



T.C
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PRENATAL DÖNEMDEN İTİBAREN FARKLI
KONSANTRASYONLARDA KRONİK OLARAK SİSTEMİK
FLUORİD VERİLEN SIÇANLARIN MANDİBULA VE BÖBREK
DOKULARININ RADYOGRAFİK VE HİSTOLOJİK
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

SERHAT KARACA

DOKTORA TEZİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ali R. MENTEŞ

İSTANBUL-2014

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-DRP-141112-0332 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi :Doktora
Anabilim Dalı : Pedodonti
Tez Sahibi : Serhat KARACA
Tez Başlığı :Prenatal dönemden itibaren farklı konsantrasyonlarda kronik olarak sistemik florid verilen sıçanların mandibula ve böbrek dokularının radyografik ve histolojik yöntemlerle incelenmesi
Sınav Yeri : M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 09.06.2014

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof.Dr. Ali R. MENTEŞ

Kurumu

M.Ü. Diş Hek. Fak. Pedodonti Ab.D.

İmza

Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. İlknur TANBOĞA

M.Ü. Diş Hek. Fak. Pedodonti Ab.D.

Prof. Dr. Işın ULUKAPI

O.Ü. Diş Hek. Fak. Pedodonti Ab.D.

Doç. Dr. Süheyla BOZKURT

M.Ü. Tıp Fak. Patoloji Ab.D.

Doç. Dr. Orkun ERSOY

N.Ü. Mühendislik Fakültesi

Jeoloji Mühendisliği Bölümü

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 11/06/2014 tarih ve 15 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

F. Arıcıoğlu
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde 3'er nüsha halinde Enstitüye teslim edilmelidir.
-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Serhat KARACA

TEŞEKKÜRLER

Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki doktora eğitimim süresince varlığı ve akademik bilgisi ile bize güven veren, pedodonti eğitimini en iyi koşullarda almamız için her türlü ortam ve şartı hazırlayan, desteğini, samimi ilgisini ve sevgisini bizden esirgemeyen çok değerli hocam Pedodonti Anabilim Başkanı Sayın **Prof. Dr. İlknur TANBOĞA'ya**,

Doktora eğitimim sırasında ve tüm tez çalışmam boyunca büyük bir özveri ile bana destek olan; akademik deneyim ve bilgileri ile tezimin her aşamasında büyük sabır ve titizlikle bana yol gösteren, her zaman desteğini hissettiğim çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. **Ali MENTEŞ'e**,

Pedodonti eğitimime katkıları bulunan değerli hocalarım Sayın **Prof. Dr. Serap AKYÜZ**, **Prof. Dr. Betül KARGÜL** ve **Prof. Dr. Lale DÜZDAR'a**, doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana büyük katkıları olan **Yrd. Doç. Dr. Eda HAZNEDAROĞLU**, **Yrd. Doç. Dr. Sertaç PEKER**, **Yrd. Doç. Dr. Nida HÜROĞLU**, **Yrd. Doç. Dr. Işıl Özgül KALYONCU**, **Arş. Görv. Figen EREN GİRAY**, **Arş. Görv. Ahu DURHAN** ve **Arş. Görv. Başak DURMUŞ'a**,

Tez izleme komitemde bulunan Okan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Prof. Dr. Işın ULUKAPI 'ya**, Tez çalışmam esnasında böbrek dokularının değerlendirilmesinde bilimsel ve mesleki tecrübeleriyle bana yol gösteren M.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Doç Dr. Süheyla UYAR BOZKURT'a**,

Tez çalışmam esnasında mandibula dokularının değerlendirilmesinde bilimsel ve mesleki tecrübeleriyle bana yol gösteren Niğde Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Jeoloji Mühendisliği Bölümü Mineraloji-Petrografi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Doç. Dr. Orkun ERSOY'a**,

Özverili çalışmalarından dolayı M.Ü. Nörolojik Bilimler Enstitüsü Patoloji Laboratuvarı çalışanları **Ardınç ARPINAR, Demet BAYRAK ve Gülcan DAVULCU'ya,**

Böbrek dokularının hazırlanması ve boyanması aşamalarında yardımlarını ve ilgilerini benden esirgemeyen M.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi **Sayın Yrd. Doç. Dr. İlker TİNAY** ve Sayın Biolog **Mustafa Özyürek'e**

M.Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki çalışmalarım esnasında her türlü yardımını esirgemeyen **Vet. Dilek ÖZBEYLİ'ye,** katkılarından dolayı arkadaşlarım **Burak KITIĞI, Şirin GÜNER, Fatma VAROL ÇALIŞKAN, Edibe Egil, Barhan PEKER, Damla AKŞİT, Didem KURAL** ve tüm asistan arkadaşlarıma, sevgili **Bahtişen ÜRER'e,**tüm hayatım boyunca olduğu gibi, tez çalışmamda bana koşulsuz destek olan değerli nişanlım **Nurcan KUTLUER'e** ve çok yakın dostum **Burak AKKOCA ve Musa AYDIN'a**

Hayatım boyunca attığım her adımda beni destekleyen, her zaman bana başarıma arzusu ve gücü veren kosulsuz sevgi ve ilgisini esirgemeyen canım annem **Hatice KARACA'ya** ve babam **Ferhat KARACA'ya,** kardeşlerim **Buket ve Nagehan KARACA'ya**

En içten teşekkürlerimi sunuyorum....

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xvi
RESİMLER LİSTESİ.....	xxii
TABLolar LİSTESİ.....	xxvi

1	ÖZET	1
2.	SUMMARY	2
3.	GİRİŞ ve AMAÇ	3
4.	GENEL BİLGİLER	7
4.1.	Kemik Doku	7
4.1.1.	Kemik Dokunun Gelişimi	7
4.1.2.	Kemik Dokunun Yapısı	7
4.1.3.	Kemik Dokunun Hücreleri	8
4.1.4.	Kemik Dokuda Ossifikasyon	9
4.1.5.	Kemik Dokuda Mineralizasyon	10
4.1.6.	Çene Kemiklerinde Gelişim	10
4.1.6.1.	Mandibulada Gelişim ve Kemikleşme	10
4.1.6.2.	Maksillada Gelişim ve Kemikleşme	11
4.2.	Sıçan ile İnsan Kemik Dokusu Kıyaslaması	11
4.2.1.	Sıçan Kemik Histolojisi	11
4.2.2.	Sıçan Mandibulası	13
4.3.	Kemik Mineral Dansitometresi	15
4.3.1.	Kemik Mineral Dansitometresi Ölçüm Yöntemleri	16
4.4.	Mikro Bilgisayarlı Tomografi	16

4.4.1.	Mikro Tomografinin Temel İlkeleri	17
4.4.2.	Görüntünün Yeniden Yapılandırılması	19
4.4.3.	Diş Hekimliğinde Kullanımı	21
4.4.4.	Skyscan 1174 Sistemine Genel Bakış	22
4.5.	Böbrek Histolojisi ve Fizyolojisi	23
4.5.1.	Böbrek Histolojisi	23
4.5.2.	Böbrek Fizyolojisi	26
4.6.	Sıçan ile İnsan Böbrek Dokunun Kıyaslaması	27
4.7.	Apoptozis	31
4.7.1.	Apoptozis Mekanizmaları	31
4.7.2.	Apoptotik Hücrede Gözlenen Morfolojik Değişiklikler	33
4.7.3.	Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler	34
4.7.3.1.	Morfolojik Görüntüleme Yöntemleri	34
4.7.3.2.	İmmunohistokimyasal Yöntemler	35
4.7.3.3.	Biyokimyasal Yöntemler	36
4.7.3.4.	İmmünolojik Yöntemler	37
4.7.3.5.	Moleküler Biyoloji Yöntemleri	37
4.8.	Fluorid	38
4.8.1.	Fluoridin Doğada Bulunuşu	38
4.8.2.	Fluorid Kaynakları	39
4.8.2.1.	İçme Suları	39
4.8.2.2.	Diğer Fluorid Kaynakları	40
4.8.3.	Fluorid Metabolizması	42
4.8.3.1.	Fluorid Metabolizmasının Genel Özellikleri	42
4.8.3.2.	Fluorid Emilimi	43
4.8.3.3.	Fluorid Dağılımı	46

4.8.3.4.	Fluoridin Atılımı	51
4.8.3.5.	Fluorid Metabolizmasını Etkileyen Faktörler	53
4.8.4.	Fluorid Toksisitesi	59
4.8.4.1.	Akut F Toksisitesi	59
4.8.4.2.	Kronik F Toksisitesi	61
4.8.5.	Sert Dokular Üzerine Etkileri	62
4.8.5.1.	Dental Fluorozis	62
4.8.5.2.	İskeletsel Fluorozis	63
4.8.5.2.1.	İskeletsel Fluorozis Patogenezi	65
4.8.5.2.2.	İskeletsel Fluorozis Klinik Bulguları	66
4.8.6.	Yumuşak Dokular Üzerine F'in Etkisi	68
4.8.6.1.	Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistemi	68
4.8.6.2.	Santral Sistem Üzerindeki Etkileri	70
4.8.6.3.	Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri	71
4.8.6.4.	Kardiyovasküler Sistem Üzerinde Etkileri	71
4.8.6.5.	Hematolojik Sistem Üzerinde Etkileri	72
4.8.6.6.	Üreme Sistemi Üzerine Etkileri	72
4.8.6.7.	Üriner Sistem Üzerine Etkileri	72
5.	GEREÇ VE YÖNTEM	74
5.1.	Sıçan Deney Gruplarının Oluşturulması	74
5.2.	Deney Hayvanlarından Doku Örneklerinin Alınması	77
5.2.1.	Mandibula Dokularının Alınması	77
5.2.2.	Böbrek Dokularının Alınması	78
5.3.	Mandibula Dokularının Mikro Bilgisayarlı Tomografi Yöntemi İle İncelemesi	79
5.3.1.	Mandibula Dokularının Mikro Tomografi İçin Hazırlanması	79

5.3.2.	Mandibula Dokularının Mikro Bilgisayarlı Tomografi Taramaları	80
5.3.3.	Mikro Bilgisayarlı Tomografi Görüntülerin Değerlendirilmesi ve Mandibula Dokularının Kemik Mineral Yoğunluklarının Tespiti	85
5.3.4	Mandibula Dokularına Ait Mikro Bilgisayarlı Tomografi Kesitleri	87
5.4.	Böbrek Dokularının Histolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeleri	89
5.4.1.	Böbrek Dokularının Histolojik İncelemeleri	89
5.4.2.	Böbrek Dokularının İmmünohistokimyasal Yöntem ile İncelenmesi	90
5.4.3.	Böbrek Dokularında Apoptotik Hücre Sayımı ve Değerlendirilmesi	94
5.5.	İstatistiksel Analiz	95
6.	BULGULAR	96
6.1.	Mandibula Dokularına Ait Bulgular	96
6.1.1.	Mandibula Dokularının Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	96
6.1.1.1.	Kondil Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	96
6.1.1.2.	Angular Çıkıntı Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	100
6.1.1.3.	Birinci Molar Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	105
6.1.1.3.1.	Birinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmiş Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	105
6.1.1.3.2.	Birinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmemiş Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	110
6.1.1.4.	İkinci Molar Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	115
6.1.1.4.1.	İkinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmiş	

	Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	115
6.1.1.4.2.	İkinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmemiş Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	120
6.1.1.5.	Mandibula Birinci ve İkinci Molar Dişler Arası Septum Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi	125
6.1.2.	Mandibulanın Farklı Bölgelerinde Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri	130
6.1.2.1.	Kontrol Gruplarının Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri	130
6.1.2.2.	30 ppm F gruplarının Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri	131
6.1.2.3.	100 ppm F gruplarının Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri	132
6.2.	Böbrek Dokularına Ait Bulgular	134
6.2.1.	Böbrek Dokularının Histolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeleri	134
6.2.1.1.	Böbrek Dokularının Histolojik İncelemeleri	134
6.2.1.2.	Böbrek Dokularında İmmünohistokimyasal İncelemeleri Değerlendirilmesi	135
6.2.1.2.1.	Tubulus Bölgelerinde Apoptotik Hücrelerin Analizi ve Değerlendirilmesi	135
6.2.1.2.2.	Glomerülüs Bölgelerinde Apoptotik Hücrelerin Analizi ve Değerlendirilmesi	140
6.2.2.	Böbrek Dokularına Ait Kesitler	146
7.	TARTIŞMA	155
8.	SONUÇLAR	180

KAYNAKLAR

EKLER

ETİK KURUL ONAYI

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ABD : Amerika Birleşik Devletleri

ADH : Antidiüretik Hormon

AlF₃: Alüminyum Fluorid

Apaf-1 : Apoptotik proteaz aktive edici faktör

ATP : Adenozin trifosfat

BUN : Kan üre azotu

BT : Bilgisayarlı Tomografi

Ca: Kalsiyum

CAT : Chloramphenicol acetyltransferase

CFA : Çift foton absorbsiyometri

DEXA : Dual Enerjili X-Işını Absorbsiyometri

DF: Dental fluorozis

DPA : Çift Foton Absorbsiyometri

EAPD : Avrupa Pediatrik Diş Hekimliği Derneği

ER: Endoplazmik Retikulum

F : Fluorid

FRI : Fluorozis Riski İndeksi

GSH-Px : Glutathione peroxidase

HB : Hematoksilen boyama

HF : Hidrojen Fluorür

H&E: Hematoksilen&Eozin

KBT : Kantitatif bilgisayarlı tomografi

KMR : Kantitatif magnetik rezonans görüntüleme

KUSG : Kantitatif ultrasonografi

MBT : Mikro bilgisayarlı tomografi

MDA : Malondialdehid

Micro CT : Micro computed tomography

MR : Manyetik rezonans

NADPH : nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NaF : Sodyum Fluorid

nm: Nanometre

PAS : periyodik asit schiff boyama tekniği

ppm: Part per million (Milyonda Bir Ünite)

PS : fosfatidilserin

SOD :Superoxide dismutases

SPA : Tek Foton Absorbsiyometri

TBS : tris buffer serum

TdT : deoksinükleotidil transferaz

TFA : Tek foton absorbsiyometri

TISAB II: Total Ionic Strength Adjustment Buffer

TF : Thylstup Fejerskop sınıflaması

TFI : Thylstrup-Fejerskov İndeksi

TNFR : tümör nekroz faktör reseptör

TSIF : Tooth Surface Fluorosis Index

TUNEL : terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling
boyama yöntemi

um: Mikrometre

USG : Ultrasonografi

UV : Ultra viole ışınlar

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Sıçan mandibulası

Şekil 2: Sıçan mandibulası

Şekil 3: Sıçan mandibulası

Şekil 4: F metabolizmasında pH' ın etkisi

Şekil 5: Düşük bir miktar F' in alınımı sonrası oluşan plazma F konsantrasyon eğrisi ve F metabolizmasının genel özellikleri

Şekil 6: F metabolizmasının genel özellikleri

Şekil 7: Yumuşak doku sıvılarında F' in dağılımı

Şekil 8: Böbrek tubullerinde F' in tekrar emilim mekanizması

Şekil 9: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 10: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 11: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 12: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 13: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 14: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 15: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 16: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 17: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 18: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 19: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 20: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 21: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 22: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 23: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 24: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 25: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 26: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 27: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 28: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 29: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 30: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 31: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 32: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 33: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 34: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 35: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 36: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 37: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 38: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 39: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 40: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 41: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 42: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 43: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 44: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 45: Deney gruplarına Kontrol grubu sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 46: Deney gruplarına 30 ppm F grubu sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 47: Deney gruplarına 100 ppm F grubu sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 48: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 49: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 50: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Şekil 51: Kontrol grupları kemik mineral dansite bulguları

Şekil 52: 30 ppm F grupları kemik mineral dansite bulguları

Şekil 53: 100 ppm F grupları kemik mineral dansite bulguları

Şekil 54: Deney gruplarına göre Kontrol grubu sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 55: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 56: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 57: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 58: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 59: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 60: Kontrol grubu sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 61: 30 ppm F grubu sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 62: 100 ppm F grubu sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 63: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 64: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Şekil 65: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Bowman kapsülü ve glomerül yapısı

Resim 2: Sıçan ve insan glomerülüs yapıları

Resim 3: Sıçan ve insan böbrek korteks yapıları

Resim 4: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte normal mine görüntüsü

Resim 5: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı mine görüntüsü

Resim 6: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı görüntünün yanında adacıkların bulunduğu (islet) mine görüntüsü.

Resim 7: Sıçan mandibula radyografik görüntüsü

Resim 8: Mandibula dokularının hazırlanması ve muhafaza edilmesi.

Resim 9: Böbrek dokularının hazırlanması ve muhafaza edilmesi.

Resim 10: Silikon bloklar hazırlanması ve akrilik bloklara alınması.

Resim 11: Mikro tomografi taramaları için kullanılan holder ve mikro BT cihazı

Resim 12: Mikro tomografi taramaları için kullanılan 0,5 mm kalınlığında alüminyum plak

Resim 13: Mikro bilgisayarlı tomografi taraması ve parametreleri

Resim 14: Mandibula kemik mineral yoğunluğu ölçümleri

Resim 15: Kemik mineral yoğunluğu tespiti için kullanılan hidroksi apatit fantom modeller

Resim 16: Mandibular kondil ve angular çıkıntı bölgesi kemik mineral yoğunluğu

Resim 17: Mandibular korpus kemik mineral yoğunluğu

Resim 18: Birinci molar furkasyon bölgesi kemik mineral yoğunluğu

Resim 19: İkinci molar furkasyon bölgesi kemik mineral yoğunluğu

Resim 20: Böbrek dokularına ait Hematoksilen ve eozin boyama örnekleri

Resim 21: Apoptozis boyama kiti

Resim 22: Dokuların etanol ile yıkanması

Resim 23: Dokuların proteinaz K solusyonu ile kaplanması

Resim 24: Dokulara TdT işaretleyici enziminin uygulanması

Resim 25: TUNEL yöntemi ile boyanan böbrek dokuları

Resim 26: Işık mikroskobu

Resim 27: Kontrol 1.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme

Resim 28: Kontrol 3.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 200 büyütme

Resim 29: 30 ppm F 1.Ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 200 büyütme

Resim 30: 30 ppm F 3.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme

Resim 31: 100 ppm F 1.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 200 büyütme

Resim 32: 100 ppm F 3.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme

Resim 33: 100 ppm F 5.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme

Resim 34: 100 ppm F 5.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme

Resim 35: Kontrol 1. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 200 büyütme

Resim 36: Kontrol 3. ay grubu böbrek dokusu glomerülüs ve tubulus bölgelerinde hematoksilin eozin boyama x 400 büyütme

Resim 37: Kontrol 5. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 400 büyütme

Resim 38: 30 ppm F 1. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 200 büyütme

Resim 39: 30 ppm F 3. ay grubu böbrek dokusu glomerülüs bölgesi hematoksilin eozin boyama x 400 büyütme

Resim 40: 30 ppm F 5. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 400 büyütme

Resim 41: 100 ppm F 1. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 200 büyütme

Resim 42: 100 ppm F 3. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 200 büyütme

Resim 43: 100 ppm F 5. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 400 büyütme

Resim 44: 100 ppm F 5. ay grubu böbrek dokusu hematoksilin eozin boyama x 200 büyütme

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Sıçan ve İnsan İskelet sistemi arasındaki farklılık ve benzerlikler

Tablo 2: Sıçan ve insan üriner sistem özellikleri

Tablo 3: Sıçanların bazı yumuşak dokularında doku-plazma F oranları

Tablo 4: İskeletsel Fluorozis klinik bulguları

Tablo 5: Gruplara göre sıçanların günlük tükettikleri su miktarlarının (ml) değerlendirilmesi

Tablo 6: Takip sürelerinde grupların ağırlık ortalamalarının değerlendirilmesi

Tablo 7: Kondil bölgesi kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 8: Angular çıkıntı bölgesi kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 9: Birinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilerek elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 10: Birinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilmeden elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 11: İkinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilerek elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 12: İkinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilmeden elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 13: Mandibula birinci ve ikinci molar dişler arası septum bölgesi kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

Tablo 14: Mandibulanın farklı bölgelerinde kemik mineral dansite değerlendirmeleri ile ilgili alanların açıklaması

Tablo 15: Böbrek dokusu tubulus bölgeleri apoptotik hücre yüzde değerleri

Tablo 16: Böbrek dokusu glomerülüs bölgeleri apoptotik hücre değerleri

1. ÖZET

Bu çalışmanın amacı prenatal dönemden itibaren değişik konsantrasyonlarda sistemik florid (F) verilen sıçanlarda; F' in, kemik ve böbrek dokuları üzerindeki toksik etkilerinin incelenmesi, F varlığında bu doku hücrelerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin araştırılmasıdır. Bu amaçla gebelik öncesi dönemden itibaren içme suyu ile 0, 30 ve 100 ppm F dozları verilen sıçanlar, kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F olmak üzere 3 gruba ayrıldıktan sonra, 1, 3 ve 5 ay süre ile takip edilerek, mandibula ve böbrek dokularının incelenmesi için kurban edilmiştir. Diseke edilen mandibula dokuları, kemik mineral yoğunluklarının incelenmesi için kondil, angular çıkıntı, birinci ve ikinci molar dişler furkasyon bölgeleri ve birinci ve ikinci molar dişleri arası septum bölgelerinden ayrı ayrı mikro bilgisayarlı tomografi cihazı ile analizleri tamamlanarak, hidroksi apatit fantom modeller ile kalibre edilerek değerlendirilmiştir. Böbrek dokuları ise histolojik değerlendirme yapılabilmesi için hematoksin-eozin boyama yöntemi ile, immünohistokimyasal inceleme için ise TUNEL yöntemi ile boyamaları yapılarak, tubulus ve glomerülüs bölgelerinde ayrı ayrı değerlendirilerek meydana gelen apoptozis incelenmiştir. Mandibula kemik dokularında, içme suyu F miktarı arttıkça kemik mineral yoğunluklarının anlamlı düzeyde değiştiği tespit edildi. 30 ppm F gruplarında, kontrol gruplarına kıyasla genel olarak kemik mineral yoğunluklarında artış gözlenirken, 100 ppm F 5. ay gruplarında ise mandibula kemik dokularında kemik mineral yoğunluklarında azalma tespit edilmiştir. Böbrek dokularının incelenmesinde, 100 ppm F gruplarında oluşan apoptotik hücrelerin sayısı, kontrol ve 30 ppm F gruplarından anlamlı derecede yüksektir. Ayrıca hem tubulus hem de glomerülüs bölgelerinde, 5. ay grubu sıçan böbrek dokularının apoptozis değerleri, 1. ve 3. ay değerlerinden anlamlı şekilde yüksektir. Böbrek dokularında yapılan histolojik incelemelerde ise içme suyu F miktarının artması ile tubular dilatasyonlar, glomerülüslerde atrofiler ve nekroz alanları, vasküler konjesyon ve hemorajik kanama odakları gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, F varlığında hem sert ve hem de yumuşak dokularda hücresel değişiklikler görülmektedir.

Anahtar sözcükler: florid, mandibula, böbrek, mikro bilgisayarlı tomografi, apoptozis

2. SUMMARY

Radiographic and Histological Evaluation of Mandible and Kidney of Rats Exposed to Different Chronic Fluoride Doses Pre- and Postnatally.

The aim of this study was to evaluate toxic effects of fluoride on bone and kidney tissues of rats, to investigate the histopathological changes received chronic fluoride (F) doses pre and postnatally. In this study, female rats received 0, 30 and 100 ppm F ad libitum in drinking water, throughout the gestation and nursing periods. After the rats were divided into three groups for control, 30 ppm F and 100 ppm F and followed up for 1, 3 and 5 months, they were sacrificed for determining their mandibles and kidneys. The Mandibles were dissected and analyzed by microcomputed tomography (micro-CT) to evaluate the bone mineral density (BMD) of mandibular condylar and angular process, furcation and septum areas of first and second mandibular molar teeth with using hydroxyapatite phantom models for the BMD calibration. Rat kidney tissues were stained with hematoxylin and eosin (H&E) for the histological observation and stained with TUNEL mixture to detect immunohistochemical changes and apoptosis in glomerular and tubular sections. BMD values have increased in 30 ppm F groups but in 100 ppm F, 5. month groups mandibular BMD have decreased than control and 30 ppm F groups BMD values statistically significant. In examination of toxic effects of fluoride in kidneys, severe cellular apoptosis has greatly increased by fluorosis. In 100 ppm F groups, the number of glomerular and tubular apoptotic cells were higher than control and 30 ppm F groups statistically significant. In all groups, higher apoptosis values were detected in 5. month rats than 1. and 3. month ones in glomerular and tubular sections statistically significant. Under experimental condition the transverse section of kidney of 5 month fluoride exposed rats have shown tubular dilatations, glomerular atrophies and necrosis areas, vascular congestions and hemorrhagic regions. In conclusion, at the high doses administered prolonged exposure to F in drinking water affected adversely on developing bone structures and mineral densities and severe apoptosis were seen in rat kidney tissues.

Key Words: fluoride, mandible, kidney, micro CT, apoptosis

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Organik ve inorganik maddeler, organizmaların canlılıklarını sürdürebilmeleri ve sağlıklı yaşayabilmeleri için çok önemlidir. Bunların birçoğu organizma tarafından oluşturulamamakta ve belirli oranlarda dışarıdan alınmaktadır. Ancak az veya çok alınmaları durumunda organizmada olumsuz etkiler yapabilmektedirler. Özellikle kemik ve diş yapısında önemli etkilere sahip olan F de dışarıdan alınan önemli bir inorganik elementtir. Diş ve kemik dokularının mineralizasyonu için faydaları bulunan F, aşırı miktarlarda vücuda alındığında ise bu dokularda birikme eğilimi göstermektedir. Vücutta birikim yapan F' in yaklaşık % 99'u kalsifiye dokular ile ilişkilidir ve Fluorozis olarak adlandırılır. Fluorid, kemik ve dişlerde bulunan hidroksiapatit kristal yüzeyindeki hidroksil iyonu ile yer değiştirebilir. Bu birleşme sonucunda ortaya çıkan fluoroapatit kristal yapısı, hidroksiapatite göre daha az çözünen, daha kompakt bir yapıdır (Fejerskov, 1996; Bartlett ve ark. 2005; Browne, 2005).

Büyüme gelişim döneminde, tolere edilebilen seviyenin üzerinde sistemik F alımı sonucunda, iskelet sisteminde iskeletsel fluorozis ve dişlerde dental fluorozis tablosu ortaya çıkmaktadır. Günümüzde diş dokularının çürüğe karşı korunması amacıyla F' in yoğun olarak kullanılması ve besin maddelerinde miktarının artması nedeniyle en belirgin klinik görünümü olan dental fluorozis dünya çapında bir sağlık problemi haline geldiği bildirilmektedir (Ando ve ark., 2001).

Bu nedenle dental fluorozis ve F' in çürük önleyici özelliği arasındaki dengenin sağlanmasının önemi artmaktadır. F' in dental dokular üzerindeki etkilerini inceleyen pek çok araştırma yapılmıştır ve bu çalışmalarda dental fluorozisten sorumlu mekanizmanın daha iyi anlaşılması amaçlanmaktadır (Teotia ve Teotia, 1971; Fejerskov, 1996; Browne, 2005).

F, dişlerde oluşturduğu estetik bozuklukların yanı sıra kemikte de bir takım bozukluklar meydana getirir. Doğal içme suyu ve kaynaklarında F konsantrasyonu günlük optimal F dozundan daha yüksek olan coğrafi bölgelerde yaşayan bireylerde

görülen endemik fluorozis günümüzde majör bir halk sağlığı problemidir. Dünyanın birçok bölgesinde, özellikle Çin'in kuzeyi, Hindistan, Sri Lanka, Meksika, ABD'nin batısı, Arjantin ve Afrika'nın birçok devletlerinde, yüksek F' li yeraltı suları tespit edilmiştir. Ülkemizde de yüksek düzeyde F içeren içme sularına sahip olan bazı bölgelerde endemik fluorozis olduğu tespit edilen Isparta, Kırşehir, Edirne-Habiller Köyü, Van-Muradiye-Aşağıyılanlı ve Gökçekaynak Köyü, Elazığ, Eskişehir-Belikova-Kızılcaören Köyü, Nevşehir -Ürgüp, Avanos, Hacıbektaş, Kayseri-İncesu, Uşak-Eşme-Güllü Köyü, Konya-Seydişehir, Aydın-Buharkent, Samsun-Vezirköprü, Muğla-Yatağan, Van-Çaldıran, Ağrı-Doğubeyazıt bölgeleri bulunmaktadır. Bu bölgelerde, sularda F konsantrasyonunun kaynağı, bölgenin jeolojik yapısından kaynaklanmıştır. Bu jeolojik yapı genellikle volkanik kayalardan oluşmuştur.

F' in uzun zaman dilimleri boyunca özellikle büyüme gelişim dönemlerinde oral yol ile kronik olarak alınımı, iskeletsel dokularda F tutulumuna ve patolojik kemik formasyonlarına yol açar (Fejerkov 1996, Bartlet 2005). İskeletsel fluorozis tablosunda, kemik büyüme aşamasında ya da yeniden yapılanma aşamasının çeşitli periyotları sırasında genellikle oral yol ile aşırı miktarda F alınımı söz konusudur. Dünyada en az 20.000.000 insanın çeşitli derecelerdeki iskeletsel fluorozisten etkilendiği düşünülmektedir (Krishnamachari, 1986; Fejerskov, 1996; Bartlet, 2005; Vieira ve Mousny, 2005; Tamer, 2007). İskeletsel fluorozis tablosu, optimum miktarın üzerinde F alımı ile meydana gelen, kemikte artan metabolik yapım ve yıkım ile kemik kollajen sentezindeki defektler ve kalsiyum afinitesinin artışıyla ortaya çıkan osteomalazi, osteoskleroz, sekonder hiperparatiroidi ve osteoporoz şeklinde kemik deformiteleri ile sonuçlanan sistemik bir toksisite durumudur (Singer ve Armstrong, 1969; Smith, 1985; Guo ve ark., 1988; Opinya ve Imalingat, 1991; Pak ve ark., 1995; Fejerskov, 1996; Li ve ark., 2001; Vieira ve ark., 2005).

Oral yolla alınan F' in birincil atılım yeri böbrekler olduğu için böbrekler diğer organlardan daha fazla F' e maruz kalmaktadırlar. Bu durum uzun süre F' e maruziyetin böbrekler üzerine toksik etkisi olabileceğini akla getirmiştir. Yapılan çalışmalarda, aşırı F alınımının renal yetmezlikle ilişkili olabileceği gözlenmiştir (Lantz ve ark. 1987).

Böbrekler F' in vücuttan atılımında ana yol olarak görülmektedir. Normal şartlar altında 18-75 yaş arası sağlıklı bireylerin günlük atılan idrarında yaklaşık alınan F' in % 60'ı bulunur. Çocuklarda ise bu oran % 45'dir. Bunun sonucu olarak (Villa 2010) plazma ile idrar bir fizyolojik denge oluşturur. Bu denge daha önce alınmış F miktarı, daha önce birikmiş F miktarı, kemikten çözünen F ve böbreklerin F atma etkinliğine bağlıdır. Dolayısıyla böbreklerdeki patoloji direk olarak alınan F miktarı ile ilişkilidir. Her ne kadar böbrek hastalığı olan çocuklarda yapılmış çalışmalarda dental fluorozis görülme sıklığı sağlıklı çocuklara göre anlamlı bir fark göstermemiş olsa da özellikle ileri derecede dental fluorozis eğiliminin bu çocuklarda arttığı not edilmiştir. Endemik fluorozis bölgelerinde yapılan çalışmalarda, böbrek fonksiyonlarıyla çevresel F toksisitesi arasında ilişki kurulmuştur (Reggabi, 1984; Kumari, 1991; Liu, 1993; Singh ve ark., 2001).

Temel tıp bilimlerinde, başta sıçanlar ve fareler olmak üzere deney hayvanları insanlara benzer histolojik ve fonksiyonel hücrelere sahip olduklarından toksisite araştırmalarının, preklinik ve in vitro çalışmalarında kullanılırlar. Ayrıca günümüzde sıklıkla yapılan toksisite araştırmalarının insan klinik çalışmalarına başlamadan önce deney hayvanları kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar yüksek F alımına bağlı farelerde de insanlarda olduğu gibi dental fluorozis oluştuğunu saptamıştır. Ancak fare metabolizmasının daha hızlı olması, kemik büyüme ve gelişmesinin daha çabuk olması ve böbreklerden atılımın daha hızlı olması gibi nedenlerden dolayı fluorozis toksisite çalışmalarında insanda görülen F dozunun farelerde 10 kat arttırılmasının gerektiği bildirilmiştir. Böylece istenen patolojik plazma F düzeyine ulaşılmış olunur (Güner ve ark. 2012).

Marmara Üniversitesi Pedodonti Anabilim Dalında yapılan daha önceki tez çalışmasında sistemik olarak F alımına bağlı sıçanların hem diş hem de beyin dokularında patolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Araştırmamız, daha önce gerçekleştirilen bu çalışmanın devamı niteliğinde olup, amacımız; prenatal dönemden itibaren içme suyuna 30 ppm veya 100 ppm F katılarak doğumdan itibaren 1, 3 ve 5 ay süresince takip edilen sıçanlarda;

1. Sert doku olarak F' in mandibula üzerinde farklı bölgelerde etkilerini kemik mineral dansitesi ölçülmesi şeklinde mikro bilgisayarlı tomografi yöntemi kullanılarak incelemek ve
2. Yumuşak doku olarak ise böbreğin tubulus ve glomerülüs bölgelerinde F varlığında meydana gelen apoptotik hücre değişikliklerini immünohistokimyasal yöntem kullanılarak değerlendirmektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kemik

4.1.1. Kemik Dokunun Gelişimi

Kemik sistemine ait pek çok kemik, endokondral kemikleşme ile oluşur. Bununla birlikte, bu iki kemikleşme şekli tek kemikte beraber yürüyebilir. Mandibula ve kafa kaidesi kemikleri buna örnek olarak gösterilebilir. İntramembranöz ya da endokondral kemik büyümesinde ossifikasyon başladıktan sonra intersitisiyel büyüme yerine apozisyonel büyüme süreci başlar (Boyde ve Kingsmill, 1998; Guyton ve Hall, 1996).

4.1.2. Kemik Dokunun Yapısı

Kemik yapı, mineralize kollajen çatısı olan bir bağ dokusudur. Kemik matriksinin en önemli özelliği ise kalsifikasyon yeteneğidir. Kemik dokunun 3 temel işlevi bulunmaktadır ;

- Kaslar için yapışma yeri oluşturarak vücut hareketlerini sağlamak,
- Destek işlevi ile mekanik, tüm organlar ve kemik iliği için koruma görevi,
- Kalsiyum, fosfat ve diğer çeşitli iyonlar için depo fonksiyonu ile metabolik işlev. (Ganong, 1997; Boyde ve Kingsmill, 1998; Junqueira ve ark., 1998)

Kemik yapı, %70 mineral ve %30 oranında organik elemanlardan oluşmaktadır. Mineral komponentin %95'ini kalsiyum-fosfat hidroksiapatit kristalleri oluştururken, %5 oranında ise bikarbonat, sitrat, magnezyum, sodyum, potasyum bulunmaktadır. Organik matriks, %98 oran ile Tip 1 kollajen ve nonkollajenöz proteinlerden, %2 oran ile ise kemik hücrelerinden meydana gelmektedir.

Makroskopik olarak incelendiğinde kemiğin dış kısmı kortikal veya kompakt kemik, iç kısmı ise trabeküler veya kansellöz kemik olarak adlandırılır (Holick, 1996; Guyton ve Hall, 1996; Ziegler ve ark., 1995). İskelet sisteminin %80'ini kortikal kemik, %20'sini ise trabeküler kemik yapı oluşturmaktadır. Kortikal kemik yapı % 80-90 oranla kalsifiye iken, trabeküler kemikte bu oran % 15-25 civarındadır. Kortikal ve trabeküler kemik, aynı tip hücre ve matriks elemanları içermesine karşın,

aralarında yapısal ve işlevsel farklılıklar vardır. Kortikal kemik yapı, esas olarak mekanik ve koruyucu bir fonksiyon üstlenirken, trabeküler kemik doku ise temel olarak metabolik fonksiyondan sorumludur. İskelet sisteminde kortikal ve trabeküler kemik oranları ise iskelet bölgesine göre değişkenlik göstermektedir. Erişkinde trabeküler kemik dokunun yeniden şekillenme hızı, kortikal kemiğe oranla daha fazla olmaktadır (Ziegler ve ark., 1995; Holick, 1996; Boyde ve Kingsmill, 1998; Kerstetter ve ark., 2003).

Kimyasal olarak kemik dokunun temeli, kalsiyum hidroksiapatit kristali yapısıdır. Hidroksiapatit kristal yapı içerisinde bazen fosfat grubu yerine, ufak miktarlarda karbonat veya hidroksil grupları yerine, klor ve F bulunabilir. Bu eklentiler, hidroksiapatit kristalinin çözünabilirlik gibi bazı fiziksel özelliklerini değiştirebilir. Bu durum önemli biyolojik etkilerin ortaya çıkmasına neden olabilir (Kerstetter ve ark., 2003, Guyton ve Hall, 1996; Ganong, 1997).

Mikroskopik olarak kemikte, tamir kemiği (woven) ve lameller tip yapıya rastlanır. Tamir tipi kemik, kollagen liflerinin düzensiz bir şekilde dizilimiyle oluşan, embriyonik yaşam ve büyüme dönemine özgü bir kemik yapısıdır. Zamanla, erişkin döneme özgü lameller kemiğe bırakır. Tamir kemiği, sağlıklı, erişkin organizmada bulunmaz. Ancak hızlı kemik yapımı ile seyirli Paget hastalığı, fluorozis ve kırık iyileşme dönemi gibi patolojik koşullarda saptanır (Corpas ve ark., 1993; Kerstetter ve ark., 2003).

4.1.3. Kemik Dokunun Hücreleri

Organik kemik matriksinin %2'sini hücreler oluşturur ve kemik oluşumu, rezorpsiyonu ve yeniden yapılanma siklusunun devamını sağlarlar. Kemik dokusunda 4 tip hücre ayırt edilir (Ziegler ve ark., 1995; Ganong, 1997; Junqueira ve ark., 1998).

Osteoprogenitör Hücreler: Osteoprogenitor hücreler, mitozla olgun kemik hücrelerine farklılaşmaktadırlar. Bu hücreler kemik büyümesinde, zedelenmesi veya kırık tamirinde aktif hale gelerek bölünürler ve osteoblast hücrelerine dönüşürler.

Osteoblastlar: Kemik dokusunda matriksin yapımında sorumlu olan hücrelerdir.

Osteositler: Kemiğin esas hücreleri olup, olgun kemik hücresi adını da alır. Gelişimlerini tamamlamış olduklarından sentez yapamazlar. Osteositlerin, kalsiyum üzerindeki etkisi ile önemli bir metabolik rolü vardır.

Osteoklastlar: İçerdikleri kollagenaz ve diğer proteolitik enzimlerle kemik rezorbsiyonunu gerçekleştiren hücrelerdir. Fonksiyonlarından dolayı makrofaj türü hücre olarak da kabul edilirler.

4.1.4. Kemik Dokuda Ossifikasyon

Ossifikasyondan sorumlu olan hücreler, osteoblastlardır. Osteoblastlar önce organik matriks salgırlar ve bu matriks kalsifiye olarak kemik dokuyu oluşturur. Osteoblastlar, salgıladıkları organik matriksin kalsifiye olması ile bulundukları bölgede gömülü kalarak osteositlere dönüşürler. Organik matriks % 90 kollojen liflerden, %10 protein-karbonhidrat bileşiminden oluşur.

Hem prenatal hem postnatal büyüme döneminde iki tür kemikleşme söz konusudur. Her iki kemikleşme şeklinde de osteoblastlar tarafından aynı tip kemik doku yapılır. İntramembranöz kemikleşme, zarsal bir kemikleşmedir. Membran kemikleri birbiri ardına hızla tabaklar halinde yapılırlar. İlkel bir kemik matriksi içerisinde kalsifiye dokular büyüüp birleştikçe kemik odaklar şekillenir. Oluşan bu primer odakları, sekonder odaklar izler ve trabeküller meydana gelir. Trabeküller içinde kalsifiye doku ile çevrili kalan osteoblastlar osteositlere dönüşür. Zamanla bu yeni meydana gelen kemiğin dış yüzeyinde çevredeki mezenşimden bir bağ doku kılıfı oluşur ki bu kılıf periost olarak adlandırılır.

Endokondral kemikleşme, prenatal dönemde endokondral mezenşim hücrelerinin önce kıkırdak dokusuna farklılaşarak sonrasında bu kıkırdak taslaktan kemik yapının oluşma sürecidir (Moore ve Persaud, 1993; Ülgen, 2000).

4.1.5. Kemik Dokuda Mineralizasyon

Kemik dokuda hayat boyu devam eden yapılanma süreci içinde kemik dokunun mekanik direnci ve sertliği organik matrikse depolanan kalsiyum fosfat miktarına göre değişiklik gösterir.

Kemik dokusundaki mineralizasyon sırasında kalsiyum ve fosfor kollojen fibriller üzerinde toplanır ve kalsiyum fosfata dönüşür. Kalsiyum fosfat tuzunun olgunlaşmış şekline ise hidroksiapatit denir. Hidroksiapatit, kemik dokudaki temel kristal formdur (Holick, 1996; Guyton ve Hall, 1996; Boyde ve Kingsmill, 1998).

Hidroksiapatit yapısını oluşturan bileşenlerin yerine girebilen pek çok yapı bulunmaktadır. Benzer büyüklük ve çekim gücü nedeni ile hidroksil iyonunun yerine geçebilen F, kemiğin mekanik özelliklerinde değişikliklere neden olmaktadır. F ile hidroksil grubunun yer değiştirmesi ile oluşan yeni yapı fluoroapatit olarak adlandırılır ve çok daha güçlü çekim kuvvetine sahip bir bileşik meydana gelir. Oluşan bu yeni yapının çözünürlüğü hidroksiapatite göre daha düşüktür (Holick, 1996; Guyton ve Hall, 1996).

4.1.6. Çene Kemiklerinde Gelişim

Kemikleşme odaklarının ortaya çıkmasından önce ve kemik oluşumunun erken dönemlerinde, yüz iskeleti kıkırdaktan oluşur. Mandibula kavsi içinde Meckel kıkırdağı gelişir. Gelişimin ilerleyen dönemlerinde burun kıkırdağının dış yüzünde maksilla ve premaksilla ile iç yüzünde damak kemiği gelişir.

4.1.6.1. Mandibulada Gelişim ve Kemikleşme

Mandibulanın çok büyük bir kısmı intramembranöz, küçük bir bölümü ise endokondral yol ile kemikleşir. Meckel kıkırdağı mandibula oluşumuna destek olarak rehberlik yapar. Mandibula, meckel kıkırdağının dış yüzünde kemikleşir.

Kemikleşme, önce corpus mandibularis dış yüzünde foramen mentale bölgesinde bölgesinde intramembranöz olarak başlar ve devam eder. Mandibulanın büyük bir kısmı intramembranöz olarak kemikleştikten sonra, sekonder kıkırdaklar ortaya

çıkar. İntramembranöz kemikleşme devam ederken bu ikincil kırkırdaklardan da endokondral kemikleşme meydana gelir.

4.1.6.2. Maksillada Gelişim ve Kemikleşme

Maksillanın ön kısmı ve premaksilla embriyonal frontonasal çıkıntının gelişmesiyle meydana gelir. Maksillanın kemikleşmesi ise buna uygun olarak ön ve arka iki kemikleşme merkezinden başlamaktadır. Maksilla bu iki kemikleşme merkezinde intramembranöz olarak kemikleşmektedir.

Maksillanın kemikleşmesi, mandibula kemikleşmesinden 1 hafta sonra intrauterin hayatın 7. haftasında başlamaktadır (Moore ve Persaud,1993; Ülgen, 2000).

4.2. Sıçan ile İnsan Kemik Dokusu Kıyaslaması

4.2.1. Sıçan Kemik Histolojisi :

Histolojik olarak fare ile insan kemiği birbirine oldukça benzemektedir. Her iki canlıda da uzun kemiklerin üç temel bölgesi vardır. Bunlar epifiz, diafiz ve metafiz bölgeleridir. Her kemiğin kabuk şeklinde dış bölgesi korteksdür ve bu trabeküler kemik denilen çubuk ve düzlüklerden oluşan gözenekli bir yapıyı çevreler. Uzun kemiklerde korteks en fazla diafizde kalındır. Metafiz ve epifizde ise korteks incedir ve yoğun trabeküler kemik bulunmaktadır. Bunun eklemlerden gelen kompresif kuvvetleri desteklemek için olduğu düşünülmektedir.

Hem insanda hem de sıçanlarda kemik, çocukta gelişirken veya travmaya cevap olarak ilk kaba lifli, düzensiz bir kemik şeklinde oluşmaya başlar. Bu kemik düzensiz karakterde bir kollegen matrikstir ve osteoblastlar tarafında oluşan bir hücre grubunu barındırır. Bu kemik daha sonra yerini lameller yapıları ince lifli kemiğe bırakır. Farede lameller kemikte insan kemik yapısına benzer fakat daha küçük ve daha az kollegen ve fibril içerir. Fare olgunlaştıkça insandaki gibi lameller kemik yerini trabeküler yapıya bırakır. Tablo 1' de sıçan ve insan iskelet sistemi arasındaki benzerlikler ve farklılıklar görülmektedir (Piper ve ark. 2002).

Kemiği değerlendirmek için radyografik dansitometrik yöntemler ile serum ve idrar biyomarkırları hem insanlar için hem de sıçanlar için aynı şekilde uygulanmaktadır.

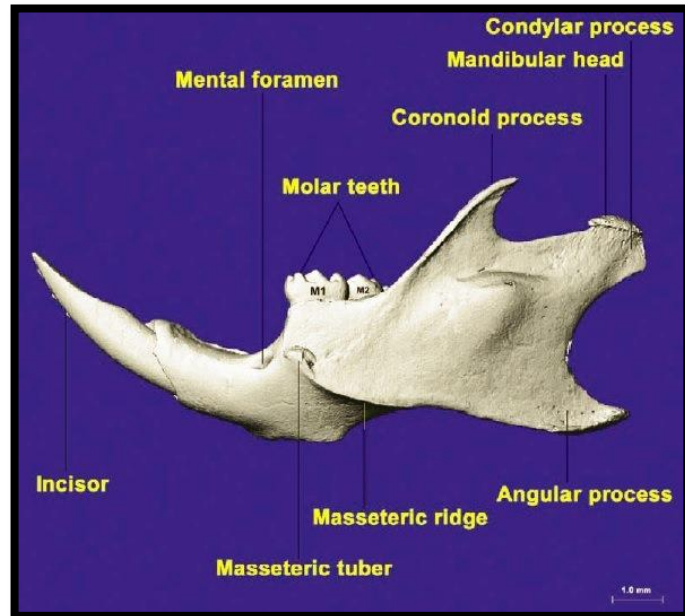
Tablo 1: Sıçan ve insan iskelet sistemi arasındaki farklılık ve benzerlikler

Genel özellikleri		Sıçan	İnsan
	Vertebra	Torasik, lumbar ve koksiks Vertebra sayısı insandakinden daha fazladır.	24 adet hareketli servikal, torasik, lumbar; 9 adet ise hareketsiz olan sakral ve koksiks vertebra vardır.
	Servikal Vertebra	7	7
	Torasik Vertebra	13	12
	Lumbar Vertebra	6	5
	Sakral Vertebra	4	5
	Koksiks Vertebra	27-31	4
Dokuların Özellikleri	Kortikal Kemik	Osteonlar yoktur, Poroziteler yaşla gelişir	Osteonlar vardır
	Kansellöz Kemik	Yaşamın ilk yıllarında sekonder spongiyoz kemik yapımı vardır ancak zamanla azalır	İskeletsel olgunlaşmadan sonra sekonder sipongiyoz kemik yapımı durur
	Epifiz	Tüm yaşam boyunca devam eder	Sadece büyüme ve gelişim döneminde vardır
	Eklem Kıkırdağı	İnsandakiden daha incedir	Kalınlığı bulunduğu bölgedeki ekleme göre değişir
	Kemik İliği	Yaşamında ilk yıllarında hematopoetik ilik ,aksiyal ve apendikular kemiklerde bulunur	Büyüme döneminde ve yetişkinlerde hematopoetik ilik aksiyal omurgada

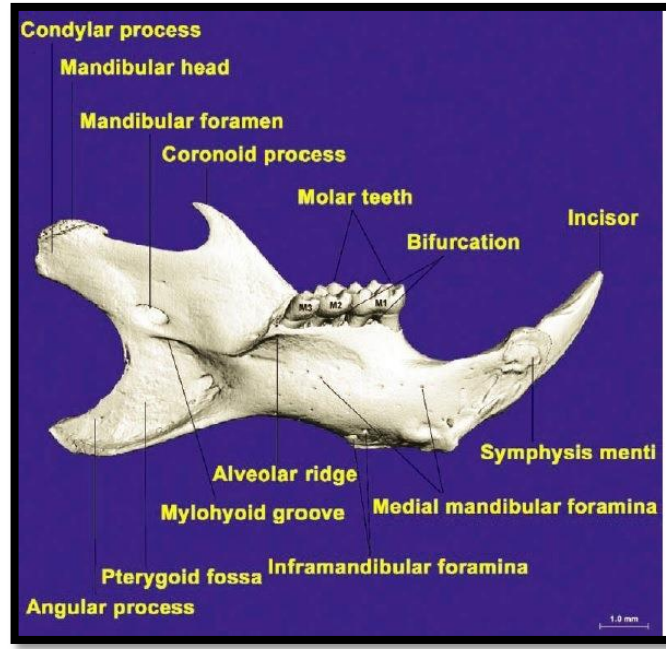
	Örgü Kemik (Woven bone)	Bulunur	Bulunur
	Lamelli Kemik	Bulunur	Bulunur
Hücreler	Osteoblastlar	Bulunur	Bulunur
	Osteoklastlar	Bulunur	Bulunur
	Kahverengi Yağ Dokusu	Yetişkin sıçanlarda skapulalarda bulunur	Yetişkin insanlarda boyun bölgesinde bulunur

4.2.2. Sıçan Mandibulası :

Şekil 1, 2 ve 3' te sıçan mandibulasının anatomik resmi görülmektedir. Genel olarak sıçan mandibulasının insan mandibulasına benzer özellikleri olmasına rağmen belirgin farklılıkları da barındırmaktadır. Sıçanlarda her yarım çenede sadece bir adet kesici diş ve üç adet molar diş bulunur. Sıçanlarda süt dişi, premolar ve kanin dişleri bulunmaz. Ayrıca molar dişler bölgesi ile kesici diş arasında geniş bir diastema bulunur (Piper ve ark. 2002).



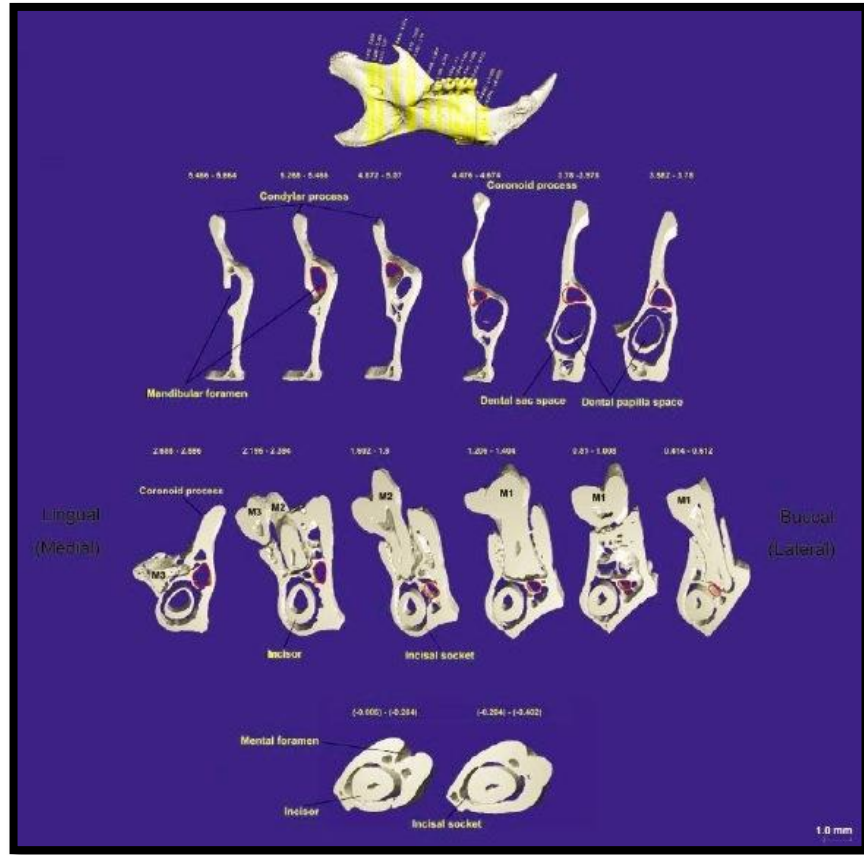
Şekil 1: Sıçan mandibulası (Lateral yönden) (Piper ve ark. 2002).



Şekil 2: Sıçan mandibulası (medial yönde) (Piper ve ark. 2002).

Rostral yönde kesici dişinden kodal bölgede en son noktası olarak kondiler çıkıntıdır. Dorso ventral yönde ise koronoid çıkıntıdan angular çıkıntıya uzanır. Anatomik noktaları insanda olduğu gibi mental foramen, molar alveol kemiğinin anterior bölgesinde yer alır. Mandibulanın bukkal yüzeyinde angular çıkıntıdan başlayıp masseterik kasın tutunma sırtıyla devam eden ve tüberle sonlanan bir anatomik çıkıntı vardır. Birinci molar dişlerin kökünden geçen ve kesici dişin soketi ve kökünü takip eden mandibular kanal mevcuttur. Mandibular kemiğin tüm gövdesinin inferior 1/3'ü tamamen kesici dişin kökü ile çevrelenmiştir.

Mandibular foramene yakın olarak kondiler çıkıntının tabanı bulunur. Sıçanlarda ve farelerde ramus bölgesinde kondiler ve koronoid çıkıntıdan başka insandan farklı olarak angular çıkıntı ramus ile korpusun birleştiği bölgede vardır. Sıçan molar dişleri insan molar dişlerine benzemekle beraber okluzal yüzeylerinde mine tabakası bulunmaz. Kesici diş ise sıçanın tüm hayatı boyunca uzamaya devam ettiği için apeksi kapanmaz (Piper ve ark., 2002).



Şekil 3: Sıçan mandibulanın frontal yönde kesitleri. Kırmızı ile işaretlenmiş bölgeler Mandibular kanalın geçtiği bölgeleri göstermektedir. (Piper ve ark. 2002).

4.3. Kemik Mineral Dansitometresi :

Kemik mineral yoğunluğu, kemiğin fizyolojik ve patofizyolojik durumunun önemli bir göstergelerinden birisidir. Kemik dokunun kuvveti ile kemik mineral yoğunluğu yüksek korelasyon göstermektedir (Wahner, 1989; Ibáñez, 2009).

Trabeküler kemik yapı, kortikal kemik dokuya göre daha yüksek bir metabolik aktiviteye sahip olduğundan, trabeküler kemik dokunun durumunun değerlendirilmesi daha önceliklidir. Araştırmalar, kemik mineral dansitesi ölçümlerinde, kemik döngüsünün yüksek olduğu trabeküler kemik bölgesi incelemelerinin daha uygun olduğu göstermektedir (Wahner, 1989; Levis ve Altman, 1998; Phillips ve Phillipov, 2006).

Son yıllarda kemik yoğunluğunun cerrahi uygulamalar dışındaki yöntemlerle belirlenebilmesi için çeşitli radyolojik yöntemler geliştirilmiş ve kullanılmaya başlamıştır (Wahner, 1989; Ibáñez, 2009).

