çinko ve kalsiyum konsantrasyonları arasında bir fark görülmesine rağmen, istatistikî olarak önemli bulunmadı.

Histolojik incelemelerde de, mandibuler kondil ve epifiz plağı büyüme kıkırdaklarının gelişiminin, kontrol gurubundakilere göre geri kaldığı tespit edildi.

Mandibuler kondil büyüme kıkırdağının çinko eksikliğine bağlı olarak gelişim yönünden geri kalması, mandibuler gelişimi de etkiledi. Deney gurubunda mandibula uzunluğunun azaldığı, mandibula açısının değişmediği tespit edildi.

K A Y N A K L A R

1. Adeniyi, F.A. and Heaton, F.W.: The Effect of Zinc Deficiency on Alkaline Phosphatase and its Isoenzymes. *Br.J.Nutr.*, 43:561-569, 1980.
2. Alexander, G.V. and Nusbaum, R.E.: Zinc in Bone. *Nature*, 195:903, 1962.
3. Alvares, O.F. and Meyer, J.: Regional Differences in Parakeratotic Responsetiv Mild Zinc Deficiency. *Arch.Derm.*, 98:191-201, 1968.
4. Andrews, G.S.: Studies of Plasma Zinc, Copper, Caeruloplasmin and Growth Hormone. *J.Clin.Pat.*, 32:325-353, 1979.
5. Anonymous: Increased Dental Caries in Young Rats Suckled by Zinc-deficient Dams. *Nutr.Rev.*, 37:232-233, 1979.
6. Anonymous: Accepted Dental Therapeutics. 38th ed. American Dental Association. Chicago, 1979. pp.83-85.
7. Barka, T. and Anderson, P.J.: Histochemistry. Hoeber Medical Division. Newyork, 1965. pp.176-177.
8. Bates, D., Alvarez, C. and Navia, J.M.: Rat and Microbiological Caries Studies of Posteruptive Zinc Administration. *J.Dent.Res.*, IADR abstr., 141:110, 1978.
9. Baume, L.J.: Patterns of Cephalofacial Growth and Development. *Int.Dent.J.*, 18:489-509, 1968.
10. Bergman, B.: Concentration of Zinc in some Hard and Soft Tissues of Rat Determined by Neutron Activation Analysis. *Acta Radiol.Ther.Phys.Biol.*, 9:420-432, 1970.

11. Bergman, B.: Comparative Study of Distribution of Injected Zinc 65 in the Mandibular Condyle and other Tissues in Rat as Determined by Gamma Scintillation. *Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.*, 9:577-595, 1970.
12. Bergman, B.: The Distribution of Zn 65 in the Endochondral Growth Sites of the Mandibular Condyle and the Proximal End of the Tibia in Young Rats. An Autoradiographic and Gamma Scintillation Study. *Odont. Revy.*, 21:1-14, 1970.
13. Bergman, B.: The Distribution and Concentration of Zinc and the Effect of Zinc Deficiency in the Mammalian Body. *Odont. Revy.*, 21:suppl.20,1-55, 1970.
14. Bergman, B., Friberg, U., Lohmander, S. and Öberg, T.: Morphologic and Autoradiographic Observations on the Effect of Zinc Deficiency on Endochondral Growth Sites in the White Rat. *Scand. J. Dent. Res.*, 80:486-492, 1972.
15. Bergman, B., Friberg, U., Lohmander, S. and Öberg, T.: The Importance of Zinc to Cell Proliferation in Endochondral Growth Sites in the White Rat. *Scand. J. Dent. Res.*, 80:486-492, 1972.
16. Bergman, B., Sjöström, R. and Wing, K.R.: The Variation with Age of Tissue Zinc Concentrations in Albino Rats Determined by Atomic Absorption Spectrophotometry. *Acta. Phys. Scand.*, 92:440-450, 1974.
17. Bhaskar, S.N.: *Oral Histology and Embryology*. 8th ed. The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 1976. pp.398-403.
18. Blamberg, D.L., Blackwood, U.B., Supplee, W.C. and Combs, G.F.: Effect of Zinc Deficiency in Hens on Hatchability and Embryonic Development. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 104:217, 1960.