Kemik dokunun ideal dansitometrik ölçümü; çabuk uygulanabilir ve güvenilir olmalı, kişiyi düşük oranda ışına maruz bırakmalı, az hata payına sahip olmalı, kırık riski konusunda fikir verebilmeli, trabeküler ve kortikal olarak kemiği ayrı ayrı değerlendirebilmeli ve tedavinin etkinliğinin takibinde güvenli olarak kullanılabilmelidir (Wahner, 1989; Ibáñez, 2009).

4.3.1. Kemik Mineral Dansitometresi Ölçüm Yöntemleri

Kemik kitlesinin radyolojik değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler (Wahner, 1989; Levis ve Altman, 1998; Jett ve ark., 2004) :

- Dual Enerjili X-Işını Absorbsiyometri (DEXA)
- Ultrasonografi (USG)
- Kantitatif bilgisayarlı tomografi (KBT)
- Mikro bilgisayarlı tomografi (Mikro BT)
- Kantitatif ultrasonografi (KUSG)
- Kantitatif magnetik rezonans görüntüleme (KMR)
- Foton Absorbsiyometri Yöntemleri
- Tek foton absorbsiyometri (TFA)
- Çift foton absorbsiyometri (CFA)
- Fotodansitometri (Radyografik Absorbsiyometri)

4.4. Mikro Bilgisayarlı Tomografi

Mikro tomografi x-ışınlarını kullanarak kesitsel görüntüler alan ve bu görüntüleri birleştirerek nesnelerin üç boyutlu görüntülerini elde eden bir cihazdır. Mikro terimi cihazın aldığı görüntülerin mikrometre cinsinden ifade edilmesindendir.

Sistem ilk kez 1980'lerin başında üst düzey x ışını kullanan BT' ler kullanarak geliştirilmiştir. Çok sayıda ülkede synchrotron (Elektronlar veya herhangi diğer yüklü parçacıklar eğrisel bir yörüngede tutulmak üzere ivmelendirildiklerinde hareket ettikleri yönde dar bir demet şeklinde elektromanyetik bir ışıma yaparlar. Bu ışıma synchrotron ışıması denir. Radyasyon kaynaklarının tanıtılmasıyla beraber madde bilimcileri yüksek yoğunlukta ve parlaklıktaki bu x ışınını kullanarak kesitleri mikrometrelere inecek bir BT geliştirdiler (Ritman, 2004).

MBT' nin küçük kemirgenleri bile görüntüleyebilen son teknoloji tarayıcılar içeren günümüz versiyonları, kanser tespit ve moniterizasyonunda, gen çalışmalarında ve ilaç argesinde kullanılan küçük kobay hayvanlarının görüntülenmesine duyulan ihtiyaçtan dolayı 1990' ların ortalarından itibaren geliştirilmeye başlanmıştır. Bu gelişim ile birlikte minimal invaziv bir yöntemle organ anatomileri ve organların pek çok fonksiyonu hakkında araştırma yapılmasının da önü açılmış oldu (Ritman, 2004).

4.4.1. Mikro Tomografinin Temel İlkeleri

Geleneksel optik veya elektron mikroskobisi herhangi bir örnek yüzeyinin veya ince kesitlerinin iki boyutlu görüntülerini gösterir. Ancak, genellikle orijinal üç boyutlu nesne yapıları hakkında bir sonuç iki boyut bilgisine dayanarak çıkartılamaz. Obje yapılarının üç boyutlu bilgileri, onları ışık mikroskobunda görüntülenebilecek en ufak kesitlere bölüp, iki boyutlu bilgileri üç boyutlu bir yapı modeline birleştirerek elde edilebilir. Ancak bu yöntem sadece kullanışsız değil aynı zamanda objenin hazırlanması sırasında modelin değiştirilebileceğinden ve kesitler arasındaki uzaklık, üç boyut bilgisinin kaybolmasından korunmak için genellikle fazla kaba olacağından güvenilir değildir.

Sadece bir mikro bilgisayarlı tomografi sistemi örnek hazırlama veya kimyasal sabitleme olmadan üç boyutlu nesne yapılarını 1 mikrometreden daha küçük çözünürlükte görüntülememize ve ölçmemize olanak sağlar. MBT yöntemi ile iki boyutlu mikroskopi tekniğinden daha yüksek çözünürlükte, üç boyutlu ultrasonografik görüntülemeden daha düşük çözünürlükte görüntüler elde edilir (Landisa ve Keane, 2010). Bir röntgen gölge görüntü, üç boyutlu bir nesneden iki

boyutlu bir projeksiyonu temsil eder. En yalın ve basit anlatımla, röntgen ışınması bu gölge görüntüye paralel olarak tanımlanabilir. Dolayısıyla gölge görüntünün üzerindeki her nokta ilgili kısmı röntgen ışınının yolu boyunca üç boyutlu nesnenin emilme bilgisinin birleşimini içerir.

Mikro tomografinin temel çalışma prensibi de tek boyutlu gölge çizgilerden iki boyutlu nesne dilimlerinin seri yeniden üretiminden iki boyutlu projeksiyonların üretilmesi, iki boyutlu projeksiyonlardan da üç boyutlu projeksiyonların üretilmesine dayanır (Landisa ve Keane. 2010). Bilgisayarlı tomografide görüntüsü elde edilecek nesne sabit ve x-ray kaynağı bu nesnenin etrafında dönerken, mikro bilgisayarlı tomografide x-ray kaynağı nesnenin etrafında dönerken nesne sabit konumdadır (Landisa ve Keane, 2010). Görüntüleri elde etme esnasında nesne sabit bir dönme hareketi ile 180 veya 360 derece dönecektir. Her açısal konumda bir gölge görüntüsü veya iletim görüntüsü elde edilecektir. Bir elde etme programı bütün bu projeksiyon görüntülerini diske kaydedecektir. Taramadan sonra veri seti bir set normal transmisyon röntgen görüntüsü içerir. Bu elde etmenin ardından dosya sayısı seçilen dönme adımına ve seçilen toplam dönüşe bağlıdır. Elde etme sona erdiğinde, yeniden inşa başlayacaktır. Elde edilen gölgesel açı projeksiyonları nesnenin içinden sanal dilimlerin yeniden inşası için kullanılacaktır. Ham bir veri kesiti yeniden inşa logaritması kullanılarak üretilir. Bu ham veri henüz bir görüntü değildir, yeniden inşa edilen kesitteki emilim değerlerini tutan, kayan noktalı bir matristir.

Işın Demeti Sertleşmesi (Beam Hardening) Artefaktı: X ışını tüpünden çıkan ışınlar, farklı enerji düzeylerine sahip olmaları bakımından polikromatik özelliktedir. Bu yüzden de inceleme sırasında geçtikleri değişik ortamlardan farklı şekillerde penetrasyon ve absorpsiyon gösterirler. Bunlardan yüksek enerjili fotonlar, dokuları penetre edip geçerlerken, düşük enerjili olanlar kolaylıkla absorbe edilirler. BT' de kullanılan X-ışınının polikromatik olması ve heterojen ışının düşük enerjili kısmının objeyi geçerken hemen absorbe edilmesi nedeniyle X-ışını demetinin ortalama enerjisi artar. Buna "beam-hardening" etkisi ya da X-ışınının sertleşmesi adı verilir. Bu durumda, özellikle kalın ve yoğun oluşumlardan geçerken yüksek enerjili fotonların daha az absorpsiyonuna bağlı olarak X-ışınının zayıflaması daha az

olacağından yoğun dansite değerlerine sahip dokular arasındaki düşük yoğunluktaki oluşumların voksel değerleri olduğundan daha düşük hesaplanacaktır. Elde edilen görüntülerde ise incelenen objenin santraline doğru gidildikçe atenuasyon değeri azalmış olarak (daha hipodens) görülecektir. Yumuşak doku-kemik gibi farklı atenuasyon değerlerindeki yapılarda daha sık karşılaşılan bu etki, beyin incelemesinde özellikle posterior fossada yoğunluğu çok yüksek petroz kemikler arasındaki beyin sapı serebellum gibi nörojenik dokularda daha çarpıcı bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Beam-hardening etkisi tamamen elimine edilemese de azaltılmasına yönelik ışın filtreleme teknikleri. ‘‘software’’ ve ‘‘hardware’’ ; yöntemleri geliştirilmiştir. Ayrıca kesit kalınlığının düşürülmesi ve mAs değerinin arttırılması da beam hardening etkilerinin azaltılmasında yararlıdır.

Yeniden oluşturulan dizi $N \times N$ ’ in boyutu açısıl projeksiyon görüntüleri N' deki piksellerin sayısı ile tanımlanır. Yeniden oluşturma sonuçları doğrudan (tipik olarak – 16 bit bir görüntüye dönüştürerek) veya operatör tarafından bir yoğunluk penceresinin etkileşimli olarak seçilmesinin ardından 8 bit veya 16 bit görüntülere dönüştürülerek kaydedilir. Yoğunluk penceresinin seçilmesi esnasında asgari ve azami değerler seçilir.

Bunların arasındaki tüm değerler yarım tonlu görüntü olarak görüntülenir. Asgarinin altındaki tüm zayıflama noktaları beyaz olurken azaminin üzerindeki her şey siyah olarak görüntülenecektir. Yeniden oluşturulan dizi seçilen yoğunluk aralığı içinde 256 seviye griye çizgisel dönüşüm ile kesitin yarım tonlu görüntüsü olarak gösterilecektir (Manual for Bruker-microCT CT. 2013).

4.4.2. Görüntünün Yeniden Yapılandırılması

Röntgen gölge projeksiyonları, 12 bit olan 512x512 veya 1024x1024 piksel görüntüler olarak sayısallaştırılırlar. Kontrol programı her açısıl konumda pek çok görüntüyü, bireysel piksellerin hassasiyeti, röntgen kaynağındaki akış uzaysal değişim ve lense bozulması için düzeltilmiş olan 16 bit derinliğindeki tek bir görüntüde toplar. Yeniden inşa programı (elde etme programı ile aynı anda çalışabilir) kontrol programı tarafından kaydedilen 16 bit açısıl gölge projeksiyon görüntülerini okur ve sanal dilimleri (kesitleri) isteğe bağlı olarak seçilen bir

ilgilenilen alan hacmi ile sınırlanan 512x512 ile 1024x1024 piksel ile 32 bit kayan noktalı görüntüler olarak yeniden inşa eder. Yeniden inşanın ardından ekrandaki kesitler, yeniden inşa edilen alanın herhangi bir dahili noktasında kesişen üç ortogonal kesit olarak, dilim dilim film şeklinde görüntülenebilir ve nesne modelini “döndürme” ve “kesme” olasılıkları ile gerçekçi bir üç boyut görüntü de oluşturabilir (Manual for Bruker-microCT CT. 2013).

Kontrol programı görüntüleri röntgen kamerasından 12 bit/piksel formatında 1280x1280 veya 640x512 piksel boyutunda elde eder ve bu görüntülerin özel bir kısmını (konumu tarayıcı hizalaması ile tanımlanan) 32 bit/piksel tampon içine seçilen birleştirme zamanı esnasında 1024x1024 veya 512x512 piksele birleştirir. Bu görüntüler tek tek gölge görüntüleri olarak 16 bit TIFF formatında veya 8 bit Bitmap olarak kaydedilebilir ve yeniden yüklenebilir. Elde etme esnasında kontrol programı tüm açısall projeksiyonları dosya isimleri “prefixNNNN.tif” olan 16 bit TIFF görüntüleri olarak kaydeder. Buradaki “prefix” veri seti için seçilen ismi, “NNNN” açısall projeksiyonun 4 basamaklı bir formatta sayısını göstermektedir. Elde edilen projeksiyon görüntülerinin seti, dataviewer ve cta gibi pek çok program ile açılabilir ve bir film olarak gösterilebilir. Bir tek projeksiyon “adobe photoshop” gibi 16 bit TIFF Kodlamalı görüntüleri destekleyen pek çok diğer program ile açılabilir (Manual for Bruker-microCT CT. 2013).

Açısall projeksiyon elde edilmesi tamamlandığında, kontrol programı bir “prefix.log” dosyası kaydedecektir. Burada “prefix” seçilen veri ismidir. Bu metin dosyası tarayıcı hakkında ve elde etme süreci esnasında kullanılan tüm ayarlar hakkında gerekli tüm bilgileri içerir. Yeniden inşa programları bu dosyayı belli bir tarayıcı için elde etme geometrisini ve nesne konumu ile görüntü formatını açmak için kullanırlar (Manual for Bruker-microCT CT. 2013).

Yeniden inşa, tek bir bilgisayar veya pek çok birbirinin aynısı veya farklı olan Gigabit ağı ile birbirine bağlanmış bilgisayar kullanan NRecon programı tarafından icra edilir. Bu program 16 bit TIFF formatında açısall projeksiyonları ve ilgili “.log” dosyasından sayısal bilgileri kullanır. NRecon programı yeniden inşa esnasında

dahili hesaplamalar için kayan nokta veri değerlerini kullanır ve daha sonra operatörün çıktı dosyalarına bir gri ölçekli görüntü olarak kaydedilecek olan yoğunluk penceresini yeniden inşa edilen değerlerin bir aralığı olarak tanımlamasına izin verir. Yeniden inşa edilen görüntüler 1024x1024, 512x512 piksel veya seçilen alt dizi içinde 16 bit TIFF formatında veya 8 bit Bitmap veya JPEG formatlarında kaydedilebilir (Manual for Bruker-microCT CT. 2013).

“TConv” programı yeniden inşa edilen tüm kesitlerin orijinal boyutlarının seçilen bir ölçeğe küçültülmesini sağlar. Veri setleri aynı zamanda, yeni bir örnek ile yendiden yazılabilir, sayısal indeksler değer olarak kaydırılabilir. Görüntüler Bitmap, JPG (ayarlanabilir sıkıştırma ile) ve TIFF formatları arasında dönüştürülebilir (Manual for Bruker-microCT CT-Analyser v. 1.13, 2013). 2D/3D işleme ve analiz için CTAn programı TIFF, BMP veya JPG formatlarında yeniden inşa edilen veri setleri ile doğrudan çalışabilir. İşlem ve analiz sonuçlarını Microsoft Excel'e uyumlu metin dosyalarına ve tablolarına kaydedebilir. Çevirme esnasında CTAn programı yeniden inşa edilen nesnelerin hızlı prototipleme ve stereolitografi için altın standart STL formatının yanı sıra gerçekçi görüntüleme için 3D modelleri CTvol programına göndermek üzere dahili “ctm”, “p3g” ve “stl” formatlarında işleyebilir. Dönüştürme sonuçları 24 bit renkli Bitmap dosyalarının yanı sıra, önceden seçilen örnek ve filmdeki sahne sayısını belirten 4 basamaklı bir sayı içeren hareketli “film” olarak da kaydedebilir. Bu tür bir film CTAn proramına geniş bir sıkıştırma tekniği ve parametreleri ile sıkıştırılmış bir “.avi” dosyası olarak kaydedilmek üzere yüklenebilir (Manual for Bruker-microCT CT. 2013).

4.4.3. Mikro Tomografinin Diş Hekimliğinde Kullanımı

Mikro bilgisayarlı tomografi diş sert dokularının nicelik ve nitelik özelliklerini değerlendirmeye imkan verir. Özellikle yeni başlamış çürüklerde mineral kaybını belirlemesi ve gösterebilmesi avantajlarından bir tanesidir (Gaiser ve ark., 2011; Schwass ve ark., 2009)

Diş çürüğü lezyonu boyunca mineral yoğunluğu değişim dereceleri tipik olarak diş çürüğünün gelişim süreci ile birebir ilişkilidir. Aynı zamanda incelenen bu yapıların

elastik modülleri hesaplanarak diş hekimliğinde kullanılan materyallerle uyumlu olup olmadıkları sonucuna da varılabilir (Magne, 2007; Sun ve Gibson, 2008; Neves ve ark., 2009; Zeiger ve ark., 2009)

Huang ve ark. (2007), opak mine lezyonları MBT ile in vitro olarak incelenmiş ve mineral kaybını belirlemede ve lezyonun özelliklerini belirlemede etkili olduğu bildirilmiştir. Farah ve ark. (2010), hipomineralize mine dokusunda mineral yoğunluğu incelenmiş ve mineral yoğunluğunu göstermede hassas ve etkin olduğu bildirilmiştir.

Kavitasyon göstermeyen serbest arayüz çürük lezyonlarının incelendiği bir çalışmada konvansiyonel ve dijital radyografi tekniklerine göre üstünlüğü bildirilmiş fakat bazı lezyonlarda histolojik bulgularla farklılığı rapor edilmiştir. Özellikle in vitro çalışmalarda histolojik incelemelerin ciddi bir zaman ve materyal istemesi, sonuçların elde edilmesi için pek çok aşamadan geçmesi gerekliliği MBT'nin histolojik incelemeye ciddi bir alternatif olarak düşünülmesine neden (Rathore ve ark., 2008; Mitropoulos ve ark., 2010).

4.4.4. Skyscan 1174 Sistemine Genel Bakış

Masaüstü kompakt bir mikro bilgisayarlı tomografi sistemidir. Röntgen tarayıcı, yaşam ömrü uzun mühürlü bir metal-seramik röntgen kaynağı, röntgen parlaticıdan CCD'ye zum lensi ile görüntü iletimine sahip bir röntgen kamerası, pozisyonlandırma ve rotasyonu sağlamak için obje işleyici ile bu birimleri kontrol eden elektronik devrelerden oluşur. Tarayıcı kontrolü, tomografik yeniden inşa, yeniden inşa edilen verilerin görüntülenmesi, 2D/3D görüntü işleme, analiz ve gerçekçi 3D görüntüleme için gerekli olan yazılım programı üretici firma tarafından sağlanır.

4.5. Böbrek

4.5.1. Böbrek Histolojisi

Üriner sistem bir çift böbrek ve bir çift üreter ile tek bir mesane ve üretradan oluşur. Bu sistem, içinde çeşitli metabolik artık ürünlerin bulunduğu idrarı üreterek homeostazın devam etmesine yardımcı olur. Böbreklerden üretilen idrar üreterler aracılığı ile mesaneye geçerek burada geçici olarak depolanır ve daha sonra üretradan dışarı atılır. Böbrekler vücudun sıvı ve elektrolit dengesini de ayarlar, aynı zamanda renin ve eritropoetinin üretildiği yerdir. Renin kan basıncının düzenlenmesinde görev alırken eritropoetin kırmızı kan hücrelerinin üretimini uyarır (Carlos, 1998).

Her bir böbreğin iç bükey bir medial kenarı vardır ve burası hilus adını alır. Hilus sinirlerin, kan ve lenf damarlarının girip çıktığı ve üreterin çıktığı yerdir. Böbreğin lateral kenarı ise dış bükeydir. Üreterin genişlemiş üst kısmı olan renal pelvis iki yada üç major kalikse bölünmüştür. Her major kaliksten minör kaliksler dallanır (Carlos, 1998).

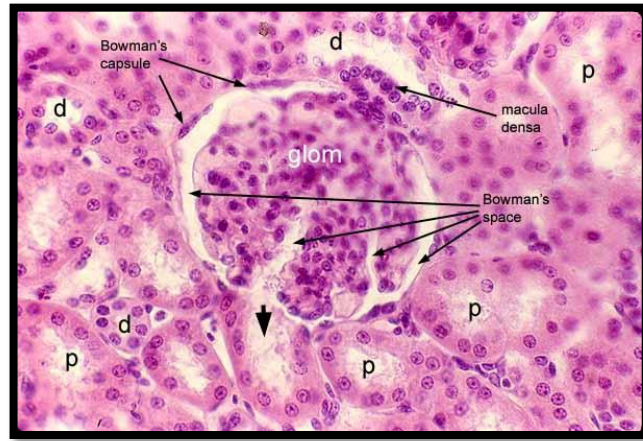
Böbrek dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılabilir. İnsanda renal medulla 10-18 adet konik yada piramidal şekilli yapılardan oluşur. Bunlar medüller piramitler adını alır. Her bir medüller piramidin tabanından kortekse uzanan birbirine paralel tübül demetleri, medüller ışınlar çıkar. Her medüller ışın böbreğin fonksiyon gören birimleri olan birkaç nefron grubunun düz kısımları ile birlikte bir yada daha çok sayıda toplayıcı kanaldan oluşur (Carlos, 1998).

Nefronlar: Mikroskobik olarak böbreğin en küçük anatomik ve fonksiyonel ünitesi nefrondur. Bir nefron yaklaşık 50 µm uzunluğundadır ve her iki böbrekte yaklaşık 2,4 milyon kadar bulunur. Her biri kendi başına idrar yapma yeteneğindedir. İki çeşittir:

-Kortikal nefronlar: Henle kulplarıyla beraber kortekste olup %85'ini içerir.

-Jukstamedüller nefronlar: Uzun henle kulplarıyla beraber korteks-medulla kavşağında olup %15'ini oluşturur.

Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, henle kanalının ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden oluşmaktadır. Her renal cisimciğin çapı yaklaşık olarak 200 μm 'dir ve kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak bowman kapsülü olarak adlandırılan iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmış durumdadır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, kapiller duvarından ve viseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır(Carlos, 1998).



Resim 1: Bowman kapsülü ve glomerül yapısı P; Proksimal tübül D; Distal tübül

Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbunda epitel, proksimal tübül için karakteristik olan tek katlı prizmatik epitele dönüşür. Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri ince bir sitoplazmaya sahiptir. Organellerin çoğu sitoplazmanın çekirdek çevresinde kalınlaştığı kısımda yoğunlaşmıştır (Carlos 1998).

Proksimal Kıvrımlı Tübüller: Renal cisimciğin idrar kutbunda, bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli, proksimal kıvrımlı tübüllerde prizmatik epitel şeklinde devam eder. Bu kısım distal kıvrımlı tübüllerden daha uzundur. Proksimal kıvrımlı tübüller tek katlı kübik yada prizmatik epitle döşelidir. Hücre apeksinde fırçasmsı kenarı oluşturan yaklaşık 1 μm uzunluğunda çok sayıda mikrovilluslar bulunur.

Mikrovillusların tabanları arasında çok sayıda kanalikül bulunur, bu kanaliküller proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme kapasitesinde etkin rol oynarlar (Carlos 1998).

Henle kulpu: Henle kanalı proksimal kıvrımlı tübüllere yapıcı çok benzeyen bir kalın inen kol, bir ince kol, bir çıkan kol ve yapıcı distal kıvrımlı tübüllerle aynı olan bir çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır. Bütün nefronların yaklaşık 1/7'si kortikomedüller sınırının yakınında bulunur, bu yüzden Jukstamedüller nefronlar adını alırlar. Diğer nefronlara ise kortikal nefronlar denir. Jukstamedüller nefronların henle kanalı çok uzundur ve bunlar medullanın derinliklerine kadar inerler (Carlos 1998).

Distal kıvrımlı tübül: Henle kanalının çıkan kalın kolu kortekse girdiğinde histolojik yapısını korur ancak bükülerek nefronun son kısmı olan distal kıvrımlı tübülleri oluşturur. Bu tübül tek katlı kübik epitelle döşelidir. Proksimal tübüldeki hücreler distal tübülde bulunan hücrelerden daha büyük ve fırçası kenarlıdır. Fırçası kenarlar distal tübül hücrelerinde bulunmaz. Proksimal tübüllerde bulunanlar asidofiliktir. Distal tübüllerin lümenleri daha geniştir ve buradaki hücreler proksimal tübüllerde bulunan hücrelerden daha yassı ve küçük olduğu için aynı kesitte distal tübül duvarlarında daha çok sayıda nükleus ve hücre bulunur. Distal tübüllerde apikal kanalikül ve veziküller bulunmaz. Distal kıvrımlı tübül hücrelerinin bazal membranlarındaki yoğun invajinasyonlar ve bunlarla ilişkili mitokondriler, bu hücrelerin iyon taşınmasında rol oynadıklarını göstermektedir. (Carlos, 1998).

Toplayıcı tübüller ve kanallar: Distal kıvrımlı tübüllerden geçen idrar birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar bellini papiller kanalları adını alır ve piramidlerin uçlarına doğru giderek genişler. Küçük toplayıcı tübüller, kübik epitelle döşelidir ve ortalama çapı 40 µm'dir. Bu tübüller medullanın derinliklerine doğru indikçe hücrelerin boyu uzar ve prizmatik olur. Işık mikroskobu ile bakıldığında toplayıcı tübül ve kanal hücrelerinin hücreler arası sınırları net olarak seçilebilir, çünkü bitişik hücreler arasında lateral kenetlenmeler bulunmamaktadır. Medullada gerçekleştirilen idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü toplayıcı kanallar oynar (Carlos, 1998).

Jukstaglomerüler Aparat: Renal cisimciğin hemen bitişiğinde afferent arteriyolün tunika mediasında modifiye düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelere jukstaglomerüler hücreler adı verilir. Bu hücrelerin çekirdekleri elips biçimindedir ve sitoplazmaları PAS tekniği ile boyanan granüllerle doludur. Jukstaglomerüler hücrelerin salgısı kan basıncının sağlanmasında rol oynamaktadır. Jukstaglomerüler hücreler anjiotensinojen denen plazma proteinini anjiotensin 1 olarak adlandırılan inaktif dipeptide dönüştürecek olan renin hormonu üretirler (Carlos, 1998).

4.5.2. Böbreğin Fizyolojisi

Böbrekler filtrasyon, aktif emilim, pasif emilim ve salgılama işlevlerini kapsayan karmaşık bir dizi işlem aracılığı ile iç ortamın kimyasal bileşimini düzenler. Filtrasyon, kan plazması ultrafiltratının olduğu glomerülde gerçekleşir. Nefronun tübül kısımları özellikle proksimal kıvrımlı tübüller, filtrat içindeki vücut metabolizmasına yararlı olan maddeleri emer bu şekilde iç ortamdaki homeostazın devamını sağlar. Tübüller aynı zamanda idrarla atılan belli zararlı maddeleri, kandan tübül lümenine aktarır. Toplayıcı kanallar, belli koşullarda suya geçirgen hale geçerek kan plazmasından daha hipertonic olan idrarın konsantrasyonunu artırır (Carlos, 1998).

İki böbrek dakikada 125 ml filtrat üretir; bu miktarın 124 ml'si emilir ve yalnız 1 ml'si idrar olarak kalikslere salınır. Her 24 saatte ortalama 1500 ml idrar oluşmaktadır. Erişkin bir kişide her iki böbreğe gelen kan dakikada 1,2 – 1,3 litre yi bulur. Bu durum vücutta dolaşan bütün kanın her 4-5 dakikada bir böbrekten geçmesi anlamını taşır. Kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak glomerüler filtrat oluşur. Glomerül filtratın kimyasal bileşimi kan plazmasına benzer ancak makromoleküller glomerül duvarını geçemediği için hemen hiç protein içermez. Glomerül kapillerlerinin endotel hücreleri pencere lidir; (70-90 nm çapında) çok sayıda açıklık bulunurken diafram içermezler, bu sayede endotel geçirgenliği artar (Carlos, 1998).

Proksimal kıvrımlı tübüller filtrattaki glukoz ve aminoasitlerin tümünü, suyun ve sodyum klorürün % 85'ini ve ayrıca fosfat ve kalsiyumu emer. Bütün bunlara ek olarak proksimal kıvrımlı tübüller kreatinin gibi maddeleri ve paraaminohippurik

asit, penisilin ve iodyracet (kontrast madde) gibi vücuda yabancı olan maddeleri idrara salgılar. Bu maddelerin sekresyon hızının belirlenmesi böbrek işlevlerinin klinik açıdan değerlendirilmesinde yardımcıdır (Carlos, 1998).

Henle kanalı su tutma işleminde rol oynar. Burada toplayıcı kanallardan geçen idrarın konsantrasyonunu etkileyen medüller interstisyumdaki hipertonic gradyanı oluşturur. Distal kıvrımlı tübüllerde iyon değişimi gerçekleşmektedir. Aldosteron konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda distal kıvrımlı tübüllerde sodyumun emildiği, potasyum iyonlarının dışarı verildiği bir iyon değişim bölgesi bulunur. Burası vücuttaki total su ve tuzları kontrol eden düzeneğin bulunduğu bölgedir. Distal tübül aynı zamanda tübüldeki idrara hidrojen ve amonyum iyonlarını sağlar. Bu etkinlik kandaki asit- baz dengesinin korunmasında çok önemlidir.

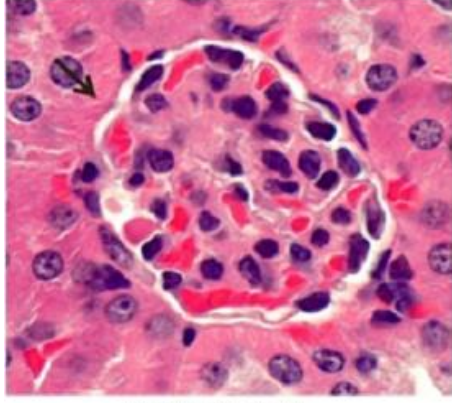
Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofizden salgılanan antidiüretik hormona duyarlıdır. Su alımı azaldığında ADH salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli suya geçirgen hale geçer (Carlos, 1998).

4.6. Sıçan ile İnsan Böbrek Dokunun Kıyaslaması

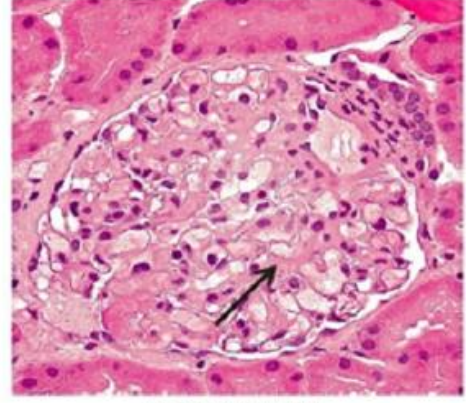
Tablo 2' de insan ve sıçan üriner sistemiminin kıyaslaması görülmektedir. Farenin glomerulusu insan dokularındakine göre küçüktür, daha ince bir korteksi vardır ve sub-kapsuler bölgesinde glomerül yapıları bulunmaz. Nefron sayısı yaklaşık insanda 1 milyon iken sıçanlarda 30-40 bin civarındadır. Sıçan böbreğinin kapsül yüzeyi oldukça pürüssüzdür. Sıçanlarda papilla, renal pelvis içine doğru uzanır (Piper ve ark. 2002).

Sıçan glomerüler yapısı genel olarak kılcal damarlar ağı ile sağlanıp, mezangiyum ile desteklenir ve Bowman kapsülü ile sarılır. İnsan glomerüler yapısı ise intrasellüler matriks içinde gömülü olan myoepitelyal hücreler ile destelenir ve her mezangiyal bölgede bir yada iki tane hücre bulunur. Resim 2 ve 3'de aynı büyütme oranında gözlemlenen sıçan ve insan böbrek korteks yapılarından sıçan böbrek yapısının insandakinden daha küçük olduğu görülmektedir. Sıçan korteks yapısındaki ortalama

glomerülüs çapı 73.4 μm iken; insan korteks yapısında bulunan glomerülüslerin ortalama çapları ise 250 μm olarak tespit edilmiştir (Piper ve ark. 2002).

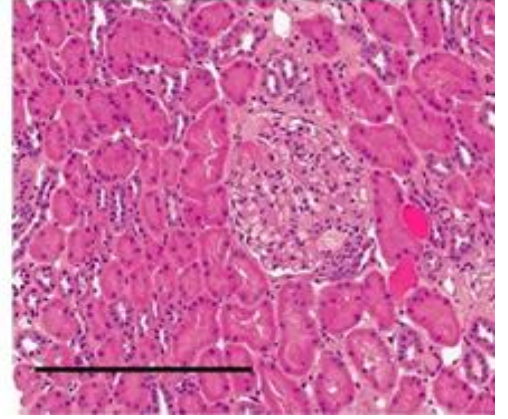
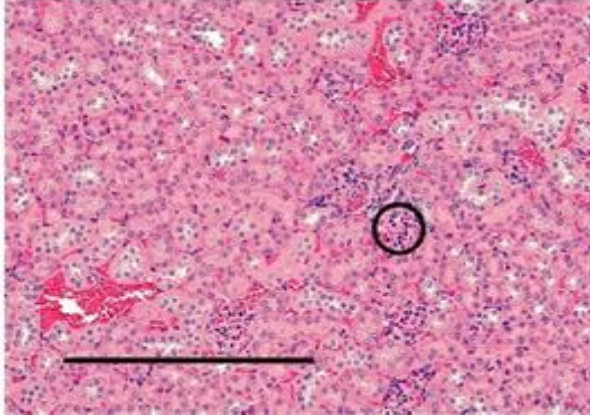


Sıçan glomerulus yapısı



İnsan glomerulus yapısı

Resim 2: Sıçan ve insan glomerülüs yapıları



Resim 3: Sıçan ve insan böbrek korteks yapıları

Tablo 2: Sıçan ve insan üriner sistem özellikleri

		Sıçan	İnsan
Genel Özellikleri	Böbrek	Bilateral, tek loplu, pürüssüz	Bilateral, çok loplu, pürüssüz
	Lokasyonu	Retroperitonel bölgede, daha kraniyalde, karaciğerin yanında	Retroperitonel bölgede, daha kaudal bölgede
	Cinsiyete göre	Erkelerde daha büyük	Aynı
	Papilla	Proksimal üretere uzanan çok sayıda papilla vardır	4 – 18
	Beyaz Adipoz Doku	Perirenal bölgede	Pelviste ve perirenal bölgede
	Kahverengi Adipoz Doku	Renal pelviste ve perirenal bölgede	Genellikle bulunmaz
Dokular	Korteks	Dış tabaka glomerülüs ve Distal kıvrık tubülü barındırır. iç kısım ise düz tubüllerden dolayı ışınal görünür.	Subkapsüler bölge Proksimal kıvrık tubülleri, diğer kısımlar ise glomerülüsleri, Distal ve proksimal kıvrık tubülleri ve Henle kulpunun büyük bir kısmını bulundurur.
	Glomerülüs	Ortalama glomerülüs çapı 73 µm'dur. Erkeklerde Bowman kapsülü kuboidal epitelyum ile çevrilidir. Yaş ile sayıları artmaz ancak büyürler	Ortalama glomerülüs çapı 200 µm'dur. Bowman kapsülü skuamoz epitelyum ile çevrilidir. Yaş ile sayıları artmaz ancak büyürler
	Mezangiyum	H&E boyama ile belirgindir	H&E boyama ile belirgin değildir
	Tubüller	Erkeklerde proksimal kıvrık kortikal tubül epitelyumu vakuollüdür.	Proksimal tubüler epitelyum sitoplazması yoğun mitokondri içerdiğinden

			eozinofiliktir
	Proksimal kıvrık tubül	Kuboidal ve PAS boyamada pozitif	Yoğun mitokondri içerdiğinden eozinofilik ve PAS boyamada pozitif
	Distal kıvrık tubül	Proksimal kıvrık tubüllerle aynı ancak daha az belirgin	Kuboidal ve daha az eozinofiliktir.
	Juxtaglomerüler aygıt	Arteriollerde renin üreten hücreler belirgindir	Aynı
	Medulla	Dış tabaka, iç ve dış boru sisteminden iç tabaka ise papillalardan oluşur	Aynı
Hücreler	İnterstisyel hücreler	Medullada yatay olarak konumlanır	Henle kulpu ile vasa recta arasında bulunurlar
	Ultrayapı	Membran kalınlığı 80-200 nm arasındadır. Glomerüler kapiller yapı çok belirgindir	Membran kalınlığı 320-340 nm arasındadır. Glomerüler kapiller yapı daha az belirgindir
	İmmünoflorasan	Tübüler membrabda değişik oranlarda C3 depolanır	C3 sadece vasküler endotelyumda depolanır
Diğerleri	Proteinüri	Genellikle normaldir, laboratuvar deneylerinde ve farklı türlerde değişebilir	Fizyolojik proteinüri; yetişkinlerde <150 mg/24 saat; çocuklarda <140mg/m ²
	Kreatinüri	Genellikle normaldir, laboratuvar deneylerinde ve farklı türlerde değişebilir	Normal değerleri 500-2000 mg/dl

4.7. Apoptozis

Organizma sürekli bir denge halindedir. Yeni hücreler sentez edilirken, var olan hücrelerin bir kısmı hücre ölümü ile ortadan kaldırılmakta ve böylece denge korunmaktadır. Hücre ölümünün iki tipi vardır, bunlar apoptozis ve nekrozdur (Thompson, 1995; Ameisen, 1996). Her ikisinde de düzenli olarak birbirini izleyen biyokimyasal ve morfolojik olaylar sonucu hücre olumu meydana gelir. Hücrelerde normal gelişim sırasında meydana gelen ölüm ilk olarak 1842 yılında Vogt tarafından tanımlanmıştır. Programlanmış hücre ölümü terim olarak ilk kez 1965 yılında kullanılmıştır. Apoptozis terimi ilk kez 1972 yılında Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır (Kerr ve ark., 1972).

Köken olarak "apo-TOE-sis" 'den gelmektedir ve eski Yunanca'da "sonbaharda yaprak dökümü" anlamına gelmektedir. (Touchette ve Fogle, 1991)

Hücre proliferasyonu nasıl ki mitoz ile belirlenmekte ise belirli bir dokuda olması gereken hücre sayısı da apoptozis ile belirlenir. Apoptozis ve mitozis dokuda sürekli bir denge halindedir. Programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı, fizyolojik hücre ölümü apoptozis ile aynı anlamda kullanılan terimlerdir (Bellamy ve ark., 1995; Cummings ve ark., 1997).

4.7.1. Apoptozis Mekanizmaları

Apoptozisin indüklenmesinde üç prototip sinyal yolunun rol aldığı bilinmektedir.

Apoptozis mekanizmaları:

1. Mitokondri/Sitokrom-C aracılı apoptozis oluşturulması
2. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan ölüm aktivatörleri ile tetiklenme
3. Endoplazmik Retikulum aracılı apoptozis oluşturulması

1.Mitokondri/Sitokrom-C Aracılı Apoptozis Oluşturulması:

Mitokondri normal şartlar altında ATP oluşturmak üzere sitokrom-c ihtiva eder. Mitokondrial stres durumlarında serbestlenen sitokrom-c apoptotik hücre ölümünde kaspaz-3 aktivasyonu için önemli rol teşkil eder. Bu yolda mitokondri tarafından kontrol edilen apoptotik proteaz aktive edici faktör (Apaf-1) ve kaspaz-9 bulunmaktadır. Ko-faktör nukleotid trifosfat (d-ATP ve ATP) ile aktive edilen sitokrom-c ve apaf-1 birleşerek prokaspaz-9'u aktive eder. Aktive kaspaz-9 da kaspaz-3'u aktive ederek diğer kaspaz kaskadının tetiklenmesini sağlar. Sağlıklı bir hücre mitokondrisinin dış membranında Bcl-2 proteini yer alır. Bcl-2, Apaf-1 proteininin bir molekülünü bağlar. Bcl-2 neden olduğu internal hasarla mitokondride çatlaklar oluşturarak Apaf-1 ve Sitokrom-C salınımına yol acar. Bu iki protein kaspaz-9 moleküllerine bağlanır. (Hu, Benedict, Ding. 1999)

2. Dış Sinyallerle Apoptozisin Tetiklenmesi:

Birbirini tamamlayan olum aktivatörlerinin (Fas-L ve TNF) hücre yüzeyindeki Fas ve TNF reseptörlerine bağlanmasıyla sitoplazmaya kaspaz-8'i aktive eden sinyaller yayılır. Kaspaz-8 (kaspaz-9 gibi) diğer kaspazları uyarır ve hücrenin fagositozuna yol acar. Sitotoksik-C hücrelerinin hedef hücre yüzeyine bağlanarak Fas-L üretmesi sonrası oligodendrositlerde görülen apoptotik dejenerasyon, SCI reseptörleri Fas ve p-75 ile bağlantılıdır. Bu reseptörler tümör nekroz faktör reseptör (TNFR) gen ailesinin üyeleridir. Bunların apoptotik hücre ölümünü başlatan kaspaz kaskadını aktive ettiği bilinmektedir (Banasiak ve Haddad, 1998).

3. Endoplazmik Retikulum Aracılı Apoptozis Oluşturulması:

Son zamanlarda amiloid β norotoksitesine katkıda bulunan kaspaz- 12'ye bağımlı endoplazmik retikulum aracılı apoptotik yol tarif edilmiştir. Bu yol mitokondrial/sitokrom-c ve olum reseptör aracılı apoptozisten farklı bir yoldur. ER, hücre içi kalsiyum dengesi, sentezi ve membran proteinlerinin katlanmasını içeren birçok süreçte kritik öneme sahiptir. Kaspaz-12, ER membranında lokalize olan ve ER aracılı apoptozis için esas teşkil eden bir kaspazdır. Son çalışmalar göstermiştir ki Ca^{++} seviyelerinin yükselmesi ve kalpainin endoplazmik retikulumu etkilemesi ile prokaspaz-12 aktiflenir. Ayrıca kaspaz-7 salınımı ile de prokaspaz-12 salınımı

arasında bir bağlantı bulunur. Aktiflenmiş kaspaz-12 sitoplazmaya yönelir. Kaspaz-9 ile karşılıklı olarak etkileşerek sitozolik kaspaz kaskadını aktive eder. Son çalışmalar, in vivo ve in vitro olarak kaspaz-12'nin kaspaz-9'u aktive ettiğini göstermiştir (Rao ve ark., 2001; Bao ve Liu, 2003).

4.7.2. Apoptotik Hücrede Gözlenen Morfolojik Değişiklikler

1. Yüzey Organellerinin Kaybı

Apoptozise uğrayan hücrenin komşu hücrelerle bağları kesilir. Hücre yüzeyindeki mikrovillusler ve diğer hücrelerle yaptıkları özel bağlar ortadan kalkar, hücre yüzeyi yuvarlaklaşır.

2. Hücre Büzülmesi

Apoptotik hücre komşu hücreye göre daha küçük ve sitoplazması daha yoğundur. Endoplazmik retikulum dışında diğer hücre organelleri yapılarını korur. Sitoplazma yoğunluğu arttığı için organeller kalabalık görünür. Hücre zarı sağlam olduğundan nekrozda olduğu gibi bir inflamatuvar reaksiyon gözlenmez.

3. Kromatin Yoğunlaşması

Önemli yapısal değişiklik çekirdekten başlayarak izlenir. Çekirdek apoptoziste odak noktasıdır. Hücreden hücreye değişmekle birlikte genellikle çekirdek büzülür. Kromatin çok yoğun bir hale gelir ve parçalar halinde bir araya toplanır. Çekirdek porları seçilemez. Çekirdek şekli düzensizleşir ve ileri evrede küçük çekirdek parçalarına bölünür. Çekirdekcik genişler ve granulleri kaba granuller halinde dağılır.

4. Sitoplazmik Baloncuklar ve Apoptotik Cisimlerin Oluşması

Hücrede önce yüzeye doğru tomurcuklanmalar olur. Bunlardan bazıları sitoplazma parçacıkları içeren ve sıkı biçimde paketlenmiş organellerden oluşan zarla sarılı apoptotik cisimlere dönüşür. Apoptozis için morfolojik değişimler hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, hücre membran tomurcuklanması olurken fosfatidilserin açığa çıkar. Sağlıklı hücrelerde plazma membranının içinde bulunan fosfatidilserin

apoptotik hücrelerde plazma membranının dış yüzünde bulunur ve fagositik hücreler için sinyal görevi görür (Lu ve ark., 2000; Balakumran ve ark. 1996).

4.7.3. Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

İlk kez morfolojik kriterlere göre belirlenen apoptozis, 80'li yılların sonuna doğru DNA kırıklarının oluştuğunun ortaya çıkarılmasıyla birlikte bu kırıkların saptanmasına yönelik yöntemlerle belirlenmeye başlandı. 90'ların ortalarında ise apoptotik hücrelerde kaspazların aktifleştiği bulundu. Böylece, kaspaz aktivasyonlarının belirlenmesine yönelik metodlarla saptanabilen apoptozis, 90'ların sonuna doğru fosfatidilserin translokasyonunu belirleyen yöntemlerle de saptanmaya başlandı.

Apoptozisin belirlenmesine yönelik geliştirilen tüm metodları, 2000'li yılların başlarında, sadece apoptotik epitelyal hücrelerde olmak üzere kaspaz aktivitesiyle kırılan bir protein olan keratin 18'in kırıldıktan sonraki özgün formunu saptayan antikörlerin kullanılarak daha spesifik olarak saptanması takip etti. Apoptozisin belirlenmesinde kullanılan yöntemler şöyledir;

1. Morfolojik görüntüleme yöntemleri
2. İmmunohistokimyasal yöntemler
3. Biyokimyasal yöntemler
4. İmmünolojik yöntemler
5. Moleküler Biyoloji yöntemleri

4.7.3.1. Morfolojik Görüntüleme Yöntemleri

I. Işık mikroskobu kullanımı:

a.Hematoksilen boyama: Hematoksilen boyama (HB) hem hücre kültürü çalışmalarında hem de doku boyamalarında kolaylıkla kullanılabilir. Apoptotik hücrelerin saptanmasında genellikle ilk metod olarak başlanması uygundur ve çeşitli acılardan (örn.ilk değerlendirme, maliyet) diğer metodlara karşı avantaj sağlar. Hematoksilen boyamada, hematoksilen boyası kromatini boyadığından apoptotik

hücreler nukleus morfolojisine göre değerlendirilir. Apoptozise özgü değişiklikler iyi bir boyama yapılmışsa kolayca gözlenebilir.

b. Giemsa boyama: Giemsa ile boyamada hematoksilenle boyamada da olduğu gibi nukleus morfolojisi esas alınarak apoptotik hücreler tanınır. Sitoplazma sınırları hematoksilen boyamaya göre daha iyi seçilebilmekle birlikte hematoksilen boyamaya belirgin bir üstünlüğü yoktur.

II. Floresan mikroskobu / Lazerli konfokal mikroskop kullanımı

Floresan boyalar DNA'ya bağlanabildiklerinden hücrenin kromatini, dolayısıyla nukleusu görünür hale gelebilir. Eğer hücre kültürü çalışmasında kullanılırlarsa, canlı hücre ile yaşayan hücrenin ayırımına olanak tanır. Bu yöntemle hücrelerin ölü ya da canlı olduğu anlaşılabilir ama ölü hücrelerin apoptozisle veya nekrozisle olup ölmediklerinin ayırımı hematoksilen boyamada olduğu gibi nukleus morfolojisine bakılarak yapılır.

III. Elektron mikroskobu:

Morfolojik değişikliklerin en doğru olarak gözleendiği bir yöntemdir. Elektron mikroskobu çalışmalarında, nukleus fragmentasyonu net olarak izlenebilir, apoptotik hücrede, normal hücreyle kıyaslandığında sitoplazmik küçülme, kromatin kondansasyonu ve fragmentasyonu izlenebilmektedir.

IV. Faz kontrast mikroskobu:

Bu tür mikroskop sadece hücrelerin kültür ortamında, "flask" veya "plate"lerde büyütüldüğü çalışmalarda, hücreyi veya hücre topluluğunu incelemek amacıyla kullanılır.

4.7.3.2. İmmünohistokimyasal Yöntemler:

I. Anneksin V Yöntemi:

Normal hücrelerde hücre zarının sitoplazmik yüzünde fosfatidilserin (PS) bulunmaktadır. Eğer hücre apoptozise giderse normalde iç yüzde yerleşmiş olan PS molekülleri hücre zarının dış yüzüne transloke olurlar. Dış yüze transloke olan

PS'ler, floresan bir madde (örn. F1TC) ile işaretlenmiş Anneksin V kullanılarak görünür hale getirilir. Böylece apoptotik hücreler saptanmış olur.

II. TUNEL Yöntemi:

DNA kırıklarının *in situ* olarak tanınmasını sağlar. Parafin bloklar, donmuş kesitler, kültürü yapılmış solusyon halindeki veya "plate"lere ekilmiş, ya da lameller üzerinde büyütülmüş hücrelerde apoptozisin varlığı bu metodla saptanabilir.

III. M30 Yöntemi:

M30 yönteminde apoptotik hücreler sitokeralin 18'in kaspazların etkisiyle kırılması sonucu ortaya çıkan yeni antijenik bölgenin immunohistokimyasal yöntemle boyanması prensibine göre belirlenir.

IV. Kaspaz-3 Yöntemi:

Kaspaz-3 yöntemi ile sadece apoptotik hücrelerde oluşan aktif kaspaz-3 belirlenebilir. Bunun için, dokunun kaspaz-3 eksprese ettiğinin bilinmesi ya da çalışılan dokuda apoptozise yol acan ajanın kaspaz-3'u kırıp kırmadığının bilinmesi gerekir.

4.7.3.3. Biyokimyasal Yöntemler

I. Agaroz Jel Elektroforezi:

DNA kırıklarının gösterilebildiği bir başka yöntemdir. Apoptoziste DNA, 180 baz çifti ve bunun katlarına karşılık gelen noktalardan kırıldığı için merdiven görüntüsü "ladder pattern" oluşur. Bu bulgu apoptozisin karakteristik özelliğidir ve nekroziste görülmez. O yüzden apoptozisi nekrozisten ayırmada faydalı yöntemlerden biridir.

II. "Western" Blotting:

Bu metod yardımıyla apoptozise özgü bazı proteinlerin eksprese olup olmadıklarının (örn. bcl-2) ya da kırılıp kırılmadıklarının (örn. kaspaz-3) saptanması mümkündür. Sitokrom c'nin mitokondriye çıkıp çıkmadığı da bu metodla belirlenebilir.

III. "Flow" Sitometri:

"Flow" sitometri yardımıyla floresan bir madde ile işaretlenmiş antikor kullanılarak apoptoziste eksprese olduğu bilinen herhangi bir hücre yüzey proteininin saptanması mümkündür. Böylece apoptotik hücreler belirlenebilir. Kolay uygulanabilir olması, uzun zaman almaması ve kantitatif sonuç verebilmesi açısından klinikte apoptozisin saptanmasında kullanışlı bir yöntemdir.

4.7.3.4.İmmünolojik Yöntemler

I. ELISA:

ELISA ile gerek kültürü yapılmış hücre popülasyonlarında gerekse insan plazmasında DNA fragmentasyonunu tespit etmek mümkündür. Aynı şekilde M30 düzeylerinin ölçümü de mümkündür.

II. Fluorimetrik Yöntem:

Kültürü yapılmış hücrelerde kaspaz aktivitesinin tayin edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde ilgili kaspazın antikorunun bulunduğu "plate"lere hücre lizatlarının konulması ile kaspaz molekülleri tutulur, ve sonra ortama kaspazların parçaladığı ve kendisine floresan bir maddenin tutunduğu bir substrat ilave edilir. Ortamdaki kaspaz aktivitesiyle orantılı olarak ortaya çıkan floresanın şiddeti fluorimetre ile ölçülerek kaspaz aktivitesi saptanır.

4.7.3.5.Moleküler Biyoloji Yöntemleri

I. "DNA Microarrays":

DNA "microarray" teknolojisi henüz çok yeni ve çok pahalı bir yöntemdir. Fakat, yakın bir gelecekte tıp pratiğini radikal bir biçimde değiştirme iddiası taşıyan bu teknoloji ile aynı anda ve kısa bir süre içinde (önceden aylarca sürerken) yüzlerce hatta binlerce genin ekspresyon derecelerinin (mRNA'larının) tespiti mümkün olabilecektir. Böylece, apoptozise özgü hücre yüzey olum reseptörlerinin ekspresyon durumları hakkında geniş bilgi edinme olanağı doğacaktır (Cummings, 1997).

4.8. Fluorid:

Fluor veya Flor, halojenler grubuna ait atom numarası 9, atom ağırlığı 19 olan, elektronegativitesi ve reaktivitesi yüksek bir iz elementtir (Whitford, 1990; Fejerskov ve ark., 1996; Fawell ve ark., 2006). Joseph Henry Moissan isimli Fransız kimyager tarafından 1886 yılında izole edilen F elementi korozyif, mat yeşilimsi-sarı renkte bir gazdır. Oldukça reaktif bir gaz olup doğada serbest bulunmaz. Bilinen en reaktif elementlerden olup, oksijen ve asal gazlar dışında tüm elementlerle bileşikler oluşturur. F; toprak, su, kaya, hava, bitki ve hayvanlarda bulunur (Fejerskov ve ark., 1994, Fejerskov ve ark., 1996).

Yüksek Öğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi Tez Arşivi'nde yaptığımız tarama sonucu ülkemizde 2000 yılı sonrasında yapılan tez çalışmalarında bu elementin isimlendirilmesinde standart bir kullanım olmadığını ve iyonik elementi isimlendirirken flor, florid, fluorid, florür, fluorür terimlerin kullanıldığını saptadık. Biz element için Türk Dil Kurumu tarafından kabul edilen flor ve diş hekimliği literatürünün İngilizce ağırlıklı olması nedeniyle fluorid terimini ve kısaltma olarak F simgesini kullanmayı tercih ettik.

4.8.1. Fluoridin Doğada Bulunuşu

F elementi yerkürenin her yerinde mevcuttur ve yer kabuğundaki elementlerin % 0,065' ini oluşturmaktadır. Yeryüzü kabuğunun yaklaşık 0,3 gr/kg' ini oluşturan F, doğada genellikle hava, toprak, su, bitki ve hayvansal dokularda farklı bileşik ve miktarlarda bulunur (Fawell ve ark., 2006; Agalakova ve Gusev. 2012).

Doğal yollarla içme sularına karışan F iyonu, yerkabuğunun doğal yapısında genelde florspar (CaF_2), kriyolit (Na_3AlF_6) ve florapatit ($\text{Ca}_{10}\text{F}_2(\text{PO}_4)_6$) bileşikleri şeklinde bulunur. Yüzey sularındaki F düzeyi genelde 0.01-0.3 mg/l iken yer altı sularındaki F düzeyi, etrafındaki kayaların yapısına ve F bileşikleri içeren minerallerin ortamda olup olmamasına bağlı olarak 20-53 mg/l ye kadar çıkabilmektedir. Deniz suyundaki F konsantrasyonu ise 1.2 -1.5 mg/l aralığında değişmektedir (Agalakova ve Gusev, 2012).

Yeraltı sularında bulunan F'in doğal kaynakları çeşitli yapıdaki kayalar ve volkanik aktivitedir. Dolayısıyla yeraltı sularındaki F konsantrasyonu toprak ve kayaların porozite ve asiditesine, sıcaklığa, diğer kimyasal elementlerin hareketine bağlıdır. Volkanik aktiviteye bağlı olarak sıcak suların F içeriği artmaktadır. Volkanik ve endüstriyel bölgelerde su kaynaklarında bulunan F miktarı oldukça yüksektir. Bu bölgelerdeki F oranı 30-50 mg/l' ye kadar yükselebilmektedir (D'Alessandro, 2006; Fawell ve ark., 2006).

F, atmosferde az bir miktarda bulunur ve atmosfere çeşitli kaynaklardan gelir. Bu kaynaklar arasında volkanik gazlar, F içeren minerallerin sanayide işlenmesi, çeşitli endüstriyel işlemler sayılabilir (Luo ve ark., 2012). Yüksek ısıların kullanıldığı fabrika çevreleri ile F ile ilişkili endüstri bölgelerinde (alüminyum, fosforlu gübre fabrikaları) solunan havadaki F miktarı çok daha fazladır (Fejerskov ve ark., 1996; Fawell ve ark., 2006).

F bileşiklerinin tarımda ve endüstriyel aktivitelerde kullanılması yeraltı sularında yüksek oranda F bulunmasına neden olmaktadır (Fejerskov ve ark., 1996; Fawell ve ark., 2006; Richter ve ark., 2011). Günümüzde F bileşiklerinin gübre, ağır metal, cam, porselen, tuğla ve çimento gibi çeşitli endüstri kollarında kullanımının yaygınlaşması ile birlikte tarımda rodentisit ve insektisit amaçlı, hayvanlarda yem katkı maddesi ve antihelmintik olarak, kullanımının yaygınlaşması, bu bileşiklerin insan sağlığı açısından önemini arttırmıştır (Doull ve ark., 2006; Fawell ve ark., 2006; Liang ve ark., 2011; Luo ve ark., 2012).

4.8.2. Fluorid Kaynakları

4.8.2.1. İçme Suları

İçme suyu canlılar için önemli bir F alım kaynağıdır (Doull ve ark., 2006; Fawell ve ark., 2006). Ulusal ve uluslararası standartlara göre içme suyunda bulunması gereken F miktarı 0.5-1.5 mg/l değerleri arasında olmalıdır (WHO, 2006). İçme sularındaki F miktarı 1,5 mg/l' nin üzerine çıktığı durumlarda ise fluorozis meydana gelebilir (WHO, 2006).

F hem yüzey hem de yeraltı sularında mevcuttur. Yeraltı sularındaki F konsantrasyonu suyun kaynaklandığı bölgenin jeolojik, kimyasal ve fiziksel özellikleri, toprağın içeriği, pH'si gibi faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (Edmunds ve Smedley, 2005; Mandinic ve ark., 2010). Su kaynaklarındaki F konsantrasyonu, 0.7 ppm ve daha yüksek olan bölgelerde, içme suyu, başlıca F kaynağı olmaktadır. Sulardaki F iyonunun kaynağı doğal formasyonlardan olabileceği gibi yüksek konsantrasyonda F içeren elektronik, cam, alüminyum ve demir çelik gibi endüstrilerin atık su desarjlarından da kaynaklanabilmektedir (Ando ve ark., 2001; Fawell ve ark., 2006).

Toplum bazlı bir uygulama olarak suların 1 ppm seviyesinde F katılmasının çürük prevalansının azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiş, ancak daha sonra WHO F'in kümülatif etkisini önlemek için içme suyu F konsantrasyonunun 0,5 ppm de tutulmasını önermiştir (Brambilla, 2001; WHO, 2006). İçme suyu F konsantrasyonu ile dental fluorozis arasında pozitif bir ilişkinin varlığı kabul edilmektedir (Meenakshi, 2006; Mascarenhas, 2008; Mandinic ve ark., 2010). İçme sularına F eklenen bölgelerde, içme suyu yoluyla F'in besin zincirine katılması nedeniyle de dental fluorozis oluşma olasılığı artmaktadır. Çürük oranının azalmasıyla birlikte dental fluorozis görülme sıklığının artması, içme sularına F katılmasının yeniden gözden geçirilmesini sağlamıştır.

4.8.2.2. Diğer Fluorid Kaynakları

Yaşayan bütün canlılar doğal ya da yapay kaynaklar yoluyla F'e maruz kalırlar (Fejerskov ve ark., 1996; Fawell ve ark., 2006). F, organizmaya temel olarak sindirim ve solunum yolu ile alınır. Organizma için diyetle alınan F'in temel kaynağı su ve içeceklerdir. Yiyeceklerdeki F konsantrasyonları pek çok çalışmada bildirildiği gibi genelde düşük miktardadır. Normal koşullarda beslenme ile, 1-4 mg/gün düzeyinde alınmaktadır (Fawell ve ark., 2006). F içme sularında doğal olarak veya sonradan eklenerek, yiyeceklerde ve dental materyallerde çeşitli konsantrasyonlarda bulunur. Meyve sularının ve bazı katı besinlerin tüketimi, F'li diş macunları ve diğer F'li diş bakım ürünlerinin kullanımı bireyin günlük F alımına katkıda bulunmaktadır. F pek çok diş macunu ve diğer diş hekimliğinde kullanılan

preparatlar içinde mevcuttur (Martínez ve ark., 2003; Yadav ve ark., 2007; Marya ve ark., 2010; Levy ve ark., 2010).

Deniz suyu 1,2-1,5 mg/l arası F içermektedir (Agalakova ve Gusev, 2012). Bundan dolayı balık ve diğer deniz ürünleri F açısından zengin kaynaklardır. Gıdalar arasında en fazla F iyonu balıkta bulunur.

F, bitkilerde organik ve inorganik bileşikler halinde olup, en fazla çay yapraklarındadır (Wong ve ark., 2003; Yi ve Cao, 2008; Agalakova ve Gusev, 2012). Çay ağaçları, toprak ve havadan absorbe ettikleri F'i yapılarında biriktirirler. Yapılan çalışmalara göre siyah çay yapraklarındaki F miktarı 23.6-385 mg/kg (Çin), 322-423 mg/kg (Hong Kong), 340 mg/kg (Polonya), 87.6- 289.2 mg/kg (Türkiye) ve 20 mg/kg (Iran)' dir. Yeşil çay yapraklarındaki F miktarı ise 550.0 mg/kg (Çin), 217-336 mg/kg (Hong Kong) ve 71.11-180.16 mg/kg (Japonya)' dır.

Diğer F kaynakları olarak, F'li diş macunları, ağız gargaraları, F tabletleri, F damlları, F'li sularla sulanan sebze, meyveler ve bu sularla hazırlanmış yiyecek, içecek, meyve suları olarak sıralanabilir (Warren, 2009; Martínez ve ark., 2003). Ayrıca süte, tuza ve bebek mamalarına katılması gibi yollarla da F alınmaktadır. (Fawell ve ark., 2006; Levy ve ark., 2010).

Üretim sırasında, F'li suların kullanılması, meyve, sebze ve çorba türü gıdaların F konsantrasyonunu yükseltmektedir. Mamaların mineral içerikleri de, günlük F alım miktarını etkilemektedir. F konsantrasyonu, protein bazlı mamalarda, süt bazlı mamalara oranla daha yüksektir. Mama ile beslenen bebeklerin F alımı, sadece süt ile beslenen bebeklerden fazladır. Bebeklerde doz aşımının önlenmesi için, mamaların F konsantrasyonu düşük sular ile hazırlanması önerilmektedir (Dean ve ark., 1942; Whitford, 1990).

3 yaş altı dönemde yapılan F takviyeleri sonrasında dental fluorozis görülebilmektedir. 6 yaş altı çocuklarda günlük F alım kaynakları içme suyu, meşrubatlar, katı gıdalar ve yutulan diş macunlarıdır (Do ve ark., 2011).

4.8.3. Fluorid Metabolizması

F biyosferin doğal bir bileşenidir. Yeryüzü kabuğunda en çok bulunan 13. element olup, bağlı bulunduğu yeryüzü kabuğunun ağırlıkça % 0.065'ini oluşturur. F atomunun küçük çapından dolayı, yüzey enerjisi en etkin elementtir. Bunun sonucu olarak F, bütün elementler arasında en elektronegatif ve reaktif olan element olup, çok nadiren doğada bağlı olmadan bulunur. Bunun yerine genellikle inorganik F olarak bulunur (Smith ve Ekstrand, 1996). Doğal yapısı sayesinde, dünya genelinde kabul edilen kariyostatik özelliklerinden dolayı F, sistematik (su, tuz, süt, şeker ve diğer ekler ile beraber) ve topikal (diş macunları jelleri köpükler, ağız gargaraları ve vernikler) araçlar ile geniş ölçüde çürük kontrolünde kullanılır (Buzalaf ve ark., 2005; Sampaio ve ark., 1999). Bu nedenle insan vücudu açık olarak F' e maruz kalmaktadır.

Çürük kontrolünde kanıtlanmış yararlarına rağmen, tüketim miktarına göre bir kar zarar oranına ihtiyaç vardır (Bratthall ve ark., 1996). Yüksek dozların akut alınımı bağırsak ve böbrek rahatsızlıklarına ve ciddi vakalarda ölüme neden olabilir. Kronik olarak düşük miktarda aşırı F alınımı doza ve alım süresine bağlı olarak mineralize dokuların gelişimini etkileyip dental veya iskeletsel fluorozise neden olabilir. Nitekim, F metabolizmasının tüm yönlerinin bilinmesi oldukça önemli olup, sadece insanlarda bu iyonun biyolojik etkilerini değerlendirmek için değil ayrıca aşırı F tüketiminin neden olacağı hastalıklardan korunma ve bu hastalıkların tedavisi için de gereklidir.

4.8.3.1. Fluorid Metabolizmasının Genel Özellikleri

F Metabolizmasının farklı yönleri – bağırsak emilimi, dağılımı ve renal atılımı dahil – pH'a bağlıdır. Hidrojen fluorid (HF) 3.4 pKa ile zayıf bir asittir. Bu nedenle, 3.4 pH'da, F' in % 50'si ayrışmamış iken, diğer % 50 'si ayrışmış ya da iyonik formda kalmıştır (Whitford, 1996). pH 3.4 altına düştüğü zaman, HF konsantrasyonu artar ve pH artınca, F konsantrasyonu da artar. Yağ tabaka membran geçirgenliğinin, HF'e olan katsayısı, F' e olandan 1 milyon kat fazladır (Gutknecht ve Walter, 1981). Bu durum F' in HF kadar hücre membranlarında geçtiğini gösterip, pH farkı olan komşu vücut sıvılarında, HF asidik ortamdan alkali ortama geçmektedir (Şekil 4).

F metabolizmasının genel özellikleri şekil 6’da gösterilmektedir. Şekil 5 ayrıca, düşük doz F alınımından sonra meydana gelen plazma F konsantrasyon eğrisini göstermektedir. F diğer halojen ve maddelerden farklı olarak, mide pH’ına bağlı hızlı emilimi ile tüketimi sonrası plazma F seviyesi hızlıca artmaktadır. F’ in büyük kısmı mideden değil ince bağırsaklardan emilip, buradaki emilimi pH’a bağlı değildir (Whitford, 1996). Absorbe edilemeyen F ise dışkı ile atılır (Nopakun ve Messer, 1990).

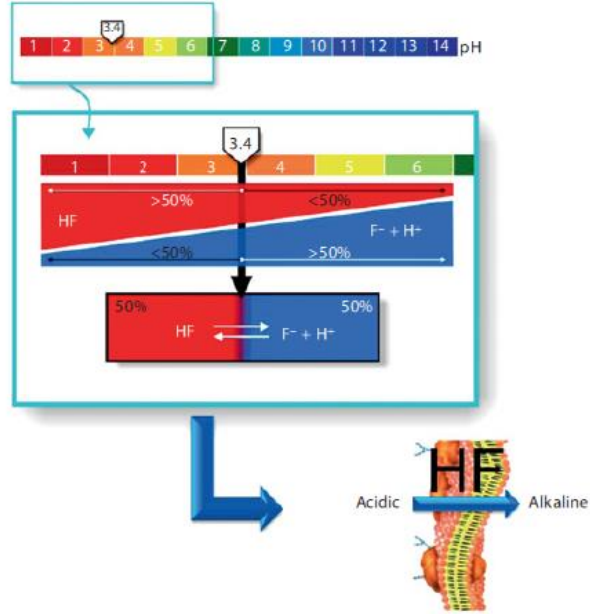
En yüksek plazma F seviyesine alınımından 20-60 dakika sonra ulaşılır ve iki ana nedenden dolayı plazma seviyesi azalmaya başlar. Bu nedenler; kalsifiye dokulara alınımı ve üre ile atılımıdır. F’ in dolaştığı, sert, yumuşak dokulara dağılımı ve vücuttan atılımı öncesi esas bulunduğu yer plazmadır. Yetişkinlerde, emilen F’ in % 50’si, vücuttaki F’ in % 99’unun bulunduğu sert dokular ile ilişkilidir (Whitford, 1994). Ancak kemiklerde bulunan F, plazma F seviyesi azaldığı zaman tekrar plazmaya geri salıverilir.

Hücre içi ve hücre dışı sıvılarda kararlı bir hal olduğu sürece emilen F’ in küçük bir miktarı yumuşak dokularda bulunur. Emilen F’ in büyük kısmı mineralize dokular tarafından alınmaz. Bir kısmı üre ile atılırken küçük bir miktar F ise tez ve dışkı ile vücuttan atılır. Eğer emilen F miktarı düşük ise, plazma seviyesi 3-6 saat sonra normale döner (Whitford 1996). F metabolizmasının genel özelliklerinin sonraki bölümlerde anlatılacak diyet, çevresel, genetik, fizyolojik ve patolojik varyasyonlara bağlı olduğunun bilinmesi oldukça önemlidir.

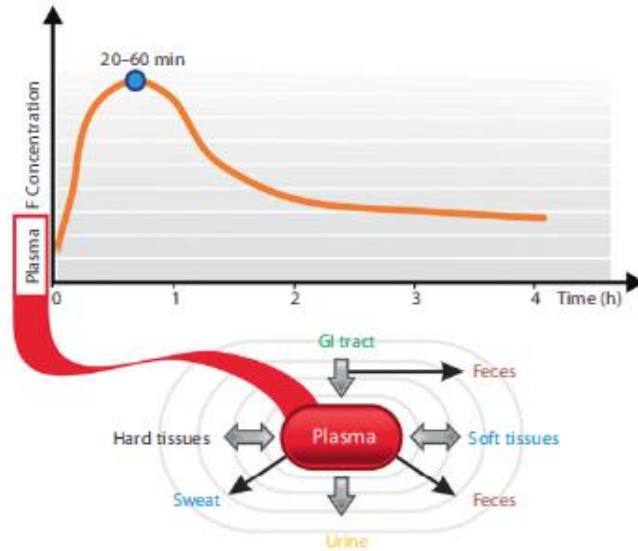
4.8.3.2. Fluorid Emilimi

Kalsiyum, magnezyum ve alimünyum gibi önemli katyonların büyük miktarda yokluklarında, tüketilen F’ in yaklaşık % 80-90’ının emilimi gastrointestinal sistemden gerçekleşir (Whitford, 1996). F emilimi, pasif diffüzyon ile gerçekleşip, sıcaklık değişikliğinden ve metabolik inhibitörlerden etkilenmez. F emilimi yaklaşık 30 dakikalık bir yarılanma ömrü ile hızlıca gerçekleşir. Birçok maddeye nazaran, tüketilen F’ in aşağı yukarı % 20-25’i mideden emilip geri kalanının emilimi ise

proksimal ince bağısıklardan sağlanır. F emilimi midede hızlı olmasına rağmen, emilim gastrik asidite ve gastrik boşaltım hızı ile ayarlanır (Wagner, 1962).



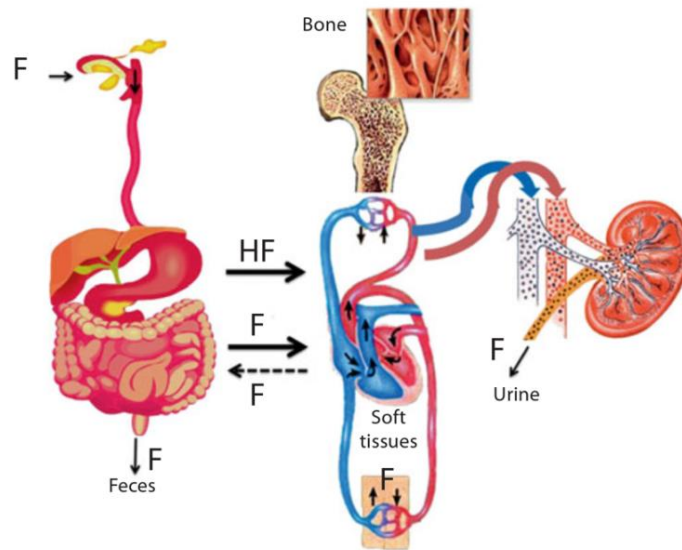
Şekil 4: F metabolizmasında pH' ın etkisi



Şekil 5: Düşük bir miktar F' in alınımı sonrası oluşan plazma F konsantrasyon eğrisi ve F metabolizmasının genel özellikleri

Gastrik F Emilimi, mide pH içeriği ile ters ilişkilidir çünkü midede emilen F genellikle HF'dir (Whitford ve Pashley, 1984). İyonik F, asidik gastrik lümene geçtiğinde, gastrik mukozaya gibi hücre membranlarından kolayca geçebilen ve yüklenmemiş bir molekül olan HF'e dönüştürülür (Gutknecht ve Walter, 1981). Bu sayede, daha asidik olan gastrik içerik ile midedeki emilime kıyasla daha fazla oranda emilim bağırsaklarda gerçekleşir (Trautner ve Einwag, 1989). Sonuç olarak, en yüksek plazma konsantrasyonu, asidik ortamlarda daha çabuk elde edilir. F' in beraber alındığı solüsyonun pH'ı, normal gastrik asit sekresyonları durumlarında, F emilimine çok az yada hiç etkisi yoktur.

Deney hayvanı çalışmaları, gastrik asit sekresyonunu inhibe eden ilaçların kullanamında, solüsyonun pH'ının kısa sürede F emilimini aşırı etkilediğini belirtmişlerdir. Düşük pH'a sahip solüsyonlar, kısa sürede yüksek miktarlarda F emilimi sağlarlar. pH fonksiyonu ile mideden emilen F miktarı Akut fluorozis tedavisinde ve teröpatik F tedavilerinde oldukça önemlidir. Gastrik F emilimini etkileyen bir başka etken ise gastrik boşaltım hızıdır (Ekstrand ve Ehrnebo, 1979). Hayvan çalışmaları, erken dönemde F dozunun büyük kısmının hala midede olduğu anda, en çok F emiliminin proksimal ince bağırsaklarda meydana geldiğini belirtmişlerdir. Bu sayede, gecikmiş gastrik boşaltım ile küçük ve yavaş plazma F artışı sağlanabilir.



Şekil 6: F metabolizmasının genel özellikleri

Mideden emilmeyen F' in büyük kısmı, yaklaşık % 70-75'i proksimal ince bağırsaklardan emilir. İnce bağırsaklar yüksek oranda F emilimini gerçekleştirme kapasitesine sahiptirler. İnce bağırsaklarda F emilimi, pH'dan etkilenmeden ve genellikle iyonik F' in zayıf epitel membranlarından geçmesiyle olup midedekinden farklı olarak gerçekleşir. İnce bağırsaklarda F emiliminin büyük kısmı, yüksek pH'ta düşük gastrik emilim ile gerçekleşir bu da genel F emiliminin gastrik asiditeden etkilenmediğini gösterir.

F emilimi tüketilen yiyeceklerin ve diyetin yapısından etkilenebilir. Sodyum florid (NaF) eklenmiş sular gibi çözülebilen bir F bileşiği için, F' in yaklaşık % 100'ü emilir. Eğer F süt veya başka yiyeceklerle tüketilirse, özellikle yüksek miktarlarda divalent yada trivalent katyonlar içeriyorlarsa, F emilimi azalabilir. Bu nedenle akut fluoid toksisitelerinde tedavi olarak kalsiyum içerikli solüsyonlar kullanılır.

Tüketilen F şekliyle alakalı bir çok çalışma, disodyum monofluorofosfat (SMFP) ile NaF'in F emilimi açısından benzer oldukları bildirilmiştir (Buzalaf ve ark., 2008). Ancak SMFP ile F emiliminin gerçekleştirilmesinde fosfatazların hidrolizi için enzim gerektiğinden SMFP'lerden F emilimi NaF'ten emilime göre daha yavaştır. Bu durum NaF tüketimine kıyasla en yüksek plazma F seviyesinde gecikmeye ve azalmaya neden olur. Benzer şekilde doğal yada suni fluoidlenmiş suların tüketiminde farklı F bileşikleri kullanılsa da F' in biyoyararlanımında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Maguire ve ark., 2005; Whitford ve ark., 2008).

4.8.3.3. Fluorid Dağılımı

Emiliminden sonra F hızlı bir şekilde organizmaya dağılır. F alınımından 10 dakika sonra plazma F seviyesi artmaya başlar ve en yüksek plazma seviyesine 20-60 dakikada ulaşılır. Tüketilen miktara göre, normal plazma değerlerine 3-11 saat sonra geri dönülür (Whitford, 1996).

Farmakokinetik bir bakış açısıyla, F' in sert ve yumuşak dokulara geçişte ve vücuttan atılımına kadar içinde bulunmasından dolayı plazma F dağılımında esas bölümdür. Hücre içi ve hücre dışı sıvılarda kararlı bir hal olduğu sürece emilen F' in küçük bir

miktarı yumuşak dokularda bulunur. Bu durum bizlere, plazma seviyelerinde artış veya azalış olduğunda hücre içi ve hücre dışı sıvılarda F konsantrasyonlarında orantılı değişiklikler olabileceğini göstermektedir. Emilen F' in büyük kısmı kalsifiye dokular tarafından alınır ve plazma seviyelerinde azalma olduğu durumlarda tekrar plazmaya geri salınırlar (Whitford, 1994).

Kandaki Fluorid

İnsan plazmasında iki tip F bulunmaktadır. Birincisi iyonize F (inorganik veya serbest F olarak ta adlandırılır) şeklinde bulunur. Bu tip F iyon spesifik elektrodlar ile tespit edilebilir. İyonik F plazma bileşenlerine bağlanmaz ve bu form diş hekimliğinde, tıpta ve halk sağlığında oldukça önemlidir. İyonik F kanda plazma ve kan hücreleri arasında eşit olarak dağılmaz (plazmada hücreye göre iki kat fazla konsantrasyonda bulunur). Diğer şekli ise non iyonik F' dir (Bratthall ve ark., 1996). İyonik F' den daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen biyolojik fonksiyonu hala anlaşılamamıştır. Bu tür F çeşitli tiplerde lipid benzeri moleküller tarafından oluşturulur ve yalnızca plazmadaki elektrodlar tarafından saptanabilir ve kronik F alınımlı sonrası iyonik ve noniyonik formları arasında anlamlı bir farklılık olmaz (Whitford, 1996). Sonuç olarak noniyonik ve iyonik formların birleşimi total plazma F' i olarak adlandırılır.

Şunu vurgulamak gerekir ki, diğer biyolojik iyonlardan farklı olarak plazma iyonik F konsantrasyonu hemostatik olarak düzenlenmez. Bundan farklı olarak F alım miktarına, yumuşak ve sert dokulardaki birikim ve salınımına ve idrar atılımına bağlı olarak miktarı artış veya azalma gösterebilir. Sonuç olarak, plazma F seviyeleri çeşitli fizyolojik faktörler tarafından etkilenmesine rağmen geçici olarak F alınımlının göstergesi olarak kullanılır.

Yumuşak Dokulardaki Dağılımı

Plazma bulunan F hızlı bir şekilde doku ve organlara dağılır. Dağılım hızı farklı dokularda kan akış hızına göre değişmektedir. F' in yumuşak dokularda dağılımı incelendiğinde, F' in pH eğilimine göre asidik ortamdan alkali ortama doğru biriktiğini bilinmektedir (Ekstrand, 1996). Memeli hücrelerinde bulunan sitazolün

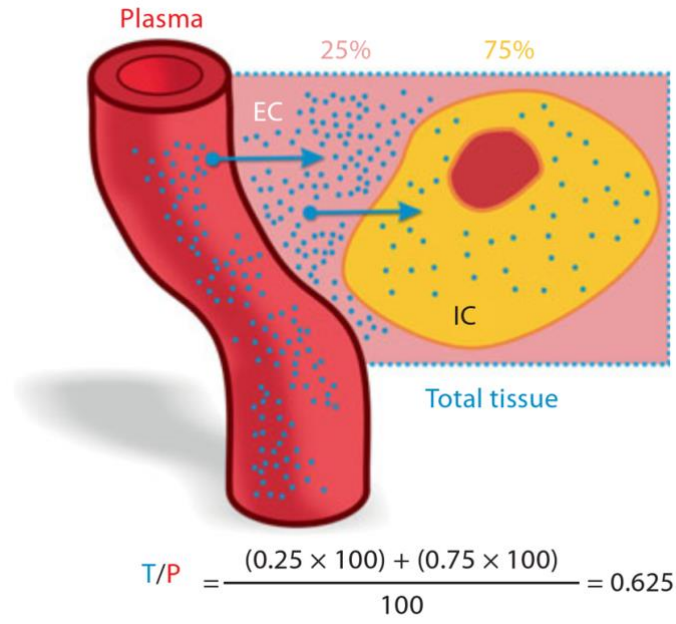
hücre içini hücre dışına göre daha asidik bi ortam yarattığı, hücre içi F seviyesi, plazma ve hücre dışı seviyelerine göre % 10-50 oranda daha az olduğu deney hayvanlarında yapılan kısa süreli radyoaktif F çalışmalarında tespit edilmiştir. Ancak hücre içi F miktarı plazma seviyelerine göre aynı anda ve orantısal olarak değişmektedir (Whitford, 1979). (Şekil 7 ve Tablo 3).

Bir çok hücre membran pH eğilimi hücre dışı pH değişikliğinden etkilenir ve hücre içine ve dışına doğru F akışını teşvik eder. Bu nedenle akut ve potansiyel F toksitesine neden olabilecek F alınımlarında tedavi olarak vücut sıvılarının pH'ını arttırarak hücre dışına doğru F akımını sağlayacak ve idrar ile atılımını sağlayacak takviyelerde bulunulur.

Tablo 3: Sıçanların bazı yumuşak dokularında doku-plazma F oranları

Doku	Doku plazma F oranı (ppm)
Karaciğer	0,98
Akciğer	0,83
Böbrek	4,16
Dil	0,69
Diyafram	0,61
Kalp	0,46
Beyin	0,08
Yağ	0,11
Deri	0,43
Tükürük bezi	0,63

Tablo 3, deney hayvanı çalışmalarında elde edilen verilere göre, yumuşak dokulardaki doku plazma F oranları gösterilmektedir. Elde edilen oranlar genellikle 0.4 ile 0.9 arasındadır (Whitford, 1979). Beklentiler, beyin dokularında kan beyin bariyerinin geçirgenliği azaltması ile elde edilen oranın 0.1'den düşük olması; tübüllerde ve dokular arasında yüksek F konsantrasyonları nedeniyle böbrek dokularında elde edilen F oranları ise 4'ten fazladır.



Şekil 7: Yumuşak doku sıvılarında F' in dağılımı

Özel Vücut Sıvılarında Dağılımı

Bazı vücut sıvılarında bulunan F miktarları bulundukları plazma seviyelerinden farklı olmasına rağmen F miktarı plazma seviyelerine göre aynı anda ve orantısal olarak değişmektedir. Bu nedenle serebrospinal sıvı ve süt plazma F seviyesinden %50 daha az F içermektedir (Whitford, 1996). Dişeti oluşu sıvısı bu orandan biraz daha fazla F içerirken, parotis ve submandibular tükürük sıvılarında ise daha az F seviyesi (0,8-0,9) tespit edilmiştir (Whitford, 1994).

Tükürük bezi kanalından elde edilen F verileri plazma verileri ile alınan F' in biyoyararlılığını belirlemeden daha modern bir biyomarkerdir (Wilson ve Bawden, 1991). Tüm tükürük F seviyesi dışardan alınan gıdalardan kontamine olacağından tükürük bezi kanalından elde edilen değerlerden daha fazla olacaktır ve plazma F seviyesini tahmin etme ve değerlendirmede sağlıklı sonuç vermeyecektir (Whitford ve ark., 1999).

Mineralize Dokulara Dağılımı

İnsan vücudunda bulunan F' in % 99 'u özellikle kemik, mine ve dentin olmak üzere mineralize dokularda birikmektedir (Whitford, 1994). Kemik dokularında bulunan F

aynı oranda değildir. Uzun kemiklerde, endosteal ve periosteal kısımlarda F seviyesi daha yüksektir. Hücre dışı sıvılar ile çevrili alanı daha geniş olduğundan, kansellöz kemiklerde kortikal kemiklere nazaran F seviyesi daha yüksektir (Weidmann ve Weatherell, 1959). Kemik F seviyeleri F' in geçen zamanla birikim yapmasından dolayı yaşla beraber artış gösterir (Weidmann ve Weatherell, 1959). Sağlıklı bir bireyin (18-75 yaş arası) günlük aldığı F' in ortalama %36'sı kemiklerle ilişkili olduğu kalan kısmın ise idrar ile atıldığı tahmin edilmektedir. 7 yaşından küçük çocuklarda, olgunlaşmış kemiğe nazaran zengin kanlanma kapasitesinden, geniş kemik kristal yüzeyinden dolayı F' in mineralize dokulara katılımı yetişkinlerden (% 55) daha fazladır (Whitford 1994).

F' in kemik dokulara katılımı farklı safhalarda gerçekleşir (Neuman, 1958). İlk flürid alınımları kemik kristallerinin dış tabakasında iso ve heterojenik değiş tokuş ile gerçekleşir. Bu iyon bakımından zengin tabaka daha sonra hücre dışı sıvı ile devam eder. Kararlı durumlarda, bu kemik kristallerinin dış tabakası ile hücre dışı sıvısındaki F konsantrasyonları arasında bir denge vardır. Plazma F seviyesi arttığı durumlarda kristal dış tabakasında doğru; plazma F miktarı azaldığında kemikten plazmaya F geçişi gerçekleşir (Whitford, 1994). Bu nedenle kemik dış yüzeyi akut F toksisitesinde önemli bir biyomarkırdır. Fizyolojik kaynaklı bir farmakokinetik teori, kemi dokunun, iyon akışının hızlı olduğu bir dış tabaka ve genellikle iyon değiş tokuşunun olmadığı bir sabit iç tabakası olduğunu belirtir. F' in bu stabil olan iç tabaka ile geri dönüşümsüz olmayan bir bağlantısı olduğu tahmin edilmektedir. Zamanla gençlerde kemik remodeling safhalarında, yetişkinlerde ise kemik rezorpsiyonlarında ve remodeling safhalarında devam eden bir süreç olduğu düşünülmektedir (Rao ve ark., 1995).

Dentin F seviyesi, kemik F konsantrasyonu gibi uzun dönem belli oranlarda F alınımlına bağlı olarak yaşla beraber artmaktadır. Dentin F miktarı pulpayla doğru artarken mine dentin bileşimine doğru azalmaktadır (Weatherell, 1969). Mine F konsantrasyonu dentin F konsantrasyonunda daha az olup aralarında herhangi bir bağlantı bulunamamıştır (Vieira ve ark., 2004; Vieira ve ark., 2006). Mine F konsantrasyonu dişlerde zamanla meydana gelen aşınmalar nedeniyle azalma eğilimi

gösterirken dental biyofilm bölgelerinde artış görülmektedir (Weatherell ve ark. 1972). Mine F konsantrasyonu maruz kalınan fluorozis ile ilgili bilgi vermekle beraber, yapılan çalışmalarda F alınıminin mineye nazaran dentini daha çok etkilediği görülmüştür (Vieira ve ark., 2004; Vieira ve ark., 2005; Vieira ve ark., 2006).

4.8.3.4. Fluoridin Atılımı

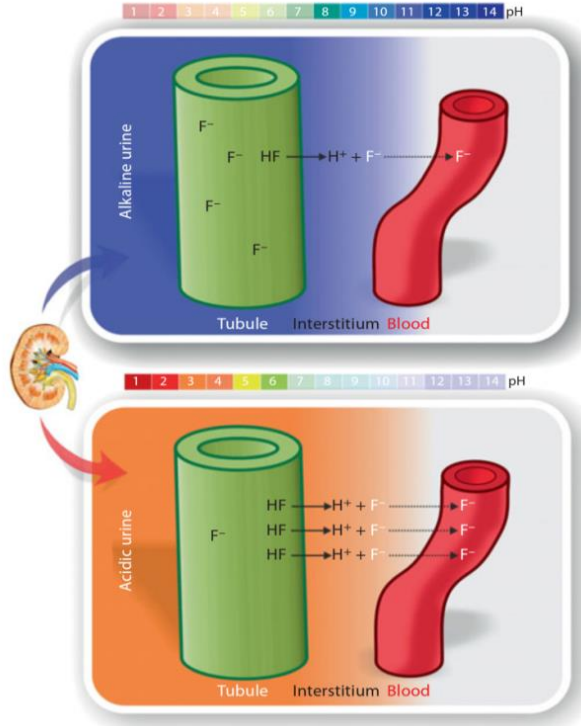
Böbrekler, F⁻ in vücuttan atılımda ana yoldurlar. Normal şartlar altında yetişkin bir bireyde (18-75 yaş arası) alınan F⁻ in günlük yaklaşık % 60'ı idrar ile atılır. Bu durum çocuklarda yaklaşık % 45'dir (Villa ve ark., 2010). Sonuç olarak, daha önce alınan F miktarı, kemik dokulara alınan ve salınan F miktarı, idrar ile atılan F miktarı ile plazma ve üriner dışkılama fizyolojik bir denge oluşmaktadır.

İyonik F plazma proteinlerine bağlanmadığından, glomerüler filtrede plazmadaki seviye ile aynı oranda F bulunmaktadır. Renal tubullere girdikten sonra, bir kısım iyonlar (% 10-90 arası) tekrar absorbe edilip sistemik dolaşıma geri dönerken, kalanlar ise idrarla atılırlar (Ekstrand, 1996). Bu işlem, glomerüler filtre ile beraber idrarla atılan F miktarını belirler. Yaşamın son çeyreğinde işlevsel nefron sayısının azalmasıyla görülen kronik böbrek yetmezliğinde meydana gelen glomerüler filtre hızında azalma sonucu idrar ile atılım azalırken plazma F seviyesi artar (Ekstrand, 1996; Schiffli ve Binswanger, 1980).

Diğer halojenler ile kıyaslandığında F⁻ in vücuttan temizliği (sağlıklı bir yetişkinde yaklaşık 35ml/dk) daha fazladır. Glomerüler filtre hızı, üriner pH, akım hızı gibi kişisel varyasyonlar bu temizlik hızını mutlaka etkiler (Jarnberg ve ark., 1983).

F⁻ in renal tübüler tekrar emilimi, gastrik emilimde ve membran F geçişinde olduğu gibi pH'a bağlı olup HF diffüzyonu ile gerçekleşir (Whitford ve ark., 1976). Böylece, tübüler sıvıda pH arttığı zaman, HF şeklindeki F oranı azalır, F⁻ şeklindeki F oranı ise artar. (Şekil 8). Sonuç olarak, çok az bir miktarda HF tekrar absorbe edilmek üzere tübüllerden emilirken, yüksek miktarda F⁻ idrarla atılır. Öte yandan tubular sıvının pH düzeyi azaldığı zaman, Yüksek oranda HF tübüler epitelyumu geçerek, pH'ın

daha yüksek olduğu hücre içi sıvılara doğru hareket eder. F^- salınıp, peritübüler kılcallara diffüz olup sistemik dolaşıma katılır. Bu durumda renal temizlik hızı düşer. Böylece, diyet içeriği, bazı ilaçlar, metabolik ve solunum hastalıkları gibi durumlar, üriner Ph'ı etkiler ve dolayısıyla metabolik denge ve dokularda F konsantrasyonu da etkilenir.



Şekil 8: Böbrek tubullerinde F^- in tekrar emilim mekanizması

Dışkıda florid

Dışkıda bulunan F^- in büyük kısmı emilemeyen F^- e tekabül eder. Dışkıdaki F^- , tüketilen F^- in yaklaşık % 10' undan daha azdır. Bu şekilde tüketilen F^- in % 90'ından daha fazlası emilir (Ekstrand ve ark., 1984; Ekstrand ve ark., 1994).

Dışkıda bulunan sadece emilemeyen F^- ile alakalı olmasa da, dışkıda F^- bulunmaktadır. Diğer iki durumda plazma F^- seviyesi çok arttığı zaman ve tüketilen diyet yüksek konsantrasyonlarda kalsiyum içerdiğinde, deney hayvanı çalışmaları, feçeste bulunan F^- seviyesinin arttığını belirtmişlerdir (%1 ve daha fazla oranda). Yüksek miktarda plazma F^- seviyesi, sistemik dolaşımdan bağırsak sistemine F^- geçişine neden olur. Öte yandan, tüketilen diyetle aşırı miktarda kalsiyum varlığında,

emilemeyen kalsiyumun F' e kimyasal olarak bağlanarak bağırsaklara geçtiği, böylece, diffüzyon olabilecek F konsantrasyonunu azaltmak suretiyle, daha çok F' in bağırsaklara geçişine neden olduğu düşünülmektedir (Whitford, 1994).

4.8.3.5. Fluorid Metabolizmasını Etkileyen Faktörler

F metabolizmasının genel özelliklerini analiz ederek, F' in emilimini ve atılımını etkileyen herhangi bir sistemik, metabolik ve genetik durumun, F' in vücuttaki geleceğini ve F alımıyla dental veya iskeletsel fluorozis ile ilişkisini etkiler. Kronik ve akut asit baz bozukluklar, hemotokrit, yüksek rakım, fiziksel aktiviteler ve hormonlar gibi varyasyonların organizmada F metabolizmasının genel özelliklerini etkileyebileceği bildirilmiştir (Whitford 1996). Diğer bozukluklar olarak ta böbrek yetmezlikleri, genetik ve beslenme ile ilgili hastalıklar bildirilmiştir.

Asit Baz Bozuklukları

Üriner pH'ın böbreklerin F' in vücuttan atılımı üzerindeki etkisinden dolayı, kronik asit baz bozukluklar F' in organizmadaki dengesinde ve dokulardaki F konsantrasyonlarında önemli rolü vardır. Diyetin içeriği (vejeteryan diyet üriner pH' ı arttırırken, et kaynaklı diyetler ise azaltır), bazı ilaçlar, metabolik ve solunum hastalıkları, fiziksel aktiviteler ve yüksek rakım gibi faktörler asit baz dengesini kronik olarak etkiler (Whitford, 1996). Akut solunumsal asit baz hastalıkları metabolik hastalıklar gibi F' in idrarla atılımını etkiler.

Renal Bozukluklar

Çocuklarda renal bozukluklar mine anomalileri ve hipoplazileri gibi diş defektleri ile alakalıdır. Diş oluşumunda üreminin (kanda üre oranının artması) etkileri nefrektomi yapılmış sıçanlara 0 ve 50 ppm F verilen bir çalışmada gözlemlenmiştir. Nefrektomi yapılmış sıçanlarda F alımını plazma F seviyesini iki katına çıkarmıştır. Ayrıca bu çalışma üreminin mine ve dentin yapımını da etkilediği, sadece F' in etkilerinden daha çok etkilediğini göstermiştir (Lyyaruu ve ark., 2008). Azalmış böbrek fonksiyonu olan sıçanlarda F alımının F atılımını olumsuz etkilediğini ve santral kesici diş gelişimini üzerinde negatif etkilerini olduğunu belirtilmiştir. İnsanlarda, birçok çalışma, hipoplaziler gibi mine defektleri ile renal rahatsızlıklar arasında direk

bir ilişki olduğunu göstermiştir (Koch ve ark. 1999; Farge ve ark., 2006). Yapılan bir çalışmada böbrek rahatsızlığı bulunan çocuklar ile sağlıklı çocuklar arasında dental fluorozis sıklığı açısından herhangi bir farklılık bulunamasa da; böbrek rahatsızlığı görülen çocuklarda meydana gelen dental fluorozisin sağlıklı çocuklarda görülen dental fluorozise kıyasla daha şiddetli olduğu tespit edilmiştir (Ibarra-Santana ve ark., 2007).

Yaşanılan Bölgenin Rakımı

Araştırmacılar, tüketilen F miktarı göz önüne alınmadan yüksek rakımların taklit edildiği hipobarik bölmelerde yapılan çalışmalarda kışkırtılan sıçanların dişlerinde mine bozuklukları tespit edilmiştir (Whitford, 1996). Yüksek rakımlarda oluşan hipobarik hipoksi nedeniyle meydana gelen asit baz dengesindeki değişiklikler, idrar ile atılımı azalmış F reaksiyonları gibi F birikimlerine neden olur (Whitford ve ark., 1997).

Tanzanya gibi yüksek rakımlı (1463 m) bölgelerin aksine düşük rakımlı bölgelerde (100m) de aynı beslenme alışkanlıkları ve içme sularında düşük F konsantrasyonları mevcuttur. Araştırmacılar yüksek rakımlı bölgelerde görülen mine bozukluklarının şiddetinin içme sularındaki düşük F konsantrasyonları ile ilgili olmadığını, rakım yüksekliğinin, mine bozukluklarına neden olabilecek diğer faktörler ile alakalı olabileceğini bildirmişlerdir. Başka ülkelerde yapılan araştırmalar, yüksek rakımlı bölgelerde görülen fizyolojik değişikliklerin F' in mineralize dokulara etkilerini etkileyebileceğini doğrulamışlardır (Rwenyonyi ve ark., 1999; Akosu ve Zoakah, 2008). Bu tip bozukluklar hipoksi gibi yüksek rakımlı bölgelerde görülen hastalıklardan kaynaklanabilir. Bu durum üriner pH'ın düşmesine, F' in renal atılımında azalmaya neden olacağına ve böylece vücutta F konsantrasyonunun artışı gözlemlenir.

Fiziksel Aktivite

Uzun süreli fiziksel aktivitelerde, başta iskelet kası hücrelerinde olmak üzere hücre membranlarda pH eğilimlerinde azalma meydana gelir ve HF' nin hücre dışı sıvıdan hücre içi sıvıya doğru diffüzyonu gerçekleşir. Ayrıca, fiziksel ekzersizler sırasında,

catecholaminerin salgısının ve kaslarda kan akımının artması ile renal vazokonstrüksiyon meydana gelir. Birçok faktörün dengesine bağlı olarak, ekzersizler F dolaşımının artması veya azalması ile alakalıdır (Whitford, 1996). Fiziksel aktivitelerin F' in idrar ile atılımını etkileyebilmesine rağmen, bu tip faktörler dental fluorozis gelişiminde önemsizdirler ve çocukluk döneminde uzun süreli spor yapmanın fluorozis için bir risk faktörü olması belirsizdir.

Sirkadyan Ritim ve Hormonlar

Biyolojik ritim varlığının plazma F seviyelerinde etki etme ihtimali, kalsiyum ve fosfat ile ilgili sirkadyan ritim araştırmalarıyla beraber artmıştır. Kemik aktif hormonları ile ayarlanan bu tip iyonların günlük varyasyonları kemik yapım ve yıkımı ile ilişki içindedir (Talmage ve ark., 1975; Perault-Staub ve ark., 1974). İskelet sisteminde tutulan F miktarı, kalsiyum ve fosfat gibi plazma F seviyesinin sirkadyan ritimi gösterdiği hipotezi savunulmaktadır. Köpeklerde gözlemlenen bu tip ritimler sabah saat 9'da; en üst limitlere çıkarken akşam saat 9'dan sonra düşüşe geçer (Whitford, 1996).

Parat hormonunun veya somon balığı tirokalsitoninin insanlara ilk defa uygulanması ile hormonlara bağlı kemik yapım ve yıkımının plazma ve idrar F seviyelerini etkilediği gözlemlenmiştir (Talmage ve ark., 1975; Perault-Staub ve ark., 1974). Yapılan güncel bir çalışmada, renal sistemin bu tip ritmik durumlardan etkilenebileceği vurgulanmıştır. Cardoso ve ark. (2008) plazma F seviyesinin sabah saat 11' de en üst seviyede (0,55 umol/l); akşam saat 5 ve 8 arasında ise en düşük seviyede (0,50 umol/l) olarak tespit etmişlerdir. Plazma F seviyesi idrar ile atılan F miktarı ve serum parat hormonu ile pozitif ilgiliyken, hem renal sistemin hem de hormonların insanlarda plazma F seviyesi için bu tür ritimler için önemli olduğu düşünülmektedir. Biyolojik ritimlerin varlığı, F alınımı ve dental fluorozis oluşma riski ile ilişkili olabilir.

Beslenme Durumları

Son yıllarda yapılan çalışmalar, beslenme yetersizliği ile dental fluorozis sıklığı ve şiddeti arasında bir ilişki olduğu bildirilse de, bu tür bir ilişkinin değerlendirilmesi

oldukça güç ve tartışmalıdır. Perhiz yapan bir çocuk, sağlıklı beslenen bir çocuğa nazaran su veya başka bir kaynaktan F alabilir, öte yandan yetersiz beslenen bir çocuk ise uzun bir zaman zarfında daha düşük konsantrasyonlarda F alarak daha zayıf bir kemik yapısına sahip olabilir. Suudi Arabistan’da Rugg-Gunn ve ark. (1997) içme sularındaki F konsantrasyonu, sosyoekonomik durum, beslenme şartları ve yaygın mine lezyonları (DDE indeksi) arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişlerdir. DDE indeksinde tespit edilen yaygın mine lezyonları her ne kadar dental fluorozis için bir teşhis faktörü olsa da, direk olarak dental fluorozis ile DDE indeksi arasında bir ilişki kurmak doğru kabul edilmemektedir (Clarkson ve O’Mullane 1989). Tanzania’ da çocuklarda yapılan bir araştırmada, Yoder ve ark. (1998) yetersiz beslenme ve dental fluorozis arasında bir ilişki tespit edilmiştir. Bu tür varsayımlar değerlendirilirken yanlış yorumlamalardan kaçınılmalıdır. Araştırmacılar, yüksek dental fluorozis sıklığı ile inceledikleri bölgelerdeki beslenme verileri ile korelasyon kurarken, çocuklarda beslenme yetersizliği ile dental fluorozis arasında direk karşılaştırma yapmamışlardır. Correia Sampaio ve ark. 1999 yılında yaptıkları araştırmada dental fluorozis ile beslenme şartları arasında bir ilişki olmadığını kanıtlamışlardır. Beslenme şartları, boy ve yaş (kronik beslenme yetersizliği) ve kilo ve yaş (genel beslenme yetersizliği) indeksleri WHO tarafından hazırlanmıştır. İçme sularındaki F konsantrasyonu ile dental fluorozis arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespi edilirken beslenme ve cinsiyet ile bir ilişki bulunamamıştır. Yenidoğan beslenme yeterliliği ve F’ li içme sularının kullanımının artması gibi etkenler dental fluorozis ile ilişkili olabilir. bundan sonra yapılacak çalışmalarda, diş gelişim dönemlerinde yenidoğan beslenme yeterliliği, F alınımları ve beslenme şartları uzun süreli incelenmelidir. Beslenme yetersizliği ve dental fluorozisin yaygın olduğu aynı zamanda diş çürüğünden korunma amaçlı F alınımları geliştirmekte olan ülkeler için oldukça önemlidir.

Diyet Bileşimi

Ürenin, NH_4Cl ve NaHCO_3 alınımları ile, asidifikasyonu ve alkalınazasyonu sırasıyla idar ile F’ in atılımı ve plazma yarınlanma ömürllerinde anlamlı farklılıklara yol açmıştır (Ekstrand ve ark., 1980). Benzer bulgular, zengin protein içerikli ve vejeteryan diyet ile sağlanan asidifikasyonu ve alkalınazasyon ile de elde edilmiştir.

Uzun süreli uygulanan diyetlerde üriner pH değişiklikleri dental fluorozis riskini azaltabilir yada arttırabilir. Hindistan’da endemik fluorozis bölgelerinde çocuk ve yetişkinlerde vejeteryan ve vejeteryan olmayan diyetlerin, dental fluorozisin sıklığı ve şiddetine olan etkileri incelenmiştir. Vejeteryan diyet dental fluorozis sıklığı ile ters ilişkilidir. Vejeteryan grupta sırasıyla dental fluorozi sıklığı ve şiddeti % 67 ve 21 ; vejeteryan olmayan grupta ise %95 ve 35 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca vejeteryan olmayanlarda dental fluorozis görülme ihtimali diğer gruba göre 7 kat daha fazla olarak düşünülmüştür. Okul dönemi çocuklarda, demirhindi alımının, üriner pH’ın artması ile idrarda F seviyesinin arttığını vurgulamıştır (Khandare ve ark., 2002). Güney Hindistan’ da endemik fluorozis bölgesinde yapılan bir çalışmada, gönüllülere 2 hafta boyunca F’ siz içme suyu uygulamasının idrar F atılımını amlamlı düzeyde azaldığı vurgulanmıştır. Daha sonra deneklerin yarısı 3 hafta süreyle demirhindi verilmiş ve idrar F atılımında ve üriner pH seviyesinde kontrol grubuna nazaran artış gözlemlenmiştir (Khandare ve ark., 2004). Demir hindinin ana bileşenlerinden biri olan tartarik asit sindirilemez ve üre ile vücuttan atılır.

Diğer diyet elemanları da F ve fluorozis arasındaki dengede önemli rol oynarlar. Diyetle yüksek konsantrasyonlarda özellikle kalsiyum gibi katyon alınması, aşırı F emilimini azaltır (Whitford ve ark., 1994). Dental fluorozisin %50’den fazla olduğu rapor edilen Çin’in Jianxi bölgesinde yapılan bir araştırmada, süt tüketimine bağlı dental fluorozis sıklığında arasında bir ilişki gözlemlenmiştir. Süt içenlerde dental fluorozis sıklığı % 7,2 iken süt içmeyenlerde bu oran % 37,5 olarak tespit edilmiştir. Yaklaşık 62 milyon insanın dental fluorozis olduğu bilenen Hindistan’da bazı besin maddeleri ile dental fluorozis arasındaki ilişkileri bulmak için bir takım çalışmalar yapılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda kalsiyum içrekli beslenmenin dental fluorozis sıklığı ile ters ilişkili olduğu belirtilmiştir (Bhargavi ve ark. 2004). Endemik fluorozis bölgelerinde, F’ in mineralize dokulara olan etkilerini azaltmak için kalsiyum içerikli yiyeceklerin uygulanması gerektiği belirtilmiştir (Khandare ve ark., 2005).

Günlük alınan diyet te oldukça önemlidir. Yüksek sorghum (Jowar olarak adlandırılır) varlığında veya sorghum esaslı diyetlerde pirinç veya buğday esaslı diyetlere nazaran, F birikimi ve toksisitesi tespit edilmiştir (Lakshmaiah ve Srikantia, 1977).

Genetik Faktörler

F alınınının farklı olduğu bölgelerde, dental fluorozis sıklığını etkileyen faktörleri ve farklı etnik gruplarda gözlemlenen fluorozis bulgularını inceleyen çalışmalar, dental fluorozis için genetik yatkınlıkların etkili olabileceğini belirtmişlerdir (Polzik ve ark., 1994; Anand ve Roberts, 1990).

Tanzanya’ da üç farklı bölgede yapılan bir araştırmada, içme suyu F seviyeleri ve rakım değerlerinin farklı olmadığı çocuklarda, iki bölgedeki verilerde daha şiddetli fluorozis gözlemlenirken, birçok çocukta çok az mine defektlerine rastlanılmıştır (Yoder ve ark., 1998). Bu bölgelerde uzun süre yaşayan bu fluorozise dirençli çocuklar şüphe çekmişlerdir. Her iki grupta da üriner F verileri ve tüketilen F miktarları oldukça benzerlerdir. İçme sularının fluoridlenmemiş ancak yüksek fluorozis bulgularına rastlanan bölgelerde genetik yatkınlıkların etkinliği düşünülmektedir. Dental fluorozis için genetik yatkınlıkların olasılığını tespit etmek için yapılan çalışmada, genotipi, yaşı, cinsiyeti, diyetleri, yaşam koşulları ve içme suyu F seviyeleri kontrol altına alınmış fareler kullanılmıştır. Doğuştan farklı 12 fare soyunun incelendiği bu çalışmada, farklı dental fluorozis belirtileri gözlemlenmiştir. A/J cins farelerin dental fluorozisin başlama zamanı ve şiddeti açısından daha yüksek yatkınlık gösterdiği, öte yandan 129P3/J cins farelerin ise daha az etkilendiği tespit edilmiştir. İlerleyen araştırmalarda, bu iki fare türünün fluoroziste farklı kemik doku bulguları gözlemlenmiştir (Mousny ve ark., 2006). Mine maturasyonunun incelendiği histolojik araştırmalarda, F tedavilerinin, mine maturasyonunda A/J cins farelerde amelogenin birikimine neden olduğuna ancak 129P3/J cins farelerde ise etki etmediği görülmüştür. Fizyolojik, biyokimyasal ve / veya moleküler yapısının daha ileri yöntemlerle araştırılması gerektiği vurgulanılmıştır.

İnsanlarda, genetik ve çevresel koşulların fluorozis ile olan ilişkisinin incelendiği bir araştırmada ise aynı genetik yapı ve F alınımlarına sahip kişilerde fluorozis bulguları incelenmiştir. Bu çalışma, Çin' in Henan bölgesinde, yaşları 8 – 12 arası değişen, 75 dental fluorozis vakası ile 165 dental fluorozisi olmaya çocuk ile gerçekleştirilmiştir. COLIA2 geninin, PvuII ve RsaI polimorfizimleri genotipleridir. Serum kalsitonin ve osteokalsin seviyeleri ölçülmüştür. Endemik fluorozis bölgesinde, COLIA2 PvuII homozigot genotipini taşıyan çocuklarda, dental fluorozis riskinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı vurgulanmıştır. Ancak, kontrol grubu olarak fluorozis bölgesi olmayan yerlerden elde edilen verilerle kıyaslandığında, bu risk oranı yükselmemiştir. Ayrıca, idrar F seviyesi ve serum osteokalsin seviyeleri endemik fluorozis bölgesi olmayan bölgelere nazaran anlamlı bir şekilde daha düşüktür. Bu çalışma, yüksek F alınımlarında, COLIA2 geninin farklı polimorfizim durumlarının dental fluorozis ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Huang ve ark., 2008).

Sonuç olarak, biyolojik sistemlerde, F' in farklı etkileri olduğu binlerce çalışmaya konu olmuştur. Özel doku ve hücrelerde, F iyonlarının konsantrasyonlarına bağlı, F' in olumlu ve olumsuz etkileri olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, önceden alınan F seviyeleri ve konsantrasyonları bireyden bireye değişen farklı metabolik özelliklerle ayarlanmaktadır. Bu bölümde anlatıldığı üzere, bu özellikler bireylerde veya toplumlarda sabit değildirler. Bunun yerine, bu özellikler, farklı çevre koşullarından, biyokimyasal, fizyolojik ve patolojik faktörlerden etkilenirler. Son yıllarda yapılan çalışmalar, F' in metabolizmasını ve biyolojik etki mekanizmalarını açıkça anlatmaktadırlar. İleri analitik, diyagnostik, moleküler ve genetik tekniklerin geliştirilmesi ile F' in olumlu etkilerinin artırılması ve zararlı etkilerinin azaltılması hakkında bilinen tüm bilgi ve deneyimler geliştirilmiş olacaktır.

4.8.4. Fluorid Toksisitesi

4.8.4.1. Akut Fluorid Toksisitesi

İnsanda akut F zehirlenme tablosu pek çok yazar tarafından tanımlanmıştır. Ancak akut F toksisitesinin spesifik bir serolojik biyomarkırı olmadığından pratikte tanımlaması güçtür (Smith, 1988; Alarcón ve ark., 2001; Yıldız, 2003; Bezerra ve ark., 2003).

Sağlıklı bireylerde, F elementi için akut toksik doz 1-5 mg/kg arasındadır ve 15-30 mg/kg dozları ile meydana gelen F zehirlenmeleri ölümlle sonuçlanabilir (Penman ve ark., 1997). Akut F zehirlenmesinde, aşırı miktardaki F alımından dakikalar sonra ortaya çıkan bu belirtiler, duruma spesifik olmayan bulantı-kusma-ishal, baş dönmesi, hipersalivasyon, karın ağrısı şeklinde ortaya çıkmaya başlar. Hafif seyreden zehirlenme tablolarında bu semptomlar genellikle 24 saat içerisinde kaybolur. Ağır seyreden olgularda ise, bu semptomlara kardiyak aritmi ve koma tablosu eşlik eder. Zehirlenmeyi takip eden 24 saat sonra yaşayan olgularda prognoz genellikle iyidir (Vogt ve ark., 1982; Smith, 1988; Penman ve ark., 1997).

F' in sinir dokularına olan etkileri, baş ağrısı, konvülziyonlar, görme bozukluğu, parestezi, optik nörit, bilinç değişikliği olarak tanımlanabilmektedir. Akut F zehirlenmesinde ortaya çıkan en ciddi bulgular, solunum sistemi ile ilgili olarak meydana gelmektedir. Solunum başlangıçta uyarılırken daha sonra depresyon gelişir. Laringeal ya da pulmoner ödem meydana gelebilir. Alınan F dozuna bağlı olarak solunum sistemi ile ilişkili bulgular 30 dakika içerisinde bile ortaya çıkabilir, bu şartlar altında genellikle 2-4 saat içerisinde ölüm gerçekleşebilir (Vogt ve ark., 1982; Penman ve ark., 1997). Akut F zehirlenmesi sırasında bireylerde meydana gelen patofizyolojik değişimler şöyle sayılabilir (Vogt ve ark., 1982; Penman ve ark., 1997).