19. Bloom, W. and Fawcett, D.W.: A Textbook of Histology. 10th ed. W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1975. pp.262-273.
20. Brown, E.D., Chan, W. and Smith, J.C.: Bone Mineralization during a Developing Zinc Deficiency. Proc.Soc.Exp.Biol. Med., 157:211,214,1978.
21. Brown, E.D., Calhoun, N.R., Larson, R.H. and Smith, J.C.: An Effect of Zinc Deficiency on Dental Caries. Life Sciences, 24:2093-2098,1979.
- 22- Brudevold, F., Reda, A., Aasenden, R. and Bakhos, Y.: Determination of Trace Elements in Surface Enamel of Human Teeth by a New Biopsy Procedure. Archs.Oral Biol.,20:667-673,1975.
23. Burch, R.E. and Sullivan, J.F.: Çinko eksikliği ve Fazlalığı- nın Klinik ve Beslenme ile ilgili yönleri. The Medical Clinics of North America.(Dahiliye Klinikleri), 60: 4, 631-641,1976.
24. Calhoun, N.R., Smith, J.C. and Becker, K.L.: The Role of Zinc in Bone Metabolism. Clin.Orth.Rel.Res., 103:212-234,1974.
25. Calhoun, N.R., Smith, J.C. and Becker, K.L.: The Effects of Zinc on Ectopic Bone Formation. Oral Surg., 39:698-705,1975.
26. Catalanotto, F.A. and Nanda, R.: Zinc Deficiency, Taste Acuity and Tongue Epithelium. J.Dent.Res., AADR abstr. 444:B,1977.
27. Chaudhry, I.M. and Meyer, J.: Response of Submandibular Gland of the Rat to Nutritional Zinc Deficiency. J.Nutr., 109: 316-320,1979.
- 28- Collins, D.A., Becks, H., Simpson, M.E. and Evans, H.M.: Growth and Transformation of the Mandibular Joint in the Rat.I.Normal Female Rats. Am.J.Orth.Oral Surg.,32:431-442,1946.

29. Cunat, J.J., Bhaskar, S.N. and Weinmann, J.P.: Development of the Squamoso-mandibular Articulation in the Rat. J.Dent. Res., 35:533-546, 1956.
30. Çavdar, A.O. and Arcasoy, A.: Hematologic and Biochemical Studies of Turkish Children with Pica. Clin.Ped., 11: 215-223, 1972.
31. Çavdar, A.O., Arcasoy, A., Gözdaşoğlu, S., Cin, Ş. ve Erten, J.: Türk Çocuk ve Gençlerinde Anemi Oranı, Demir Eksikliği ve İz elementleri. TBTAK Araştırmalarından, Ankara, 1976. Sayfa.56-61.
32. Derise, N.L. and Ritchey, S.J.: Mineral Composition of Normal Human Enamel and Dentin and the Relation of Composition to Dental Caries.II.Micro Minerals.J.Dent.Res., 53:853-858, 1974.
33. Duerre, J.A., Ford, K.M. and Sandstead, H.H.: Effect of Zinc Deficiency on Protein Synthesis in Brain and Liver of Suckling Rats. J.Nutr., 107:1082-1093, 1977.
34. Fang, M.M., Lei, K.Y. and Kilgore, L.T.: Effects of Zinc Deficiency on Dental Caries in Rats. J.Nutr., 110:1032-1036, 1980.
35. Forbes, R.M.: Excretory Patterns and Bone Deposition of Zinc, Calcium and Magnesium in the Rat as Influenced by Zinc Deficiency, EDTA and Lactose. J.Nutr., 74:194-200, 1961.
36. Gabovich, R.D. and Ourutskiy, G.D.: Fluorine in Stomatology and Hygiene. U.S. Department of Health, Education and Welfare. Maryland, 1977. pp.177-826.
37. Griffith, J.Q. and Farris, E.J.: The Rat in Laboratory Investigation. J.P.Lippincott Comp., 1942. pp.79-163.
38. Gürsoy, N.: Ortodontinin Biyolojik Temelleri. İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Yayınlarından, İstanbul, 1972. Sayfa.71-74