□ Ani hipokalsemiye bağlı kalp ve adale fonksiyonları ile pıhtılaşma mekanizmalarında bozukluklar.

□ F' in mide içeriği ile oluşturduğu hidrojen F' e bağlı gastrointestinal sistem yan etkileri.

□ Kas ve sinir doku üzerine direkt etkileri ile nörolojik semptomlar.

□ Anaerobik glikoliz enzimlerini, kolinesteraz fonksiyonunu, magnezyum ve çinko içeren enzimleri etkileyerek doku solunumunda bozulmalar.

□Damarlardaki düz kasların etkilenmesi sonucu ortaya çıkan vasomotor bozukluklar.

4.8.4.2. Kronik Fluorid Toksisitesi

Kronik olarak F alımının sistemik açıdan sağlıklı bireyler için vücuttaki en önemli etkileri, yaşayan hücreler için gerekli olan temel enzimlerin inhibisyonu ile mineralize dokular üzerinde meydana gelmektedir (Teotia ve ark., 1971; Smith, 1988). Kronik olarak aşırı dozlarda F alımı neticesinde ortaya çıkan fluorozis tablosunun sağlıklı bireylerde primer bulguları, dişlerde görülen lekeler ve iskelet sisteminde izlenen osteosklerozisdir (Teotia ve ark., 1971; Smith, 1988; Den Besten, 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Bartlett ve ark., 2005; Browne ve ark., 2005).

Dental fluorozis tablosunda ortaya çıkan, dişlerdeki benekli mine görüntüsü, kronik F intoksikasyonunun en erken belirtilerinden birisidir. Dental fluorozis tablosu dişlerde pörözite, kırılmaya yatkınlık ve renk değişiklikleri ile izlenen ve estetik bozuklukların ön planda olduğu bir tablodur (Teotia ve ark., 1971; Smith, 1988; Den Besten, 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Bartlett ve ark., 2005; Browne ve ark., 2005).

Sağlıklı bireyler tarafından kronik olarak uzun süreli F alımında iskelet sistemi de F' den etkilenir ve metabolik bir kemik ve eklem hastalığı olan iskeletsel fluorozis tablosu ortaya çıkar (Teotia ve ark., 1971; Smith, 1988; Den Besten, 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Bartlett ve ark., 2005; Browne ve ark., 2005).

İskeletsel fluorozis tablosunda, fluorotik kemikteki F miktarında normal yapıdaki bir kemik dokuya kıyasla anormal bir artış söz konusudur. İskeletsel fluorozis tablosu, dental fluorozis ile karşılaştırıldığında tüm vücudu etkileyen çok daha ciddi bir durumdur. İskeletsel ve dental fluorozis tablosu temel olarak aşırı floridli içme suyu kullanımı ya da mesleki nedenlerle yüksek dozlarda F' e kronik olarak maruz kalma ile meydana gelen, büyüme gelişim dönemine göre tüm vücudu değişik derecelerde etkileyen patolojik değişikliklerdir (Teotia ve ark., 1971; Den Besten, 1994; Bartlett ve ark., 2005; Browne ve ark., 2005).

F' in etkilerinin tüm organizmada biyomineralizasyon prosesini kapsadığı ve kristal formasyonu ya da büyümenin mezensimal veya ektodermal kökenli olup olmadığına bakılmaksızın etkilediği bilinmektedir. Bu şekilde meydana gelen fluoroziste mineralize dokulardaki aşırı F mevcudiyeti doku kompozisyonunda değişikliklere sebep olmaktadır (Smith, 1988; Boivin ve ark., 1989; Fejerskov ve ark., 1996; Urbanska ve ark., 2001).

4.8.5. Fluoridin Sert Dokular Üzerine Etkileri

4.8.5.1. Dental Fluorozis

Dental fluorozis, sistemik açıdan sağlıklı bireyler için önerilen optimum miktarın üzerindeki F' in dişlerin gelişim asamasında, sistemik olarak alımı ile meydana gelen, dişlerde simetrik dağılım gösteren normal mine yapısına göre pöröziteler ile karakterize bir hipomineralizasyon tablosudur (Den Besten, 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Michel-Crosato ve ark., 2005; Aoba ve Fejerskov, 2002; Pendrys, 2000).

Dişlerin oluşum asamalarında, ortamda bulunan aşırı miktardaki F' den öncelikle mine daha sonra dentin formasyonu etkilenir ve dental fluorozis tablosu ortaya çıkar. Mine yapısında meydana gelen dental fluorozise ait değişiklikler ince-beyaz çizgilerden başlayıp minede çukurcuklar kadar değişiklik göstermektedir (Den Besten, 1994; Whitford, 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Pendrys, 2000; Aoba ve Fejerskov, 2002; Browne ve ark., 2005; Vieira ve ark., 2005). Dental fluorozis tablosu organizmanın tamamını etkileyen sistemik bir durum değil, dişlerin formasyon yılları boyunca kronik olarak alınan, önerilen optimum miktarların üzerindeki F' in diş sert dokularını etkilemesi sonucu ortaya çıkan bir durumdur (Smith, 1988; Kaminsky ve ark., 1990; Den Besten, 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Aoba ve Fejerskov, 2002).

Gerçekte gelişmekte olan diş ve kemiklerde ilk F birikimi intrauterin gelişim sırasında başlar (Fejerskov ve ark., 1996). Ancak dental fluorozis dişlerin gelişimlerini tamamlamakta olduklar. 6–8 yaşlara kadar meydana gelebilmektedir. Bu yaşlarda diş gelişiminin çoğunluğu ya da bir kısmı tamamlanmıştır (Smith, 1988; Heikens ve ark., 2005).

Dental fluorozis tablosu, bireylerde büyüme gelişim döneminde optimum dozun üzerindeki F alımının klinik olarak izlenebilen en belirgin bulgusudur. Dental fluorozisin sıklık ve şiddeti, içme suyunda yüksek konsantrasyonlarda F bulunan bölgelerde artış göstermektedir (Smith, 1988; Heikens ve ark., 2005; Michel-Crosato ve ark., 2005).

Mikroskobik olarak fluoroziste spesifik olmayan yüzey pöröziteleri mevcuttur. Bu durum, klinik olarak izlenebilen ince beyaz çizgilerden bulutumsu beyaz alanlara kadar değişiklikler göstermektedir. Dental fluorozis ciddiyetinin artması ile fluorotik alanlar bir araya gelir ve bu durum mine kaybının ortaya çıkması ile sonuçlanabilir (Den Besten, 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Pendrys, 2000; Aoba ve Fejerskov, 2002; Michel-Crosato ve ark., 2005).

4.8.5.2. İskeletsel Fluorozis

F' in uzun zaman dilimleri boyunca özellikle büyüme gelişim dönemlerinde oral yol ile kronik olarak alımı, iskeletsel dokularda F tutulumuna ve patolojik kemik formasyonlarına yol açar (Fejerskov ve ark., 1996; Bartlett ve ark., 2005). İskeletsel fluorozis tablosunda, kemik büyüme aşamasında ya da yeniden yapılanma aşamasının çeşitli periyotları sırasında genellikle oral yol ile aşırı miktarda F alımı söz konusudur. Dünyada en az 20.000.000 insanın çeşitli derecelerdeki iskeletsel fluorozisten etkilendiği düşünülmektedir (Krishnamachari, 1986; Fejerskov ve ark., 1996, Yıldız, 2003; Bartlett ve ark., 2005; Vieira ve ark., 2005).

Endemik iskeletsel fluorozis tablosu, genellikle içme suları ya da nadiren endemik bölgelerde yetişen yiyecekler ile organizmaya alınan büyük miktarlardaki F' in neden olduğu kronik metabolik bir kemik hastalığıdır (Krishnamachari, 1986; Kaminsky ve ark., 1990; Fejerskov ve ark., 1996, Yıldız, 2003).

Literatürde iskeletsel fluorozis tablosunun ilk kez, Hindistan'da dişlerdeki benekli mine görüntüsü ve iskelet sisteminde diffüz osteoskleoz görüntüsü ile tanımlandığı ifade edilmiştir (Fejerskov ve ark., 1996). Endemik iskeletsel fluorozis tablosu, osteopeni osteoporoz, osteoskleroz gibi geniş iskeletsel bulgular ile sakatlayıcı

deformiteler spinal kord kompresyonlar. ve eklemlerde hipertrofi ve artrite benzer kemik olayları ile karakterizedir (Krishnamachari, 1986; Fejerskov ve ark., 1996, Yıldız, 2003; Bartlett ve ark., 2005).

Gelişmekte olan mineralize dokulardaki F tutulumu intrauterin hayatta başlar. Kemik yapı meydana gelirken doku oldukça vaskülarizedir ve F, doku sıvısı ile oldukça kolay taşınır (Fejerskov ve ark., 1996). Fluorozisten en çok etkilenen kemikler, hızlı büyüyen, metabolik olarak daha aktif olan kemiklerdir. Aktif kemik formasyon aşaması sırasında kemik kristalleri gelişmektedir ve toplam F alım oranı oldukça yüksektir. Gelişimini tamamlamamış olan kemik dokular, gelişimlerini tamamlamış olanlara göre ortamda bulunan F' den daha çok etkilenmektedirler (Pak ve ark., 1995; Fejerskov ve ark., 1996; Turner ve ark., 1996; Arnold ve ark., 1997; Allolio ve Lehmann, 1999).

Büyüme gelişim yıllarında, F' e maruz kalmak ile oluşan büyük osteojenik etkinin sonuçları primer olarak trabeküler kemiğin yoğun bulunduğu kemik bölgelerde görülmektedir. İnsan kemiklerinde metabolik aktivite yasa bağlı olarak derece derece azalmaktadır. Benzer şekilde F bileşenlerinin de bu şekilde azalarak etkilenmesi beklenmektedir.

Büyüme gelişim dönemi sonlandıktan sonra kemik dokudaki F konsantrasyonları çok az bir artış ile devam eder ve bir plato meydana gelir (Fejerskov ve ark., 1996; Turner ve ark., 1996; Arnold ve ark., 1997).

Kemik doku vücudumuzdaki en büyük F deposu olarak işlev görmektedir. Kemik doku F konsantrasyonları uzun dönem F kullanımı için iyi bir indikatördür. Bu nedenle kemik doku F konsantrasyonları vücuttaki toplam F miktarı için önerilen bir biyomarkerdir. Vücuttaki toplam F miktarı için önerilen bir biyomarker olsa da cerrahi girişim gerektirdiği için kullanımı sınırlıdır (Alarcón-Herrera ve ark., 2001; Yıldız, 2003, Tamer ve ark., 2007).

4.8.5.2.1. İskeletsel Fluorozis Patogenezi

F kümülatif bir toksindir ve kemik dokudaki gelişme ve rezorbsiyon fazındaki değişikliklerden etkilenir (Fejerskov ve ark., 1996; Heikens ve ark., 2005). Sodyum F; kemik formasyonunu uyarır ve kemiğin formasyonuna destek olarak metabolik döngüsünü arttırır. Her yeniden yapılanma döngüsü için olayı pozitif yönde etkiler (Farley ve ark., 1983; Krishnamachari, 1986; Gruber ve Baylink, 1991; Fejerskov ve ark., 1996; Rosen ve Bilezikian, 2001; Yıldız, 2003).

F, trabeküler kemikte ve kortekste kemik dokuda düzensiz olarak depolanmaktadır. Tüm mineralize dokulardaki F tutulum miktarı, F alım düzeyi, F' e maruz kalma süresi, doku gelişim düzeyi, gelişimin derecesi, vaskülarizasyon, yüzey alanı ve dokunun mineralizasyon derecesi ile ilişkilidir (Gruber ve Baylink, 1991; Fejerskov ve ark., 1996; Rosen ve Bilezikian, 2001; Heikens ve ark., 2005). Düşük konsantrasyonlardaki F, osteoblastları dolayısı ile kemik formasyonunu stimüle ederken yüksek dozlardaki F osteoblast fonksiyonlarını baskılayarak kemik formasyonunun, non-lamellar ve mozaik yapıda olusmasına ve kemik matriksinde değişikliklere neden olabilmektedir (Farley ve ark., 1983; Gruber ve Baylink, 1991; Pak ve ark., 1995; Rosen ve Bilezikian, 2001,).

Vücuttaki F tutulumunun neredeyse tamamı, apatit kristal yapı içerisine F iyonunun entegre olabilme kapasitesine bağlıdır. F, iskelet sisteminde, benzer elektrik yükü ve büyüklüğü nedeni ile Hidroksiapatit kristal formunu seçer ve hidroksil iyonları ile fulorid iyonları yer değiştirir. Kemik apatit yapısındaki hidroksil iyonlarının yerine F' in geçmesi ile kemik yapıda kristal stabilizasyonunu sağlanırken bir yandan da ortalama kristal yapı büyüklüğü artar. Fluoroapatit kristal yapısı hidroksiapatite göre daha az çözünebilirliğe ve daha büyük kristal hacmine sahiptir (Farley ve ark., 1983; Krishnamachari, 1986; Gruber ve Baylink, 1991; Fejerskov ve ark., 1996; Rosen ve Bilezikian, 2001; Vieira ve ark., 2005).

Fluorozis tablosunda meydana gelen mineralizasyon defektleri, mineral depozisyon oranında azalma ve mineralizasyon zamanının gecikmesi ile meydana gelmektedir. F toksisitesi, kemikte zayıf mineralizasyon alanlarının ortaya çıkması sonucu meydana

gelen mekanik kemik defektleri ile karakterizedir (Farley ve ark., 1983; Kaminsky ve ark., 1990; Gruber ve Baylink, 1991; Pak ve ark., 1995; Rosen ve Bilezikian, 2001).

İskeletsel fulorozis tablosunda kemik dokusuna ait mineralizasyon defektleri bu patolojiye spesifik olmayıp aynı zamanda; renal yetmezliklerde, D vitamini ile tedavi edilmiş osteomalazide, rasitizm hastalığında ve osteoporozde de görülebilir (Farley ve ark., 1983; Gruber ve Baylink, 1991; Rosen ve Bilezikian, 2001). Günümüzde F iyonunun kemik doku üzerindeki mitojenik aktivitesini açıklayan üç mekanizma mevcuttur (Kaminsky ve ark., 1990; Pak ve ark., 1995) :

□F, osteoblastlardaki fosfotirozil asit fosfatazı engeller. Bu olay sonucunda osteoblastik proliferasyon için temel büyüme faktörü olan hücrel proteinlerden tirozil fosforilasyonun sentezini artırır.

□F iyonu, inositol polifosfataz miktarını artırarak insan osteoblastlarında sitosolik iyonik kalsiyum miktarında hızlı bir artışa sebep olurlar. Intraseküler kalsiyum miktar ve aktivitesindeki bu artış ile fosforilasyon proteinleri ya da esansiyel büyüme faktörleri yönlendirerek osteoblastik proliferasyonu stimüle eder.

□F, osteoblastlara yönelik mevcut büyüme faktörlerin yönlendirir.

4.8.5.2.2. İskeletsel Fluorozis Klinik Bulguları

Oral yol ile uzun dönem F alımı, iskeletsel mineral yoğunluğunu arttıran bir potansiyele sahiptir (Fejerskov ve ark., 1996). F, trabeküler kemiği kortikal kemiğe göre daha fazla etkilemektedir.

F absorpsiyonunun trabeküler kemik bölgelerinde, kortikal kemik bölgelerine göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. F' in kemiğin her yeniden şekillenme döngüsündeki pozitif etkisi trabeküler kemikte meydana gelir. Bu olay kortikal kemikte aynı oranda

izlenmez (Farley ve ark., 1983; Gruber ve Baylink, 1991; Rosen ve Bilezikian, 2001; Yıldız, 2003).

Tablo 4: İskeletsel Fluorozis klinik bulguları

Osteosklerotik Safha	Alınan F Miktarı (mgF/kg)	Klinik Semptomlar
Normal Kemik	500-1000	Normal
Klinik Evresinden Önce	3500-5500	Asemptomatik Hafif radrografik kemik kütle artışı
1. Klinik Safha	6000-7000	Aralıklı Ağrı, Eklemlerde sertlik, Pelvis ve vertebralarda osteoskleroz
2. Klinik Safha	7500-9000	Kronik eklem ağrısı, artrit semptomları, ligamentlerde kalsifikasyon, artmış osteoskleroz,
3. Klinik Safha	8400	Kısıtlı eklem hareketi, vertebral ligamentlerde kalsifikasyon, omurga ve ana eklemlerde deformiteler, kas kaybı, nörolojik hasarlar ve bel kemiği baskısı

İskeletsel fluoroze en sık rastlanan olay periostun anormal kemik yapı oluşturmaları, osteopitozis, tendon ve kas ataçmanlarının mineralizasyonu ile vertebralalar arası kemik köprü oluşumu şeklinde ortaya çıkan kemik kalınlıklarıdır. Kemikte malformasyon ile sonuçlanan iskeletsel fluoroze temel olarak yetişkinler arasında

görülür (Smith, 1988; Kaminsky ve ark., 1990; Fejerskov ve ark., 1996, Tamer et al. 2007). İskeletsel fluorozis tablosunda radyolojik olarak da izlenen osteosklerozis, trabeküler kemik volümünde göze çarpan artış ile ilişkili bulunmuştur. Bu değişiklikler, daha çok iskelet sisteminin merkez kısmında izlenirken periferik iskelet sisteminde ve kafatası kemiklerinde daha az düzeyde gözlemlenmektedir (Farley ve ark., 1983; Gruber ve Baylink, 1991; Pak ve ark., 1995; Rosen ve Bilezikian, 2001).

4.8.6. Yumuşak Dokular Üzerine Fluorid'in Toksik Etkileri

Akut olarak ya da kronik olarak uzun dönemlerde F bileşiklerine maruz kalınmasının organizmada pek çok sistem üzerine etkileri olduğu bildirilmektedir (Paul ve ark., 1998; Ghosh ve ark., 2002; Özdemir, 2002; Tao ve ark., 2006; Bouaziz ve ark., 2007; Kobayashi ve ark., 2009; Basha ve Madhusudhan 2010; Basha ve ark., 2011).

4.8.6.1. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistemi

Oksijen canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılır. Serbest oksijen radikalleri enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde reaktif ve zararlı maddelerdir. Oksijen molekülleri yaşam için vazgeçilmez olmakla birlikte, metabolizma sırasında serbest radikal kaynağı olarak bilinen ve son derece reaktif olan ara ürünler oluşur (Janos ve Krishnamurti, 2005; Mascarenhas ve Burt, 1998; Basha ve ark., 2011).

Reaktif oksijen türleri/metabolitleri olarak da bilinen bu moleküller lipid, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir. Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması beklenir. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirlirse, hücrede serbest radikaller artar (Chen ve ark., 2009). Serbest radikallerin hücrede artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye (oksidatif hasara) ‘ oksidatif stres ’ denir. Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüşümü sırasında meydana gelen reaktif moleküllerdir (Shanthakumar ve ark., 2004; Janos ve Krishnamurti, 2005,).

UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immünolojik reaksiyonlar, radyasyon, stres, sigara, alkol ve biyokimyasal redoks reaksiyonları gibi pek çok yolla serbest radikal oluşumu gerçekleşebilir. Oluşan serbest radikaller aralarında ateroskleroz, kalp hastalıkları, kanser, serebrovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, akut renal yetmezlik, akciğer hastalıkları, anfizem, bronşit ve alkolik karaciğer hastalıkları gibi yaşlanmaya bağlı dejeneratif bozuklukların da yer aldığı patolojik durumların oluşumuna katkıda bulunurlar moleküllerdir (Mascarenhas ve Burt, 1998; Janos ve Krishnamurti, 2005; Mittal ve Flora, 2007).

Serbest oksijen radikallerinin eksojen ve endojen olmak üzere iki önemli kaynağı vardır. Eksojen kaynaklar olarak; ultraviyole ışınları, radyasyon, uyuşturucu ve alkol gibi bağımlılık yapan maddeler, ksenobiyotikler gibi bazı yiyeceklerde bulunan çeşitli toksik maddeler, hava kirliliği, hiperoksit, pestisitler, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara dumanı, cisplatin ve bleomisin gibi antineoplastik ajanlar, katekolamin seviyesini artıran stres durumları ve elektromanyetik alanlar sayılabilir (Shanthakumar ve ark., 2004; Janos ve Krishnamurti, 2005).

Endojen kaynaklar olarak ise; mitokondrial elektron transport sistemi, peroksizomlarda bulunan enzimler, küçük moleküllerin otooksidasyonu; tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidro proteinler, antibiotikler, endoplazmik retikulum ve nükleus membran elektron transport sistemleri (sitokrom p-450), makrofaj gibi fagositik hücrelerin aktivasyonu ile meydana gelen solunumsal patlama, plazma membran enzimleri (NADPH oksidaz, lipo oksijenaz, prostaglandin sentetaz, lipid peroksidasyonu sayılabilir (Janos ve Krishnamurti, 2005).

Enzimatik antioksidan sistemler

Başlıca antioksidan enzimler; GSH-Px, katalaz ve SOD' dur (56). Katalaz enzimi, glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Özellikle hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ortamlarda etkilidir. Okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksiti direkt olarak suya dönüştürür. Bu enzimin aktivitesi, ortamdaki hidrojen peroksit konsantrasyonunun çok fazla arttığı

durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun düşük olduğu hallerde ise hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (GSH-Px gibi) devreye girerek hidrojen peroksiti ortamdan uzaklaştırırlar (Shanthakumar ve ark., 2004; Janos ve Krishnamurti, 2005).

Katalaz ve GSH-Px enzimleri, benzer etkisi olmasına rağmen hücre içindeki yerleşim yerleri ve etki yerleri bakımından farklılık göstermektedirler. Katalaz enzimi peroksizomlarda daha etkili iken, GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride daha etkilidir. Süperoksit dismutaz tek bir enzim değil, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit dönüşmesini katalizleyen enzim grubudur. Süperoksit dismutaz enzimi metal ihtiva ettiği için metaloenzim grubundandır. Hücreyi radikallerin etkisinden koruyan savunma mekanizması arasında SOD enzimi ilk rolü oynar. SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürünün birikimi CAT enzimi tarafından önlenmektedir (Janos ve Krishnamurti, 2005).

4.8.6.2. Santral Sinir Sistemi Üzerindeki Etkileri

Bileşik formundaki F'in kan beyin bariyerini geçerek yüksek dozda kronik F'e maruz kalan sıçanların beyin dokularında biriktiği bildirilmiştir (Basha ve Madhusudhan, 2010; Basha ve ark., 2011). F'in beyin dokusunda DNA hasarı, oksidatif stres, nikotinik asetilkolin reseptörlerinde azalma gibi nörotoksik etkileri vardır (Guan ve ark., 1998; Kaur ve ark., 2009; Liu ve ark., 2010; Gui ve ark., 2010; Basha ve ark., 2011). İçme sularında yüksek F düzeylerine maruz kalan sıçanların spontan motor hareketlerinde azalma olduğu ve kan kolinesteraz düzeylerinin azaldığı dikkat çekmiştir (Emre ve ark., 1994, Varol ve Varol, 2010).

Varner ve ark. (1998) yaptıkları bir çalışmada NaF ve AlF_3 bileşikleri uygulanan 27 sıçanı 52 hafta boyunca takip etmişler. Beyin dokularında yapılan histolojik ve immünohistolojik değerlendirmeler sonrasında nöronal ve serebral bütünlüğün bozulduğunu bildirmişlerdir. Kantitatif ve kalitatif görülen değişiklikler AlF_3 grubunda NaF grubundan daha fazla, NaF grubunda ise kontrol grubundan daha fazla tespit edilmiştir.

4.8.6.3. Gastrointestinal Sistem Üzerinde Etkileri

NaF olarak organizmaya alınan F, sindirim sistemi üzerindeki temel etkilerini mide asidik ortamında hidroflorik asit formuna dönüşüp gastrik mukoza üzerinde irritasyona neden olarak gösterir. Temelde, F'in etkisinden sonra bulantı, kusma ve karın ağrısı irritasyon nedeniyle ortaya çıkmaktadır (Varol ve Varol, 2010; Buzalaf, 2011).

F içme sularında serbest halde bulunur. Organizmaya alındıktan sonra F mide içeriğinin pH' sına bağlı olarak hidrojen iyonları ile bileşik oluşturularak HF şekline dönüşür. HF kolaylıkla gastrik epitele geçebilir, F'in mideden en çok absorbe olduğu formudur. Mukozadan bağırsak sıvısına girerken pH nötrale yaklaşır ve HF, F ve hidrojen iyonlarına ayrılır bu durum mukozada hasara neden olabilir. Meydana gelebilecek hasar dokudaki iyonların konsantrasyonuna bağlıdır. 1.0 ve 5.00 mmol/l (20 and 100 mg/l) arasındaki HF konsantrasyonlarının en az 15 dakika boyunca mide mukozasına uygulanmasının mide dokusunun yapısı ve fonksiyonu üzerinde görülebilecek etkilerin eşik değeri olduğu bildirilmiştir (Fejerskov ve ark., 1994; Fejerskov ve ark., 1996; Buzalaf, 2011).

4.8.6.4. Kardiyovasküler Sistem Üzerinde Etkileri

Kardiyovasküler sistem üzerinde F'in etkisi temelde, dolaşım sistemi içerisinde serum kalsiyumuna bağlanarak hipokalsemi tablosuna yol açması nedeni ile olur. F'in akut kardiyovasküler etkileri yüksek F düzeylerinin neden olduğu hipokalsemi ve hiperkalsemiden dolayı meydana gelmektedir. F, serum kalsiyumuna bağlanarak hipokalsemiye neden olur. Hipokalsemi ise tetani, baskılanmış miyokard kontraktilitesi ve olası kardiyovasküler kollaps ile ilişkilidir (Fejerskov ve ark., 1994; Varol ve Varol, 2010; Buzalaf, 2011).

Çiçek ve ark. (2005) ikinci jenerasyon erkek sıçanlarda içme suyunda 6 ay süresince 50 ve 100 mg/L F'in miyokard dokusundaki olası morfolojik ve biyokimyasal etkilerini araştırmışlar. 10, 50 ve 100 mg/l deney gruplarında histopatolojik değişikliklere rastlamışlardır. 10 ve 50 mg/l deney gruplarında SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinin artarken 100 mg/l deney grubunda bu enzimlerinin

aktivitelerinin azaldığını bildirmişleridir. Bu bulguların sonucunda içme suyunda yüksek F konsantrasyonlarının miyokard dokusunda histopatolojik ve biyokimyasal değişiklere neden olabileceğini bildirmişlerdir.

4.8.6.5. Hematolojik Sistem Üzerinde Etkileri

Sireli ve ark. (2004) kobaylarda akut F zehirlenmesinin nitrik oksit ve methemoglobin oluşumu üzerine etkisini araştırmışlar ve F'in uygulanması sonucunda kan nitrik oksit ve methemoglobin düzeyindeki yükselme ile rölatif ilişkili olarak kalsiyum, hemoglobin, hematokrit ve alyuvar degerlerinde azalma belirlemişler.

Emre ve arkadaşları (1994) akut F zehirlenmesi oluşturdukları kobaylarda lenfosit oranında, eritrosit sayısı ile hemoglobin ve hematokrit değerlerinde azalma, buna karşılık nötrofil ve eozinofil oranlarında artma gözlemlemişlerdir.

4.8.6.6. Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

İnsanlarda oral yolla maruz kalınan F'in reproduktif sistem üzerine olan muhtemel etkilerine ait bilgiler sınırlıdır (Ghosh ve ark., 2002; Ortizperez. 2003).

Tao ve ark. (2006) Yüksek dozda F'in sperm kalitesi üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve sperm dayanıklılığındaki değişim yüzdesinin ve yoğunluk yüzdesinin azaldığını, spermlerdeki anormallik yüzdesinin ise arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada dişi farelerin yanına erkek farelerin konulmasından itibaren takip edilen doğum süresinin 40 ppm grubunda en geç şekillenmesinin sebebinin de yüksek dozda F'in sperm kalitesi üzerine olan bu olumsuz etkilerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.8.6.7. Üriner Sistem Üzerine Etkileri

Böbrek, F'in vücuttan atılımı için ana organdır. İnsan (Parsons ve ark. 1975) ve deney hayvanlarında (Turner ve ark. 1996) böbrek yetmezliğinde F' in, serum düzeylerinin yükseldiği rapor edilmiştir. F iyonu böbreklerde filtre edilirken, böbrekler büyük miktarda F' e maruz kalırlar. Normal insanlarda böbrek kalsifiye

dokularla birlikte F hemostazisi görevini görür. Endemik fluorozis bölgelerinde yapılan çalışmalarda, böbrek fonksiyonlarıyla çevresel F toksisitesi arasında ilişki kurulmuştur (Reggabi, 1984; Kumari ve Rao, 1991; Liu, 1993; Singh ve ark., 2001).

Deneyssel akut (Soni ve ark., 1984; Usuda ve ark., 1998; Usuda ve ark., 1999) ve kronik (, Kanwar ve Singh, 1981; Kessabi ve ark., 1986; Guan ve ark., 2000; Singh ve ark., 2001) fluorozis çalışmalarında böbrek fonksiyon bozuklukları rapor edilmiştir. Reggabi ve ark. (1984), glomerüler ve tubüler fonksiyon bozukluklarını rapor etmiştir. Welsh ve ark (1990), iki osteofluorozis olgusunda ciddi renal yetmezlik bulguları saptamışlardır.

Akdoğan ve ark. (2002) F toksikasyonu oluşturulmuş tavsanlarda böbrek dokusunda yapısal ve biyokimyasal değişiklikleri araştırmış ve içme sularındaki F arttıkça plazma BUN, doku MDA aktivitesinde önemli bir artış olduğunu, böbrek dokusundaki antioksidan enzimlerden SOD, GDH-Px, CAT aktivite düzeylerinin doza bağımlı olarak değişkenlik gösterdiğini ve bu enzim aktivitelerinde kontrole göre; 10 ppm' lik grupta anlamlı bir yükselme, 40 ppm F grubunda ise anlamlı bir düşüş bildirilmiştir.

Uzun yıllardır F toksisitesi ile böbrek taşı oluşumu arasında bir ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Önceleri, endemik fluorozis bölgelerinde yaşayanlardan elde edilen böbrek taşlarının F içeriğinin, non-endemik bölgede yaşayanlarınkine oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir (Guan ve ark., 1987). Ancak, endemik fluorozis bölgelerinde böbrek taşı oluşum sıklığının daha fazla olduğunu bildiren kesin kanıtlar yoktur. Fakat, yakın zamanda gerçekleştirilen epidemiyolojik bir çalışmada, endemik fluorozis bölgesinde böbrek taşı oluşum sıklığının non-endemik bölgeye oranla 4-6 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Singh ve ark., 2001).

5. GEREÇ VE YÖNTEM:

Araştırmamız, Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Araştırma Etik Kurulu Başkanlığı'ndan 66.2012.mar.12072012 sayısı ile onay almış olup, 23.09.2010 tarih ve ‘‘66.2010.mar’’ sayısı Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Araştırma Etik Kurulu Başkanlığı'ndan onay alan ve Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AnaBilim Dalı'nda yapılan ‘‘Doğum öncesi ve sonrası kronik olarak değişik konsantrasyonlarda sistemik F verilen yavru ratların diş, kemik ve beyin dokularının makroskopik ve mikroskopik incelenmesi’’ isimli doktora tezi çalışması sırasında kullanılan sıçanlardan alınan mandibula ve böbrek dokuları kullanılarak yapıldı.

Çalışmamızda ;

- 1- Mandibula dokularının hazırlanması Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda;
- 2- Mikro bilgisayarlı tomografi taramaları ve analizleri ise Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda ;
- 3- Rekonstrüksiyon çalışmaları ve hidroksiapatit fantom kalibrasyon analizleri ve fotoğraflanması ise Niğde Üniversitesi Jeoloji Mühendisliği Bölümü Mineraloji-Petrografi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.
- 4- Böbrek dokularının hazırlanması ve boyaması için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı Laboratuvarı;
- 5- Morfolojik ve İmmünohistokimyasal değerlendirme için hazırlanması ve ışık mikroskobunda incelenmesi ve fotoğraflanması Marmara Üniversitesi Nörolojik Bilimler Enstitüsü Patoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

5.1. Sıçan Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda kullanılan deney grupları ‘‘Doğum öncesi ve sonrası kronik olarak değişik konsantrasyonlarda sistemik F verilen yavru ratların diş, kemik ve beyin dokularının makroskopik ve mikroskopik incelenmesi’’ isimli doktora tezi çalışmasından alındı. Bu çalışmada M. Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üretilen toplam 84 adet Wistar albino sıçan kullanıldı.

Çalışma grupları; Kontrol (0 ppm F), 30 ppm F, 100 ppm F olarak belirlendi. Grupların prenatal dönemden itibaren oluşturulabilmesi için rastgele seçilen 18 dişi sıçana F solüsyonları uygulanmaya başlandı. Doğumu takiben yavru sıçanların bakım ve beslenmeleri laktasyon döneminin bittiği yaklaşık 21. güne kadar anne sıçanlar ile aynı kafeste gerçekleştirildi. Laktasyon döneminin sona erdiği 21. gün her gruptan rastgele seçilen toplam 63 erkek sıçan, her grupta 21 sıçan olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Daha sonra takip sürelerine göre yedişer adet (n=7) sıçandan oluşan üç alt gruba ayrılarak doğumdan itibaren 1 ay, 3 ay ve 5 ay süresince takip edildi.

Laktasyon dönemi süresince sıçanlar anne sütünden ve içme suyu tüketmeye başladıkları zamandan itibaren de hazırlanan deney solüsyonlarından F aldılar. Sıçanların ağırlık ve tükettikleri su miktarları düzenli olarak ölçüldü. Tablo 5 ve 6' da gruplarda bulunan sıçanların ağırlıkları ve toplam tükettikleri su miktarları görülmektedir. Üç grubun içtikleri su miktarları arasında anlamlı farklılık yoktur, 100 ppm F grubundaki sıçanların ağırlıkları diğer iki gruba göre daha düşük bulunmuştur (Güner ve ark. 2012).

Tablo 5: Gruplara göre sıçanların günlük tükettikleri su miktarlarının (ml) değerlendirilmesi

Günlük Tüketilen Su Miktarı (ml)		
	Ort±SS	p
Kontrol	42.00±7.97	0.073
30 ppm	36.74±6.50	
100 ppm	37.74±6.85	

Tablo 6: Takip sürelerinde grupların ağırlık ortalamalarının değerlendirilmesi

Ağırlık (gr)	Kontrol	30 ppm	100 ppm	p
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
1.Ay	51.14±2.34 (50)	51.71±1.97 (52)	48.14±4.52 (50)	0.250
3.Ay	270.14±14.62 (270)	265.57±24.16 (270)	237.85±6.36 (235)	0.008**
5.Ay	364.57±12.36 (370)	360.00±10.40 (360)	348.85±20.74 (355)	0.378

Yine aynı çalışmada denek hayvanlarında dental fluorozis bulgulara ilişkin örnekler resim 4, 5 ve 6' da görülmektedir. Bu bulgular gruplarda içme suyundaki F miktarına bağlı olarak fluorosis olduğunu açık olarak göstermektedir.



Resim 4: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte normal mine görüntüsü



Resim 5: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı mine görüntüsü



Resim 6: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı görüntünün yanında adacıkların bulunduğu (islet) mine görüntüsü. Adacıklar okla işaretlenmiştir.

5.2. Deney Hayvanlarından Doku Örneklerinin Alınması

5.2.1. Mandibula örneklerinin alınması

Mikro tomografi çalışmasına başlamadan önce tüm örnekler Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda bulunan RVG cihazı (Vista_scan, Dürr Dental, Stuttgart, Germany) ile radyografik görüntüleri alındı.



Resim 7: Sıçan mandibula radyografik görüntüsü

Sıçanların kafatası sagittal yönde iki kısma ayrıldı. Üç boyutlu Mikro Tomografi taramaları için hemimandibula örnekleri, bir aylık sıçanlar ebat olarak küçük olmalarından dolayı tek parça; üç ve beş aylık sıçanlar ise daha büyük olmalarından dolayı koronal yönde molar dişlerin distalinden, korpus ve ramus kısımlarını ayrı ayrı incelemek için iki kısma ayrıldı. Mandibulanın korpus ve ramus kısımları

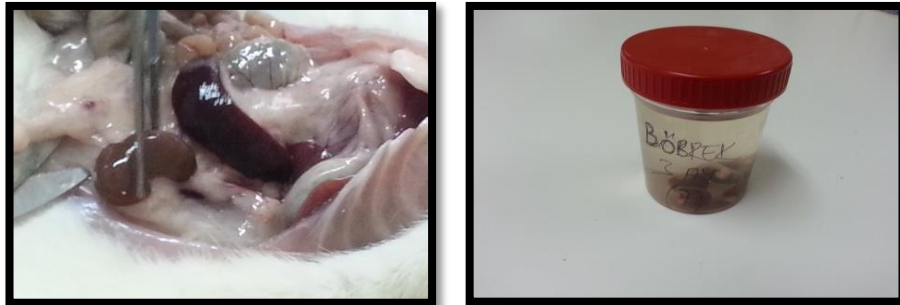
üzerindeki yumuşak dokular temizlendikten sonra önceden numaralandırılmış plastik kaplardaki % 10 nötral tamponlu formol çözeltisine alındı.



Resim 8: Mandibula dokularının hazırlanması ve muhafaza edilmesi.

5.2.2. Böbrek Örneklerinin Alınması

Sakrifiye edilen sıçanların böbrek dokuları çıkarıldı, üzerlerindeki doku artıkları temizlendi ve önceden numaralandırılmış plastik kaplardaki % 10 nötral tamponlu formol çözeltisine alındı.



Resim 9: Böbrek dokularının hazırlanması ve muhafaza edilmesi.

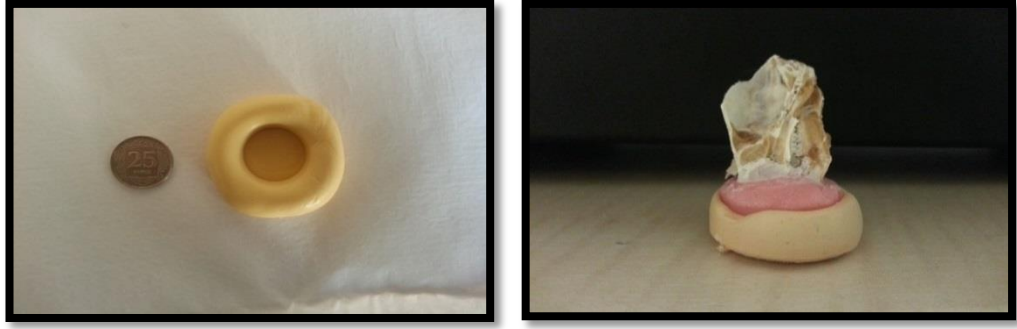
5.3. Mandibula Dokularının Mikro Bilgisayarlı Tomografi Yöntemi İle İncelemesi

5.3.1. Mandibula Dokularının Mikro Tomografi İçin Hazırlanması

Dijital kesitsel görüntüler Skyscan 1174 (Skyscan, Kontich, Belçika) mikro bilgisayarlı tomografi cihazı kullanılarak Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda elde edilmiştir.

Mikro bilgisayarlı tomografi incelemesi için kurban edilmiş hayvanlar %10' luk formol solüsyonunda muhafaza edildi. Her grup için ayrı ayrı kutular kullanılırken her bir grup özel belirteçler ile isimlendirildi. Üç boyutlu mikro bilgisayarlı tomografi taramalarının kaliteli ve daha net sonuçlar verebilmesi için örneklerin belirli büyüklüklerde olması gerektiğinden; bir aylık sıçanların ebatları uygun olmasından dolayı tek parça olarak bırakılırken; üç ve beş aylık sıçanlar ise uygun bir mikro tomografik tarama için fazla büyük bulundu. Bu nedenle bu gruplardaki örneklerin hemimandibulalar dokuları, molar dişlerin distalinden koronal yönde iki kısma ayrılmak suretiyle korpus ve ramus bölgeleri ayrı ayrı mikro bilgisayarlı tomografik incelemeleri yapıldı.

Kafatası sagittal yönde, hemimandibula dokuları ise koronal yönde iki kısma ayrılırken bistürü ve doku makası ile atravmatik kesim yapılmaya çalışıldı, doku bütünlüklerinin korunması sağlandı. Hemimandibula dokularının iki kısma ayrılmasıyla oluşan ramus ve korpus kısımları üç boyutlu mikro bilgisayarlı tomografi taramaları için daha önceden hazırlanan ve çapları 1 cm olan silikon kalıpların yardımıyla metil metakrilat (akrilik) silindirik blokların içine, taranacak bölgeler akrilik kısımların dışında kalacak şekilde gömülüp sabitleştirildi. Her bir gruba ve örneğe verilen isimler akrilik blokların üzerine yazıldı.



Resim 10: Silikon bloklar hazırlanması ve Mandibula dokularının akrilik bloklara alınması

5.3.2. Mandibula Dokularının Mikro Bilgisayarlı Tomografi Taramaları

Örnekler üç boyutlu mikro bilgisayarlı tomografi taramaları için tomografi cihazına uygulanırken daha önceden hazırlanan silikon yardımıyla holder bölümüne tatbik edilip sabitlendi. Sabitleme yapılırken taranması istenen bölge tam ortada olacak şekilde pozisyon verilmesi sağlandı. Silikon bölümün ve cihazın holder parçasının tarama sırasında hareket etmesi halinde meydana gelecek hareket artefact ve görüntü bozukluklarını engellemek için bu parçaların yeterince sıkı sabitlenmesine dikkat edildi. Tomografik tarama sonucu x ışınlarının yansıması ile artefact oluşmaması için dokuların ıslaklığı ve nemliliği tarama öncesinde kağıt havlu yardımıyla giderilip kurutuldu.



Resim 11: Mikro tomografi taramaları için kullanılan holder ve mikro BT cihazı

Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarının üç boyutlu mikro tomografi taramalarının hepsinde beam hardening artefakt oluşumunu engellemek amacıyla

düşük doz x ışınlarının emilimini sağlamak suretiyle 0,5 mm kalınlığında üretici firmanın önerdiği alüminyum plak kullanıldı.



Resim 12: Mikro tomografi taramaları için kullanılan 0,5 mm kalınlığında alüminyum plak

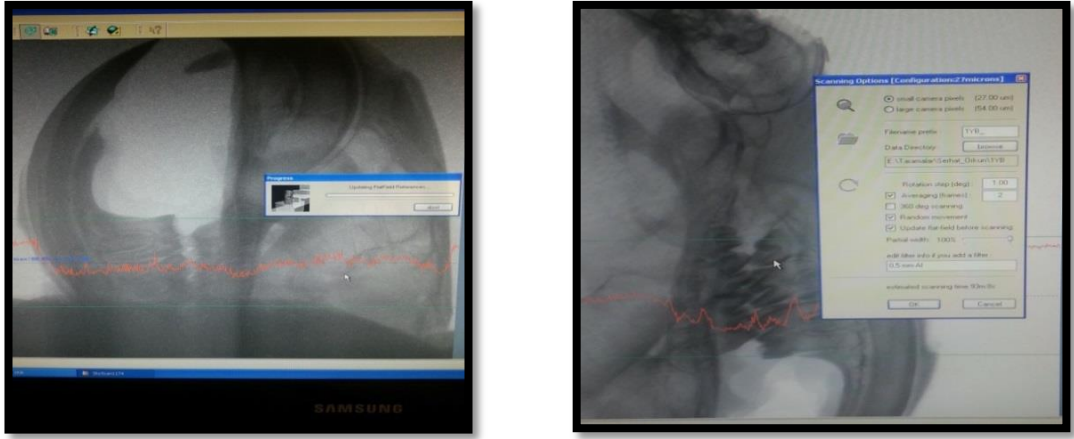
Örnekler holder ile tomografi cihazına tatbik edildikten sonra tarama başlatılmadan ‘snap image’ yardımıyla örneklemeler yapıldı. Modelin hizalanması ve doku ile havanın aldığı değerler incelendi. Bütün dokuların üç boyutlu mikro bilgisayarlı tomografik taramaları öncesinde otomatik flat field uygulanarak, bir önceki taramadan kalan imaj kalıntılarının artefactlara neden olması önlendi.

Bütün kontrol ve deney gruplarında bulunan her doku ve kalibrasyon için kullanılan fantom modeller için standardizasyonu sağlamak amacıyla aynı parametreler kullanılarak mikro tomografik taramalar tamamlandı.

Mikro bilgisayarlı tomografi taramaları aşağıdaki radyolojik koşullar altında yapılmıştır:

- İvmelendirici 50 kv voltaj-800 μ A ışın akımı
- Skyscan 0,5 mm Aliminyum filtre kullanıldı
- Randomize hareket aktif
- 1 derecelik açılarla rotasyon
- 180 derece döndürme
- Her açıdan 2 adet çekim

- Poz süresi : 9000ms
- Görüntü çözünürlüğü : 27 μ m
- Ring artifaction düzeltimi = 4
- Görüntü yumuşatma (smoothing) = 3
- Beam hardening düzeltme = %14



Resim 13: Mikro bilgisayarlı tomografi taraması ve parametreleri

İncelenen bölgeler:

Mandibula ramus bölgesinde kondil ve angular çıkıntı ayrı ayrı değerlendirildi.

Mandibulanın Kondil bölgesinde kemik mineral yoğunluğunun ölçümü için Choi ve ark. (2012) uyguladığı yöntem kullanılarak koronal yönde 4 adet kesit resmi alındı, alınan kesitlerde sadece trabeküler kemik hattı tespit edildi, kortikal kemik ölçüm dışı bırakıldı, yüzey alanı olarak ölçüm yapıldı ve ct analyzer programında değerlendirildi; (Choi ve ark. 2012)

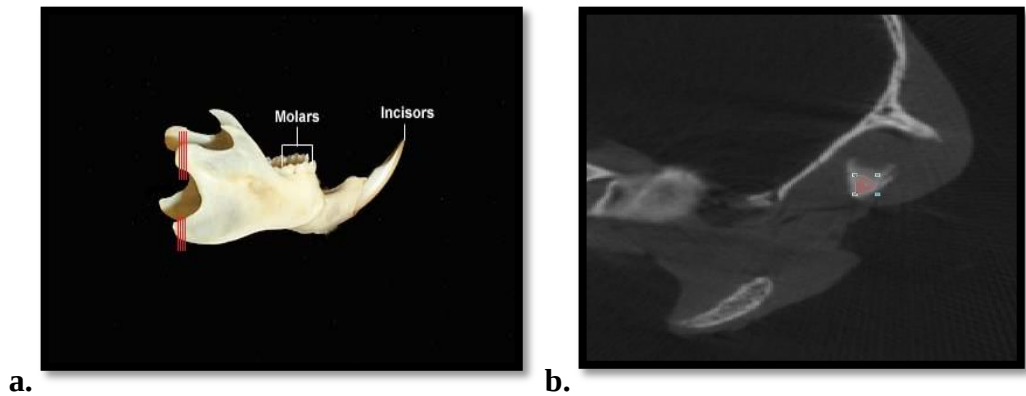
Mandibulanın Angular çıkıntı bölgesinde kemik mineral yoğunluğunun ölçümü için Choi ve ark. (2012) uyguladığı yöntem kullanılarak koronal yönde 4 adet kesit resmi alındı, alınan kesitlerde sadece trabeküler kemik hattı tespit edildi, kortikal kemik

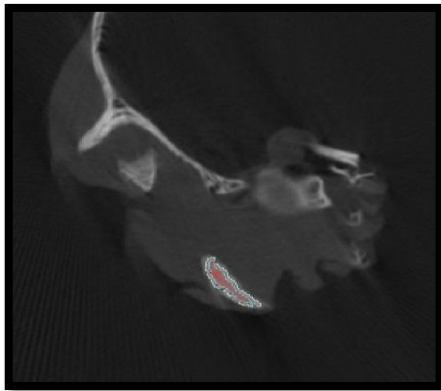
ölçüm dışı bırakıldı, yüzey alanı olarak ölçüm yapıldı ve ct analyzer programında değerlendirildi;

Mandibula korpus bölgesinde trabeküler kemik mineral yoğunluğu farklı bölgelerden ayrı ayrı değerlendirildi.

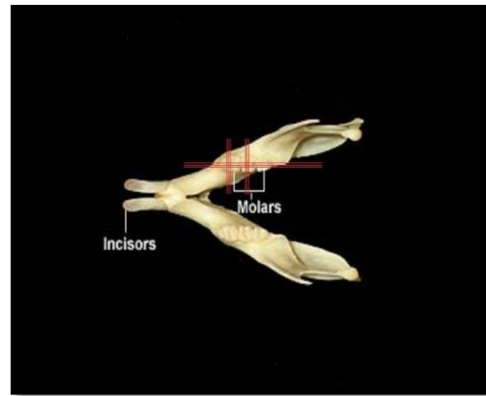
Mandibula korpusunun kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesi için ayrı ayrı birinci ve ikinci molar dişlerin furkasyon bölgelerinden Lee ve ark. (2010) ile Mavropoulos ve ark. (2004) uyguladığı yöntem kullanılarak koronal yönde 3 adet kesit resmi alındı, kortikal kemik ölçüm dışı bırakıldı, alınan kesitlerde sadece trabeküler kemik hattı tespit edildi, kalan bölge önce korpus içindeki kesici diş dahil edilerek, daha sonra kesici diş dahil edilmeden yüzey alanı olarak ölçüm yapıldı ve her iki alan ayrı ayrı ct analyzer programında değerlendirildi (Lee ve ark. 2010, Mavropoulos ve ark. 2004).

Mandibula korpus bölgesinde trabeküler kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesi için Mirajes ve ark (2011) uyguladığı yöntem kullanılarak mandibular birinci ve ikinci molar dişlerin kökleri arasında kalan septum bölgesi trabeküler kemiğin en üst; orta ve en alt noktası olmak üzere 3 ayrı noktadan sagittal yönde 3 kesit resmi alınarak ct analyzer programında değerlendirildi (Mirajes ve ark 2011).

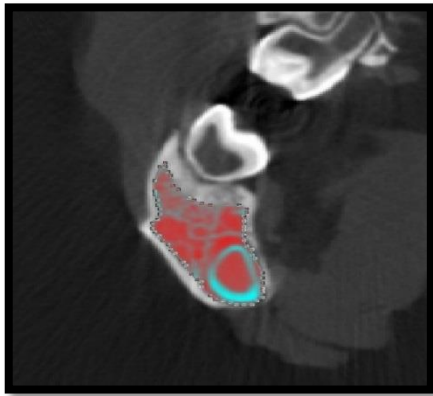




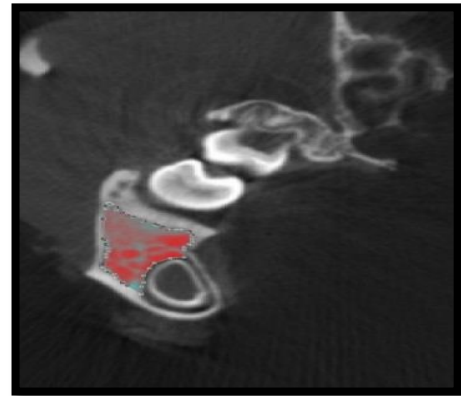
c.



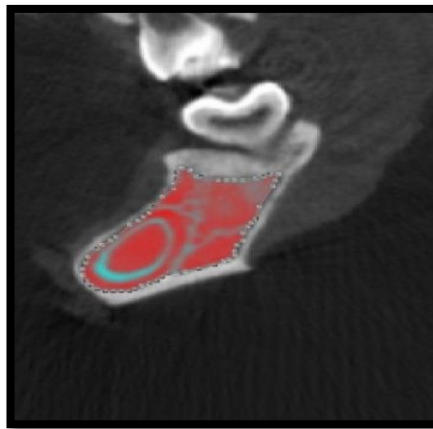
d.



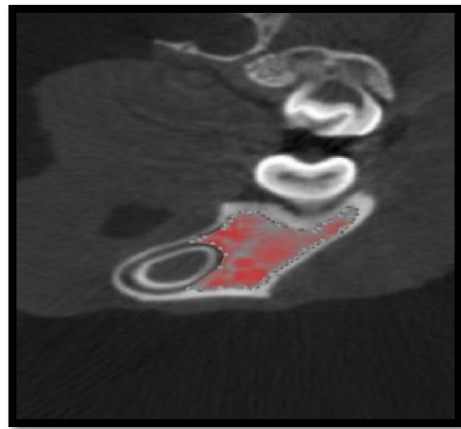
e.



f.



g.



h.



1.

Resim 14: Mandibula kemik mineral yoğunluğu ölçümleri **a)** ramus bölgesinden kesit alınması **b)** kondil ve **c)** angular çıkıntı bölgesinden kemik mineral yoğunluğu ölçümü **d)** korpus bölgesinden kesit alınması **e)** birinci molar furkasyon bölgesi kesici diş dahil edilmiş ve **f)** birinci molar furkasyon bölgesi kesici diş dahil edilmemiş **g)** ikinci molar furkasyon bölgesi kesici diş dahil edilmiş **h)** ikinci molar furkasyon bölgesi kesici diş dahil edilmemiş **ı)** birinci ve ikinci molar dişlerin kökleri arası septum bölgesinden kemik mineral yoğunluğu ölçümü

5.3.3. Mikro Bilgisayarlı Tomografi Görüntülerin Değerlendirilmesi ve Mandibula Dokularının Kemik Mineral Yoğunluklarının Tespiti

Tüm tarama zamanı incelenen dokuların büyüklüğüne bağlı olmakla beraber her doku için yaklaşık 1-1,5 saat sürdü. Taramalardan sonra elde edilen iki boyutlu görüntülerde herhangi bir modifikasyon yapılmadan üretici firmanın sağladığı NRecon (Skyscan, Belçika) yazılım programı kullanılarak rekonstrüksiyonları yapıldı ve üç boyutlu datalar elde edildi. Elde edilen ham tarama görüntüleri doku numaraları kodlanarak 16 bit TIFF formatında, rekonstrüksiyon sonucu elde edilen görüntüler ise doku numaraları kodlanarak BMP formatında kaydedildi.

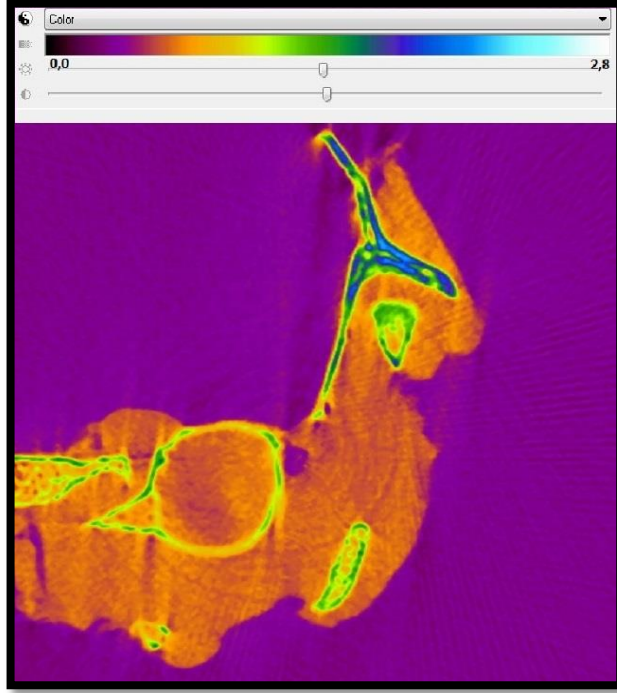
Bütün dokuların üç boyutlu mikro tomografi taramaları ve rekonstrüksiyon çalışmaları tamamlandıktan sonra kemik mineral yoğunluğu tespiti için hidroksi apatit fantom modeller kullanıldı. Araştırmamızda örneklerin kalibrasyonunu incelemek için yoğunlukları 0,75; 0,25; 0,0238 ve 0,0033 gr/cm³ olan dört adet hidroksi apatit fantom model kullanılmış olup standardizasyonu sağlamak amacıyla bu modellerin de mikro tomografik taramaları için dokuların tomografik taramalarında kullanılan aynı parametreler seçildi. (Monjo ve ark. 2008)

Örneklerden ve hidroksi apatit fantom modellerden elde edilen kesitlerdeki kemik mineral yoğunluklarının kıyaslanması ve değerlendirilmesi üretici firmanın sağladığı CT-analyser (Skyscan, Belçika) yazılım programıyla yapıldı.

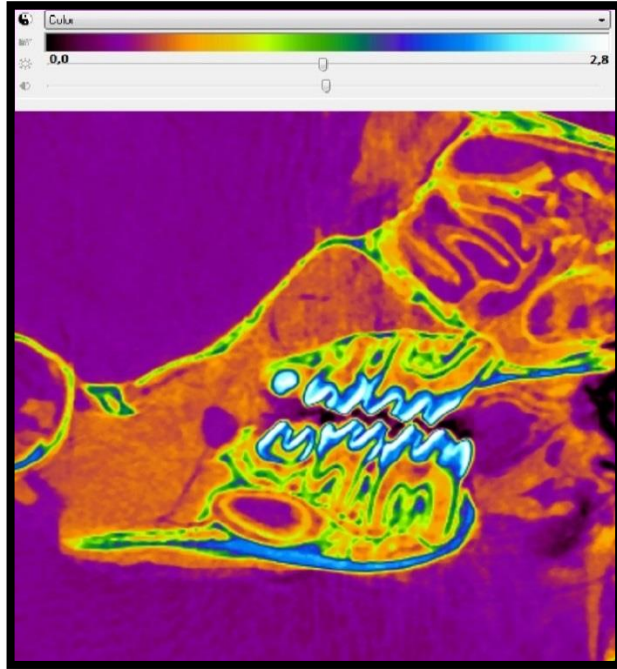


Resim 15: Kemik mineral yoğunluğu tespiti için kullanılan hidroksi apatit fantom modeller

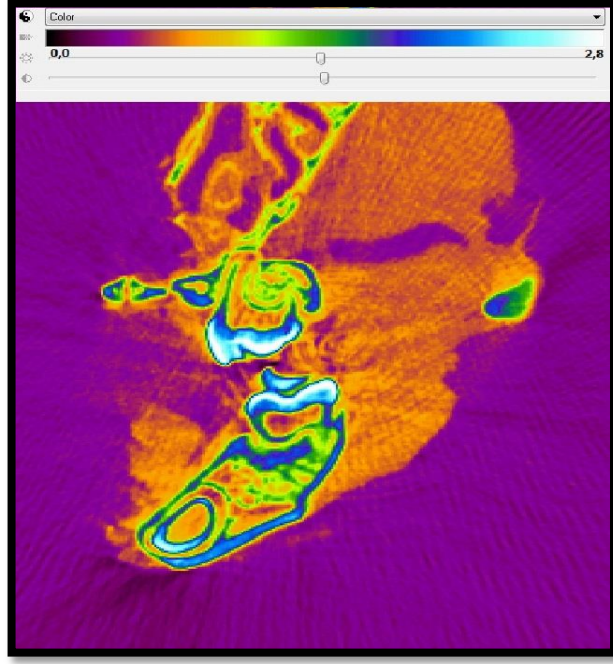
5.3.4. Mandibula Dokularının Kemik Mineral Yoğunluklarına Ait Kesitler



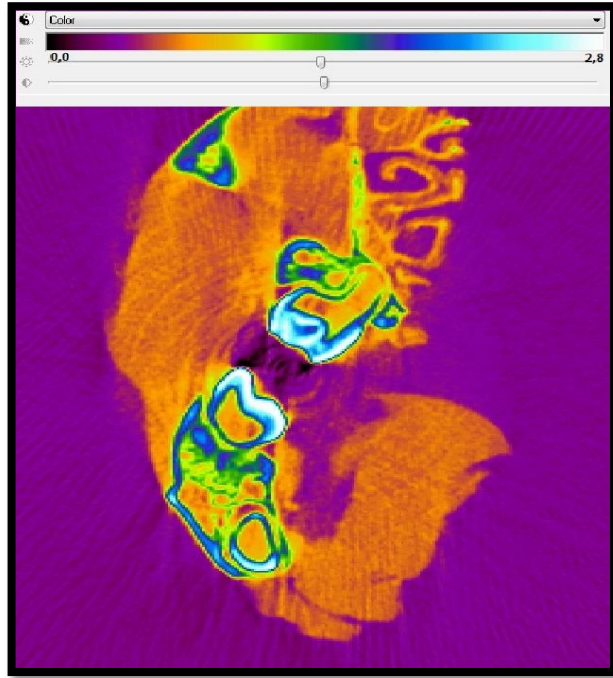
Resim 16: Mandibular kondil ve angular çıkıntı bölgesi kemik mineral yoğunluğu



Resim 17: Mandibular korpus kemik mineral yoğunluğu



Resim 18: Birinci molar furkasyon bölgesi kemik mineral yoğunluğu



Resim 19: İkinci molar furkasyon bölgesi kemik mineral yoğunluğu

5.4. Böbrek Dokularının Histolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeleri

5.4.1. Böbrek Dokularının Histolojik İncelemeleri

Sakrifiye edilen kontrol ve deney grubu hayvanlardan alınan böbrek örnekleri %10'luk nötral tamponlu formaldehit içinde ve oda ısısında tespit edildi. Fikse edilen böbrek dokularından renal parankim ve meduller bölgeyi içeren kat dilimler alınarak otomatik doku takip cihazında doku tesbiti yapıldı. Dokulardan parafin bloklar hazırlandı ve 3 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen ve eozin boyama ve İmmünohistokimyasal değerlendirme için pozitif şarjlı lamalar üzerine kesitler alındı.

Hematoksilen ve eozin boyama boyama işlemi için lamlara alınan 3µm kalınlığındaki kesitler 65°C etüvde 1 saat bekletildi. Ardından ksilen içine alınarak 3x5 dakika bekletildi. Daha sonra 3 ayrı % 96'lik alkol serisi içine alınan kesitler birer dakika bekletildi. Musluk suyu ile iyice yıkanan kesitler 2 dakika H&E boyası uygulandıktan sonra 1 dakika akar çeşme suyunda yıkanarak morartıldı. Kesitler alkol içine alındı. Daha sonra kesitler 2 dakika Alkolik Eosin ile boyandı ve 3 defa % 96'lik alkol serisi ve 2 defa aseton serisinden geçirildi. Kuruması için etüve alınan kesitler daha sonra ksilen içine alınarak entellan ve lamel ile kapatıldı.



Resim 20: Böbrek dokularına ait Hematoksilen ve eozin boyama örnekleri

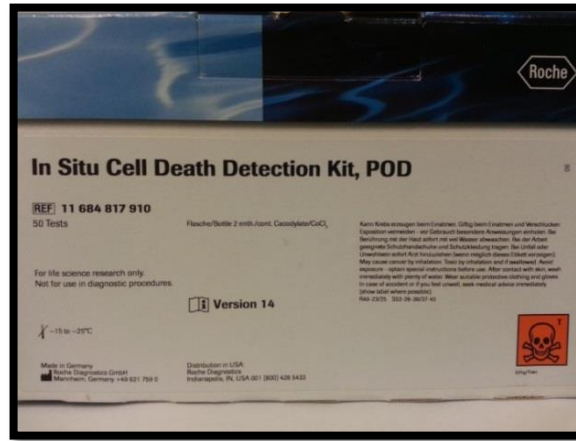
5.4.2. Böbrek Dokularının İmmünohistokimyasal Yöntem ile İncelenmesi

Böbrek dokularında immunohistokimyasal inceleme için pozitif şarjlı lamlara alınan kesitlere TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling) yöntemi uygulanarak apoptozis değerlendirildi. Araştırmamızda Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, Germany firmasının 11684817910 katalog numaralı DNA fragmentasyonu tespit kitleri kullanıldı.

TUNEL yöntemi ile inceleme:

Apoptotik sinyaller DNA üzerinde kırıklar oluşturmaktadır. Açığa çıkan DNA parçacıklarının serbest 3'-OH uçlarına terminal deoksinnükleotidil transferaz (TdT) aracılığı ile biotin ile işaretlenmiş ve işaretlenmemiş deoksinnükleotidler eklenir.

Daha sonra biotin ile işaretlenmiş nükleotidler, streptavidin-horseradish peroksidaz konjugatı ile tespit edilir. Diaminobenzidine, işaretlenmiş örnek ile tepkimeye girerek DNA kırığı bölgesinde çözünemeyen bir substrat oluşturur. Metil yeşili ile ters boyama yapılarak işlem sonlandırılır.



Resim 21: Apoptozis boyama kiti

TUNEL boyama protokolü:

Lamlar, gece boyu (12saat) 37°C'lik etüvde bekletildikten sonra deparafinizasyona alındı. Bu amaç ile;

Deparafinizasyon ve rehidratasyon:

1. Oda ısısında 15 dakika ksilene daldırıldı. Taze ksilen kullanarak 2. kez 15 dakika inkübe edildi.
2. Oda ısısında 5 dakika %100 etanole daldırıldı. Taze etanol kullanarak 2. kez 5 dakika inkübe edildi.
3. Oda ısısında 5 dakika %90 etanole daldırıldı.
4. Oda ısısında 5 dakika %80 etanole daldırıldı.
5. Oda ısısında 5 dakika %70 etanole daldırıldı.
6. Kısaca 1X TBS(Tris buffer saline) ile durulandı ve örneğin etrafı dikkatle kurulandı.



Resim 22: Dokuların etanol ile yıkanması

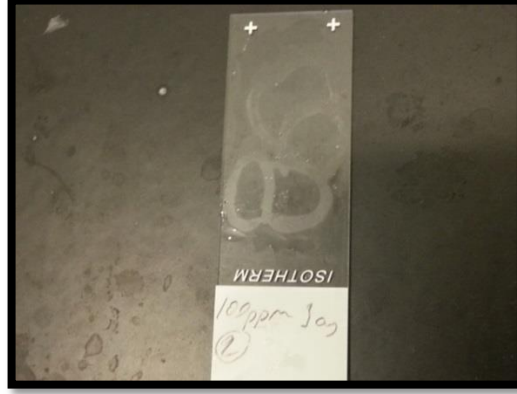
Örneğin geçirgenliğini arttırmak amacıyla;

1. 2 mg/ml proteinaz K 10 mM Tris PH8 içinde 1:100 dilüe edildi.(Lam başına 2mg/ml Protenaz K'nin 1 mikrol 'si 10mM Tris'in 99mikrol'sine eklenerek karıştırıldı.)
2. Örneğin tamamı 20 mikrog/ml proteinaz K'nin 100mikrol ile kaplandı. Oda ısısında 20 dakika inkübe edildi. Inkübasyon süresine ve kuramamasına dikkat edildi.
3. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.

Endojen peroksidaz inaktivasyonu aşamasına geçildi;

1. %30 luk H_2O_2 metanol içinde 1:10 dilüe edildi.(Lam başına 10 mikrol %30 H_2O_2 ile 90 mikrol metanol karıştırıldı.)
2. 100mikrol %3 H_2O_2 ile doku kaplandı. 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi

3. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.
4. Dikkatlice fazla olan sıvı alındı ve dokunun etrafı kurulandı.



Resim 23: Dokuların proteinaz K solusyonu ile kaplanması

Dengeleme ve işaretleme reaksiyonu için;

1. 5X TdT dengeleyici tampon 1:5 oranında distile su ile dilue edildi. (Lam başına 20mikroL 5X tampon ile 80 mikroL dH2O karıştırıldı.) 100mikroL 1X TdT dengeleyici tampon ile örnek kaplandı. 10-30 dakika oda ısısında inkübe edildi.

Bu esnada işaretleme reaksiyonu karışımı hazırlandı (Lam başına 57.0mikroL TdT işaretleme reaksiyon karışımı ve 3.0 mikroL TdT enzimi buzdaki mikrofüj tübüne transfer edildi ve hafifçe karıştırıldı.) Lamların kurumamasına dikkat edildi.

2. Dikkatle örnekteki 1X TdT dengeleyici tampon kurutma kağıdı ile alındı. Örneğe dokunulmamaya dikkat edildi.
3. Hemen 60mikroL TdT işaretleyici reaksiyon karışımı (daha önce hazırlanmış olan) örneğe uygulandı.
4. Lamdan daha geniş hazırlanmış olan parafin film ile doku kaplandı.
5. Lamlar nemli ortama alınarak 37C de 1,5 saat inkübe edildi.

İşaretleme reaksiyonunun sonlandırılması için;

1. Parafin film kaldırıldı, slide 1X TBS ile durulandı.

2. Spesimen 100mikroL stop solüsyonu ile kaplandı. Oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.
3. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.
4. Dikkatlice fazla olan sıvı alındı ve spesimenin etrafı kurulandı.



Resim 24: Dokulara TdT işaretleyici enziminin uygulanması

Tespit aşamasına geçildi;

1. Örnek 100 mikroL bloklayıcı tampon ile kaplandı. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
 2. 50X konjugat bloklayıcı tampon içinde 1:50 oranında dilue edildi (Lam başına 2 mikroL 50X konjugat ile 98 mikroL bloklayıcı tampon karıştırıldı).
 3. Bloklayıcı tampon kurutma kağıdı ile dokulara dokunmadan dikkatle alındı. Hemen 100mikroL dilue 1X konjugat dokuaya uygulandı.
 4. Lamalar nemli ortama alınarak oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.
 5. Inkubasyonun bitmesine 5 dakika kala DAB solüsyonu hazırlandı. (Her 10 lam için 1 tablet DAB ve 1 tablet H₂O₂/Üre, 1ml TAP/FAUCET H₂O içinde çözdürüldü.)
 6. 1X TBS (Tris buffer saline) ile durulandı.
 7. Fazla olan sıvı alındı ve dokunun etrafı kurulandı.
 8. 100 mikroL DAB solüsyonu ile örnek kaplandı. Oda sıcaklığında 10- 15 dakika inkübe edildi.
 9. Lamlar distile su ile durulandı.
- Zıt boyama için;

1. Örnek 100 mikrol metil green counterstain solüsyonu ile kaplandı.
 2. Oda sıcaklığında 3 dakika inkube edildi.
 3. Lamlar kenarından emici havlu ile solüsyon emdirildi. Lam tutucu ile coplin kabına yerleştirildi.
 4. Lamlar 2-4 defa %100 etanole daldırıldı.
 5. Emici havlu ile kurulandı.
 6. Tekrar taze %100 etanole 2-4 kez daldırıldı.
 7. Emici havlu ile kurulandı.
 8. Lamlar 2-4 defa %100 ksilene daldırıldı.
 9. Lamların arkasında ve örneğin çevresindeki ksilen temizlendi.
- Örneklerin üstü entalan ve lamel ile kapatıldı.



Resim 25: TUNEL yöntemi ile boyanan böbrek dokuları

5.4.3. Böbrek Dokularında Apoptotik Hücre Sayımı ve Değerlendirilmesi

TUNEL boyalı kesitler ışık mikroskopunda (Olympus BX50) incelendi ve x400 büyütmede sayılarak skorlandı. Mikroskopa ekli kamera aracılığı ile x200 ve x400 büyütmede fotograflandı (Olympus SC 100). Böbrek glomerül ve tubulus alanlarındaki TUNEL ile boyanan hücre nükleusları x400 büyütme altında, rastgele alanlar sayılarak ayrı ayrı değerlendirildi ve ortalamaları alındı.

Her bir böbrek dokusunda optimum boyanma gösteren rastgele 3 adet glomerülde kahverengi apoptotik hücrelerin ilgili glomerüldeki oranı incelendi. Glomerüldeki

tüm hücrelerin sayısı ve kahverengi boyanan apoptotik hücreler sayılarak, glomerül başına apoptotik yüzde değerleri elde edildi.

Böbrek dokularındaki tubulus bölgelerinin apoptozis değerlendirmesinde her böbrekte optimum boyanma gösteren rastgele 1000 tübül hücresi incelendi ve kahverengi boyanan apoptotik hücrelerin tubulus hücre sayısına oranı yüzde olarak değerlendirildi.



Resim 26: Işık mikroskobu

5.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda, mandibula kondil, angular çıkıntı ve korpus bölgeleri için ayrı ayrı elde edilen üç boyutlu mikro tomografi verileri ve kemik mineral dansite bulguları değerlendirilirken ve böbrek dokularının tubulus ve glomerülüs bölgelerinden elde edilen apoptozis değerleri ayrı ayrı incelenirken, istatistiksel analizler için “Graphpad prism 5.1” istatistik analiz programı kullanıldı. Mandibulada kemik mineral yoğunlukları ve böbrek dokularında apoptozis değerleri için tüm gruplar birbirleriyle “oneway ANOVA post hoc tukey” istatistiksel testi kullanılarak karşılaştırıldı. Gruplar arasında $p < 0,05$ istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Mandibula Dokularına Ait Bulgular

6.1.1. Mandibula Dokularının Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

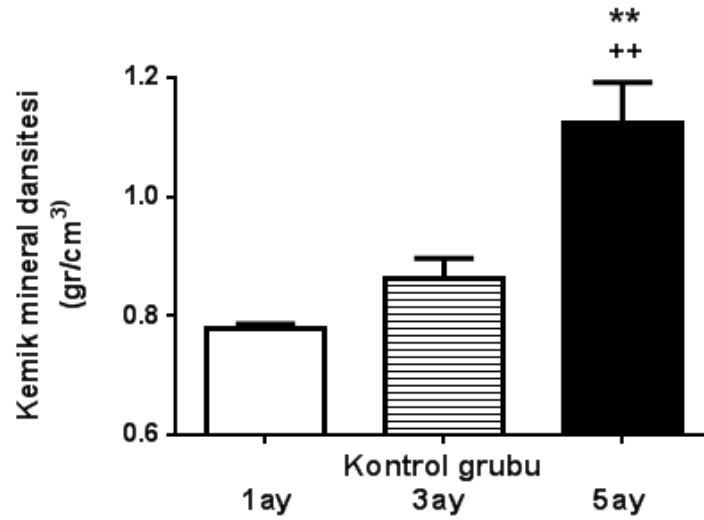
6.1.1.1. Kondil Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

Tablo 7’de mandibula kondil bölgesine ait, ayrı ayrı deney grupları ve takip sürelerine göre grupların mikro bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonucu elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Tablo 7: Kondil bölgesi kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

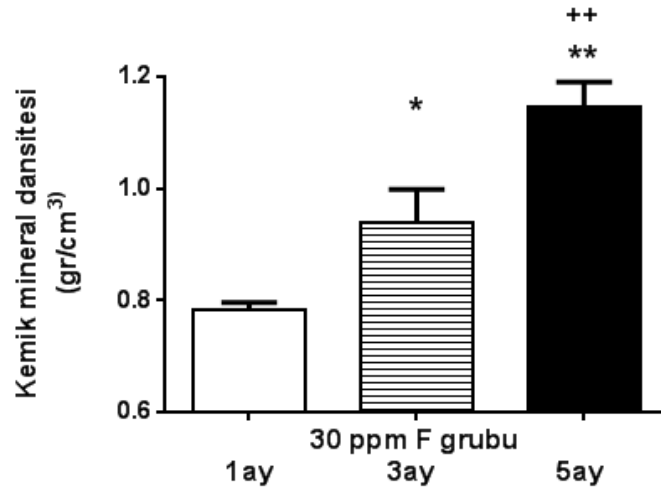
Mikro Tomografi Sonuçları					
		kontrol	30ppm	100 ppm	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
Kondil	Takip Süresi				
	1. Ay	0.77±0.02 0.78	0.78±0.03 0.88	0.79±0.05 0.80	0.72
	3. Ay	0.86±0.09 0.85	0.94±0.16 0.88	0.81±0.12 0.79	0.79
	5. Ay	1.12±0.19 1.20 0.0001**	1.14±0.12 1.20 0.0001**	1.04±0.13 1.02 0.0001**	0.003** P

Kondil bölgesinde Kontrol grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 9’da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol gruplarının 1. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 7) (Şekil 9)



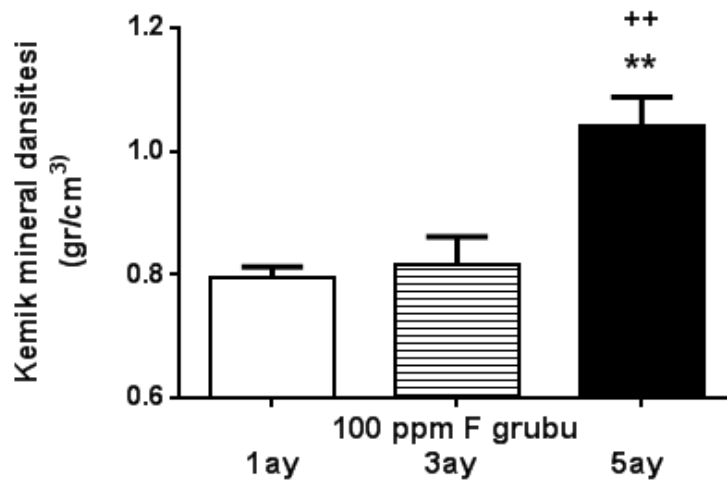
Şekil 9: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Kondil bölgesinde 30 ppm F gruplarında 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 10’da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. Ayrıca 30 ppm F grubunun 3. Ay kemik mineral dansite değerleri, 1.Ay değerlerinden ($p < 0.05$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 7) (Şekil 10)



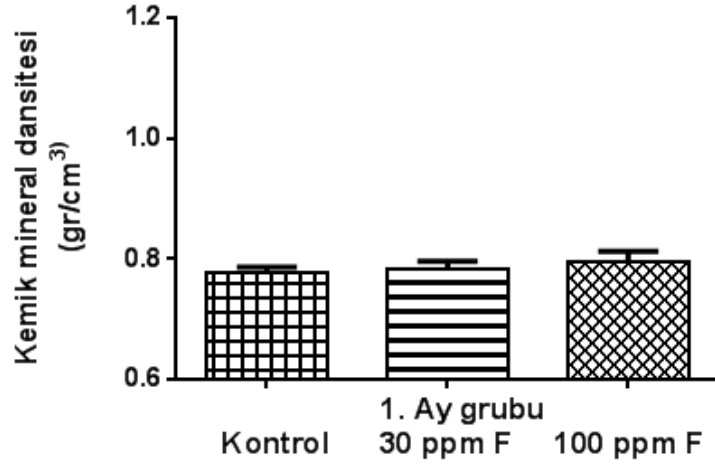
Şekil 10: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Kondil bölgesinde 100 ppm F gruplarında 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 11’de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. 100 ppm F gruplarının 1. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 7) (Şekil 11)



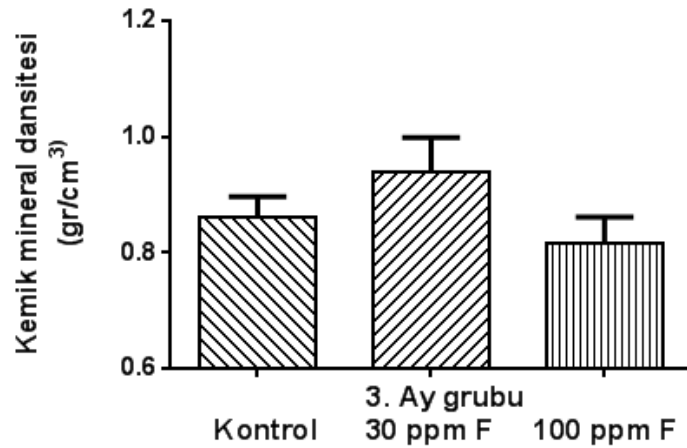
Şekil 11: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Kondil bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 12’de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 7) (Şekil 12)



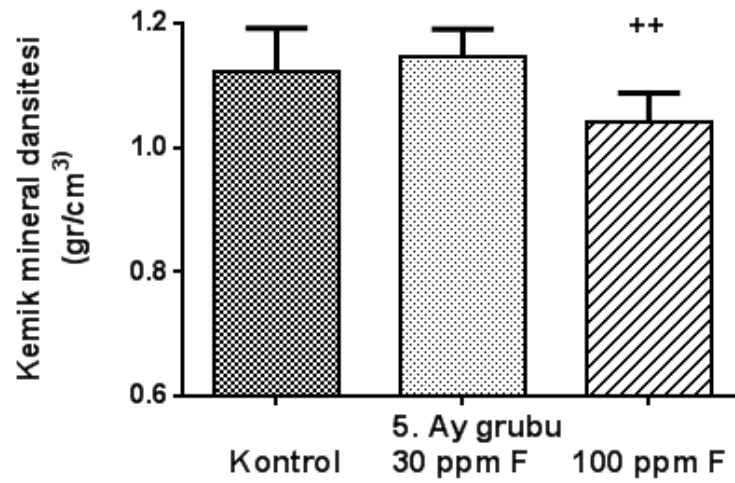
Şekil 12: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Kondil bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 13’ de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$). (Tablo 7) (Şekil 13)



Şekil 13: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Kondil bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 14' de gösterilmiştir ve arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 5. Ay değerlerinden anlamlı şekilde düşüktür. ($p < 0.003$) Kontrol grubu 5. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 5. Ay değerleri ve Kontrol grubu 5. Ay değerleri ile 100 ppm F grubu 5. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 7) (Şekil 14)



Şekil 14: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların kondil bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

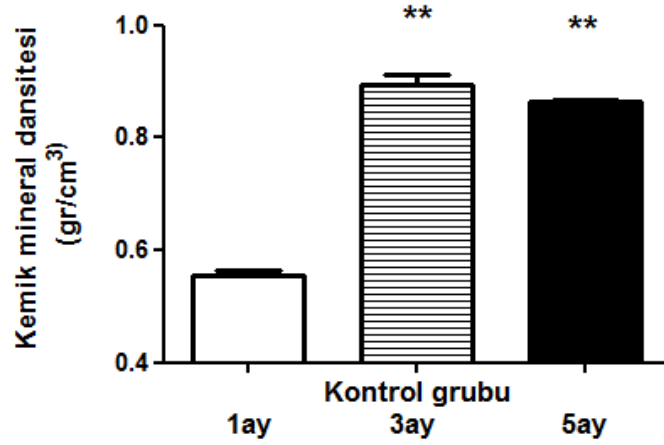
6.1.1.2. Angular Çıkıntı Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

Tablo 8'de mandibular Angular çıkıntı bölgesine ait, ayrı ayrı deney grupları ve takip sürelerine göre grupların mikro bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonucu elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Tablo 8: Angular çıkıntı bölgesi kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

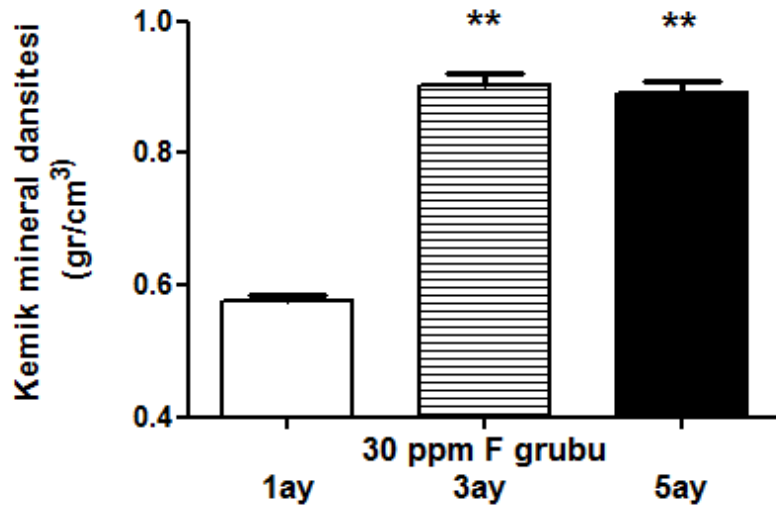
Mikro Tomografi Sonuçları					
Angular Çıkıntı	Takip Süresi	kontrol	30ppm	100 ppm	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	0.55±0.03 0.55	0.57±0.02 0.58	0.54±0.02 0.54	0.09
	3. Ay	0.89±0.05 0.89	0.90±0.05 0.91	0.83±0.02 0.84	0.001**
	5. Ay	0.86±0.01 0.86	0.89±0.04 0.88	0.81±0.04 0.82	0.003**
		0.0001**	0.0001**	0.0001**	P

Angular çıkıntı bölgesinde Kontrol grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 15' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol gruplarının 5. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$) (Tablo 8) (Şekil 15)



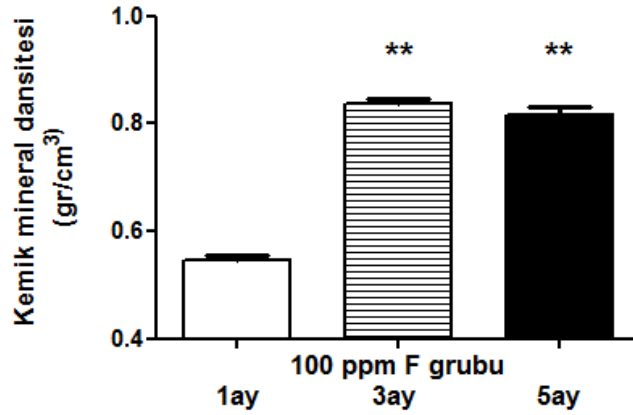
Şekil 15: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Angular çıkıntı bölgesinde 30 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 16' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. 30 ppm F gruplarının 5. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 8) (Şekil 16)



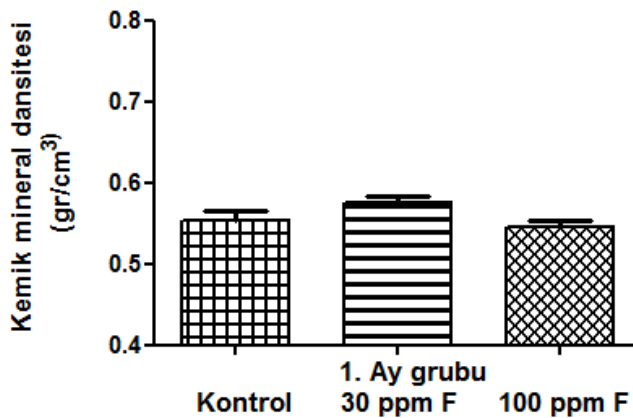
Şekil 16: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Angular çıkıntı bölgesinde 100 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 17' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. 100 ppm F gruplarının 5. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 8) (Şekil 17)



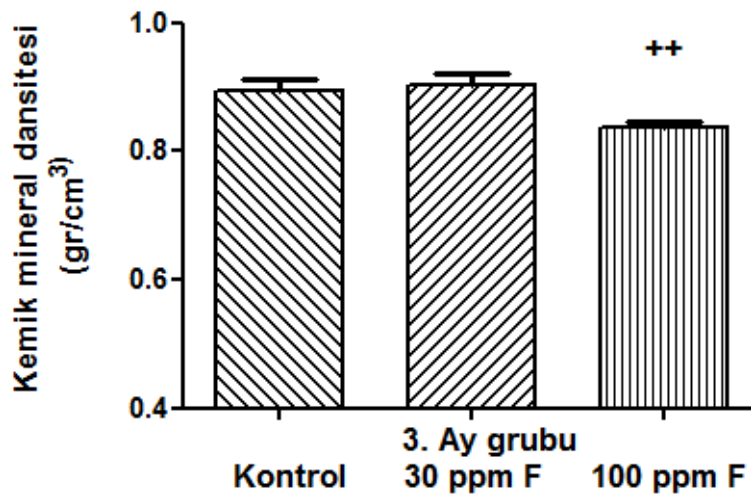
Şekil 17: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Angular çıkıntı bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 18' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 8) (Şekil 18)



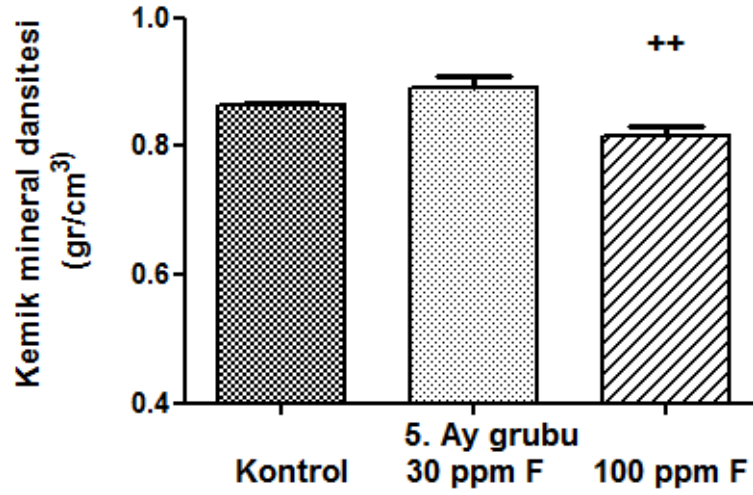
Şekil 18: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Angular çıkıntı bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 19' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.001$) 100 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında ve Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 100 ppm F grubu 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 8) (Şekil 19)



Şekil 19: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Angular çıkıntı bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 20' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.003$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 5. Ay değerlerinden ($p < 0.003$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 5. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 5. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında ve Kontrol grubu 5. Ay değerleri ile 100 ppm F grubu 5. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 8) (Şekil 20)



Şekil 20: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların Angular çıkıntı bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

6.1.1.3. Birinci Molar Furkasyon Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

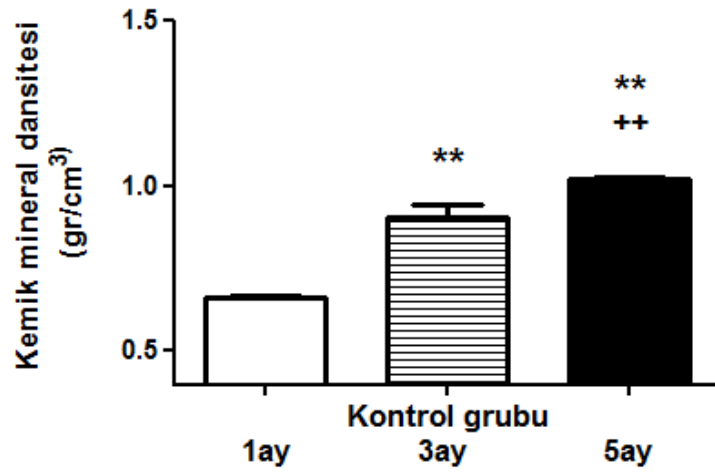
6.1.1.3.1. Birinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmiş Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

Tablo 9’da mandibula birinci molar furkasyon bölgesine ait kesici diş dahil edilerek, deney gruplarına ve takip sürelerine göre ayrı ayrı grupların mikro bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonucu elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Tablo 9: Birinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilerek elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

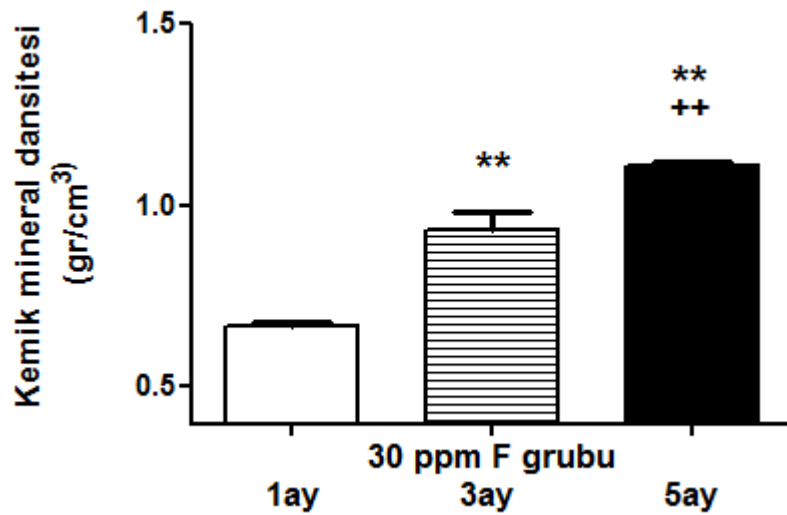
Mikro Tomografi Sonuçları					
1.Molar Furkasyon	Takip Süresi	kontrol	30ppm	100 ppm	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	0.66±0.02 0.65	0.67±0.01 0.67	0.65±0.01 0.64	0.09
	3. Ay	0.90±0.09 0.90	0.93±0.12 0.93	0.89±0.09 0.89	0.07
	5. Ay	1.02±0.01 1.02	1.10±0.02 1.10	0.98±0.01 0.98	0.0001**
		0.0001**	0.0001**	0.0001**	P

Birinci molar furkasyon bölgesinde Kontrol grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 21' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve Kontrol grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 9) (Şekil 21)



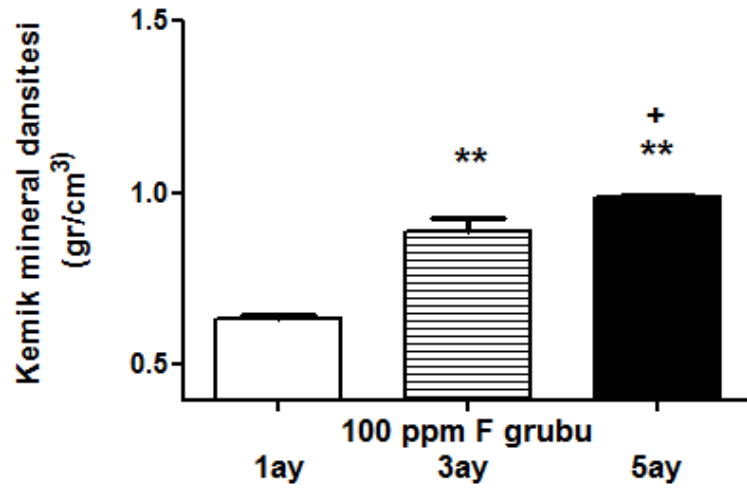
Şekil 21: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde 30 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 22' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 30 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 9) (Şekil 22)



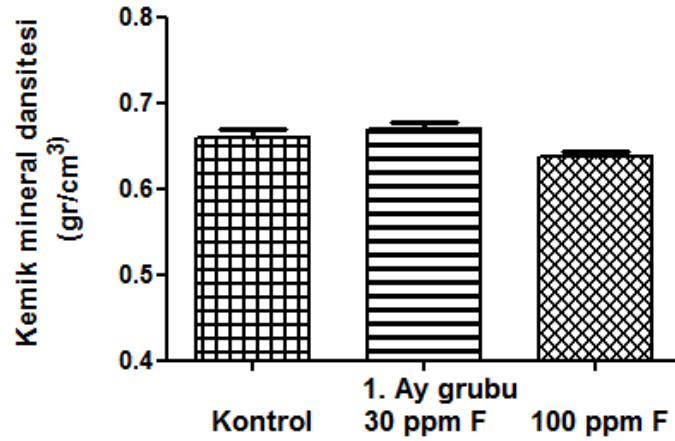
Şekil 22: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde 100 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 23' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.01$) ve 100 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 9) (Şekil 23)



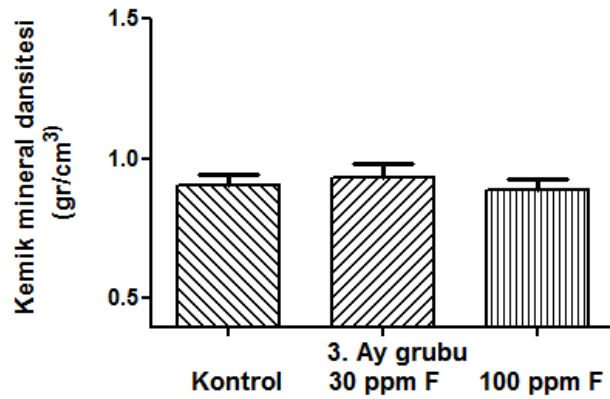
Şekil 23: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 24' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 9) (Şekil 24)



Şekil 24: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

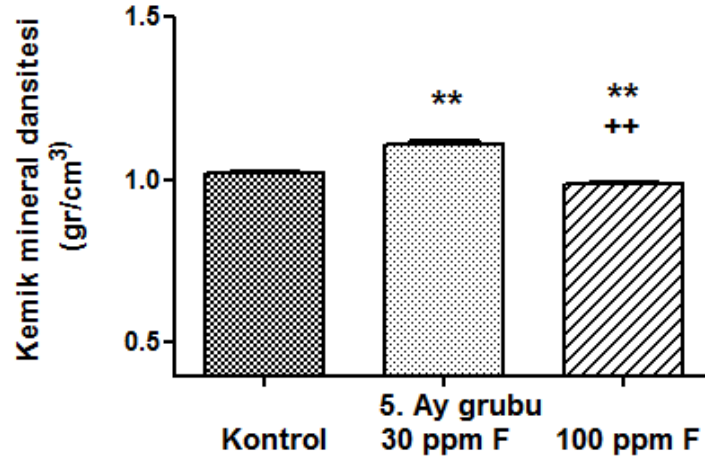
Birinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 25’ de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 9) (Şekil 25)



Şekil 25: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 26’ da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 5. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, Kontrol

grubu 5. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde düşüktür. 30 ppm F grubu 5. Ay değerleri, Kontrol grubu 5. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 9) (Şekil 26)



Şekil 26: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

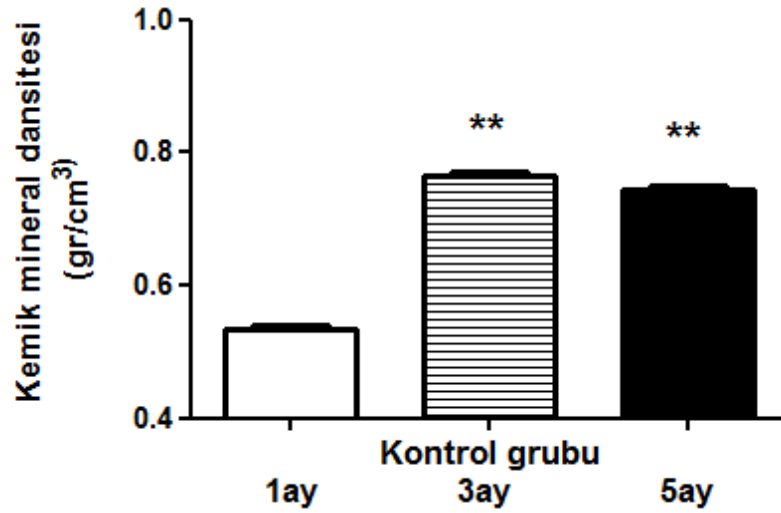
6.1.1.3.2. Birinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmemiş Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

Tablo 10' da mandibula birinci molar furkasyon bölgesine ait kesici diş dahil edilmeden, deney gruplarına ve takip sürelerine göre ayrı ayrı grupların mikro bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonucu elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Tablo 10: Birinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilmeden elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

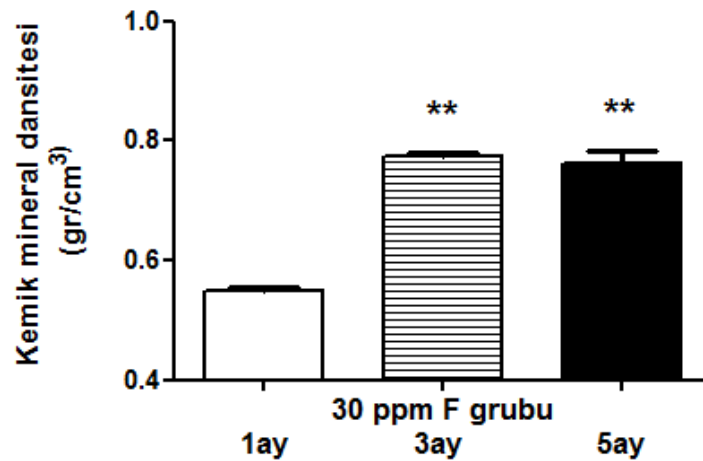
Mikro Tomografi Sonuçları					
1.Molar Furkasyon	Takip Süresi	kontrol	30ppm	100 ppm	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	0.53±0.01 0.53	0.54±0.01 0.54	0.51±0.01 0.51	0.01*
	3. Ay	0.76±0.01 0.76	0.77±0.01 0.77	0.72±0.01 0.72	0.0001**
	5. Ay	0.74±0.01 0.74	0.76±0.05 0.76	0.72±0.01 0.73	0.22
		0.0001**	0.0001**	0.0001**	P

Birinci molar furkasyon bölgesinde Kontrol grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 27' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol gruplarının 5. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 10) (Şekil 27)



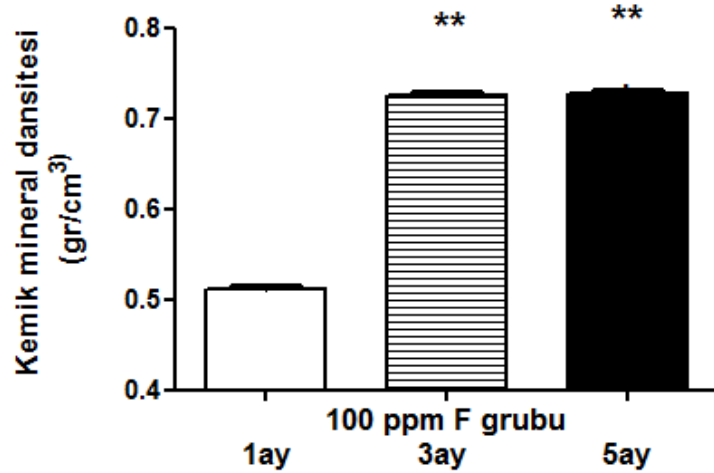
Şekil 27: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde 30 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 28’ de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. 30 ppm F gruplarının 5. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 10) (Şekil 28)



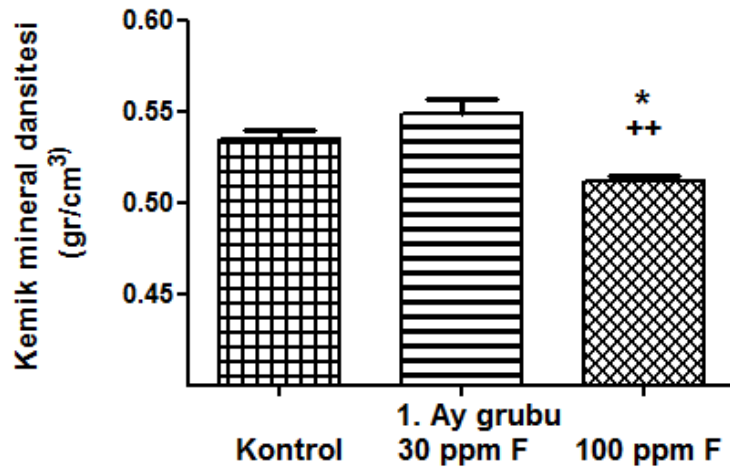
Şekil 28: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde 100 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 29' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. 100 ppm F gruplarının 5. ve 3. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 10) (Şekil 29)



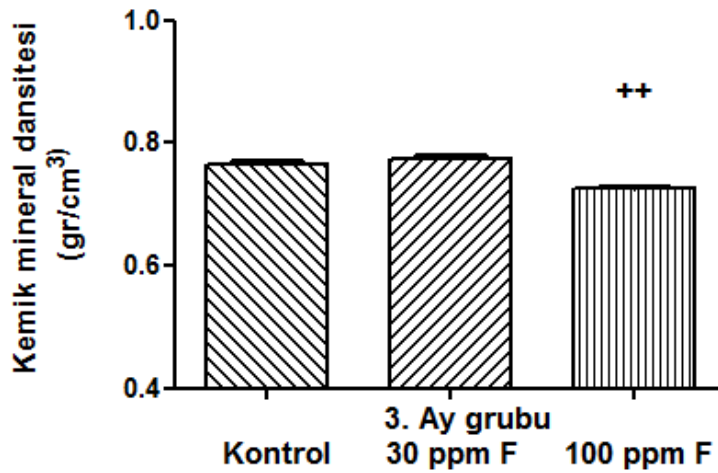
Şekil 29: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 30' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri, Kontrol grubu 1. Ay değerlerinden ($p < 0.01$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 1. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 1. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 10) (Şekil 30)



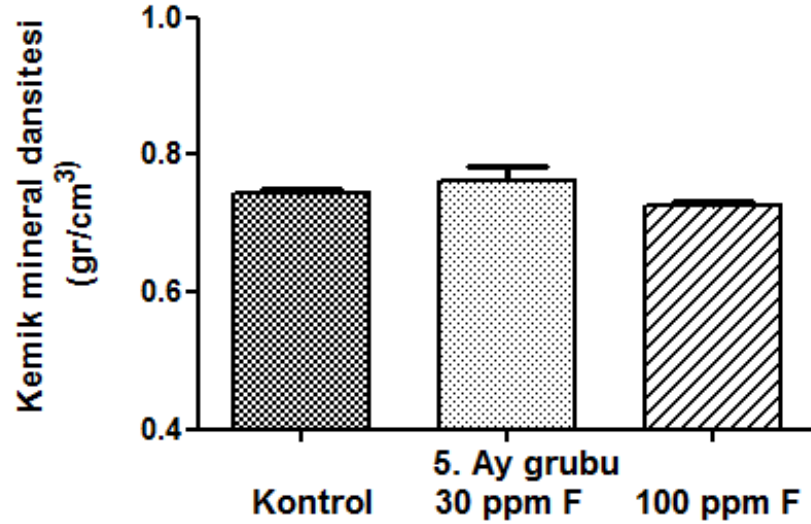
Şekil 30: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 31' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 3. Ay değerlerinden ($p < 0.0001$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında ve Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 100 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 10) (Şekil 31)



Şekil 31: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Birinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 32’ de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 10) (Şekil 32)



Şekil 32: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

6.1.1.4. İkinci Molar Furkasyon Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

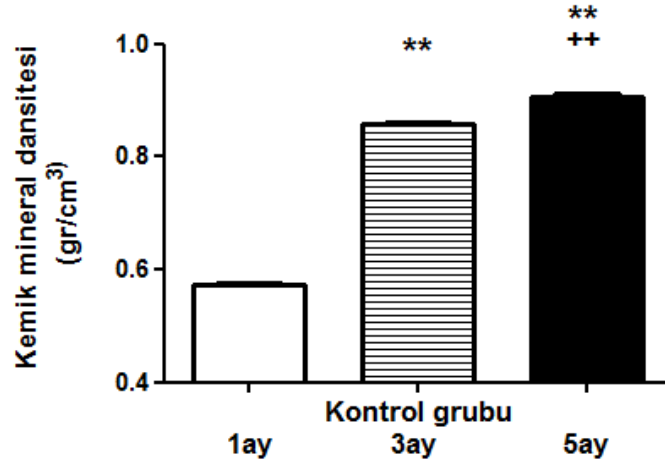
6.1.1.4.1. İkinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmiş Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

Tablo 11’ de mandibula ikinci molar furkasyon bölgesine ait kesici diş dahil edilerek, deney gruplarına ve takip sürelerine göre ayrı ayrı grupların mikro bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonucu elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Tablo 11: İkinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilerek elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

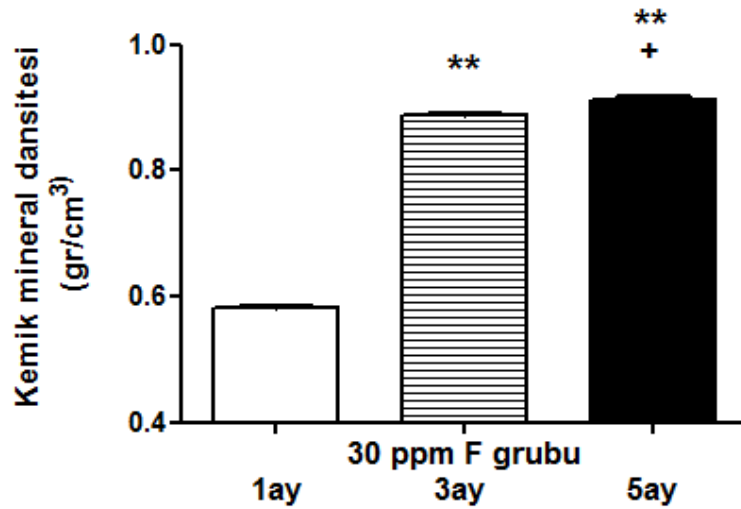
Mikro Tomografi Sonuçları					
2.Molar Furkasyon	Takip Süresi	kontrol	30ppm	100 ppm	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	0.59±0.01 0.57	0.60±0.02 0.58	0.54±0.03 0.53	0.001**
	3. Ay	0.85±0.01 0.85	0.88±0.01 0.89	0.82±0.01 0.83	0.001**
	5. Ay	0.90±0.01 0.90	0.91±0.01 0.91	0.88±0.01 0.88	0.057
		0.0001**	0.0001**	0.0001**	P

İkinci molar furkasyon bölgesinde Kontrol grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 33' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve Kontrol grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 11) (Şekil 33)



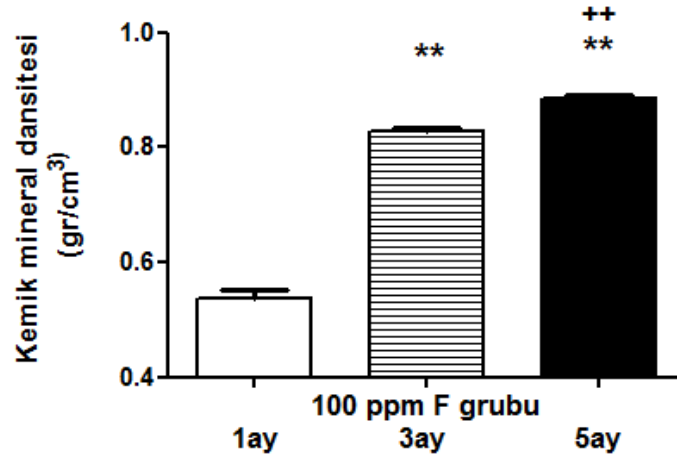
Şekil 33: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde 30 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 34' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.01$) ve 30 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 11) (Şekil 34)



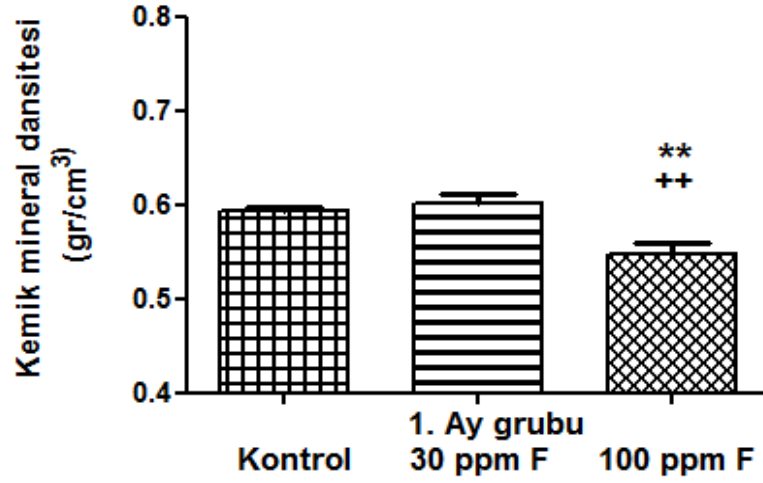
Şekil 34: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde 100 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 35' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 100 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 11) (Şekil 35)



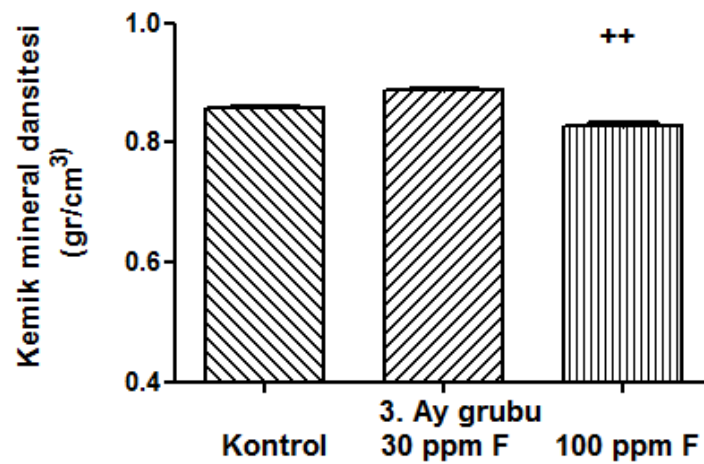
Şekil 35: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 36' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.001$) 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri, Kontrol grubu 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 1. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 1. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 11) (Şekil 36)



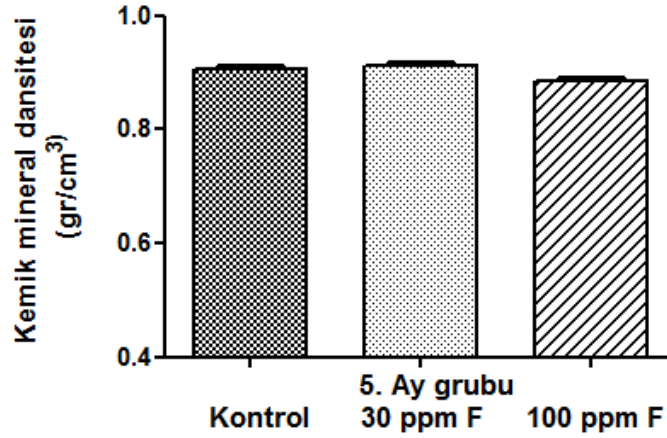
Şekil 36: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 37’ de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.001$) 100 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 11) (Şekil 37)



Şekil 37: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 38’ de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 11) (Şekil 38)



Şekil 38: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

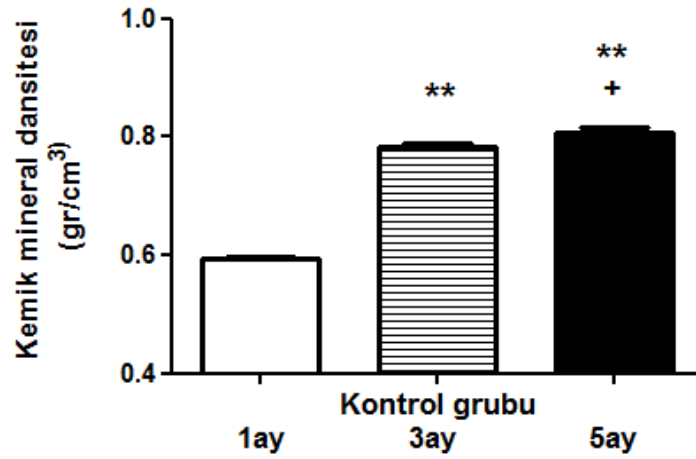
6.1.1.4.2. İkinci Molar Furkasyon Bölgesi Kesici Diş Dahil Edilmemiş Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

Tablo 12’ de mandibula ikinci molar molar furkasyon bölgesine ait kesici diş dahil edilmeden, deney gruplarına ve takip sürelerine göre ayrı ayrı grupların mikro bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonucu elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi gösterilmiştir.