39. Hall, K. and Olin, P.: Sulphation Factor Activity and Growth Rate During Long-term Treatment of Patients with Pituitary Dwarfism with Human Growth Hormone. *Acta Endoc.*, 69:417-433, 1972.
40. Halsted, J.A. and Ronaghy, H.: Zinc Deficiency in Man. *Am.J.Med.*, 53:277-284, 1972.
41. Hambidge, K.M. and Silverman, A.: Pica with Rapid Improvement after Dietary Zinc Supplementation. *Arch.Dis.Child.* 48:567-568, 1973.
42. Haumont, S.: Distribution of Zinc in Bone Tissue. *J.Histochem. Cytochem.*, 9:141-145, 1961.
43. Henkin, R.I., Lippoldt, R.E., Bilstad, J. and Edelhoeh, H.: A Zinc Protein Isolated from Human Parotid Saliva. *Proc. Nat.Acad.Sci.*, 72:488-492, 1975.
44. Henkin, R.I., Mueller, C.W. and Wolf, R.O.: Estimation of Zinc Concentration of Parotid Saliva by Flameless Atomic Absorption Spectrophotometry in Normal Subjects and in Patients with Idiopathic Hypogeusia. *J.Lab.Clin.Med.*, 86:175-180, 1975.
45. Hidiroglou, M.: Zinc, Copper and Manganese Deficiencies and Ruminant Skeleton: A Review. *Can.J.Anim.Sci.*, 60:579-590, 1980.
46. Hoekstra, W.G.: Skeletal and Skin Lesions of Zinc-deficient Chickens and Swine. *Am.J.Clin.Nutr.*, 22:1268-1272, 1969.
47. Hsieh, H. and Navia, J.M.: Zinc Deficiency and Bone Formation in Guinea Pig Alveolar Implants. *J.Nutr.*, 110:1581-1588, 1980.
48. Hurley, L.S. and Swenerton, H.: Congenital Malformations Resulting from Zinc Deficiency in Rats. *Proc.Soc.Exp.Biol. Med.*, 123:692-696, 1966.
49. Hurley, L.S.: Zinc Deficiency in The Developing Rat. *Am.J.Clin.Nutr.*, 22:1332-1339, 1969.

50. Hurley, L.S. and Tao, S.H.: Alleviation of Teratogenic Effects of Zinc Deficiency by Simultaneous Lack of Calcium. *Am.J.Phys.*, 222:322-325, 1972.
51. Huxley, H.G. and Leaver, A.G.: The Effect of Different Levels of Dietary Zinc and Calcium upon the Zinc Concentration of the Rat Femur and Incisor. *Archs.Oral.Biol.* 11:1337-1344, 1966.
52. Jaffee, H.L.: Metabolic, Degenerative and Inflammatory Diseases of Bones and Joints. Lea and Febiger, Philadelphia, 1972. pp.1-21.
53. Jenkins, G.E.: The Physiology of The Mouth. 3th ed. F.A.Davis Company, Philadelphia, 1966. p.76.
54. Kienholz, E.W., Turk, D.E., Sande, M.L. and Hoekstra, W.G.: Effects of Zinc Deficiency in The Diets of Hens. *J.Nutr.*, 75:211-221, 1961.
55. Kohn, D.W. and Kreitzman, S.N.: Birth Defects: Phytate Induced Zinc Deficiency in Rats. *J.Dent.Res.*, 55:457, 1976.
56. Krishnamachari, K.A.V.R and Lyengar, L.: Effect of Maternal Malnutrition on the Bone Density of the Neonates. *Am.J.Clin.Nutr.*, 28:482-486, 1975.
57. Leaver, A.G.: An Effect of Vitamin D upon the Uptake and Release of Zinc by Bone. *Archs.Oral.Biol.*, 12:773-775, 1967.
58. Levy, B.M.: Growth of Mandibular Joint in Normal Mice. *JADA*, 36:177-182, 1948.
59. Losee, F.L., Curzon, M.E.J. and Little, M.F.: Trace Element Concentrations in Human Enamel. *Archs.Oral.Biol.*, 19: 467-470, 1974.
60. Luhrsen, K.R. and Rotruck, J.T.: Comparative Studies with Weanling Rats to Measure Zinc Bioavailability from Soy

- Protein Isolate and Beef. Fed.Proc., 38:2,558,1979,abstr.
61. Macapinlac, M.P., Barney, G.H., Pearson, W.N. and Darby, W.J.:
Production of Zinc Deficiency in the Squirrel Monkey.
J.Nutr., 93:499-510,1967.
 62. Matsue, I., Zimmerman, E.R., Collings, C.K. and Best, J.T.:
Microdensitometric Analysis of Human Autogenous Bone
Implants.II. Two Dimensional Density and Pattern Analysis
of Interproximal Alveolar Bone. J.Periodont., 42:435-438,1971.
 63. McBean, L.D., Dave, T.J., Halstead, A.J. and Smith, Jr. C.: Zinc
Concentration in Human Tissue. Amer.J.Clin.Nutr., 25:672,1972.
 64. Meyer, J.: Dry Weight and Size of Cells in The Buccal Epit-
helium of Zinc Deficient Rats: A Quantitative Study.
Archs.Oral.Biol., 19:471-476,1974.
 65. Miller, E.R., Luecke, R.W., Ullrey, D.E., Bradley, B.L., Hoeffler, J.:
Biochemical, Skeletal and Allometric Changes due to Zinc
Deficiency in the Baby Pig. J.Nutr., 95:278-286,1968.
 66. Mills, C.F., Quarterman, J., Chesters, J.K. and Dalgarno, A.G.:
Metabolic Role of Zinc. Am.J.Clin.Nutr., 22:1240-1249,1969.
 67. Mutch, P.B. and Hurley, L.S.: Effect of Zinc Deficiency During
Lactation on Postnatal Growth and Development of Rats.
J.Nutr., 104:828-842,1974.
 68. O'Dell, B.L.: Effect of Dietary Components upon Zinc Avail-
ability. Am.J.Clin.Nutr., 22:1315-1322,1969.
 69. Ohyama, K.: Experimental Study on Growth and Development of
Dentofacial Complex after Resection of Cartilaginous Nasal
Septum. Bull.Tokyo Med.Dent.Univ., 16:157-176,1969.
 70. Öner, G. and Bor, N.: Serum Somatomedin-A Activity and Insulin
Levels in Zinc Deficiency. Nutr.Rep.Int., 18:749-754,1978.