Tablo 12: İkinci molar furkasyon bölgesi, kesici diş dahil edilmeden elde edilen kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

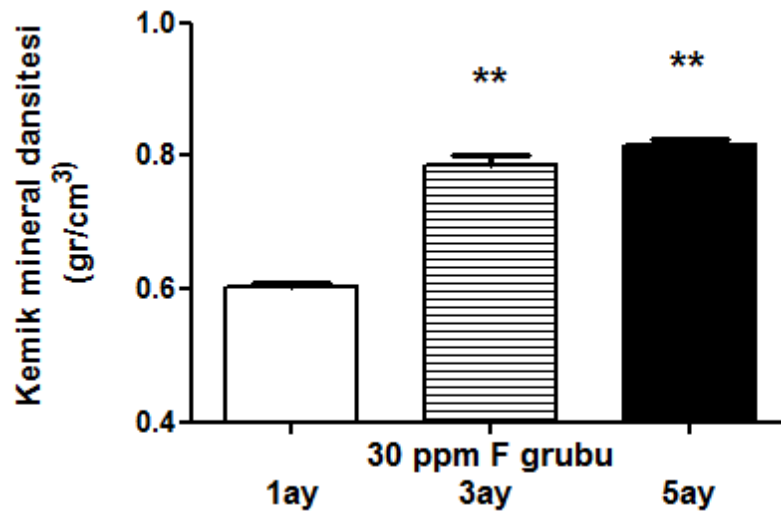
Mikro Tomografi Sonuçları					
2.Molar Furkasyon	Takip Süresi	kontrol	30ppm	100 ppm	p
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	0.57±0.01 0.59	0.58±0.01 0.61	0.53±0.03 0.55	0.001**
	3. Ay	0.78±0.01 0.78	0.78±0.03 0.78	0.75±0.02 0.75	0.04*
	5. Ay	0.80±0.01 0.80	0.81±0.02 0.81	0.77±0.01 0.77	0.001**
		0.0001**	0.0001**	0.0001**	P

İkinci molar furkasyon bölgesinde Kontrol grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 39' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), Kontrol grubunun 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.01$) ve Kontrol grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 12) (Şekil 39)



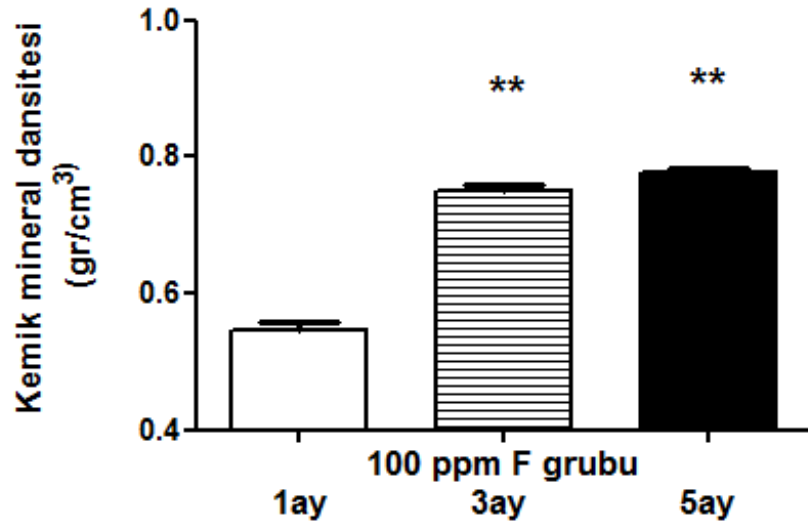
Şekil 39: Deney gruplarına göre kontrol grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde 30 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 40' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 30 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), 30 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. 30 ppm F grubu 5. Ay değerleri ile 3. Ay değerleri arasında anlamlı farklılık yoktur. ($p > 0.05$) (Tablo 12) (Şekil 40)



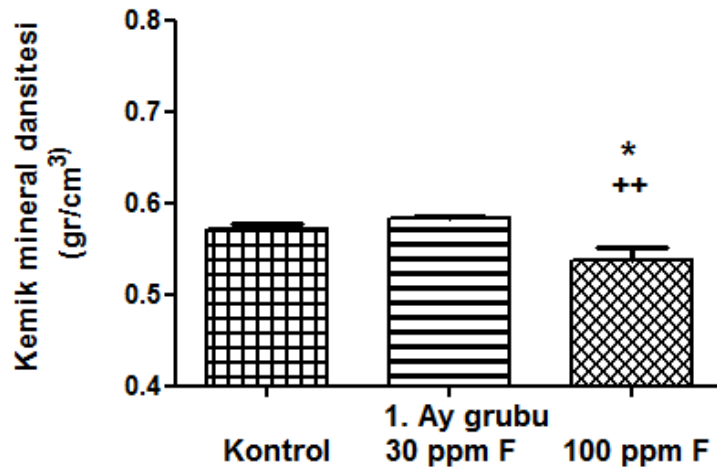
Şekil 40: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde 100 ppm F grubunda 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 41' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.0001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$), 100 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 1. Ay 10değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde yüksektir. 100 ppm F grubu 5. Ay değerleri ile 3. Ay değerleri arasında anlamlı farklılık yoktur. ($p > 0.05$) (Tablo 12) (Şekil 41)



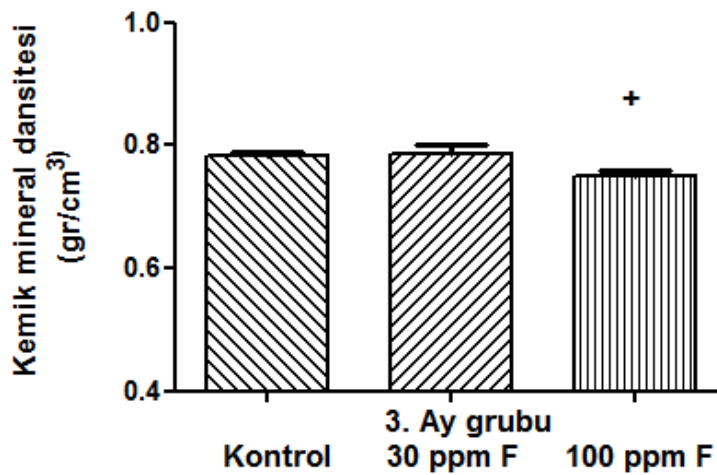
Şekil 41: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 42' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.001$) 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 1. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri, Kontrol grubu 1. Ay değerlerinden ($p < 0.01$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 1. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 1. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 12) (Şekil 42)



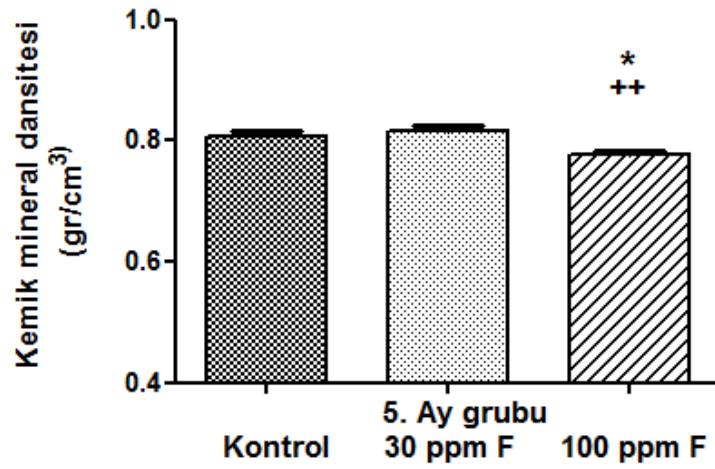
Şekil 42: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 43’de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p = 0.04$) 100 ppm F grubunun 3. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 3. Ay değerlerinden ($p < 0.05$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında ve Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 100 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 12) (Şekil 43)



Şekil 43: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların Birinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

İkinci molar furkasyon bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki grupların kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F kemik mineral dansite değerleri şekil 44' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. ($p < 0.001$) 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 5. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) ve 100 ppm F grubunun 5. Ay değerleri, Kontrol grubu 5. Ay değerlerinden ($p < 0.05$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol grubu 5. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 5. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 12) (Şekil 44)



Şekil 44: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların İkinci molar furkasyon bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

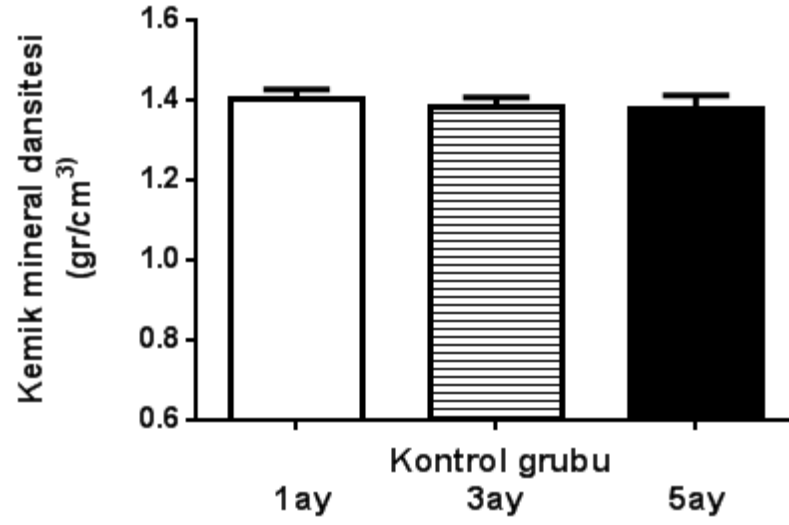
6.1.1.5. Mandibula Birinci ve İkinci Molar Dişler Arası Septum Bölgesi Mikro Bilgisayarlı Tomografi Verilerinin Değerlendirilmesi

Tablo 13'de mandibula birinci ve ikinci molar dişler arası septum bölgesi trabeküler kemiğe ait, ayrı ayrı deney grupları ve takip sürelerine göre grupların mikro bilgisayarlı tomografi ile inceleme sonucu elde edilen kemik mineral dansite bulgularının değerlendirilmesi gösterilmektedir.

Tablo 13: Mandibula birinci ve ikinci molar dişler arası septum bölgesi kemik mineral dansite bulgularının ortalamaları, standart sapmaları, medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi

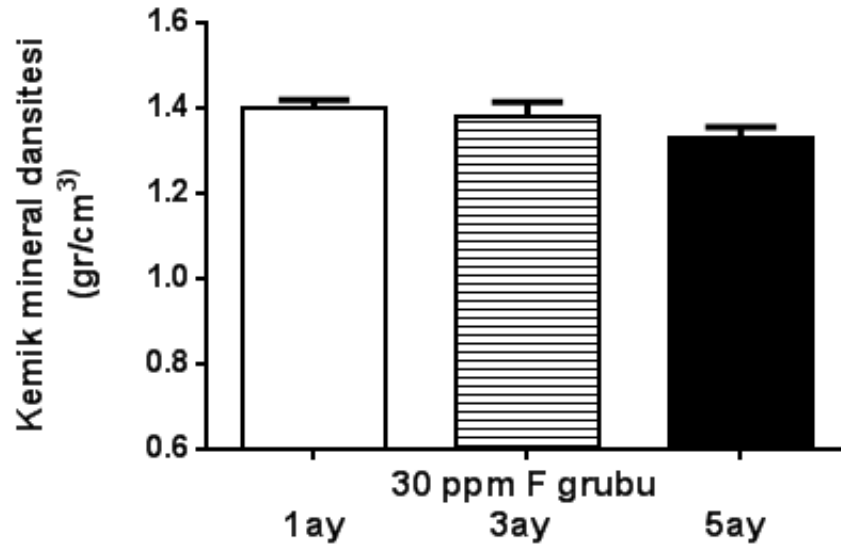
Mikro Tomografi Sonuçları					
septum		kontrol	30ppm	100 ppm	P
	Takip Süresi	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	1.40±0.09 1.39	1.39±0.08 1.39	1.32±0.12 1.33	0.03*
	3. Ay	1.38±0.09 1.37	1.38±0.13 1.40	1.37±0.17 1.40	0.95
	5. Ay	1.37±0.13 1.40	1.33±0.10 1.30	1.19±0.17 1.21	0.0005**
		0.79	0.16	0.003**	P

Mandibula septum bölgesinde, Kontrol gruplarında 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 45' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 13) (Şekil 45)



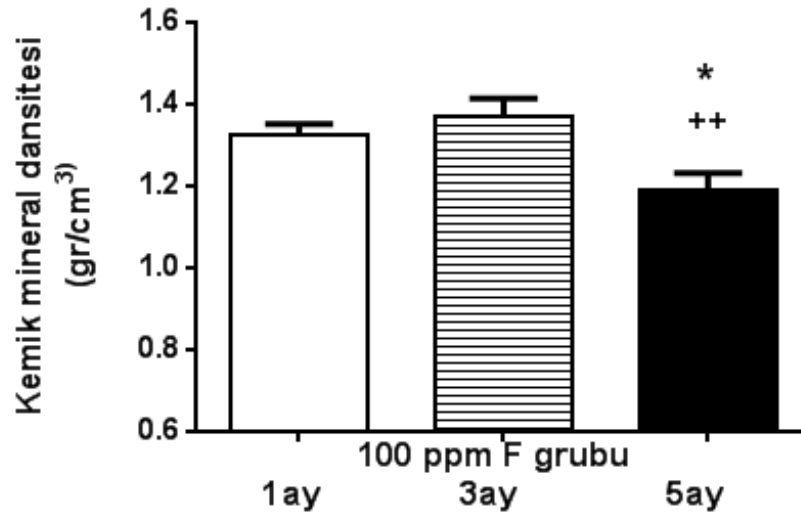
Şekil 45: Deney gruplarına Kontrol grubu sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Mandibula septum bölgesinde, 30 ppm F gruplarında 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 46' da gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 13) (Şekil 46)



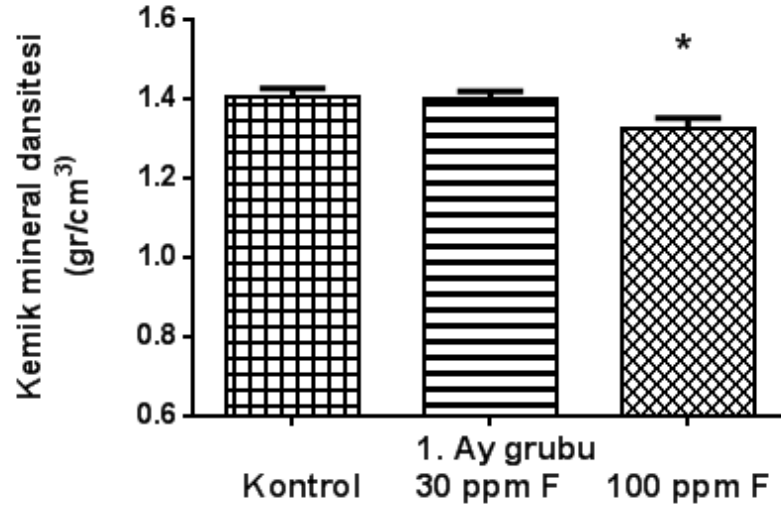
Şekil 46: Deney gruplarına 30 ppm F grubu sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Mandibula septum bölgesinde, 100 ppm F deney gruplarında 1,3 ve 5. ay kemik mineral dansite değerleri şekil 47' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 5.Ay kemik mineral dansite değerleri, 1. Ay değerlerinden ($p < 0.05$) ve 100 ppm F grubu 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerinden ($p < 0.001$) anlamlı şekilde düşüktür. 100 ppm F grubu 1. ve 3. Ay gruplarının kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 13) (Şekil 47)



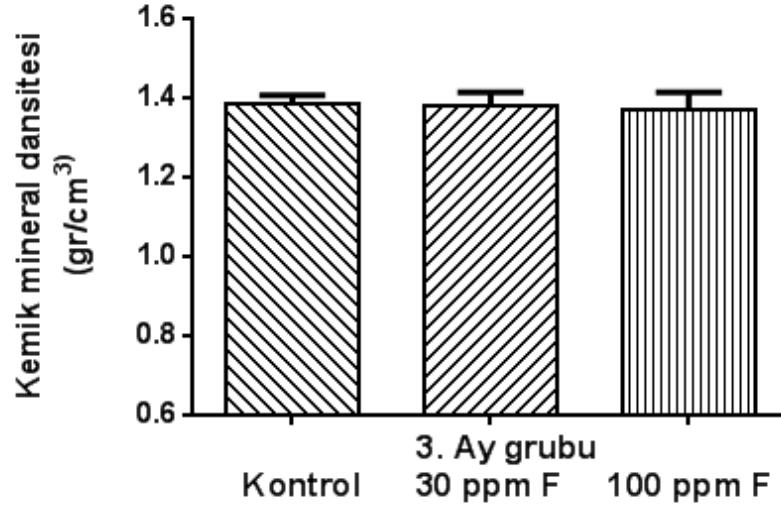
Şekil 47: Deney gruplarına 100 ppm F grubu sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Mandibula bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki Kontrol, 30 ppm F grubu ve 100 ppm F gruplarının kemik mineral dansite değerleri şekil 48' de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri, Kontrol gruplarının 1. Ay değerlerinden anlamlı şekilde düşüktür. ($p < 0.03$) Kontrol grubu 1. ay ile 30 ppm F gruplarının 1. Ay kemik ve 100 ppm F grubunun 1. Ay değerleri ile 30 ppm F gruplarının 1. Ay kemik mineral dansite değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 13) (Şekil 48)



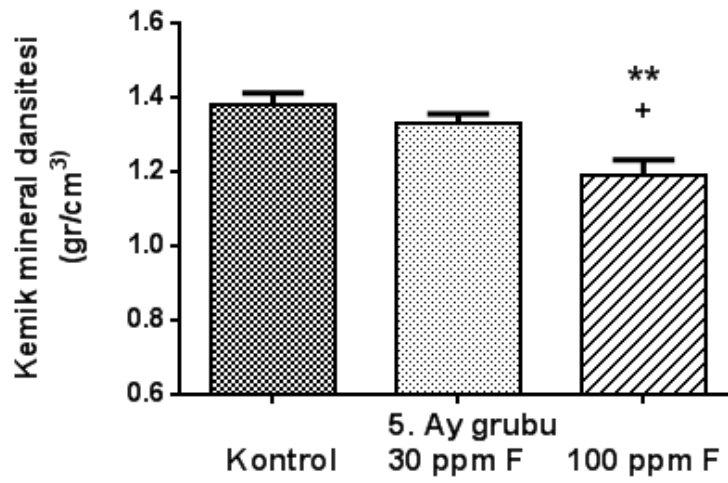
Şekil 48: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Mandibula bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki grupların Kontrol, 30 ppm F grubu ve 100 ppm F gruplarının kemik mineral dansite değerleri şekil 49’ de gösterilmiştir ve grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 13) (Şekil 49)



Şekil 49: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

Mandibula bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki grupların Kontrol, 30 ppm F grubu ve 100 ppm F gruplarının kemik mineral dansite değerleri şekil 50' de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 5.Ay kemik mineral dansite değerleri, Kontrol grubu 5. Ay değerlerinden ($p < 0.005$) ve 100 ppm F grubu 5.Ay değerleri, 30 ppm F grubu 5.Ay değerlerinden ($p < 0.05$) anlamlı şekilde düşüktür. Kontrol 5. Ay kemik mineral dansite değerleri ile 30 ppm F gruplarının 5. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 13) (Şekil 50)



Şekil 50: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların mandibula septum bölgesine ait kemik mineral dansite değerleri

6.1.2. Mandibulanın Farklı Bölgelerinde Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri

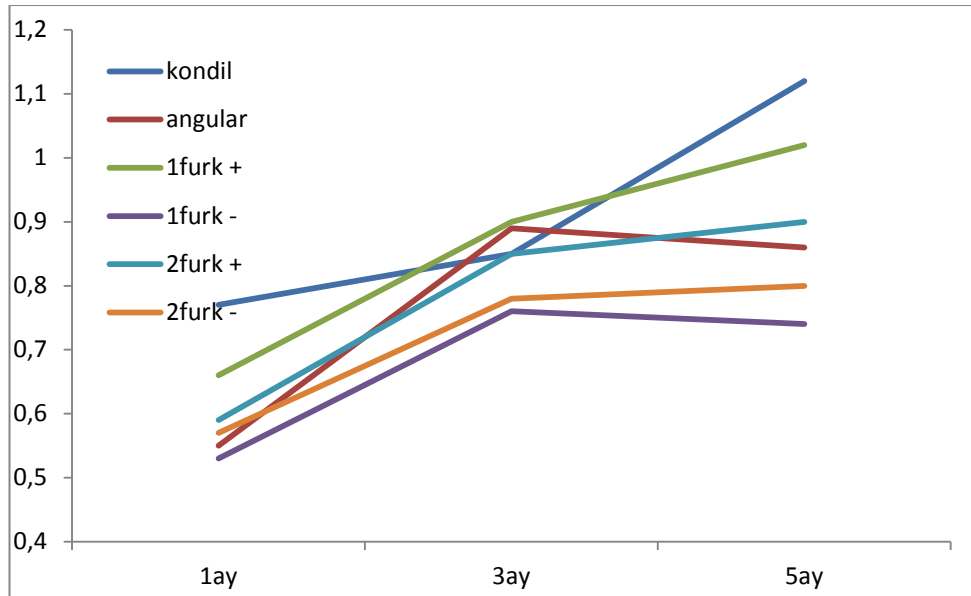
6.1.2.1. Kontrol Gruplarının Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri

Mandibulanın farklı bölgelerinin kemik mineral dansitelerinin değerlendirilmesinde kontrol gruplarına ait kemik dansite bulguları şekil 51'de görülmektedir. Kontrol gruplarında en yüksek değerler sırasıyla;

1. ay gruplarında: Kondil bölgesi > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Angular bölge > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden

3. ay gruplarında: Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Angular bölge > Kondil bölgesi > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden

5. ay gruplarında: Kondil bölgesi > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Angular bölge > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden



Şekil 51: Kontrol grupları kemik mineral dansite bulguları

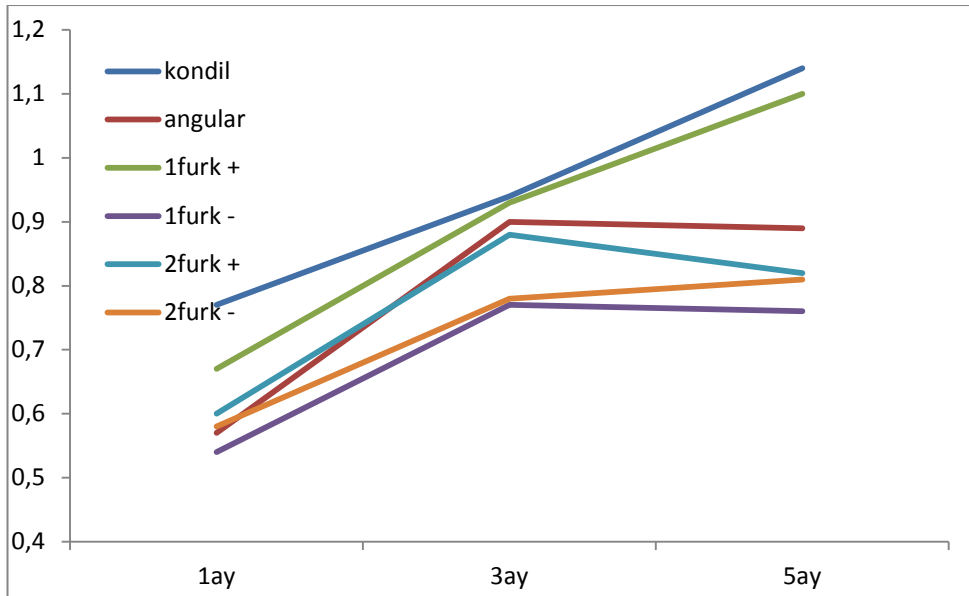
6.1.2.2. 30 ppm F gruplarının Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri

Mandibulanın farklı bölgelerinin kemik mineral dansitelerinin değerlendirilmesinde 30 ppm F gruplarına ait kemik dansite bulguları şekil 52’de görülmektedir. 30 ppm F gruplarında en yüksek değerler sırasıyla;

1. ay gruplarında: Kondil bölgesi > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Angular bölge > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden

3. ay gruplarında: Kondil bölgesi > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Angular bölge > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Angular bölge > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden

5. ay gruplarında: Kondil bölgesi > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Angular bölge > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Angular bölge > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden



Şekil 52: 30 ppm F grupları kemik mineral dansite bulguları

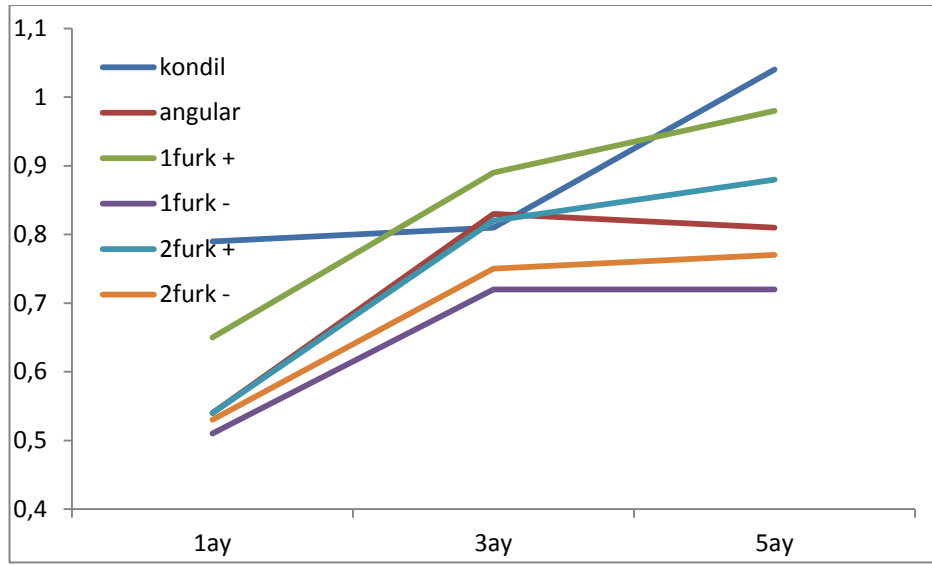
6.1.2.3. 100 ppm F gruplarının Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri

Mandibulanın farklı bölgelerinin kemik mineral dansitelerinin değerlendirilmesinde 100 ppm F gruplarına ait kemik dansite bulguları şekil 53’de görülmektedir. 100 ppm F gruplarında en yüksek değerler sırasıyla;

1. ay gruplarında: Kondil bölgesi > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Angular bölge > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Angular bölge > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden

3. ay gruplarında: Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Angular bölge > ikinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Kondil bölgesi > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden > Angular bölge > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden

5. ay gruplarında: Kondil bölgesi > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek > Angular bölge > İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden, angular bölge > Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden



Şekil 53: 100 ppm F grupları kemik mineral dansite bulguları

Tablo 14: Mandibulanın Farklı Bölgelerinde Kemik Mineral Dansite Değerlendirmeleri ile ilgili alanların açıklaması

kondil	Kondil bölgesi
angular	Angular çıkıntı bölgesi
1furk +	Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil
1 furk -	Birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmemiş
2 furk +	İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil
2 furk -	İkinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmemiş

6.2. Böbrek Dokularına Ait Bulgular

6.2.1. Böbrek Dokularının Histolojik ve İmmünohistokimyasal İncelemeleri

6.2.1.1. Böbrek Dokularının Histolojik İncelemeleri

Böbrekten alınan parankim ve meduller bölgeyi içeren tam kat kesitler Hemotoksilen ve Eozin boyama ile boyandı ve ışık mikroskobunda x40, x200 ve x400 büyütmede morfolojik olarak incelendi.

1. ay kontrol ve deney gruplarına ait bulgular

Kontrol grubuna ait böbrek doku örneklerinden alınan kesitlerde glomerülüs ve tubulus bölgelerinde normal hücre yapısı gözlenmiştir.

30 ppm F 1 ay grubunda yer alan sıçanlara ait histolojik kesitlerde kontrol grubuna benzer hücre yapıları izlenmiştir ve histolojik olarak hasara rastlanmamıştır.

100 ppm F 1 ay grubunda yer alan sıçanlara ait histolojik kesitlerde glomerülüs ve tubulus bölgelerinde çok belirgin olmamakla beraber glomerülüslerde hafif derecede atrofi; tubul yapılarında ise yine hafif derecede dilatasyon mevcuttur.

3. ay kontrol ve deney gruplarına ait bulgular

Kontrol grubunda ait histolojik kesitlerde glomerülüs ve tubulus yapılarında normal hücre yapısı gözlenmiştir.

30 ppm F 3 ay grubunun böbrek dokularının histolojik incelemelerinde hafif düzeyde glomerül içinde kanama ve vasküler konjesyon izlenirken genel glomerül yapısında atrofi ve nekroz alanları gözlemlenmiştir. Tubuluslarda ise tubuler dilatasyon mevcuttur.

100 ppm F 3 ay grubunda böbrek dokularının glomerülüs ve tubulus bölgelerinde kontrol ve 30 ppm gruplarına göre daha belirgin histolojik değişiklikler gözlenmiştir. Glomerüllerde büzülme ve küçülme şeklinde atrofi, tubulus bölgelerinde dilatasyon gözlenmiştir.

5. ay kontrol ve deney gruplarına ait bulgular

Kontrol grubunda böbrek dokularında histolojik açıdan glomerülüs ve tubulus bölgelerinde normal hücre yapısı izlenmiştir. 5 ay kontrol ve deney grubu sıçanların daha büyük olmasından dolayı glomerül ve tubul yapıları da 1 ve 3 ay grubu hayvanlara göre daha büyüklere dir.

30 ppm F 5 ay grubu deney hayvanlarının böbrek dokularında, diğer gruplara göre glomerüller ve tubullerde büyüklük açısından bariz bir fark izlenmiştir. Glomerüllerde hafif konjesyon ve atrofi görülmüştür.

100 ppm F 5 ay grubu deney hayvanlarında histolojik açıdan glomerüllerde belirgin düzeyde atrofi ve nekroz alanları görülmüştür. Tubuluslarda ise dilatasyon mevcuttur. Bu deney grubu sıçanlarda böbrek dokularında hemorajik kanama odakları ve eritrositler de gözlemlenmiştir.

6.2.1.2. Böbrek Dokularının İmmünohistokimyasal İncelemeleri ve Değerlendirilmesi

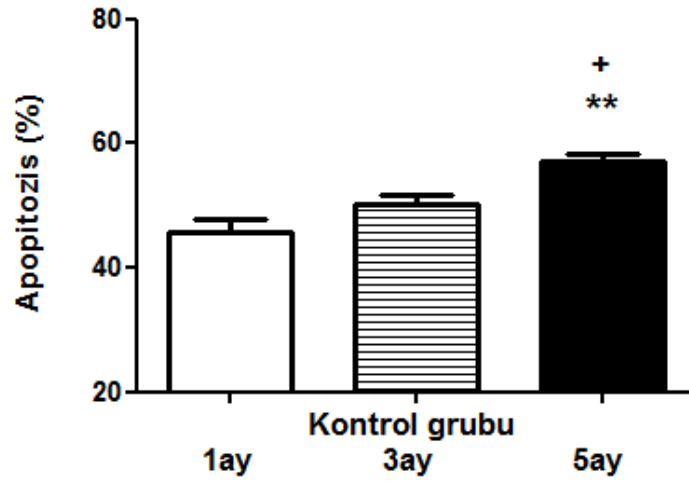
6.2.1.2.1. Tubulus Bölgelerinde Apoptotik Hücrelerin Analizi ve Değerlendirilmesi

Tablo 14' de böbrek dokularının tubulus bölgelerine ait, ayrı ayrı deney grupları ve takip sürelerine göre grupların, TUNEL yöntemi boyama ile apoptotik hücrelerin yüzde ortalama değerleri, standart sapmaları ve medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi görülmektedir.

Tablo 15: Böbrek dokusu tubulus bölgeleri apoptotik hücre yüzde değerleri

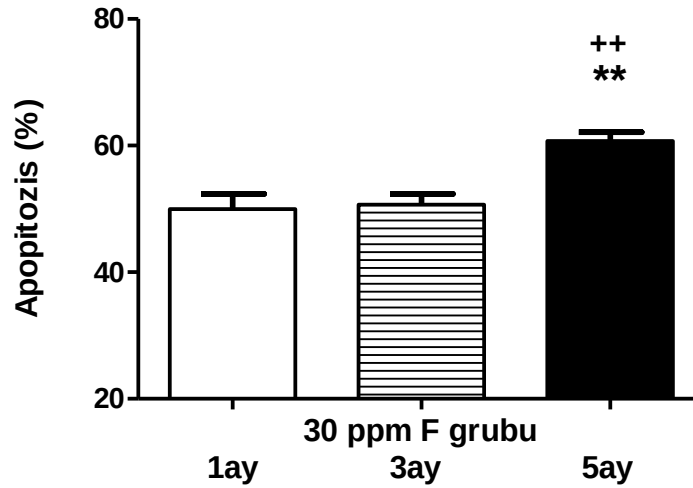
Böbrek Apoptozis Sonuçları					
tubulus		kontrol	30 ppm	100 ppm	P
	Takip Süresi	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	45.83±5.56 46.36	49.98±6.28 50.90	80.22±3.16 80.70	p<0.0001**
	3. Ay	50.23±4.04 51.12	50.66±4.83 50.00	84.31±3.59 84.35	p<0.0001**
	5. Ay	56.99±3.70 58.20	60.74±3.94 61.13	91.45±1.77 91.80	p<0.0001**
		0.0004**	0.0006**	0.0003**	P

Tubulus bölgesinde, Kontrol gruplarında 1,3 ve 5. Ay apoptotik hücre değerleri şekil 54’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Kontrol grubu 5. Ay değerleri, 1. Ay değerlerine göre ($p=0.0004$) ve Kontrol grubu 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerine göre ($p < 0.05$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu 1. Ay değerleri ile Kontrol grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 14) (Şekil 54)



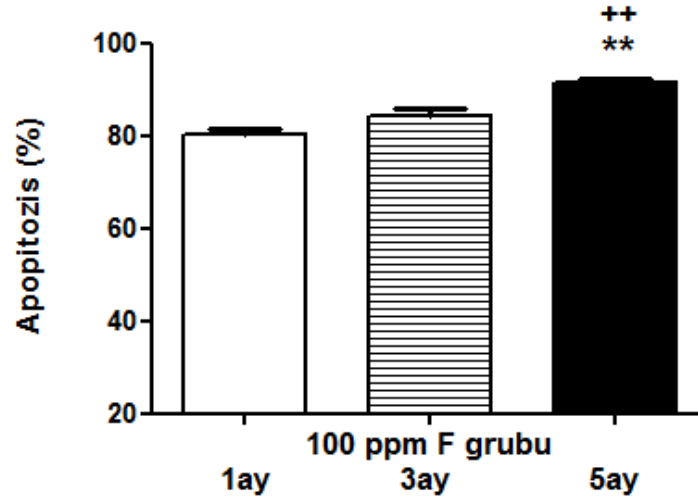
Şekil 54: Deney gruplarına göre Kontrol grubu sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Tubulus bölgesinde, 30 ppm F gruplarında 1,3 ve 5. Ay apoptotik hücre değerleri şekil 55’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 30 ppm F grubu 5.Ay değerleri, 1. Ay değerlerine göre ($p=0.0006$) ve 30 ppm F grubu 5.Ay değerleri, 3. Ay değerlerine göre ($p=0.0006$) anlamlı şekilde yüksektir. 30 ppm F grubu 1. Ay ve 30 ppm F grubu 3.Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 14) (Şekil 55)



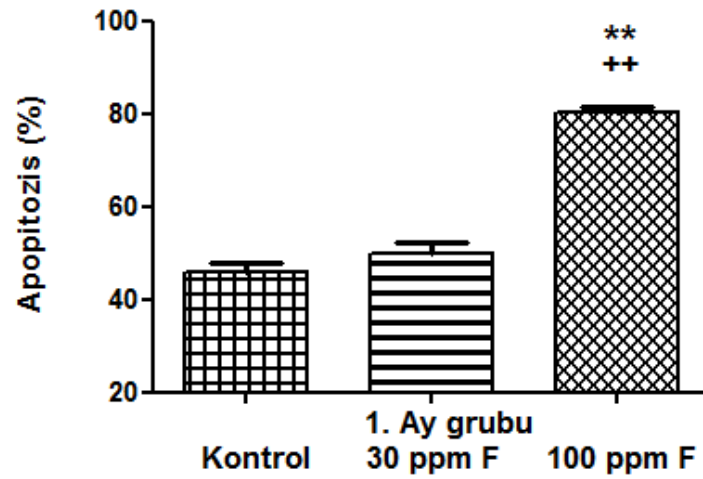
Şekil 55: Deney gruplarına göre 30 ppm F grubu sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Tubulus bölgesinde, 100 ppm F gruplarında 1,3 ve 5. Ay apoptotik hücre değerleri şekil 56’ da gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 5.Ay değerleri, 1. Ay değerlerine göre ($p=0.0003$) ve 100 ppm F grubu 5. Ay değerleri, 3. Ay değerlerine göre ($p=0.0003$) anlamlı şekilde yüksektir. 100 ppm F grubu 1. Ay ve 100 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 14) (Şekil 56)



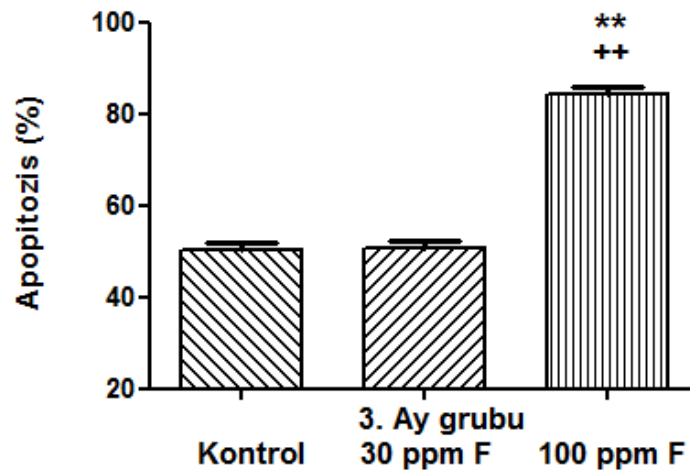
Şekil 56: Deney gruplarına göre 100 ppm F grubu sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Tubulus bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki Kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F gruplarının apoptotik hücre değerleri şekil 57’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 1.Ay değerleri, Kontrol grubu 1. Ay değerlerinden ($p<0.0001$) ve 100 ppm F grubu 1.Ay değerleri, 30 ppm F grupları 1.Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu 1. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 1. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 14) (Şekil 57)



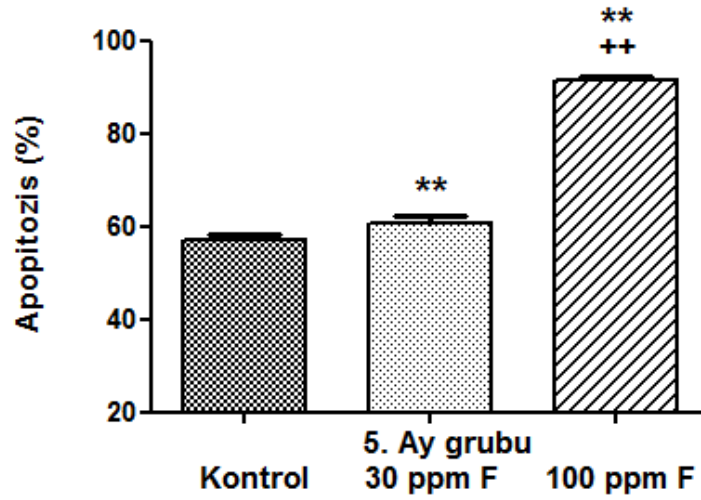
Şekil 57: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Tubulus bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki Kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F gruplarının apoptotik hücre değerleri şekil 58’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 3.Ay değerleri, Kontrol F grubu 3.Ay değerlerine göre ($p < 0.0001$) ve 100 ppm F grubu 3.Ay değerleri, 30 ppm F grupları 3.Ay değerlerine göre ($p < 0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 14) (Şekil 58)



Şekil 58: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Tubulus bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki Kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F gruplarının apoptotik hücre değerleri şekil 59’ da gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 5.Ay değerleri, Kontrol grubu 5.Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) ve 100 ppm F grubu 5.Ay değerleri, 30 ppm F grupları 5.Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu 5. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 5. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 14) (Şekil 59)



Şekil 59: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların tubulus bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

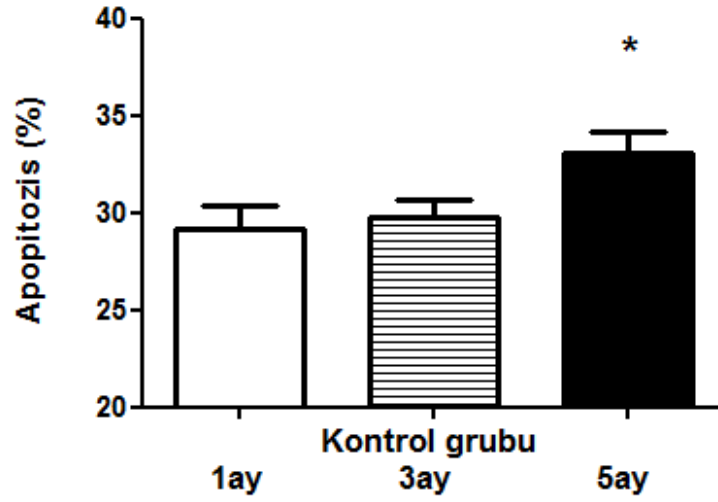
6.2.1.2.2. Glomerülüs Bölgelerinde Apoptotik Hücrelerin Analizi ve Değerlendirilmesi

Tablo 15’ de böbrek dokularının glomerülüs bölgelerine ait, ayrı ayrı deney grupları ve takip sürelerine göre grupların, TUNEL yöntemi boyama ile apoptotik hücrelerin yüzde ortalama değerleri, standart sapmaları ve medianları ile istatistiksel değerlendirilmesi görülmektedir.

Tablo 16: Böbrek dokusu glomerülüs bölgeleri apoptotik hücre değerleri

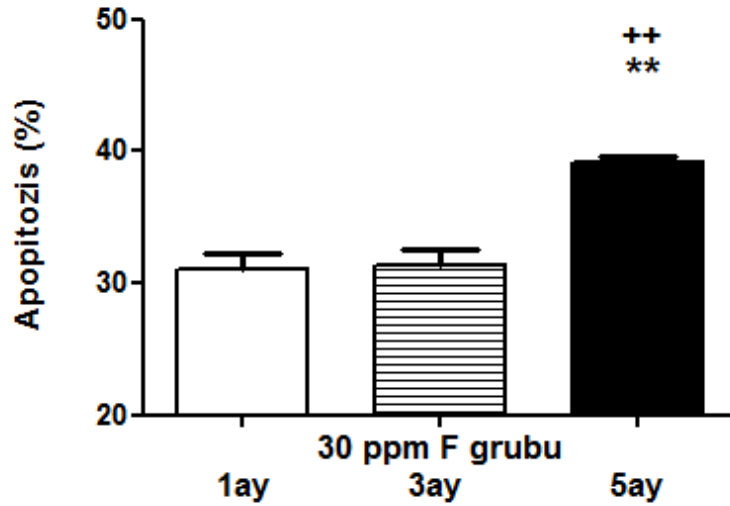
böbrek Sonuçları					
glomerül	Takip Süresi	kontrol	30 ppm	100 ppm	P
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
	1. Ay	29.19±3.00 29.66	31.12±3.09 30.73	58.30±3.40 58.15	p<0.0001**
	3. Ay	29.80±2.34 30.26	31.37±3.20 30.27	60.58±4.80 59.65	p<0.0001**
	5. Ay	33.09±2.94 33.22	39.11±1.58 39.20	69.60±2.48 69.60	p<0.0001**
		0.02*	p<0.0001**	0.001**	P

Glomerülüs bölgesinde, deney gruplarına göre Kontrol gruplarında 1,3 ve 5. Ay apoptotik hücre değerleri şekil 60' da gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. Kontrol grubu 5. Ay değerleri, Kontrol grubu 1. Ay değerlerine göre ($p < 0.05$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu 5. Ay değerleri ile Kontrol grubu 3. Ay arasında ve Kontrol grubu 1. Ay değerleri ile Kontrol grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 15) (Şekil 60)



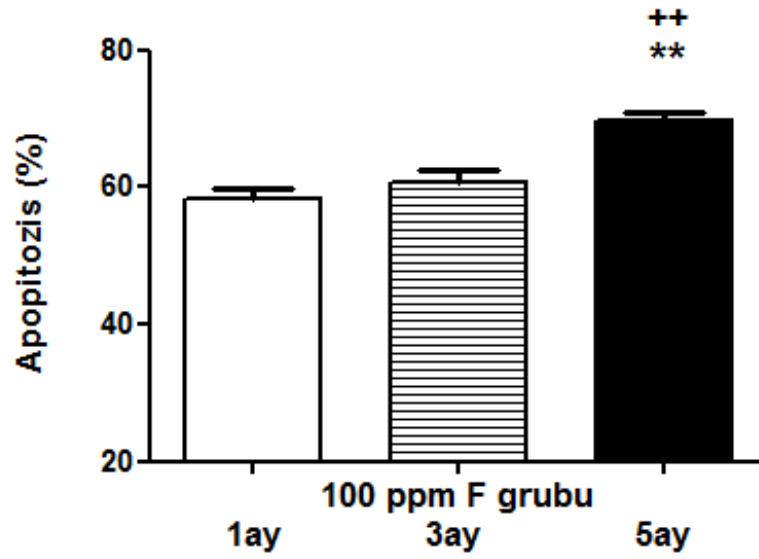
Şekil 60: Kontrol grubu sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Glomerülüs bölgesinde, deney gruplarına göre 30 ppm F gruplarında 1,3 ve 5. Ay apoptotik hücre değerleri şekil 61’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 30 ppm F grubu 5. Ay değerleri, 30 ppm F 1. Ay değerlerine göre ($p < 0.0001$) ve 30 ppm F grubu 5. Ay değerleri, 30 ppm F 3. Ay değerlerine göre ($p < 0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. 30 ppm F grubu 1. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 15) (Şekil 61)



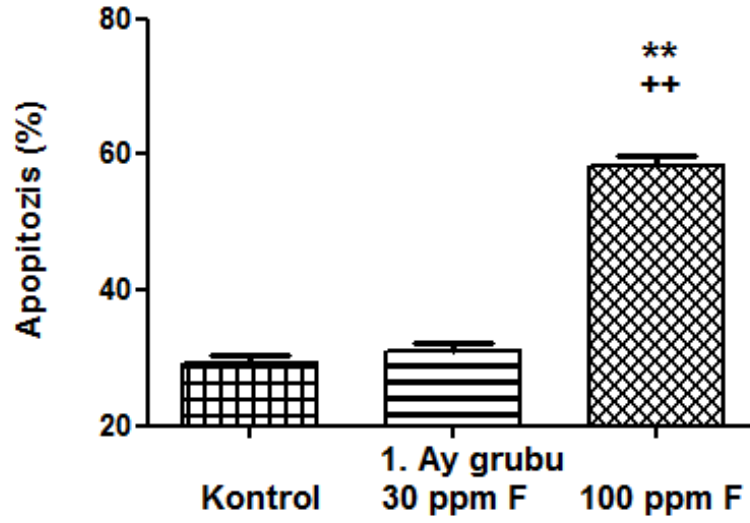
Şekil 61: 30 ppm F grubu sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Glomerülüs bölgesinde, deney gruplarına göre 100 ppm F gruplarında 1,3 ve 5. Ay apoptotik hücre değerleri şekil 62’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 5. Ay değerleri, 100 ppm F 1. Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) ve 100 ppm F grubu 5. Ay değerleri, 100 ppm F 3. Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. 100 ppm F grubu 1. Ay değerleri ile 100 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 15) (Şekil 62)



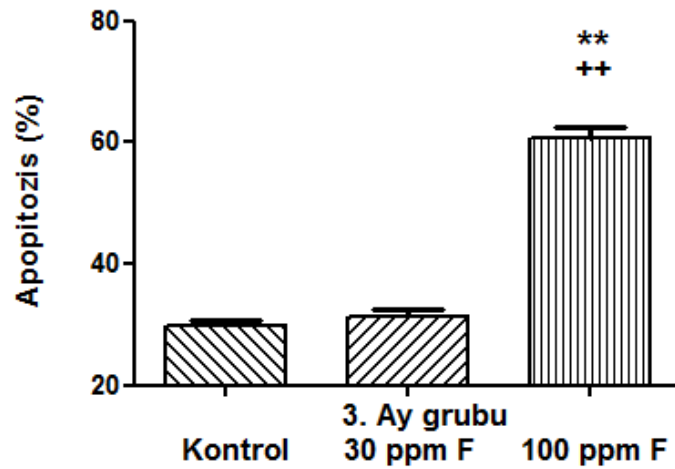
Şekil 62: 100 ppm F grubu sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Glomerülüs bölgesinde, takip sürelerine göre 1. Aydaki Kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F gruplarının apoptotik hücre değerleri şekil 63’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 1. Ay değerleri, Kontrol grubu 1. Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) ve 100 ppm F grubu 1. Ay değerleri, 30 ppm F grupları 1. Ay değerlerine göre anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu 1. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 1. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p>0.05$) (Tablo 15) (Şekil 63)



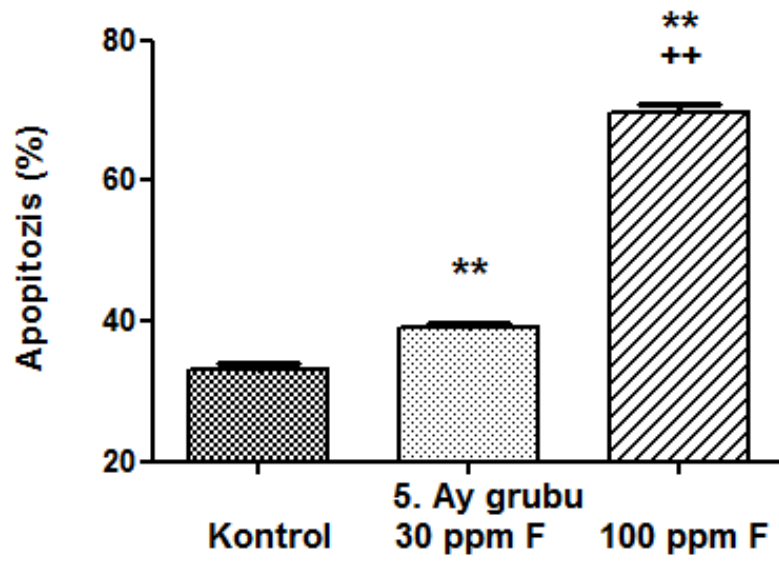
Şekil 63: Takip sürelerine göre 1 aylık sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Glomerülüs bölgesinde, takip sürelerine göre 3. Aydaki Kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F gruplarının apoptotik hücre değerleri şekil 64’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 3. Ay değerleri, Kontrol grubu 3. Ay değerlerine göre ($p < 0.0001$) ve 100 ppm F grubu 3. Ay değerleri, 30 ppm F grubu 3. Ay değerlerine göre ($p < 0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. Kontrol grubu 3. Ay değerleri ile 30 ppm F grubu 3. Ay değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. ($p > 0.05$) (Tablo 15) (Şekil 64)



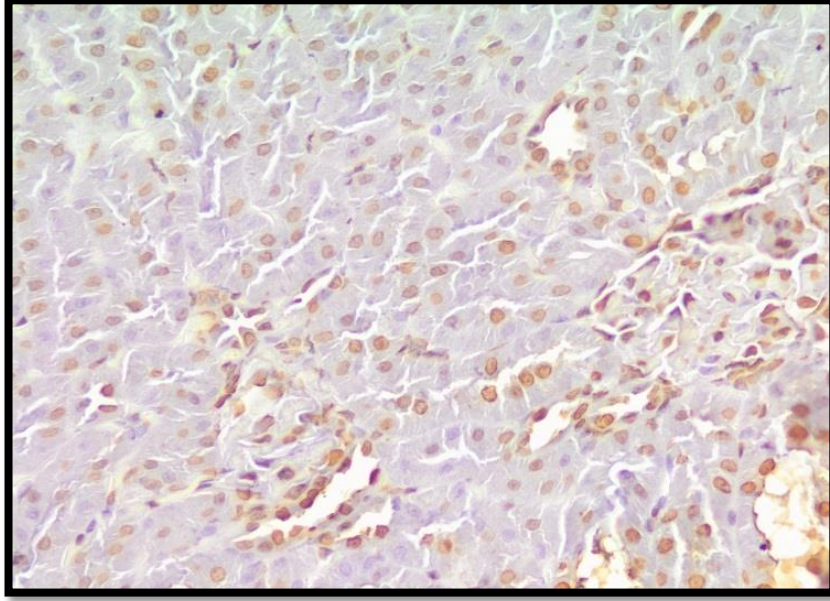
Şekil 64: Takip sürelerine göre 3 aylık sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

Glomerülüs bölgesinde, takip sürelerine göre 5. Aydaki Kontrol, 30 ppm F ve 100 ppm F gruplarının apoptotik hücre değerleri şekil 65’ de gösterilmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. 100 ppm F grubu 5. Ay değerleri, Kontrol grubu 5. Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) ve 100 ppm F grubu 5. Ay değerleri, 30 ppm F grupları 5. Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. 30 ppm F grupları 5. Ay değerleri, Kontrol grubu 5. Ay değerlerine göre ($p<0.0001$) anlamlı şekilde yüksektir. (Tablo 15) (Şekil 65)

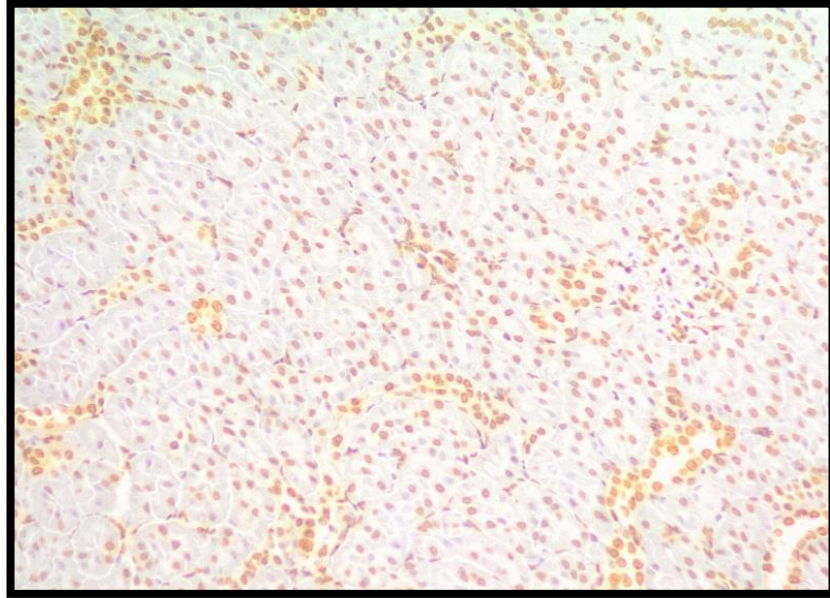


Şekil 65: Takip sürelerine göre 5 aylık sıçanların glomerülüs bölgesine ait apoptotik hücre değerleri

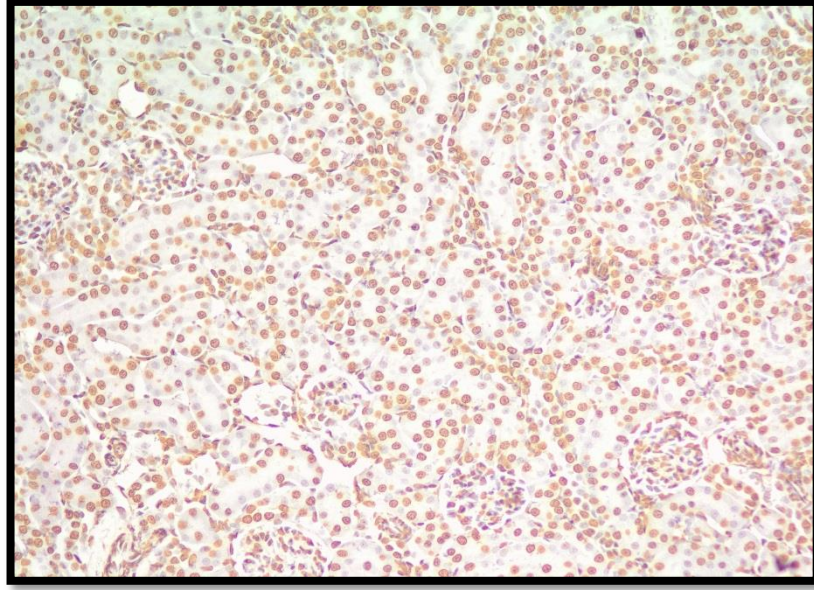
6.2.2. Böbrek Dokularına Ait Kesitler



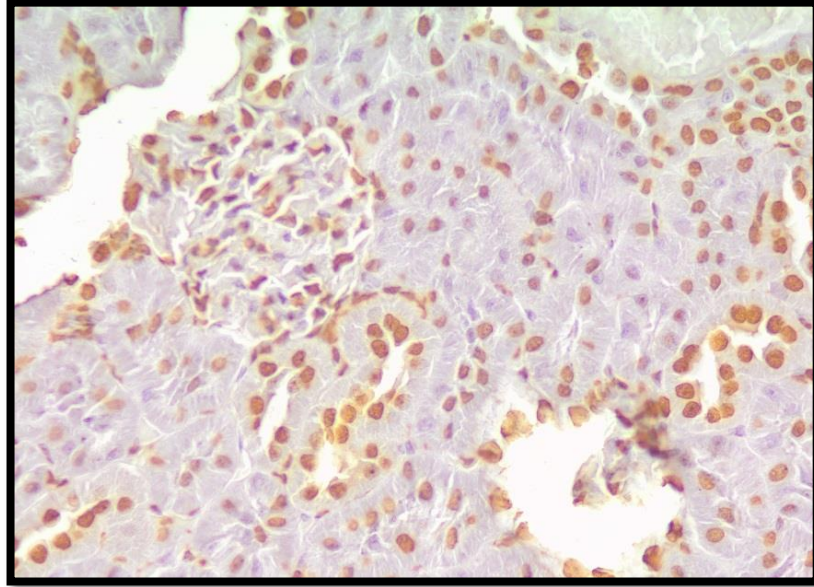
Resim 27: Kontrol 1.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme



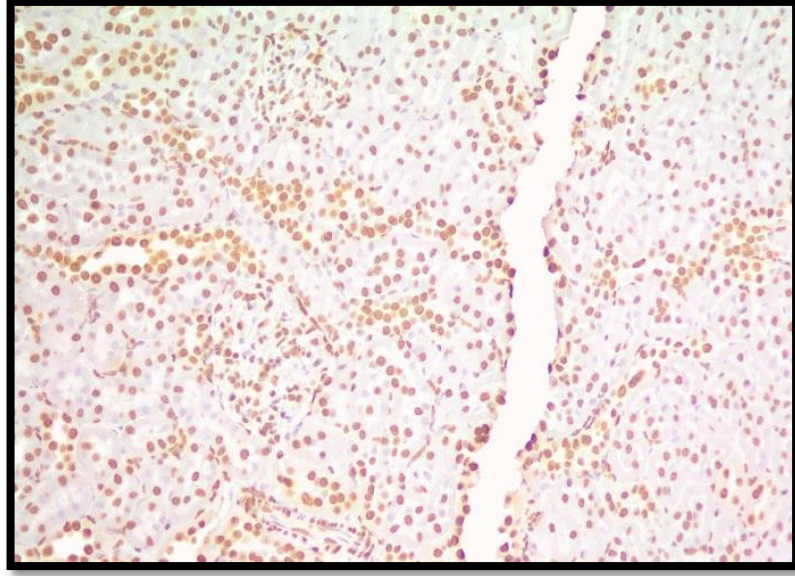
Resim 28: Kontrol 3.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 200 büyütme



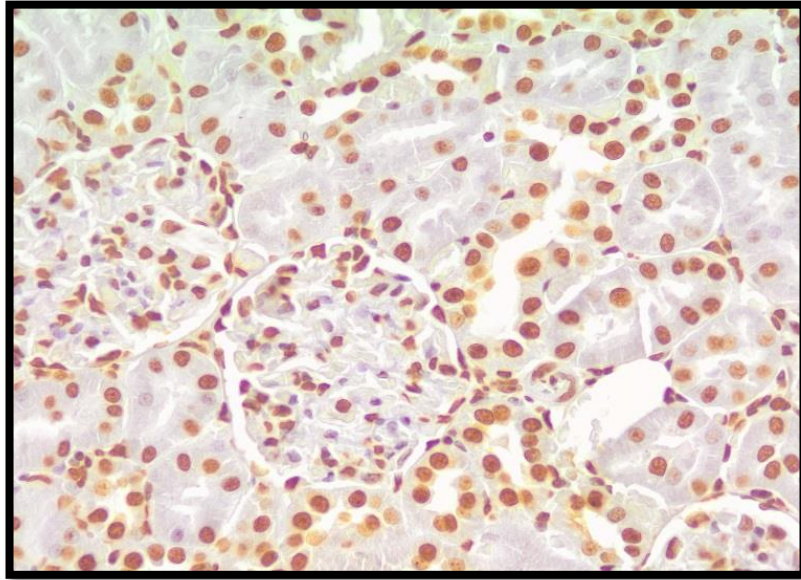
Resim 29: 30 ppm F 1.Ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 200 büyütme



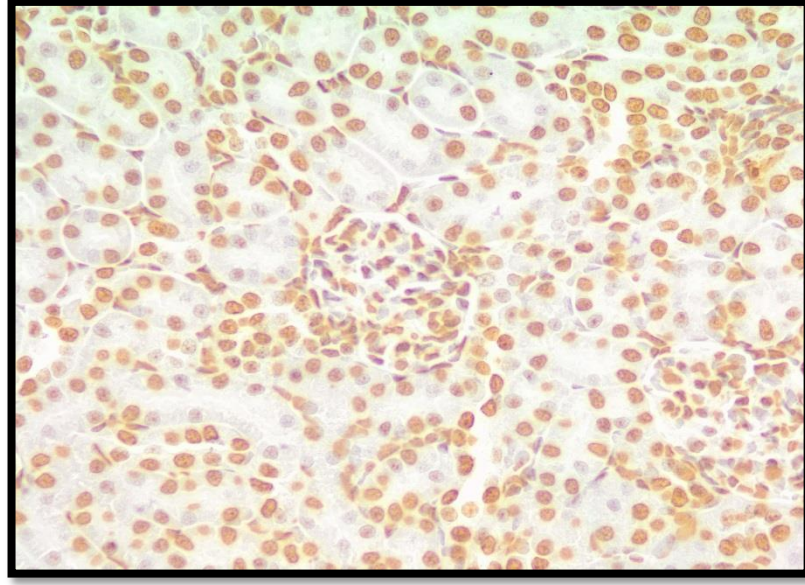
Resim 30: 30 ppm F 3.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme



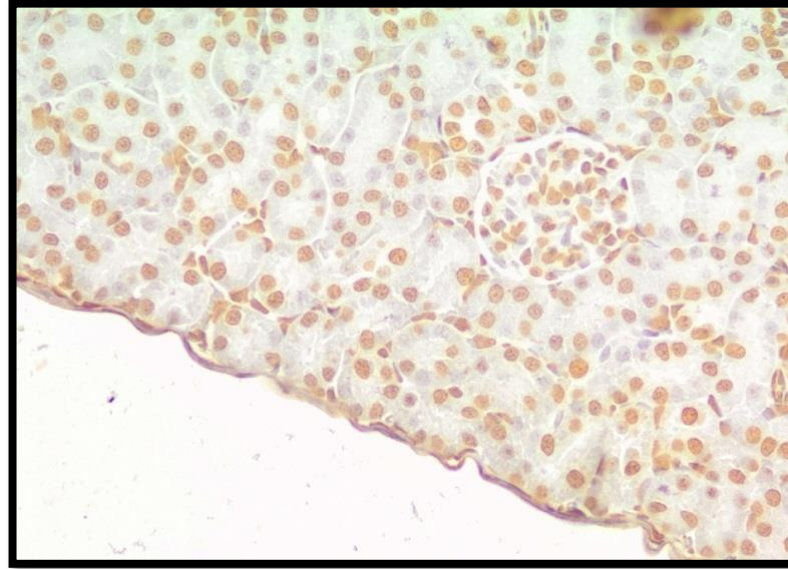
Resim 31: 100 ppm F 1.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 200 büyütme



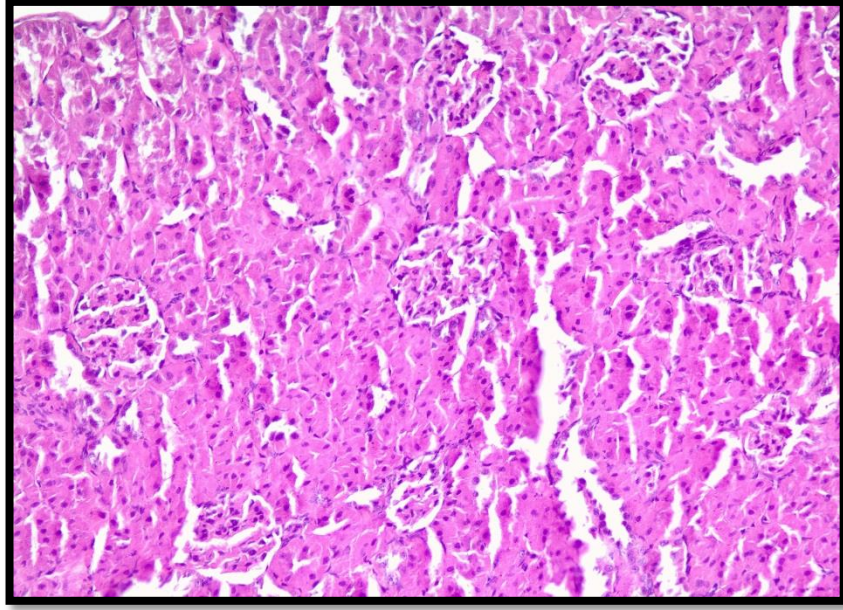
Resim 32: 100 ppm F 3.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme



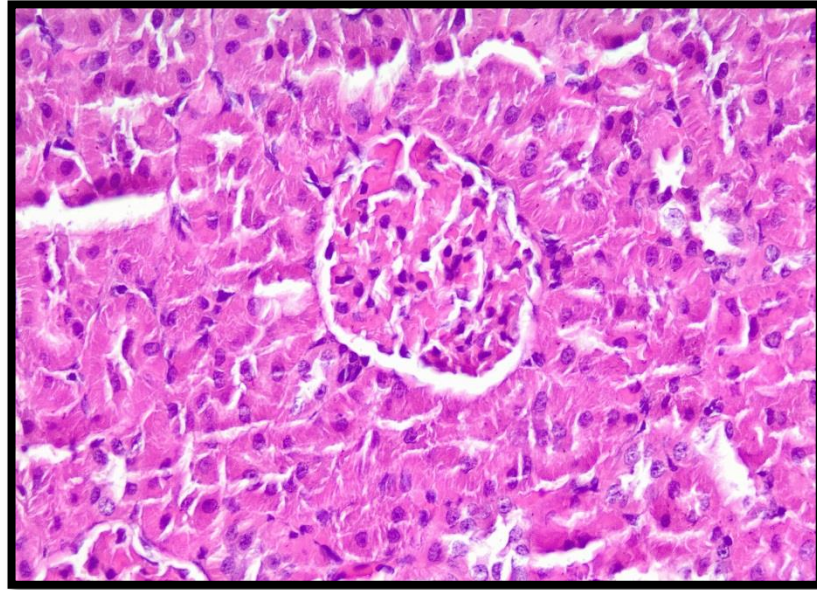
Resim 33: 100 ppm F 5.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme



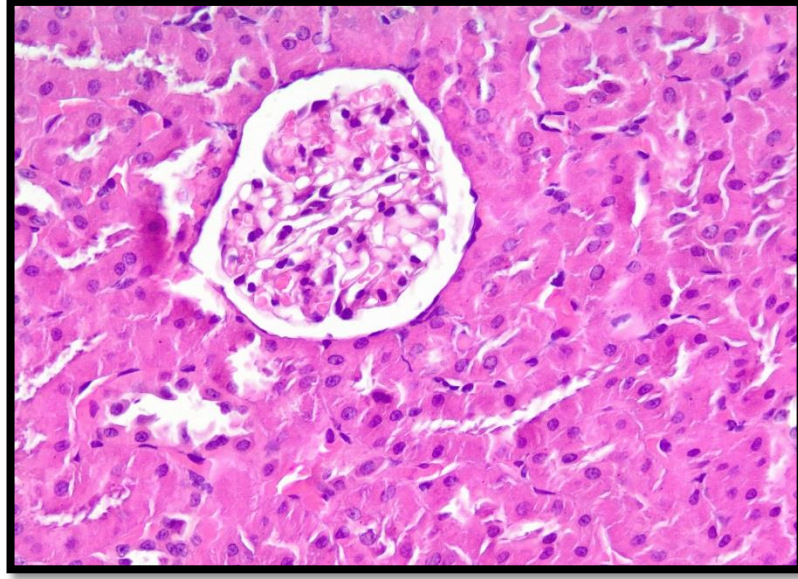
Resim 34: 100 ppm F 5.ay grubu TUNEL yöntemi ile boyanmış apoptotik hücreler x 400 büyütme



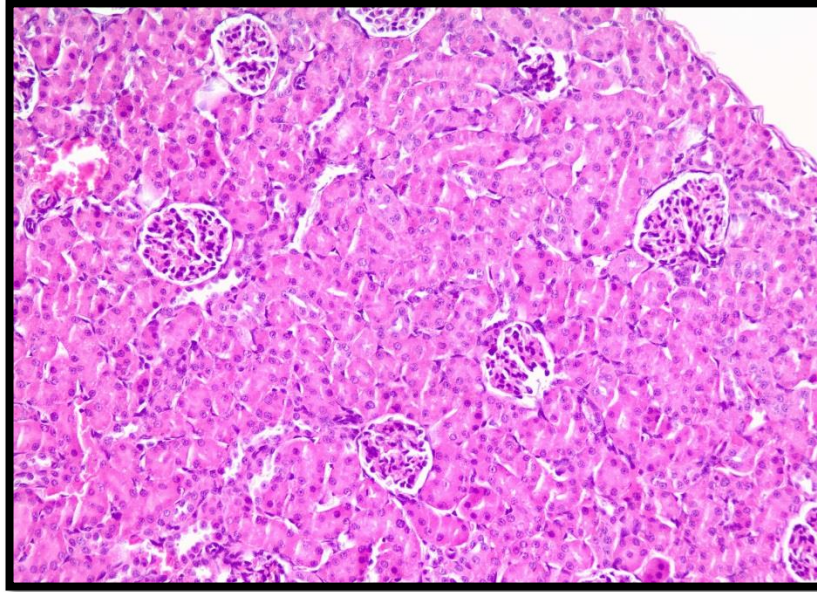
Resim 35: Kontrol 1. ay grubu böbrek dokusu normal glomerülüs ve tubüller yapı
hematoksilen eozin boyama x 200 büyütme



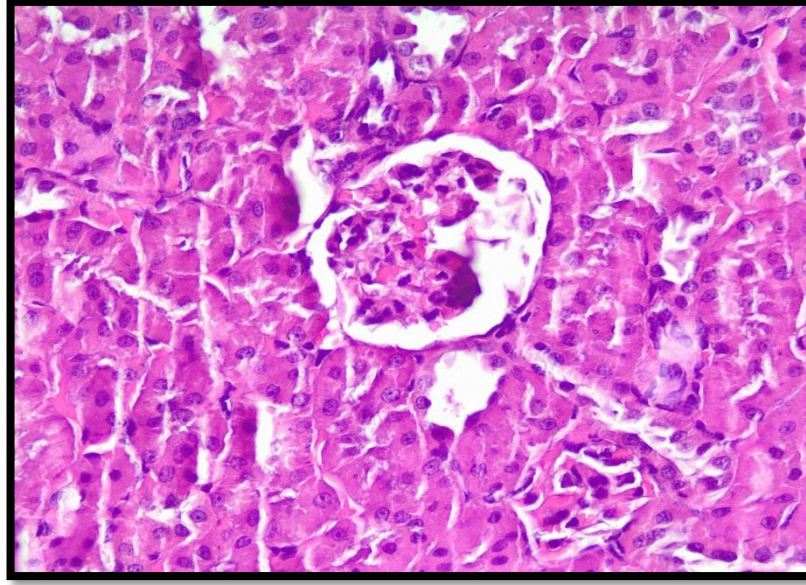
Resim 36: Kontrol 3. ay grubu böbrek dokusu glomerülüs ve tubulus bölgelerinde
normal hücre yapısı hematoksilen eozin boyama x 400 büyütme



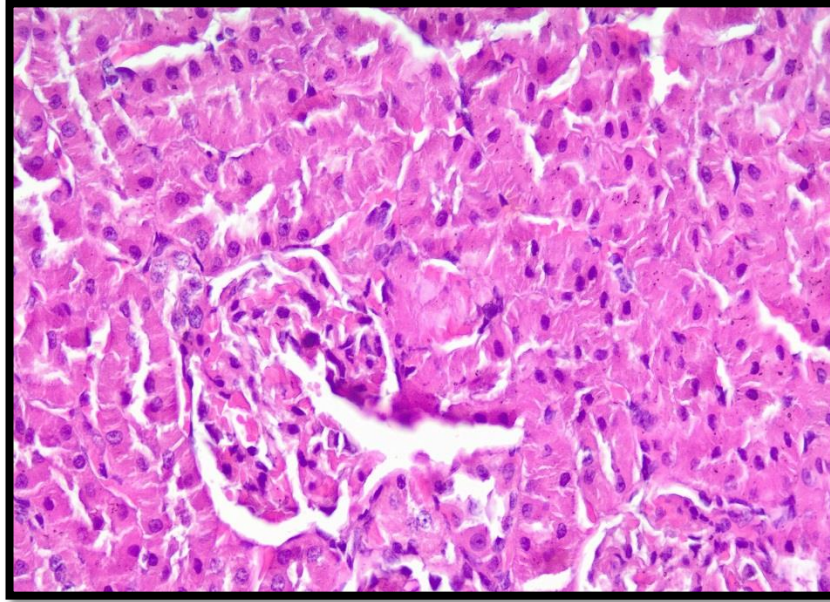
Resim 37: Kontrol 5. ay grubu böbrek dokusu normal glomerülüs ve tubüler yapı hematoksilen eozin boyama x 400 büyütme



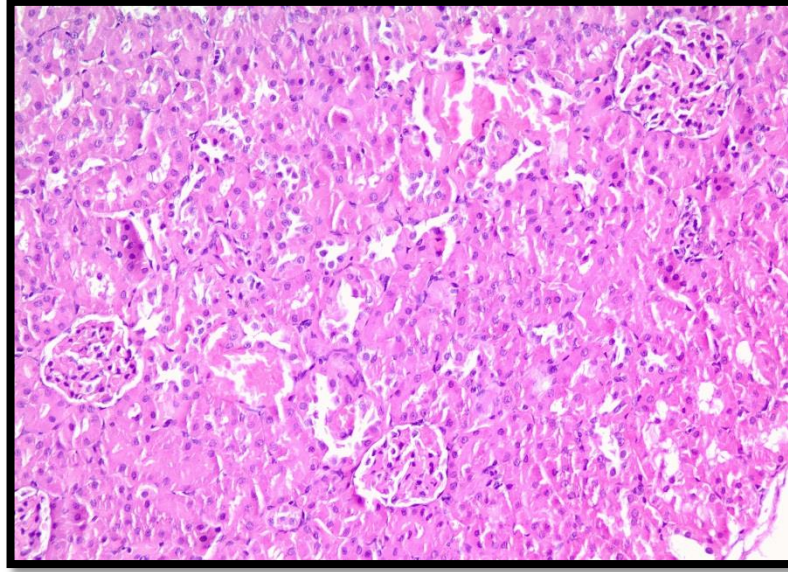
Resim 38: 30 ppm F 1. ay grubu böbrek dokusu normala yakın glomerülüs ve tubulus bölgelerinde normal hücre yapısı hematoksilen eozin boyama x 200 büyütme



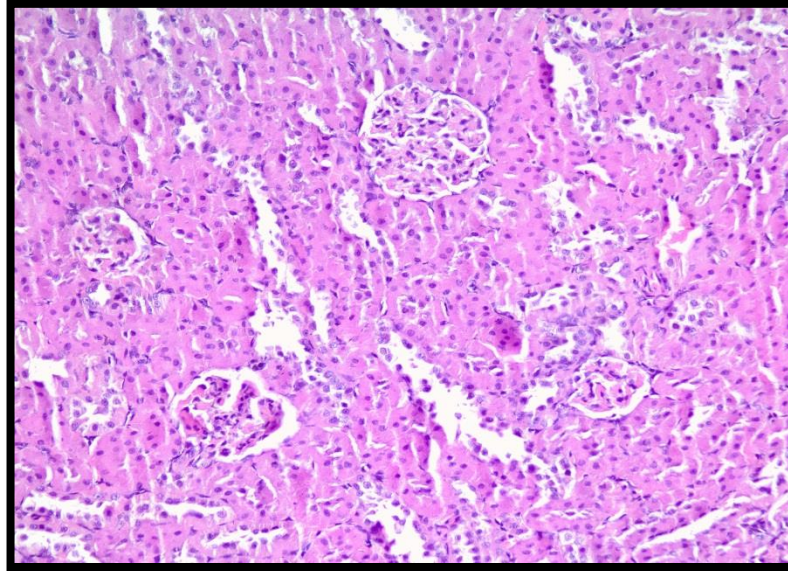
Resim 39: 30 F ppm 3. ay grubu böbrek dokusu glomerülusta hafif derecede atrofi ve konjesyon hematoksilen eozin boyama x 400 büyütme



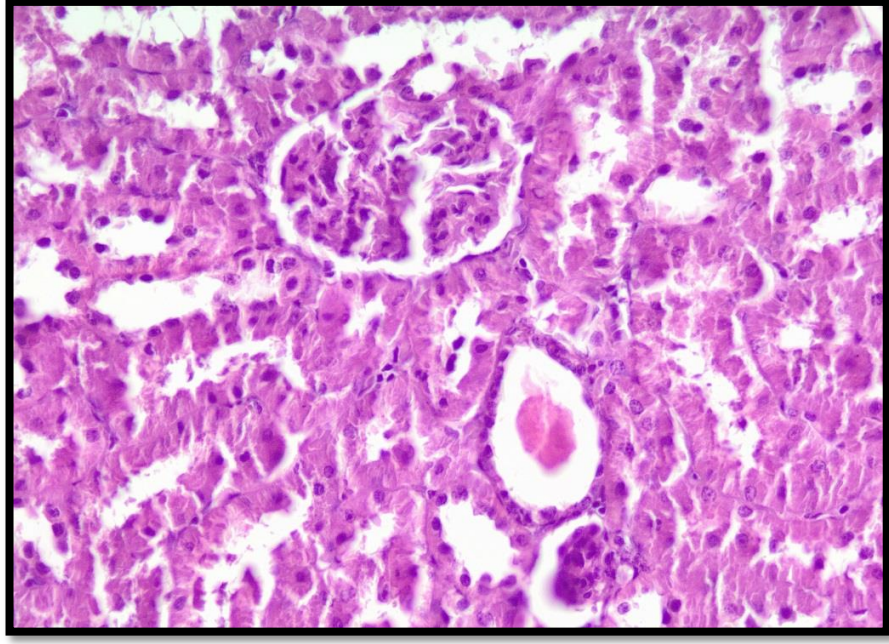
Resim 40: 30 ppm F 5. ay grubu böbrek dokusu glomerülusta hafif derecede konjesyon hematoksilen eozin boyama x 400 büyütme



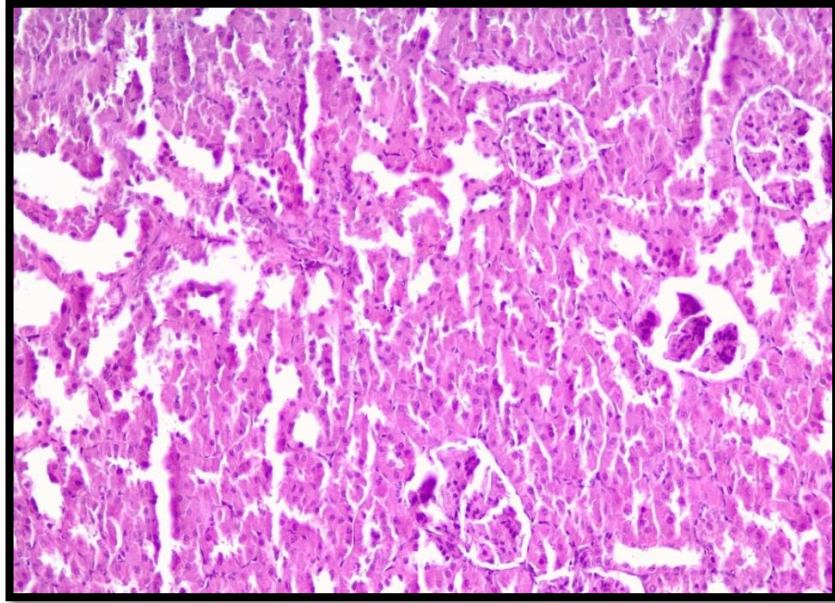
Resim 41: 100 ppm F 1. ay grubu böbrek dokusu glomerülüste hafif atrofi ve vasküler konjesyon hematoxilen eozin boyama x 200 büyütme



Resim 42: 100 ppm F 3. ay grubu böbrek dokusu glomerülüsta atrofi ve tubüler yapıda dilatasyon hematoxilen eozin boyama x 200 büyütme



Resim 43: 100 ppm F 5. ay grubu böbrek dokusu glomerülusta atrofi hematoxilen eozin boyama x 400 büyütme



Resim 44: 100 ppm F 5. ay grubu böbrek dokusu glomerülusta atrofi ve tubüllerde dilatasyon hematoxilen eozin boyama x 200 büyütme

7. TARTIŞMA

Mandibular Kemik Dokularının Tartışması

Gereç ve Yöntem Tartışması

Deney hayvanları diş hekimliği dahil tıbbın tüm branşlarında insanlarda uygulanması mümkün olmayan çalışmalarda kullanılmışlardır (DenBesten ve Thariani, 1992; Shen ve ark, 1997; Everett ve ark, 2002; Rude ve ark, 2005). Kemik doku ve onu etkileyen çevresel ve genetik faktörlerin incelenmesinde benzer gelişim dönemleri gösteren memeli hayvanlar; özellikle sıçan, fare, tavşan; üretilmesi kolay, barınmaları, beslenmeleri kontrol edilebilir ve yaşam döngülerinin kısa olması sebebiyle tercih edilmektedir. Çalışmalar kemik dokusu dahil birçok dokunun insan dokuları ile benzer olduğunu belirtmişlerdir. (Robinson ve Kirkham, 1990; Tanaka ve ark, 1999; Porto ve ark, 2010; Riksen ve ark, 2011).

Jiang ve ark. (2003), osteroporozis vakalarında mandibula kemik kaybını incelemek için yaptıkları çalışmada sıçanları kullanmışlardır. Mavropoulos ve ark. (2004), farklı çiğneme fonksiyonlarının ve mekanik yapısal adaptasyonların mandibula kemik yapısına olan etkilerini gözlemlemek için sıçanları kullanmışlardır. Choi ve ark. (2012), diş eksikliklerinin mandibular kondilin gelişimine etkilerini tespit etmek için çalışmalarında sıçanları kullanmışlardır. Mijares ve ark. (2011), mineral eksikliğinin ve sentetik kemik minerallerinin, çene kemiklerine olan etkilerini yaptıkları çalışmalarda sıçanları incelemişlerdir.

Biz de, F' in kemik dokusunda meydana getirebileceği etkileri değerlendirmek için araştırmamızda sıçanları kullandık. Dokularını kullandığımız aynı hayvanlar ile yapılan daha önceki tez çalışmasında sistemik olarak verilen F' in diş dokularına etkileri ortaya konmuştur (Güner, 2012). Yine bu çalışma, insandakine benzer etkiyi yakalamak için sıçan ve farelerde alınması gereken sistemik F miktarının insandakinin yaklaşık 10 katı kadar fazla olması gerektiğini göstermiştir.

Eduardo ve ark. (2006), deney hayvanlarında glenoid fossa ve mandibular kondil gelişimini mikro tomografi yöntemi ile incelerken, deney hayvanlarından diseke edilen kemik dokularını, yumuşak dokulardan temizlendikten sonra % 10'luk formol solusyonunda muhafaza etmişlerdir.

Biz de çalışmamızda mandibula dokularını, yumuşak dokularından arındırdıktan sonra % 10'luk formol solusyonlarında sakladık.

Kemik doku ile ilgili deney hayvanları çalışmalarında, kemikte meydana gelen değişiklikleri gözlemlemek ve değerlendirmek için bir çok yöntem vardır. Kemik mineral yoğunluğunu incelemek için konvansiyonel radyografiler, ultrasonografiler, manyetik rezonans (MR), foton absorbsiyometri, fotodansitometri ve tomografi gibi birçok teknik olarak mevcuttur (Levis ve Altman, 1998; Jett ve ark, 2004; Ib   ez, 2009).

Yapılan çalışmalarda elde edilen sayısal görüntüler üzerinde dansitometrik analiz yapılması amacı ile geliştirilmiş bir yazılım kullanımı ve dansitometrik ölümlerde kullanılan gri düzey skala sayesinde ölümler sırasında ortaya çıkabilecek, araştırmacıya ait subjektif bulgular yerine objektif sayısal veriler elde edilmiştir. Bu tekniklerin ve dansite ölümü amacı ile kullanılan yazılımların bu tip çalışmaların güvenilirliğini arttırdığı ve yapılan çalışmaların başka araştırmacılar tarafından da benzer sonuçlar ile tekrarlanabilmesini mümkün kıldığı yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Van der Stelt, 1993; Ay ve ark., 2005).

Engelke ve ark. (1993), Augat ve ark. (1998), Laib ve ark. (2000), Roschger ve ark. (2001), Nuzzo ve ark. (2002), Mulder (2004), Monjo (2008), Farah ve ark. (2010), bilgisayarlı mikro tomografi yönteminin mineral y  ğunluğunu göstermede hassas ve etkin bir yöntem olduğunu bildirilmişlerdir.

Cooper ve ark. (2003), Fanuscu ve Chang (2004), Morinaga ve ark. (2009), Ohashi ve ark. (2010), Rebaudi ve Benedicenti (2010), bilgisayarlı mikro tomografi yönteminin mandibula kemik dokusunun üç boyutlu mikro yapısını ve kemik mineral

dansite değişikliklerini incelemeye oldukça elverişli ve uygun bir teknik olduğunu belirtmişlerdir.

Ib  ez (2009), kemik dokunun ideal dansitometrik ölümü; çabuk uygulanabilir ve güvenilir olmalı, kişiye düşük oranda ışına maruz bırakmalı, az hata payına sahip olmalı, kırık riski konusunda fikir verebilmeli, trabeküler ve kortikal olarak kemiği ayrı ayrı değerlendirebilmeli ve tedavinin etkinliğinin takibinde güvenli olarak kullanılabilmesi gerektiğini vurgulamıştır.

Son yıllarda yüksek   z  n  rl  kl   mikro bilgisayarlı tomografilerin kullanımı sayesinde, insan ve hayvan numunelerinin kortikal ve trabeküler kemik dokularının morfolojik incelenmesinde çok büyük avantajlar elde edilmiştir. Günümüzde birçok ticari firmanın sağladığı mikro bilgisayarlı tomografi sistemlerinin varlığı sayesinde, görüntü elde etmede, görüntülerin işlenmesi ve değerlendirilmesi için bir çok yaklaşım imkanı vardır. Bilgisayarlı mikro tomografi yöntemleri araştırmacılara kemik dokularının üç boyutlu yapılarını incelemeye, kemik dokularının histomorfolojik değerlendirmelerinde ve incelenen örneklerin iki ve üç boyutlu rekonstrüksiyonlarını oluşturma imkanı vermektedir. Bilgisayarlı mikro tomografi yöntemlerinin en büyük avantajları arasında kısa zaman sürmesi, incelenen dokuların yapısal bütünlüklerine zarar vermemesi, nicel ve doğru bir değerlendirme sağlamasıdır (Rhee, 2009; Rebaudi ve Benedicenti, 2010).

Moon ve ark. (2004) ve Kwon ve ark. (2006), trabeküler kemik dokularının incelemesinde, bilgisayarlı mikro tomografi'nin iki boyutlu görüntüleme sistemlerine göre daha çok detay verebildiğini belirtmişlerdir.

Biz de çalışmamızda kontrol ve deney grubundaki sıçanların kemik mineral yoğunluklarını tespit etmek ve değerlendirmek için mikro bilgisayarlı tomografi yönteminden faydalandık.

Trabeküler kemik yapı, kortikal kemik dokuya göre daha yüksek bir metabolik aktiviteye sahip olduğundan, trabeküler kemik dokunun durumunun

değerlendirilmesi daha önceliklidir. Trabeküler kemik, iskelet sisteminin %20'sini oluşturmaya rağmen, kemik döngüsünün %80'inden sorumludur. İskelet sisteminin %80'ini oluşturan kortikal kemiğin kemik döngüsüne olan katkısı ise, %20'dir. Bu oranlar, kemik döngüsünde meydana gelen olayların sonucunda gelişen fluorozisin etkilerinin, ilk önce ve yoğun olarak trabeküler kemikte gelişmesini açıklamaktadır (Ziegler, 1995; Marcus, 1996; Ganong, 1997; Juul, 2001). Kemik dokularında meydana gelen kemik döngüsü kortikal kemiğe nazaran trabeküler kemikte daha çok gerçekleşmektedir. Trabeküler kemiklerde osteoblastik ve osteoklastik aktivite ve dolayısıyla kemik döngüsünün kortikal kemikte meydana gelenden çok daha hızlı ve fazladır (Beaupré ve ark., 1990). Wahner (1989), Levis ve Altman (1998), Phillips ve Phillipov (2006), kemik mineral dansitesi ölçümlerinde, kemik döngüsünün yüksek olduğu trabeküler kemik bölgesi incelemelerinin daha uygun olduğunu göstermişlerdir.

Tanck ve ark. (2001) ve Mulder ve ark. (2004), trabeküler kemiğin mikro yapısını incelemede ve kemik mineral dansitesinin değerlendirilmesinde bilgisayarlı mikro tomografi yönteminin çok etkin bir non invaziv bir teknik olduğunu belirtmişleridir. Mulder ve ark. (2006), Renders ve ark. (2006), kemik dokuda mineralizasyon değerlerinin incelenmesi için mikro bilgisayarlı tomografi teknikleri ile trabeküler kemik yapısının incelenmesini önermişlerdir.

Biz de çalışmamızda mandibula dokularında meydana gelen değişiklikleri incelerken trabeküler kemik yapısını değerlendirdik.

Monjo ve ark. (2008), Lee ve ark. (2010), Heng-Li ve ark. (2011), Kusu ve ark. (2013), deney hayvanlarıyla yaptıkları çalışmalarda kemik mineral yoğunluğunu değerlendirmek için mikro bilgisayarlı tomografi tekniğini tercih etmişleridir ve Skyscan 1174 (Skyscan, Kontich, Belçika) mikro bilgisayarlı tomografi cihazını kullanmışlardır.

Biz de araştırmamızda, kemik dokularının mineral yoğunluklarını tespit etmek ve değerlendirmek için Monjo ve ark. (2008), Lee ve ark. (2010), Heng-Li ve ark.

(2011), Kuscı ve ark. (2013) gibi Skyscan 1174 mikro bilgisayarlı tomografi cihazını kullandık.

Hui Xiong ve ark. (2005), sıçanların kondil gelişimini ve vaskülarizasyonunu incelemek amacıyla mikro bilgisayarlı tomografi yönteminden faydalanmışlardır. Bu çalışmada kondil kemiğinin tomografik taramalarında dokular akrilik bloklara gömölüp fikse edildikten sonra mikro tomografi cihazına tatbik edilmiştir.

Biz de çalışmamızda sıçanların mandibula dokularını mikro tomografi cihazına tatbik etmeden önce numunelerimizi akrilik bloklara gömerek muhafaza ettik.

Renders ve ark. (2007), Mary ve ark. (2010), mikro bilgisayarlı tomografi analizleri sırasında düşük doz x ışınlarının emilimini sağlayarak meydana gelebilecek beam hardening görüntü hatalarını önlemek için alüminyum plak filtre kullanılmasını önermişleridir.

Biz de çalışmamızda, beam hardening görüntü hatalarını önlemek için üretici firmanın önerdiği 0,5 mm kalınlığında alüminyum plak kullandık.

Choi ve ark. (2012), sıçanların kondil bölgesinde kemik mineral yoğunluğunu incelemek için mikro tomografi yönteminden faydalanmışlardır ve kondil bölgesinde kortikal kemiği ölçüm dışı bırakarak trabeküler kemiğin koronal yönde 4 adet kesit resmini alarak, yüzey alanını değerlendirmişleridir.

Biz de çalışmamızda Choi ve ark. (2012) uyguladığı yöntem kullanılarak mandibula kondil ve angular çıkıntı bölgelerinde koronal yönde 4 adet kesit resmi aldık, alınan kesitlerde sadece trabeküler kemik hattı tespit ettik, kortikal kemik ölçüm dışı bırakarak, yüzey alanı olarak ölçüm yaptık.

Lee ve ark. (2010), mandibula korpusunun kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesi için ayrı ayrı birinci ve ikinci molar dişlerin furkasyon bölgelerinden koronal yönde 3 adet kesit alarak kortikal kemiği ölçüm dışı

bırakmışlardır. Trabeküler kemiğin mineral yoğunluğunu kesici diş dahil edilerek değerlendirmişlerdir.

Biz de çalışmamızda Lee ve ark. (2010) uyguladığı yöntem kullanılarak koronal yönde 3 adet kesit resmi aldık, kortikal kemik ölçüm dışı bırakılıp, alınan kesitlerde sadece trabeküler kemik hattını tespit etik ve kalan bölge önce korpus içindeki kesici diş dahil ederek yüzey alanı olarak ölçüm yaptık.

Mavropoulos ve ark. (2004), mandibula korpusunun kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesi için ayrı ayrı birinci ve ikinci molar dişlerin furkasyon bölgelerinden koronal yönde 3 adet kesit alarak kortikal kemiği ölçüm dışı bırakmışlardır. Trabeküler kemiğin mineral yoğunluğunu kesici diş dahil etmeden değerlendirmişlerdir.

Biz de çalışmamızda Mavropoulos ve ark. (2004) uyguladığı yöntem kullanılarak koronal yönde 3 adet kesit resmi aldık, kortikal kemik ölçüm dışı bırakılıp, alınan kesitlerde sadece trabeküler kemik hattını tespit etik ve kalan bölge önce korpus içindeki kesici diş dahil etmeyerek yüzey alanı olarak ölçüm yaptık.

Mirajes ve ark. (2011), mandibula korpus bölgesinde trabeküler kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesi için mandibular birinci ve ikinci molar dişlerin kökleri arasında kalan septum bölgesi trabeküler kemiğin en üst; orta ve en alt noktası olmak üzere 3 ayrı noktadan sagittal yönde 3 kesit resmi alınarak analiz etmişleridir.

Biz de çalışmamızda mandibula korpus bölgesinde trabeküler kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesi için Mirajes ve ark. (2011) uyguladığı yöntem kullanılarak mandibular birinci ve ikinci molar dişlerin kökleri arasında kalan septum bölgesi trabeküler kemiğin en üst; orta ve en alt noktası olmak üzere 3 ayrı noktadan sagittal yönde 3 kesit resmi alarak değerlendirme yaptık.

Mulder ve ark. (2007), deney hayvanlarıyla yaptıkları bir çalışmada gelişmekte olan trabeküler kemiğin mineralizasyonunu mikro bilgisayarlı tomografi ile incelemişlerdir ve bu çalışmada kemik mineral yoğunluğunun değerlendirilmesinde hidroksi apatit fantom modellerden faydalanmışlardır. Monjo ve ark. (2008) ve Esther ve ark. (2010), üç boyutlu mikro tomografi taramaları ve rekonstrüksiyon çalışmaları tamamlandıktan sonra kemik mineral yoğunluğu tespiti ve örneklerin kalibrasyonunu incelemek için yoğunlukları 0,75 ve 0,25 gr/cm³ olan iki adet hidroksi apatit fantom model kullanılmışlardır.

Biz de çalışmamızda bütün dokuların üç boyutlu mikro tomografi taramaları ve rekonstrüksiyon çalışmaları tamamlandıktan sonra kemik mineral yoğunluğu tespiti için hidroksi apatit fantom modeller kullandık ve araştırmamızda örneklerin kalibrasyonunu incelemek için yoğunlukları 0,75; 0,25; 0,0238 ve 0,0033 gr/cm³ olan dört adet hidroksi apatit fantom model kullanılmış olup standardizasyonu sağlamak amacıyla bu modellerin de mikro tomografik taramaları için dokuların tomografik taramalarında kullanılan aynı parametreleri seçtik.

Lee ve ark. (2010), Heng – Li ve ark. (2011) ve Kuscı ve ark. (2013), doku örneklerinden ve hidroksi apatit fantom modellerden elde edilen kesitlerdeki kemik mineral yoğunluklarının kıyaslanması ve değerlendirilmesi üretici firmanın sağladığı CT-analyser (Skyscan, Belçika) yazılım programıyla yapmışlardır.

Biz de çalışmamızda doku örneklerinden ve hidroksi apatit fantom modellerden elde edilen kesitlerdeki kemik mineral yoğunluklarının kıyaslanması ve değerlendirilmesi üretici firmanın sağladığı CT-analyser (Skyscan, Belçika) yazılım programıyla yaptık.

Mandibula Mikro BT Bulgularının Tartışması

Yaptığımız literatür taramasında mandibulanın değişik bölgelerinde mikro bilgisayarlı tomografi bulgularını araştıran kısıtlı sayıda çalışmaya rastladık. Araştırmalar genellikle mandibula dokusunun tek bir bölgesine yönelik çalışılmıştır. Sadece Mijares ve ark. (2011), sıçan mandibulasının değişik bölgelerindeki kemik yoğunluğuna mikro BT kullanarak bakmışlardır. Alveol kretindeki mineral

dansitesinin mandibulanın diğer bölgelerindeki dansite değerlerinden daha yüksek bulmuşlardır.

Biz de araştırmamızda, mandibulanın farklı bölgelerindeki kemik yoğunluklarına baktığımızdan, her bölgenin bulunduğu konumla alakalı farklı mineral yoğunluğuna sahip olduğunu gördük. En yüksek değerler, Mijares ve ark. (2011) uyumlu olarak her üç grupta da septum değerleri olmuştur. Bunun nedeni bu bölgenin alan değil noktasal ölçüm ile elde edilmesinden olabileceği gibi okluzal basınca en çok maruz kalan bölge olma nedeniyle daha yoğun bir kemik dansitesi göstermesi de söz konusu olabilir. Biz ayrıca kondil bölgesindeki mineral yoğunluğunun angular ve korpus bölgesindeki yoğunluktan fazla olduğunu tespit ettik. Bu nedenle mineral yoğunluğu ile kemiğe gelen kuvvet arasında bir ilişki olduğu düşüncesindeyiz. Bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Yapısal karakteri yüzünden F⁻ in mineralize dokulara yüksek affinitesi vardır. F iyonlarının organizmada temel retansiyon bölgeleri diş ve kemik gibi mineralize dokulardır.

F ile kemik doku arasındaki metabolizma ve fizyolojik ilişki 1960 yıllardan beri incelenmektedir. Singh ve ark. (1962), içme sularında F⁻ in yüksek miktarda bulunduğu endemik fluorozis bölgelerinde iskeletsel değişikliklerin meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Shantakumari ve Subramanian (2007), uzun süre ve yüksek miktarda F alınımına bağlı olarak iskeletsel fluorozis geliştiğini belirtmişlerdir.

Jowsey ve Kelly (1968), Parsons ve ark. (1977), F tedavilerinde, kemik matriksinde mineralizasyon gecikmesi ve mineralizasyon bozukluğu meydana geldiğini belirtmişlerdir. Bu olumsuz etkileri azaltmak için araştırmacılar, tedavilerde F ek olarak kalsiyum ve D vitamini de destek amaçlı verilmesini önermişlerdir. Kalsiyum, sekonder hiperparatiroidizm ve F etkisiyle oluşan kemik rezorpsiyonunu önlerken, D vitamini ise F⁻ in neden olduğu mineralizasyon gecikmesini dengeleyebildiğini vurgulamışlardır. Reuter ve Siebenmann (1970), F ile osteoporoz arasındaki ilişkiyi

incelemiş ve yüksek miktarlarda F alımının kemik dokuda anormal histomorfolojik yapı gözlemlenmiştir. Düzensiz yapıdaki osteositlerin arttığını, kemik dokuda lakünlerin genişlediğini ve kemik matrix yapısında bozulmalar oluşması sonucu kemik mineral dansitesinde azalma meydana geldiğini belirtmiştir. Jowsey ve ark. (1972), 40 ppm altında F dozlarının kemik mineralizasyonuna olumlu bir etkisi olmadığını ancak 80 ppm ve üzerindeki F dozlarında ise kemik mineral yoğunluğunun azalacağını ve bunun sonucunda bozulmuş mineralizasyon ve benekli kemik formasyonu oluşacağını belirtmiştir. Bu nedenle terapötik F tedavilerinde 40 ve 80 ppm arası F dozlarını önermişlerdir.

Jowsey ve ark. (1972), Michael Kleerekoper and Raffaella (1991), yüksek doz F' in kemik dokuda yeni kemik oluşumunu uyardığını ancak zayıf bir mineralizasyona neden olduğunu ve osteomalazi ve sekonder hiperparatiroidizme yol açtığını bildirmişlerdir. Bu olumsuz yan etkileri önlemek için yaptıkları bu çalışmada günlük 50 mg NaF ile beraber günlük 900 mg kalsiyum ve haftada iki defa 90000 ünite D vitamini tüketimi ile yeni kemik oluşumu artırılabilirliği ve osteomalazi ve kemikte rezorpsiyonun önlenilebileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca yapılan bu çalışmada yüksek miktarda F alımının kemik mineral dansitesini azalttığı ve kemik yapıda morfolojik anomalilere bunlara örnek olarak "mottled bone" yani benekli kemik yapımına neden olduğunu belirtmişlerdir.

Endemik iskeletsel fluorozis tablosunda, kemik büyüme aşamasında ya da yeniden yapılanma aşamasının çeşitli periyotları sırasında genellikle oral yol ile aşırı miktarda F alımı söz konusudur. Dünyada en az 20.000.000 insanın çeşitli derecelerdeki iskeletsel fluorozisten etkilendiği düşünülmektedir. Endemik iskeletsel fluorozis tablosu, osteopeni osteoporoz, osteoskleroz gibi geniş iskeletsel bulgular ile sakatlayıcı deformiteler spinal kord kompresyonları ve eklemlerde hipertrofi ve artrite benzer kemik olayları ile karakterizedir (Reid, 1977; Krishnamachari, 1986; Boivin, 1989; Kaminsky ve Mahoney, 1990; Fejerskov, 1996; Bowen, 2002; Bartlett, 2005; Yıldız, 2003).

Christie (1980) ve Wang (2007), yüksek miktarlarda F' e alınımının iskeletsel fluorozise neden olduğunu ve osteoskleroz, osteopeni ve osteomalazinin meydana gelebildiğini belirtmişlerdir.

Farley ve ark. (1983), Hall (1987) ve Aaron ve ark. (1991), mekanizmasının çok açık ve net olmamasına rağmen sodyum florid (NaF) alınımının yeni kemik kütlesinin arttırdığını belirtirken; Carter ve Beaupre (1990), Riggs ve ark. (1990), Sogaard ve ark. (1994) NaF'in kemik kütlesini arttırdığını ancak yeni oluşan kemik dokunun yapısını ve sağlamlığını azalttığını belirtmişlerdir.

Fluorozis tablosunda meydana gelen mineralizasyon defektleri, mineral depozisyon oranında azalma ve mineralizasyon zamanının gecikmesi ile meydana gelmektedir. F toksisitesi, kemikte zayıf mineralizasyon alanlarının ortaya çıkması sonucu meydana gelen mekanik kemik defektleri ile karakterizedir (Farley, 1983; Kaminsky, 1990; Gruber, 1991; Pak, 1995; Rosen, 2001).

Schnitzler ve Solomon (1985), Orcel ve ark. (1990), Haguenaer ve ark. (2000), osteoporoz tedavisinde düşük doz F (günlük < 20 mg) kullanımının etkilerini incelemişlerdir. Osteoporoz tedavisinde düşük doz F tedavilerinin kullanımı ile omurga ve kalça kemiklerinde kemik mineral dansite artışının sağlandığı ve bu sayede vertebral kemik kırılmalarında %72 ve diğer kemik kırılmalarında ise % 48 azalma görülmüştür. F' in yan etkilerini ve kemik kırılma oranlarını azaltmak için osteoporoz tedavilerinde düşük doz F ile beraber D vitamini ve kalsiyum destekli tedavilerin de önerilebileceği bildirilmiştir. Pascale (1990), F' in kemik doku üzerinde olan etkilerini inceleyen çalışmaları kapsayan bir derlemesinde, F' in yeni kemik oluşumunu teşvik ettiğini, yeni oluşan osteoid ve osteoblast sayısında artışa neden olduğunu, yapılan bir çok çalışmada hiperparatiroidizme, yine birçok çalışmada kemik matrix yapısında meydana gelen modifikasyonlardan yada düşük kalsiyum alınımından dolayı mineralizasyonda azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu derlemede incelenen çalışmalar F' in yeni osteoblast üretimini uyardığını ancak yüksek doz F alınımının bu osteoblastların aktivitelerini azalttığı vurgulanmıştır.

Gryn timer (1990), Gryn timer ve Rey (1992), Mousny ve ark. (2008), F iyonunun kemik mineralizasyonunu geciktirdiğini ve kemik kristal yapısını olumsuz yönde etkilediğini yüksek doz F alınınının yeni oluşan kemik dokusunun mineralizasyonunu geciktirmek ve yavaşlatmak suretiyle olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir.

Aaron ve ark. (1991), S gaard ve ark. (1995), Turner ve ark. (1995), trabeküler kemikte, F' in kemik hacmini ve trabeküler yapının kalınlığını trabeküler bir bağlanabilirlik olmadan arttırdığını bu nedenle F' in, kemik kütlesi artarken kemik kalitesinin azalmasına neden olduğunu vurgulamıştır.

Gruber (1991) ve Rosen (2001), iskeletsel fluorozis tablosunda kemik dokusuna ait mineralizasyon defektleri bu patolojiye spesifik olmayıp aynı zamanda; renal yetmezliklerde, D vitamini ile tedavi edilmiş osteomalazide, raşitizm hastalığında ve osteoporozde de görülebildiğini belirtmişlerdir.

Fratzl ve ark. (1994), menapoz sonrası osteoporoz tedavisinde kullanılan F' in yeni kemik oluşumunda meydana getirdiği etki incelenmiştir. 1-2 yıl arayla günlük 60 mg NaF kullanan hastalardan alınan kemik biopsileri analiz edilmiş, kemik kütlesinde ve kemik yapım döngüsünde artış meydana gelirken yeni oluşan kemik yapısında geniş kemik kristalleri meydana gelmiştir. Oluşan bu geniş kemik kristalleri, kemiğin biyomekanik özelliklerini artırmadan kemik mineral yoğunluğunun artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle F alınınının patolojik bir kemik mineralizasyonuna neden olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan bir çalışmada ise 4 yıl boyunca günlük 75 mg NaF ve plasebo verilen 202 post menopozal bayan hastada F' in kemik dokular üzerine etkileri incelenmiştir. Bu hastalarda F' in lumbar vertabraların kemik mineral yoğunluğunu arttırdığını ancak vertebral kırık oranlarının azalmamasına, vertebral olmayan kırıkların oranında ise artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda daha düşük NaF dozlarında kırık oranlarında daha çok azalmanın meydana geldiği bildirilmiştir (Riggs ve ark. 1994).