71. Parisi, D.F. and Valle, B.L.: Zinc Metalloenzymes: Characteristics and Significance in Biology and Medicine. *Am.J.Clin.Nutr.*, 22:1222-1239, 1969.
72. Prasad, A.S., Halsted, J.A. and Nadimi, M.: Syndrome of Iron Deficiency, Anemia, Hepatosplenomegaly, Hypogonadism, Dwarfism and Geophagia. *Am.J.Med.*, 31:532-546, 1961.
73. Prasad, A.S.: A Century of Research on the Metabolic Role of Zinc. *Am.J.Clin.Nutr.*, 22:1215-1221, 1969.
74. Pories, W.S., Strain, W.H., Hsu, J.M. and Woosley, R.L.: Clinical Applications of Zinc Metabolism. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, USA, 1974. pp.97-112
75. Riordan, J.F.: Çinkonun Biyokimyası. The Medical Clinics of North America (Dahiliye Klinikleri), 60:615-630, 1976.
76. Ronaghy, H., Fox, M.R.S., Garn, S.M., Israel, H. and Halsted, J.A.: Controlled Zinc Supplementation for Malnourished School Boys. *Am.J.Clin.Nutr.*, 22:1279-1289, 1969.
77. Sandstead, H.H. and Rinaldi, R.A.: Impairment of Deoxyribonucleic Acid Synthesis by Dietary Zinc Deficiency in the Rat. *J.Cell.Phys.*, 73:81-84, 1968.
78. Sandstead, H.H.: Zinc Nutrition in The United States. *Am.J.Clin.Nutr.*, 26:1251-1260, 1973.
79. Schlienger, A.: Surocclusion Experimentale et Croissance du Cartilage Condylieen chez le Jeune Rat. *Revue D'Odontostomatologie Tome VI.1:35-40, 1977.*
80. Schwartz, S.I.: Principles of Surgery. 2th ed. McGraw Hill, 1974. pp.186-192.
81. Scott, J.H.: Dentofacial Development and Growth. Pergamon Press, Oxford, 1967. pp.42-138.
82. Solomons, N.W.: On the Assesment of Zinc and Copper Nutri-ture in Man. *Am.J.Clin.Nutr.*, 32:856-871, 1979.

83. Spencer, H., Vankinscott, V., Lewin, I. and Samachson, J.:
Zinc ⁶⁵ Metabolism during Low and High Calcium Intake
in Man. J.Nutr., 86:169-177, 1965.
84. Swenerton, H. and Hurley, L.S.: Severe Zinc Deficiency in
Male and Female Rats. J.Nutr., 95:8-18, 1967.
85. Swenerton, H. and Hurley, L.S.: Teratogenic Effects of a
Chelating Agent and their Prevention by Zinc. Science,
173:62-63, 1971.
86. Taylor, D.M.: Retention of Zinc ⁶⁵ in the Bones of Rats.
Nature, 189:932-933, 1961.
87. Underwood, E.J.: Trace Elements in Human and Animal Nutri-
tion. 4th ed. Academic Press, New York, 1977. pp.196-242.
88. Yetkin, H.: Çinko Eksikliği Meydana Getirilmiş Ratlarda
Kırık İyileşmesinin Radyodensitometre, Radyoizotop ve
Histolojik olarak İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. Ankara, 1977.
89. Westmoreland, N. and Hoekstra, W.G.: Pathological Defects
in the Epiphyseal Cartilage of Zinc Deficient Chicks.
J.Nutr., 98:76-82, 1968.
90. Wing, K.R.: The Turnover of Zinc in Albino Rats Fed Conven-
tional and Zinc Deficient Diets. Thesis. Umea University,
1974. pp.1-30.
91. Wuehrmann, A.H. and Manson-Hing, L.R.: Dental Radiology.
4th ed. Saint Louis, C.V. Mosby Co., 1977. pp.26-62.