F iyonunun, omurga üzerindeki osteojenik etkisi dikkat çekici iken periferel iskelet sistemi üzerinde kısıtlı etkileri mevcuttur. Periferel ve aksiyel iskelet sistemleri arasındaki bu farklılığın muhtemel sebebi, kortikal kemik yapının trabeküler kemik yapı ile karşılaştırıldığında daha düşük hızda bir metabolik döngüye sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Trabeküler kemiğin yoğun olarak bulunduğu bölgelerde dansite değerleri diğer kısımlara kıyasla belirgin değişiklikler göstermektedir.

Pak (1995) ve Rosen (2001), düşük konsantrasyonlardaki F, osteoblastları dolayısı ile kemik formasyonunu stimüle ederken; yüksek dozlardaki F osteoblast fonksiyonlarını baskılayarak kemik formasyonunun, non-lamellar ve mozaik yapıda oluşmasına ve kemik matriksinde değişikliklere neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Pak (1995), Fejerskov (1996), Rosen (2001), Gruber (1991), F' in, trabeküler kemikte ve kortekste kemik dokuda düzensiz olarak depolandığını bildirmişlerdir. Tüm mineralize dokulardaki F tutulum miktarı, F alım düzeyi, F' e maruz kalma süresi, doku gelişim düzeyi, gelişimin derecesi, vaskülarizasyon, yüzey alanı ve dokunun mineralizasyon derecesi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Fejerkov (1996) ve Bartlet (2005), F' in uzun zaman dilimleri boyunca özellikle büyüme gelişim dönemlerinde oral yol ile kronik olarak alımı, iskeletsel dokularda F tutulumuna ve patolojik kemik formasyonlarına yol açtığını vurgulamışlardır.

Turner ve ark. (1997), yüksek doz F' in tavşan kemik dokularında neden olduğu etkileri incelemişlerdir. 6 ay süreyle günlük 16 mg NaF verilen tavşanlarda, serum kemikte F düzeyinin arttığını, kemik yapımının ve kütlesinin arttığını ancak kemik fiziksel özelliklerinin artmadığını bildirmişlerdir. Yüksek doz ve uzun süreli F alınının, mineralizasyon da herhangi bir bozukluk yaratmasa da kemik dayanıklılığını azalttığını vurgulamışlardır.

Silva ve Ulrich (2000), Freeman ve ark. (2001) ve De Paula ve ark. (2002), F toksisitesinin kemik doku üzerindeki etkilerini incelemişlerdir ve F' in karbono

hidroksi apatit yapısındaki kemiğin fluoro hidroksi apatit yapısına dönüştüğünü, kristalize yapısının değiştiğini ve mekanik özelliklerinin azaldığını belirtmişlerdir.

İnoue ve ark. (2005), düşük doz F iyonunun osteoblastik aktiviteyi uyardığını ve yeni kemik oluşumunu olumlu yönde etkilediğini ancak yüksek doz F' in ise yeni kemik oluşumunu olumsuz yönde etkilediğini bildirmiştir.

Mousny ve ark. (2008), değişik F dozlarının kemik dokuda yarattığı etkileri incelemişlerdir. sıçanlarda yapılan bu çalışmada hayvanlara 3 hafta boyunca 0, 25, 50 ve 100 ppm F verilmiş ve sıçanların kemik mikroyapısı, mineralizasyonu, mikrosertliğini incelemişlerdir. Çalışma sonunda araştırmacılar, F' in osteoid sayısını arttırdığını, 50 ve 100 ppm gruplarında vertebral trabeküler kemik yapısında mineralizasyonu anlamlı şekilde azalttığını, yeni oluşan osteoid sayısında artışın meydana geldiğini bildirmişlerdir. Tüm F gruplarında kemik kristallerinin genişliğinde anlamlı şekilde artışın meydana geldiği, kemik dokunun biyomekanik özelliklerinde azalma, kemik mikrosertliği açısından ise herhangi bir fark olmadığını belirtmişlerdir.

Czerwinski ve Novak (2010), kronik fluorozis toksisitesi sonucu kemik ve eklem bölgelerinde meydana gelen patolojik değişikliklerin neticesinde klinik ağrı ve hareket kısıtlılığı gibi klinik semptomların meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Biz de çalışmamızda, prenatal dönemden itibaren kronik F verilen sıçanların mandibula dokularında, kemik mineral yoğunluklarında meydana gelen değişiklikleri mandibulanın farklı noktalarında ayrı ayrı inceledik ve kondil, angular çıkıntı bölgelerinde ve ikinci molar kesici diş dahil edilmeden alınan kesitlerde, Jowsey ve ark. (1972), elde ettikleri bulgulara uyumu olarak, 30 ppm F grubunda ise kontrol grubuna göre kemik mineral yoğunluğunda anlamlı olmayan bir artış gözlemledik. 100 ppm F 5. ay grubunda, kontrol 5. ay grubuna göre kemik mineral yoğunluğunda anlamlı bir azalma tespit ettik. Bu bulgular Riggs ve ark. (1994), elde ettikleri verilere uyumsuz ancak Mousny ve ark. (2008), yaptıkları çalışmalarında elde ettikleri bulgularla uyumludur.

Birinci molar furkasyon bölgesinde kesici diş dahil edilerek alınan kesitlerde, 30 ppm F grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir artış, 100 ppm F 5. ay grubunda, kontrol 5. ay grubuna göre kemik mineral yoğunluğunda anlamlı bir azalma gözlemledik. Bu bulgularımız Jowsey ve ark. (1972) ve Michael Kleerekoper ve Raffaella (1991), Rosen (2001) yaptıkları çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Birinci molar furkasyon bölgesi kesici diş dahil edilemeden ve ikinci molar furkasyon bölgesi kesici diş dahil edilerek elde edilen kesitlerde, 30 ppm F grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı olmayan bir artış 100 ppm F 5. ay grubunda, kontrol 5. ay grubuna göre kemik mineral yoğunluğunda anlamlı olmayan bir azalma gözlemledik. Bu bulgularımız Schnitzler ve Solomon (1985), Haguenaer ve ark. (2000), Orzel ve ark. (1990), yaptıkları çalışmalara uyumsuz ancak Mousny ve ark. (2008), Grynpas (1990), Grynpas ve Rey (1992), yaptıkları çalışmalarında elde ettikleri bulgularla uyumludur.

Araştırmamızdaki tüm kemik mineral yoğunluğu sonuçları değerlendirirsek, F' siz gruba kıyasla, düşük doz F alınımlarında kemik miktarında artış ve yüksek doz F alınımlarında ise kemik kaybı olduğunu gözlemledik. Bu F' in optimal doz üstünde alınmasının yarattığı toksisiteyi açık olarak ortaya koymaktadır.

Böbrek Dokularının Tartışması

Gereç ve Yöntem Tartışması

Formol solüsyonları kemik dokularında olduğu gibi yumuşak dokularda da uzun yıllardır doku fiksaditifi olarak kullanılmaktadır. Xiu-An ve ark. (2000), domuzlarda uzun süreli F alınımları ile oluşan kronik fluoroziste böbrek dokularında meydana gelen histopatolojik etkiler incelerken diseke edilen böbrek dokularını % 10' luk solüsyonlarında muhafaza etmişlerdir. Chiang-Ting ve ark. (2001), iskemi ve reperfüzyon vakalarında, sıçan böbrek dokularında ortaya çıkan serbest radikaller ve apoptotik hücreleri inceledikleri bir çalışmada sıçanlarda, diseke edilen böbrek dokularını % 10' luk solüsyonlarında muhafaza etmişlerdir. Karaöz ve ark. (2003), kronik fluorozisin ikinci kuşak sıçanlarda, böbrek ve karaciğer dokularında neden

olabileceği yapısal değişiklikleri incelemişlerdir ve diseke ettikleri böbrek dokularını % 10' luk solüsyonlarında muhafaza etmişlerdir. Claudia ve ark. (2009), deney hayvanı olarak kullanılan sıçanlar sakrifiye edildikten sonra diseke ettikleri böbrek dokularını % 10' luk solüsyonlarında saklamışlardır. Khadar Basha ve Jayantha Rao, (2014), fluorozezin böbrekler ve karaciğer üzerindeki histopatolojik etkilerini incelemişlerdir ve sakrifiye edilen sıçanlardan diseke edilen böbrek dokuları formol solüsyonunda muhafaza etmişlerdir.

Araştırmamızda sakrifiye edilen sıçanlardan diseke edilen böbrek dokularını Khadar Basha ve Jayantha Rao, Claudia, Xiu-An, Chiang-Ting ve ark. gibi % 10' luk formol solüsyonlarında muhafaza ettik.

Hematoksilen ve eozin boyama histolojide birincil boyama yöntemi olarak kabul edilir. Medikal teşhiste çok yaygın ve altın standart olarak kullanılır. Hideto ve ark. (2000), PDGF isimli büyüme faktörünün eksikliğinde böbrek dokularında meydana gelen apoptotik hücrelerin analizi ve değerlendirilmesinde hematoksilin ve eozin boyama tekniği ile değerlendirmişlerdir. Shashi ve ark. (2002), F' in toksik etkilerinin böbrekler üzerinde meydana getirdiği histopatolojik değişiklikleri inceledikleri bir çalışmada hematoksilin ve eozin boyama tekniklerinden faydalanmışlardır. Karaöz ve ark. (2003), kronik fluorozezin ikinci kuşak sıçanlarda, böbrek ve karaciğer dokularında neden olabileceği yapısal değişiklikleri hematoksilin ve eozin boyama teknikleriyle incelemişlerdir. Claudia ve ark. (2009), kronik olarak F' e maruz bırakılan sıçanlarda böbrek dokularında meydana gelen değişiklikleri analiz etmek ve değerlendirmek için hematoksilin ve eozin boyama tekniklerinde faydalanmışlardır. Ansuman ve ark. (2011), kronik fluorozezin, yumuşak dokularda meydana getirdiği etkileri incelemişlerdir. Gerçekleştirilen bu çalışmada F' in böbrek ve karaciğerde meydana getirdiği histopatolojik etkiler hematoksilin ve eozin boyama tekniği ile değerlendirilmiştir. Khadar Basha ve Jayantha Rao, (2014), fluorozezin böbrekler ve karaciğer üzerindeki histopatolojik etkilerini hematoksilin ve eozin boyama teknikleriyle incelemişlerdir.

Çalışmamızda kronik F toksisitesinin böbrek dokularında meydana getirebileceği histopatolojik değişiklikleri gözlemlemek için hematoksilen ve eozin boyama yöntemlerinden faydalandık.

TUNEL yöntemi ile ilgili literatürler incelenecek olursa, Bettina ve ark. (1995), cyproterone acetate (CPA) ve nafenopin (NAF) isimli ilaçların karaciğer büyümesindeki etkilerini sıçanlarda incelemişlerdir ve karaciğer dokularında meydana gelen apoptotik hücrelerin tespiti için TUNEL yönteminden faydalanmışlardır. Carmen ve ark. (1997), hipoksi ve iskemi oluşturulan sıçanların beyin dokusunda meydana gelen apoptozisi incelemişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada apoptotik hücreleri belirlemede TUNEL yönteminden faydalanmışlardır. Yapılan bir in vitro çalışmada ise sıçanların beyin dokuların oluşturulan apoptozis incelenmiş ve meydana gelen apoptotik hücrelerin değerlendirilmesinde TUNEL yönteminden yararlanılmıştır (Chrysanthi ve ark. 1999).

Kohli ve ark. (1999), sıçanlarda karaciğer dokularında iskemi ve perfüzyon geliştirilen sıçanların apoptotik hücrelerinin tespitinde TUNEL yönteminden yararlanmışlardır. Kohji ve ark. (2000), sıçanların beyin dokularında intra serebral hemoraji varlığının neden olabileceği apoptozisi değerlendirmek ve apoptotik hücreleri tespit etmek için TUNEL yönteminden faydalanmışlardır. Loredana ve ark. (2002), diyabetik sıçanlarda GLP-1 enziminin pankreas üzerinde hücre büyümesine ve apoptozisi önlemedeki etkilerini incelemişlerdir. araştırmacılar bu çalışmada pankreas hücrelerinde meydana gelen apoptozis aktivitelerini analiz etmek için TUNEL yöntemini kullanmışlardır.

Si-Qin ve ark. (2010), TLR-4 reseptörünün pankreas hücrelerinde meydana gelen apoptotik hücre reaksiyonlarındaki etkinliğini incelemek için TUNEL yöntemi ile apoptotik hücreleri değerlendirmişlerdir. Jun ve ark. (2012), sıçanlarda gerçekleştirilen elektro akupunktur tedavi yöntemlerinin sıçan vertebralarında meydana gelebilecek apoptotik aktiviteler üzerine olan etkilerini değerlendirirken TUNEL yönteminden faydalanmışlardır. Yan-Li ve ark. (2013), N-acetylcysteine (NAC) ilacının testis dokularında apoptozisi teşvik eden kadmiyum elementi üzerine

etkileri incelerken testis dokularında oluşan apoptotik hücrelerin tespitinde TUNEL yöntemini kullanmışlardır.

Böbrek ile ilgili literatürelere bakıldığında, Amanda ve ark. (1994), sıçanların böbrek dokularında meydana getirilen apoptotik ve apoptotik hücrelerin analizi ve değerlendirilmesinde TUNEL yönteminden yararlanmışlardır. Hideto ve ark. (2000), PDGF isimli büyüme faktörünün eksikliğinde böbrek dokularında meydana gelen apoptotik hücrelerin analizi ve değerlendirilmesinde TUNEL yönteminden yararlanmışlardır. Xiu-An ve ark. (2000), domuzlarda uzun süreli F alınımları ile oluşan kronik floroziste böbrek dokularında meydana gelen histopatolojik etkiler incelenmiştir. Araştırmacılar bu çalışmada böbrek dokularında oluşan apoptotik hücreleri belirlemek ve değerlendirmek için TUNEL yöntemini kullanmışlardır.

Chiang-Ting ve ark. (2001), sıçanlarda meydana getirilen iskemi ve perfüzyon durumlarının sıçan böbrek dokularında ortaya çıkan serbest radikal, apoptozis ve oluşan apoptotik hücrelerin tespiti ve değerlendirilmesinde TUNEL yöntemini kullanmışlardır. Peter ve ark. (2004), sıçanlarda oluşturulan iskemi ve perfüzyon vakalarında böbrek dokularında oluşan apoptotik hücrelerin analizi ve değerlendirilmesinde TUNEL yönteminden yararlanmışlardır. Yapılan bir çalışmada sıçanlarda glomerulo sklerozis ve diyabetik nefropati vakalarında meydana gelen apoptotik hücrelerin tespiti için TUNEL yönteminden faydalanılmıştır (Chun-Liang ve ark 2006).

Jacqueline ve ark. (2008), yılında yaptıkları bir araştırmada sıçanlarda böbrek dokularında meydana gelen apoptozis vakalarında oluşan apoptotik hücrelerin tespiti ve değerlendirilmesi için TUNEL yöntemini kullanmışlardır. Yang Song ve ark. (2013), sıçanlarda kronik florozisin böbrekler üzerine olan olumsuz etkilerini incelemişlerdir. Uzun süre ve çok miktarda F tüketiminin böbrek dokularında oksisatif stres ve apoptozise neden olduğunu belirtmişlerdir ve apoptotik hücrelerin tespitinde TUNEL yöntemini kullanmışlardır.

Biz de çalışmamızda sıçanlarda, kronik F toksisitesinin böbreklerde meydana getirebileceği apoptozisi incelemek ve oluşabilecek apoptotik hücrelerin tespiti ve değerlendirilmesi için TUNEL yöntemini tercih ettik.

Shoji ve ark. (1998), iskemi ve reperfüzyon gerçekleştirilen sıçan böbrek dokularının histolojik olarak incelenmesinde böbrek tubul hücrelerinde oluşan apoptotik hücrelerin incelenmesinde rastgele 1000 adet tubul hücrelerini analiz edip apoptotik hücrelerin oranını değerlendirmişlerdir. Chiang-Ting ve ark. (2001), iskemi ve reperfüzyon vakalarında, böbrek dokularına meydana gelen apoptozisi değerlendirmek için böbrek dokularının tubul bölgelerini incelemişlerdir. Bu incelemelerde tubul bölgelerinde rastgele 1000 adet tubul hücrelerini analiz edip apoptotik hücrelerin oranını değerlendirmişleridir. Peter ve ark. (2004), sıçanlarda oluşturulan iskemi ve perfüzyon vakalarında böbrek dokularında oluşan apoptotik hücrelerin analizi ve değerlendirilmesinde böbrek tubul hücrelerini incelemişlerdir ve rastgele 1000 adet tubul hücrelerini analiz edip apoptotik hücrelerin oranını incelemişleridir.

Biz de çalışmamızda kronik fluorozis sonucu sıçan böbrek dokularında meydana gelen apoptotik hücrelerin analizinde rastgele 1000 adet tubul hücrelerini inceleyerek apoptotik hücrelerin oranını belirledik.

Amanda ve ark. (1994), böbrek dokularında oluşan apoptotik hücrelerin analizinde rastgele 3 bölgeden glomerülüsleri değerlendirilmiş ve apoptotik hücreleri tespit etmişleridir. Hideto ve ark. (2002), böbrek dokularında oluşan apoptotik hücrelerin analizinde sayılan apoptotik hücrelerin sayılan tüm hücrelere olan yüzde oranlarını değerlendirmişlerdir. Chun-Liang ve ark. (2006), böbrek dokularında oluşan apoptotik hücrelerin analizinde rastgele 3 bölgeden glomerülüsleri değerlendirilmiş ve apoptotik hücreleri tespit etmişleridir. Jacqueline ve ark. (2008), sıçan böbrek dokularında meydana gelen apoptotik hücreleri belirlemek ve değerlendirmek için rastgele 3 glomerülüsü incelemişlerdir.

Biz de çalışmamızda kronik fluorozis sonucu sıçan böbrek dokularında meydana gelen apoptotik hücrelerin analizinde rastgele 3 adet böbrek glomerülüs bölgelesini inceleyerek apoptotik hücrelerin yüzde oranlarını belirledik ve değerlendirdik.

Böbrek Bulgularının Değerlendirilmesi

Böbrekler fluorozisin önemli bir hedef organı olup, F' in neredeyse tamamı böbrek yoluyla atılır. (Krishnamachari, 1986; Turner ve ark, 1996; Usuda ve ark, 1998; Akdoğan ve ark, 2001). Oral yolla alınan F için birincil atılım yeri böbrekler olduğundan böbrekler diğer organlardan daha fazla F' e maruz kalmaktadırlar. Bu durum uzun süre F maruziyetinin böbrekler üzerine toksik etkisi olabileceğini akla getirmiştir.

Deneyssel ve kronik fluorozis çalışmalarında böbrek fonksiyon bozuklukları rapor edilmiştir. Reggabi ve ark. (1984), glomerüler ve tubular fonksiyon bozukluklarını rapor etmiştir. Welsh ve ark (1990), iki osteofluorozis olgusunda ciddi renal yetmezlik bulguları saptamışlardır.

İnsan ve deney hayvanlarında böbrek yetmezliğinde F' in, serum düzeylerinin yükseldiği rapor edilmiştir. F iyonu böbreklerde filtre edilirken, böbrekler büyük miktarda F' e maruz kalırlar. Normal insanlarda böbrek kalsifiye dokularla birlikte F hemostazisi görevini görür. Endemik fluorozis bölgelerinde yapılan çalışmalarda, böbrek fonksiyonlarıyla çevresel F toksisitesi arasında ilişki kurulmuştur (Kumari ve Rao, 1991; Liu, 1993; Singh ve ark. 2001).

Kronik fluorozis, yavaş ve ilerleyici bir olaydır. Kronik F toksisitesi esas olarak diş ve kemik dokularında gözlenir. Fakat, son yıllarda gerçekleştirilen birçok deneyssel ve epidemiyolojik çalışmalarda böbrek, karaciğer, endokrin bezler (hipofiz, tiroid ve paratiroid), kas, testis ve sinir dokusunu içeren yumuşak doku ve organlarda kronik fluorozisin neden olduğu metabolik, fonksiyonel ve yapısal hasarlar rapor edilmiştir (Akdoğan ve ark. 2000, Shashi ve Thapar 2001).

Uzun yıllardır F toksisitesi ile böbrek taşı oluşumu arasında bir ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Önceleri, endemik fluorozis bölgelerinde yaşayanlardan elde edilen böbrek taşlarının F içeriğinin, non-endemik bölgede yaşayanlarınkine oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir (Guan ve ark. 1987). Ancak, endemik fluorozis bölgelerinde böbrek taşı oluşum sıklığının daha fazla olduğunu bildiren kesin kanıtlar yoktur. Fakat, yakın zamanda gerçekleştirilen epidemiyolojik bir çalışmada, endemik fluorozis bölgesinde böbrek taşı oluşum sıklığının non-endemik bölgeye oranla 4-6 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Singh ve ark. 2001).

Akut ve kronik F toksisitelerinde, böbrek dokusunda meydana gelen harabiyetin patogenezinde oksidatif stres ve hücre membran lipid bileşimindeki değişikliklerin rolü olduğunu bildiren kanıtlar vardır (Soni ve ark. 1984; Krishnamachari, 1986; Yank ve ark, 1998; Usuda ve ark, 1999; Guan ve ark, 2000; Singh ve ark, 2001). Ayrıca, gerçekleştirilen araştırmalarda yüksek doz F uygulamasının bir sonucu olarak böbrek dokusunda lipid peroksidatif hasarın bir göstergesi olan MDA (TBARS) düzeyleri artmıştır (Yank ve ark, 1998; Guan ve ark, 2000, Singh ve ark, 2001).

Murao ve ark. (2000), Chlubek ve ark. (2003), Kubota ve ark. (2005), Lee ve ark. (2008), kronik fluoroziste artan hücre içi kalsiyum içeriğinin oksidatif strese neden olduğunu ve bunun sonucunda canlı doku hücrelerinde apoptozisin meydana gelebileceğini belirtmişlerdir. Yapılan bir çok araştırmada ise uzun süre ve aşırı miktarda F tüketiminin, oksidatif stresi arttırdığı, lipid peroksidasyonunu teşvik ettiği ve bu şekilde hücre mitokondrinde hasarların oluşmasıyla dokularda apoptozis reaksiyonlarının meydana geldiği belirtilmiştir (Anuradha ve ark. 2001; Karube ve ark. 2009; Flora ve ark. 2009; Mohammadi ve ark. 2009). Ri-An ve ark. (2006), sıçanlar ile yaptıkları in vitro bir çalışmada kronik fluorozisin böbrek dokularında oksidatif stress ve apoptozis reaksiyonlarını arttırdığını belirtmişlerdir.

Salgado-Bustamante ve ark. (2010), F' e alınımının artmış olduğu saptanan bazı Meksika populasyonlarında, kanda bulunan PBMN hücrelerinin apoptotik gen yapısının değişikliğe uğradığını tespit etmişleridir. İdrarlarında yüksek miktarda F

bulanan bireylerin F' e maruz kalmayan bireylere nazaran, kanlarında apoptozis reaksiyonlarında etkin olan LT-b, CD40L, HVEM, caspase-6, TRAF-2 ve TRAF-5 genlerinin miktarlarında aşırı oranda azalma olduğunu belirlemişlerdir.

İshiguro ve ark. (1994), F' in organizmadan atılımında en önemli organ böbrek olduğundan, burada etkilenmenin olması olasıdır; sıçanlarda altı aydan daha uzun sürelerde yüksek dozda (100 ppm) F verildiğinde böbreklerde değişikliklerin arttığı bildirilmiştir.

Shashi ve ark. (2002), 15 hafta boyunca 5, 10, 20 ve 50 mg/kg F uyguladıkları tavşanların böbrek dokularında meydana gelen yapısal değişiklikleri incelemişlerdir ve tubul epitellerinde dejenerasyonlara, glomerülüslerde atrofi ve hipertrofi, doku nekroz alanları, renal tubullerde geniş vokulizasyonlar, doku için ödem ve nefrit gözlemlemişlerdir.

Karaöz ve ark. (2003), kronik fluorozisın ikinci kuşak sıçanlarda, böbrek ve karaciğer dokularında neden olabileceği yapısal değişiklikleri incelemişlerdir. Araştırmacılar içme sularına 0.07 ppm (kontrol grubu), 100 ppm ve 150 ppm F uyguladıktan sonra sıçanları 3 ay takip etmişlerdir ve sakrifiye edilen hayvanlardan böbrek ve karaciğer dokuları diseke edilip hematoksilen eozin boyama yöntemiyle incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda araştırmacılar, 100 ppm ve 150 ppm F deney grubu hayvanların böbrek dokusundaki başlıca yapısal değişiklikler olarak; yaygın hiperemik damarlar, küçük-orta büyüklükte yaygın kistler, glomerüler atrofi, lümenlerinde tiroid benzeri eozinofilik materyal bulunan atrofik tübüller ve karışık hücre infiltrasyonları şeklinde gözlemlemişlerdir. Bazı tübüllerin lümeninde kalsifik sferül oluşumlar (taş -kalkulus oluşumundan önceki aşama) görmüşlerdir. Ayrıntılı mikroskopik incelemelerde ise, eozinofilik sitoplazmalı ve piknotik çekirdekli nekroza giden tübül epitel hücrelerini tespit etmişlerdir.

Claudia ve ark. (2009), kronik fluorozisın böbrek dokularında neden olduğu histopatolojik değişiklikleri değerlendirilmiştir. Uzun süre ve aşırı miktarda F tüketiminin böbrek dokularında, özellikle glomerülüs bölgelerinde kapiller

damarların genişlediğini ve hemorajik kanama odaklarının görüldüğünü belirtmişlerdir.

Ansuman ve ark. (2011), aşırı F alınıminin karaciğer ve böbrek dokularında meydana getirdiği yapısal değişiklikleri incelemişlerdir. Çalışmada F' in böbrek dokularında, glomerülüslerde atrofiye, tubul epitel hücrelerinde dejenerasyonlara ve glomerülüslerde hemorajik kanama odaklarına neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Khadar Basha ve Jayantha Rao (2014), kronik fluorozezin yumuşak dokularda neden olabileceği histopatolojik değişiklikleri incelenmiştir. İçme sularına, yüksek doz F uygulanan farelerin böbrek dokularında, dilate olmuş tubuller, glomerülüs bölgelerinde nekroz alanları, Bowman kapsüllerinde dejeneratif değişiklikler gözlemlenmiştir. İçme sularına daha fazla oranda F uygulanan farelerde ise glomerülüs bölgelerinde ve Bowman Kapsüllerinde büyük nekroz alanları ve tubul lümenlerinde genişlemeler görülmüştür.

Biz de çalışmamızda kronik fluorozezin sıçan böbrek dokularında neden olabileceği yapısal değişiklikleri inceledik ve çalışma sonunda böbrek dokularında tüm kontrol gruplarına ait histolojik kesitlerde glomerülüs ve tubulus bölgelerinde normal hücre yapısı gözlemledik. 100 ppm F 1. ay grubunda yer alan sıçanlara ait histolojik kesitlerde glomerülüs ve tubulus bölgelerinde çok belirgin olmamakla beraber glomerülüslerde hafif derecede atrofi; tubul hücrelerinde ise yine hafif derecede dilatasyon tespit ettik. Bu bulgular, Karaöz ve ark. (2003) ve Shashi ve ark. (2002) elde ettikleri bulgular ile uyumludur.

30 ppm F 3 ay grubunun böbrek dokularının histolojik incelemelerinde hafif düzeyde glomerül içinde kanama ve vasküler konjesyon izlenirken genel glomerül yapısında atrofi ve nekroz alanları gözlemlenmiştir. Tubuluslarda ise tubuler dilatasyon mevcuttur. Claudia ve ark. (2009) elde ettikleri bulgulara uyumlu olarak glomerüllerde hafif konjesyon ve atrofi gözlemledik.

Gerçekleştirdiğimiz araştırmada, 100 ppm 5. ay grubunda bulunan deney hayvanlarında histolojik açıdan Khadar Basha ve Jayantha Rao (2014), Ansuman ve ark. (2011), Karaöz ve ark. (2003) elde ettikleri bulgulara uyumlu olarak glomerüllerde belirgin düzeyde küçülme ve büzülme şeklinde atrofi ile nekroz alanları görülmüştür. Tubulus bölgesinde ise dilatasyon ve hücre çeperlerinde daralmalar mevcuttur. Bu deney grubu sıçanlarda böbrek dokularında hemarojik kanama odakları ve eritrositler de tespit ettik.

Murao ve ark. (2000), kronik fluoroziste böbrek dokularında meydana gelen hasarın oksidatif stres ve apoptozis ile böbrek tubullerinin ve tubul hücrelerinin de etkilenebileceği belirtilmiştir. Chlubek ve ark. (2003), Kubota ve ark. (2005), Lee ve ark. (2008), kronik fluorozisin yumuşak dokularda oksidatif strese neden olduğunu ve bunun sonucunda canlı doku hücrelerinde apoptozisin meydana gelebileceğini belirtmişlerdir.

Ri-An ve ark. (2006), sıçanlara içme sularına 50 mg/L sodyum florid (Naf) ve selenyum ile bakır elementlerini 6 ay uygulayarak takip etmişler ve sıçan böbrek hücrelerinde sodyum F' in, selenyum ve bakırın, oksidatif stres, apoptozis ve hücresel değişikliklere olan etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda sodyum F' in böbrek hücrelerinde apoptozisi arttırdığı, selenyum ve bakırın ise azalttığı tespit edilmiştir.

Xiu-An ve ark. (2000), kronik fluorozisin böbrek dokularında neden olabileceği toksik etkilerini incelemişlerdir. Domuzlarda yapılan bu çalışmada deney hayvanlarının dietlerine 0 mg (kontrol), 100 ve 250 mg F/kg F 50 gün boyunca uygulandıktan sonra böbrek dokuları diseke edilelerek apoptotik hücrelerin varlığı TUNEL yöntemi ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda aşırı F tüketiminin böbrek dokularında apoptozisi arttırdığını, böbrek yapı ve fonksiyonlarında hasarlara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Anuradha ve ark. (2001), Karube ve ark. (2009), Flora ve ark. (2009), Mohammadi ve ark. (2009), uzun süre ve aşırı miktarda F tüketiminin, oksidatif stresi arttırdığı,

lipid peroksidasyonunu teşvik ettiği ve bu şekilde hücre mitokondrinde hasarların oluşmasıyla dokularda apoptozis reaksiyonlarının meydana geldiği belirtilmiştir. Yang Song ve ark. (2013), aşırı F alınınının böbrek dokularında süperoksit radikallerinin üretimini uyaracağını ve neden olabileceği apoptozisi incelemişlerdir. Araştırmacılar, içme sularına 50, 100, 150 mg/L sodyum florid (Naf) koydukları sıçanları 70 ve 140 gün takip etmişlerdir ve deney sonunda sakriye edip, böbrek dokularını diseke etmişler, ilgili dokularda meydana gelebilecek reaktif oksijen türleri ve apoptotik hücreleri flow-sitometri ve TUNEL yöntemleriyle incelemişlerdir. Çalışma sonucunda böbrek dokularında apoptotik hücre sayılarının arttığını, glomerülüslerde genişlemiş bowman kapsülleri ve dilate olmuş tubuller görülmüştür. Araştırmacılar kronik fluoroziste böbrek dokularında meydana gelen hasarın oksidatif stres ve apoptozis nedeniyle oluşabileceğini vurgulamışlardır.

Araştırmamızda, kronik fluorozis sonucu böbrek dokularında tubulus ve glomerülüs bölgelerinde meydana gelen apoptozisin değerlendirilmesinde, takip sürelerine göre bütün deney gruplarında 5. Ay gruplarının apoptotik hücre sayılarının anlamlı bir şekilde arttığını gözlemledik. Deney gruplarının 1. Ay ve 3. Ay grupları arasında ise anlamlı bir farklılık değerlendiremedik. Kontrol gruplarında ilerleyen yaş ile beraber apoptozisin görülmesi zaten beklenen bir bulgu olduğunu göstermekte ancak bu durumun F gruplarında arttığı görülmüştür.

Çalışmamızda, F varlığında, böbrek dokularının tubulus ve glomerülüs bölgelerinde meydana gelen apoptotik hücre sayılarının, Murao ve ark. (2000), Ri-An ve ark. (2006), Xiu-An ve ark. (2000) ve Yang Song ve ark. (2013) elde ettikleri bulgulara uyumlu olarak, 100 ppm F gruplarında, kontrol ve 30 ppm F gruplarına kıyasla anlamlı bir şekilde arttığını tespit ettik.

Daha önce yapılan tez çalışmasında yüksek F alınımlı sonucu insanda görülen dental fluorozisin sıçanlarda da olduğu gösterilmiştir. Bu sıçanların fluorozis çalışmalarında model organizma olarak kullanılmaya uygun olduğunu ortaya koymaktadır. Sistemik F alınınının mine dokusuna olan etkisi açık olarak bilinmesine rağmen, diğer sert ve yumuşak dokular üzerine etkileri hala tartışılmakta

olduğundan sıçanları model olarak kullandığımız bu çalışmada, diş dokuları dışında sert doku olarak mandibula ve yumuşak doku olarak F' in en çok etki etmesi beklenen doku olan böbrek dokularına her hangi bir etkisi olup olmadığını inceledik. Her ne kadar sıçan metabolizması ile insan metabolizması arasında önemli farklılıklar bulunsa da bu etkilerin insanda da oluşabileceği endişesi her zaman bulunmaktadır. İnsanda yaklaşık 10 ppm ve üstü sistemik F alınmasına eşit olan bu çalışmada benzer patolojik etkilerin her iki dokuda da oluşabileceği öngörülebilir. Fakat bu miktarın aşırı doz olduğu unutulmamalıdır. İnsanda bu doza ancak endemik bölgelerde ulaşma söz konusu olabilir. 3 ppm eşdeğeri olan grupta ise sert dokularda bu etkilerin görülmediği hatta bir miktar olumlu etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ancak böbrek dokusunda ise düşük dozda da apoptotik aktiviteyi arttırdığı görülmüştür. Bunun temel sebebi, F atılımının böbreklerden olması ile açıklanabilir. Bu dozlara özellikle okul öncesi yaş grubu çocuklarda ulaşılması mümkündür.

F uygulamaları, Çocuk Diş Hekimliğinde temel koruyucu yöntemlerin başında gelmektedir. Bu amaçla geliştirilen ürünlerin koruyucu hekimliğe katkısı yatsınamaz. Bu ürünler çocuk diş hekimliğinin en temel ve sık kullanılan ajanlarıdır. Ancak bu ürünlerin piyasada bol miktarda bulunması, kolay ulaşılabilir olması ve bilinçsiz kullanımı yanında tahmin edilemeyen birçok çevresel faktörün de eklenmesiyle beraber çocuk hastalarımıza önemli risklerin meydana gelebileceğini söyleyebiliriz. Buna böbrek nakli, vezikoüreteral reflü, konjenital kistik böbrek hastalıkları, endokrin hastalıklar, hipertansiyon gibi risk grupları da dahil edilebilir. Kontrolsüz F uygulamalarını önlemek ve toplumu bu konuda da bilgilendirmek gerekmektedir. Hekimler topikal ve/ veya sistemik F uygulamalarından önce mutlaka çocuğun F geçmişi ile ilgili detaylı bir anamnez almalıdırlar. Önerilen doz ile çocuğun yaşı, kilosu, beslenme alışkanlıkları, sosyoekonomik durumu ve olası diğer F alım kaynakları gözden geçirilmelidir. Ayrıca, F toksisitesi ile ilgili daha kapsamlı ve kontrollü çalışmalara da hala ihtiyaç vardır.

8. SONUÇLAR

Prenatal dönemden itibaren farklı konsantrasyonlarda kronik olarak sistemik F verilen sıçanların mandibula ve böbrek dokularını radyografik ve histolojik yöntemlerle incelediğimiz çalışmamızda sonuçlar aşağıdaki şekildedir:

A. Mandibular kemik mineral dansitelerinin değerlendirme sonuçları:

1. Kondil, angular ve furkasyon bölgelerinde deney gruplarına göre incelemelerimizde, tüm gruplarda, yaşa bağlı kemik mineral yoğunluğu artmaktadır ve 5. ay değerleri, 1. ve 3. ay değerlerinden anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$).
2. 1. ay değerlerinde ikinci molar furkasyon bölgesinde keser diş dahil edilere veya dahil edilmeden ile birinci molar furkasyon bölgesinde keser diş dahil edilmeden elde edilen mineral dansite değerlerinde 100 ppm F grubu, kontrol ve 30 ppm F gruplarından anlamlı derecede farklılık göstermiştir.
3. 3. ay değerlerinde angular, ikinci molar furkasyon bölgesinde keser diş dahil edilerek veya dahil edilmeden ve birinci molar furkasyon bölgesinde keser diş dahil edilmeden elde edilen mineral dansite değerlerinde 100 ppm F grubu, kontrol ve 30 ppm F gruplarından anlamlı derecede farklılık göstermiştir.
4. 5. ay değerlerinde kondil, angular, birinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilerek ve ikinci molar furkasyon bölgesi keser diş dahil edilmeden elde edilen kemik mineral dansite değerlerinde 100 ppm F grubu, kontrol ve 30 ppm F gruplarından anlamlı derecede farklılık göstermiştir.
5. Mandibulada kemik mineral yoğunlukları incelenmesinde her üç grupta da en yoğun kemik dansitesi kondil bölgesinde, en düşük birinci molar furkasyon bölgesinde keser diş dahil edilmeden elde edilen kesitlerde tespit edilmiştir.

6. Mandibula birinci ve ikinci molar dişler arası septum bölgesinde kemik mineral yoğunluğu, kontrol, 30 ppm F gruplarında yaşa bağlı anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Ancak 100 ppm F grubunda 5. ay değerleri, 1. ve 3. ay gruplarından anlamlı derecede farklılık göstermiştir. ($p < 0.05$).
7. Mandibula birinci ve ikinci molar dişler arası septum bölgesinde kemik mineral yoğunluğu, 100 ppm F grubunda, kontrol ve 30 ppm F gruplarına göre 1. ve 5. aylarda anlamlı derecede farklılık göstermiştir.

B. Böbrek dokularının değerlendirilmesi :

1. Böbrek dokularının glomerülüs bölgelerinde belirgin düzeyde küçülme ve büzülme şeklinde atrofi, tubulus bölgesinde ise dilatasyon ve hücre çeperlerinde daralmalar mevcut olmakla beraber hemarajik kanama odakları ve eritrositler de tespit edilmiştir.
2. Böbrek dokularının tubulus ve glomerülüs bölgelerinde apoptotik hücre sayıları, tüm gruplarda, 5. ay değerleri, 1. ve 3. ay değerlerinden anlamlı bir şekilde yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.05$).
3. Böbrek dokularının tubulus ve glomerülüs bölgelerinde, takip sürelerine göre değerlendirilen deney gruplarının hepsinde, 100 ppm F gruplarının apoptozis değerleri, kontrol ve 30 ppm F gruplarının apoptozis değerlerinden ileri derecede anlamlı şekilde yüksek tespit edilmiştir ($p < 0.0001$).

KAYNAKLAR LİSTESİ

Aaron JE, de Vernejoul MC, Kanis JA (1991). The effect of sodium fluoride on trabecular architecture. Bone ; 12:307-310.

Agalakova IN, Gusev GP. (2012). Molecular Mechanisms of Cytotoxicity and Apoptosis Induced by Inorganic Fluoride. ISRN Cell Biology , 1-16

Akdoğan M, Bilgili A, Karagöz E, Gökçimen A, Eraslan G, Ustüner E. (2000). Fluorid zehirlenmesi oluşturulmuş tavsanların böbrek dokusunda yapısal ve biyokimyasal değişiklikler. Turk. J. Vet. Anim. Sci, 26:71-77

Akdoğan M, Bilgili A, Karagöz E, Gökçimen A, Eraslan G, Ustüner E. (2001). Fluor zehirlenmesi oluşturulmuş tavsanların böbrek dokusunda yapısal ve biyokimyasal değişiklikler. Turk. J. Vet. Anim. Sci, 26:71-77

Akdoğan M, Bilgili A, Karagöz E, Gökçimen A, Eraslan G, Ustüner E. (2002). Fluor zehirlenmesi oluşturulmuş tavsanların böbrek dokusunda yapısal ve biyokimyasal değişiklikler. Turk. J. Vet. Anim. Sci, 26:71-77

Akosu TJ, Zoakah AI. (2008). Risk factors associated with dental fluorosis in Central Plateau State, Nigeria. Community Dent Oral Epidemiol, 36:144–148.

Alarcón-Herrera MT, Ignacio R Martín-Domínguez, Rodolfo Trejo- Vázquez, Sandra Rodriguez-Dozal. (2001). Well water fluoride, dental fluorosis, and bone fractures in the Guadiana valley of Mexico Fluoride, 34(2) 139-149

Allolio B, Lehmann R. (1999). Drinking water fluoridation and bone. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 107(1):12-20.

Amanda J. Baker, Andrew Mooney, Jeremy Hughes, Donna Lombardi, Richard J. Johnson, and John Savill. (1994). Mesangial Cell Apoptosis: The Major Mechanism

for Resolution of Glomerular Hypercellularity in Experimental Mesangial Proliferative Nephritis. J. Clin. Invest. Volume 94, November, 2105-21-16

Ameisen J S. (1996). The origin of programmed cell death. Science 272: 1278

Anand JK, Roberts JT. (1990). Chronic fluorine poisoning in man: a review of literature in English (1946–1989) and indications for research. Biomed Pharmacother;44:417–420.

Ando M, Tadano MK, Yamamoto SJ. (2001). Health effects of fluoride pollution caused by coal burning. Sci. Total Environ, 271:107-116.

Andresen R, Haidekker MA, Radmer S, Banzer D. (1999) CT determination of bone mineral density and structural investigations on the axial skeleton for estimating the osteoporosis-related fracture risk by means of a risk score. Br J Radiol. Jun;72(858):569-78.

Ansuman Chattopadhyay, Santosh Podder, Soumik Agarwal, Shelley Bhattacharya. (2011). Fluoride-induced histopathology and synthesis of stress protein in liver and kidney of mice. Arch Toxicol 85:327–335

Anuradha C.D., Kanno, S., Hirano, S., (2001). Oxidative damage to mitochondria is a preliminary step to caspase-3 activation in fluoride-induced apoptosis in HL-60 cells. Free Radic. Biol. Med. 31, 367–373.

Aoba T, Fejerskov O. (2002). Dental fluorosis: chemistry and biology. Crit Rev Oral Biol Med. 13(2):155-70

Arnold CM, Bailey DA, Faulkner RA, McKay HA, McCulloch RG. (1997). The effect of water fluoridation on the bone mineral density of young women. Can J Publi Health. Nov-Dec;88(6):388-91

Augat P, Fuerst T and Genant H K. (1998). Quantitative bone mineral assessment of the forearm: a review Osteoporos. Int. 8 299–310

Ay S, Gursoy UK, Erselcan T, Marakoglu I. (2005). Assessment of mandibular bone mineral density in patients with type 2 diabetes mellitus. Dentomaxillofac Radiol. Nov;34(6):327-31.

Balakumran A, Champbell G A, Maslen M T. (1996). Calcium channel blockers induce thymic apoptosis in vivo in rats. Toxicol Appl Pharmacol 139: 122-127

Banasiak K J and Haddad G G. (1998). Hypoxia-induced apoptosis: 60 effect of hypoxic severity and role of p53 in neuronal cell death. Brain Res 797: 295-304

Bao F and Liu D. (2003). Peroxynitrite generated in the rat spinal cord induces apoptosis cell death and activates caspase-3. Neuroscience 116: 59-70

Bartlett JD, Dwyer SE, Beniash E, Skobe Z, Payne-Ferreira TL. (2005) Fluorosis: a new model and new insights. J Dent Res;84(9):832-6.

Basha PM, Madhusudhan N. (2010). Pre and post natal exposure of fluoride induced oxidative macromolecular alterations in developing central nervous system of rat and amelioration by antioxidants. Neurochemical Research, 35(7):1017-1028.

Basha PM, Rai P, Begum S. (2011). Evaluation of fluoride induced oxidative stress in rat brain: A multigeneration study. Biological trace element research, 142(3):623-37.

Beaupré GS, Orr TE, Carter DR. (1990). An approach for timedependent bone modeling and remodeling-application: a preliminary remodeling simulation. J Orthop Res 8, 662–670.

Bellamy C O, Malcomson R D, Harrison D J, Wyllie A H. (1995). Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Cancer Biology* 6: 3-16

Bettina Grasl Kraupp, Branislav Ruttkay-Nedecky, Helga Koudelka, Krystyna Bukowska, Wilfried Bursch and Rolf Schulte-Hermann. (1995). In situ detection of fragmented dna (tunel assay) fails to discriminate among apoptosis, necrosis, and autolytic cell death: A cautionary note. *apoptosis, necrosis, and autolytic cell death: A cautionary note. Hepatology* Volume 21, Issue 5, pages 1465–1468, May

Bezerra de Menezes LM, Volpato MC, Rosalen PL, Cury JA. (2003). Bone as a biomarker of acute fluoride toxicity. *Forensic Sci Int.* Nov 26;137(2-3):209-14.

Bhargavi V, Khandare AL, Venkaiah K, Sarojini G. (2004). Mineral content of water and food in fluorotic villages and prevalence of dental fluorosis. *Biol Trace Elem Res*;100:195–203.

Boivin G, Chavassieux P, Chapuy MC, Baud CA, Meunier PJ. (1989). Skeletal fluorosis: histomorphometric analysis of bone changes and bone fluoride content in 29 patients. *Bone.* 10(2):89-99.

Bouaziz H, Croute F, Boudawarac T, Soleilhavoup JP, Zeghala N. (2007). Oxidative stress induced by fluoride in adult mice and their suckling pups. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 58:339–349.

Bowen WH. (2002). Fluorosis: is it really a problem? *J Am Dent Assoc.* Oct;133(10):1405-7.

Boyde A, Kingsmill VJ. (1998). Age changes in bone. *Gerodontology*.15(1):25-34.

Bratthall D, Hansel-Petersson G, Sundberg H: (1996). Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 1996;104:416–422, discussion 423–425, 430–432.

Browne D, Whelton H, Mullane OD. (2005). Fluoride metabolism and fluorosis. *Journal of Dentistry*, 33:177-186.

Buzalaf MAR, Leite AL, Carvalho NTA. (2008) Bioavailability of fluoride administered as sodium fluoride or monofluorophosphate to humans. *J Fluorine Chem*;129:691–694.

Buzalaf MAR. (2011). Fluoride and the oral environment. 1st ed, Monographs in Oral Science. Karger, Basel

Buzalaf MA, Caroselli EE, de Carvalho JG, de Oliveira RC, da Silva Cardoso VE, Whitford GM. (2005). Bone surface and whole bone as biomarkers for acute fluoride exposure. *J Anal Toxicol*;29: 810–813.

Cardoso VES, Whitford GM, Aoyama H, Buzalaf MAR. (2008). Daily variations in human plasma fluoride concentrations. *J Fluorine Chem*;129:1193–1198.

Carlos Junquera Jose Carneiro Robert O. Kelley. (1998). Temel Histoloji Sayfa: 359-373

Carmen de Torres, Francina Munell, Isidre Ferrer, Jaume Reventós, Alfons Macaya. (1997). Identification of necrotic cell death by the TUNEL assay in the hypoxic-ischemic neonatal rat brain. *Neuroscience Letters* Volume 230, Issue 1, 11 July Pages 1–4

Carter DR, Beaupre GS. (1990). Effects of fluoride treatment on bone strength. *J Bone Miner Res* 5(Suppl 1):177-184.

Chen Q, Wang Z, Xiong Y, Xue W, Kao X, Gao Y, Muhammad N, Song D. (2009) Selenium increases expression of HSP70 and antioxidant enzymes to lessen oxidative damage in F in coal-type fluorosis, *J. Toxicol. Sci.* Oct;34(4):399-405

Chiang-Ting Chien, Po-Huang Lee, Chau-Fong Chen, Ming-Chieh Ma, Ming-Kuen Lai, And Su-Ming Hsu. (2001). De Novo Demonstration and Co-localization of Free-Radical Production and Apoptosis Formation in Rat Kidney Subjected to Ischemia/Reperfusion J Am Soc Nephrol 12: 973–982

Chlubek D., E. Grucka-Mamczar, E. Birkner, R. Polaniak, B. Stawiarska-Pieta, H. Duliban. (2003) Activity of pancreatic antioxidative enzymes and malondialdehyde concentrations in rats with hyperglycemia caused by fluoride intoxication, J. Trace Elem. Med. Biol. 17(1):57-60.

Choi D. Y., K. H. Sun, S. Y. Won J. G. Lee, K. S. Hu, K. D. Kim, H. J. Kim. (2012). Trabecular bone ratio of the mandibular condyle according to the presence of teeth: a micro-CT study, Surg Radiol Anat 34:519–526

Christie DP. (1980). The spectrum of radiographic bone changes in children with fluorosis. Radiology 136:85-90

Chrysanthy Ikonomidou, Friederike Bosch, Michael Miksa, Petra Bittigau, Jessica Vöckler, Krikor Dikranian, Tanya I. Tenkova, Vanya Stefovskia, Lechoslaw Turski, John W. Olney. (1999). Blockade of NMDA Receptors and Apoptotic Neurodegeneration in the Developing Brain. Science Vol. 283, Iss. 5398, p. 70

Chun-Liang, Jeng-Yi Wang, Yu-Ting Huang, Yu-Hsia Kuo, Kameswaran Surendran ve Feng-Sheng Wang. (2006) Wnt/-Catenin Signaling Modulates Survival of High Glucose–Stressed Mesangial Cells J Am Soc Nephrol 17: 2812–2820

Clarkson J, O’Mullane D. (1989). A modified DDE Index for use in epidemiological studies of enamel defects. J Dent Res;68:445–450.

Clarkson J. (1989). Review of terminology, classifications, and indices of developmental defects of enamel. Adv Dent Res. Sep;3(2):104-9.

Claudia A.N. Kobayashi, Aline L. Leite, Thelma L. Silva, Lucilene D. Santos, Fábio C.S. Nogueira, Rodrigo C. Oliveira, Mario S. Palma, Gilberto B. Domont, Marília A.R. Buzalaf. (2009). Proteomic analysis of kidney in rats chronically exposed to fluoride. *Chemico-Biological Interactions* 24;180(2):305-11

Cooper DML, Turinsky AL, Sensen CW, Hallgrímsson B. (2003). Quantitative 3D analysis of the canal network in cortical bone by micro-computed tomography. *Anat* 274(1):169-79.

Corpas E, Harman SM, Blackman MR. (1993). Human growth hormone and human aging. *Endocr Rev.* Feb;14(1):20-39

Correia Sampaio F, Ramm von der Fehr F, Arneberg P, Petrucci Gigante D, Hatloy A. (1999). Dental fluorosis and nutritional status of 6- to 11-year-old children living in rural areas of Paraíba, Brazil. *Caries Res*;33:66–73.

Cummings M C, Winterford C M, Walker N I. (1997). Apoptosis. *Am J Surg Pathol* 21: 88-101. 64

Czerwinski M.D., Jozef Nowak Lie, Danuta Dabrowska Lie, Artur Skolarczyk Lie, Bartłomiej Kita Lie, Marek Ksiezzyk Dr. (1988). Bone and Joint Pathology in Fluoride-Exposed Workers, *Archives of Environmental Health: An International Journal*, September- october Vol. 43 No. 511

Çiçek E, Aydin G, Akdogan M, Okutan H. (2005). Effects of chronic ingestion of sodium fluoride on myocardium in a second generation of rats. *Hum Exp Tox*, 24:79-87

Dean HT, Arnold FA, Elvolve E. (1942). Domestic water and dental caries: Additional studies of the relation of fluoride in domestic waters to dental caries in 4425 white children, age 12–14 years of 13 cities in 4 states. *Public Health Rep*, 57:1155–1179

Den Besten PK, Thariani H. (1992). Biological mechanisms of fluorosis and level and timing of systemic exposure to fluoride with respect to fluorosis. *Journal of dental research*, 71(5):1238-43.

Den Besten PK. (1994). Dental fluorosis: its use as a biomarker. *Adv Dent Res*. Jun;8(1):105–10.

De Paula CA, Abjornson C, Pan Y, Kotha SP, Koike K, Guzelsu N (2002). Changing the structurally effective mineral content of bone with in vitro fluoride treatment. *J Biomech* 35:355-361.

Ding Y, Yanhui G, Sun H, Han H, Wang W, Ji X, Liu X. (2011). The relationships between low levels of urine fluoride on children's intelligence, dental fluorosis in endemic fluorosis areas in Hulunbuir, Inner Mongolia, China. *Journal of hazardous materials*, 186(2-3):1942-6.

Do LG, Levy SM, Spencer AJ. (2011). Association between infant formula feeding and dental fluorosis and caries in Australian children. *J Public Health Dent* 72(2):112-21.

Doull J, Boekelheide K, Farishian BG, Isaacson RL, Klotz JB, Kumar JV. (2006). Fluoride in drinking water: A scientific review of EPA's standards. Washington, DC. *Fluoride* 80:74–80.

Dunipace AJ, Brizendine EJ, Wilson ME, Zhang W, Katz BP, Stookey GK. (1998). Chronic Fluoride Exposure Does Not Cause Detrimental, Extraskelatal Effects in Nutritionally Deficient Rats *The Journal of Nutrition* 268(6):746-748

Edmunds WM, Smedley PL. (2005). Fluoride in natural waters. In: *Essentials of Medical Geology*, Ed: Selinus O, Elsevier Academic Press, Burlington MA, p.301-329.

Eduardo Franzotti Sant'anna, David F. Gomez, Dale R. Sumner, James M. Williams, Alvaro A. Figueroa. (2006). Microcomputed Tomography Evaluation Of The Glenoid Fossa And Mandibular Condyle Bone After Bilateral Vertical Ramus mandibular Distraction In A Canine Model The Journal Of Craniofacial Surgery / Volume 17, Number 3. 441

Ekstrand J, Ehrnebo M. (1979). Influence of milk products on fluoride bioavailability in man. *Eur J Clin Pharmacol*;16: 211–215.

Ekstrand J, Ehrnebo M, Whitford GM, Jarnberg PO. (1980). Fluoride pharmacokinetics during acid-base balance changes in man. *Eur J Clin Pharmacol*;18: 189–194.

Ekstrand J: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA (eds). (1996). Fluoride metabolism; in *Fluoride in Dentistry*, ed 2. Copenhagen, Munksgaard, pp 55–68.

Ekstrand J, Hardell LI, Spak CJ. (1984). Fluoride balance studies on infants in a 1-ppmwater-fluoride area. *Caries Res*;18:87–92.

Ekstrand J, Ziegler EE, Nelson SE, Fomon SJ. (1994). Absorption and retention of dietary and supplemental fluoride by infants. *Adv Dent Res* 1994;8:175–180.

Emre B, Piskin I, Sireli M. (1994). Kobaylarda akut fluorid zehirlenmesinin bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 41:182-188

Engelke K, Graeff W, Meiss L, Hahn M, Delling G. (1993). High spatial resolution imaging of bone mineral using computed microtomography. Comparison with microradiography and undecalcified histologic sections. *Invest Radiol*;28:341–9

Esther Cory, Ara Nazarian, Vahid Entezari, Vartan Vartanians, Ralph Muller, Brian D. Snyder. (2010). Compressive axial mechanical properties of rat bone as functions

of bone volume fraction, apparent density and micro-ct based mineral density. Journal of Biomechanics 43:953–960

Everett ET, McHenry MA, Reynolds N, Eggertsson H, Sullivan J, Kantmann C. (2002). Dental fluorosis: Variability among different inbred mouse strains. J Dent Res, 81:794-798.

Fanuscu M, Chang T. (2004). Three dimensional morphometric analysis of human cadaver bone: microstructural data from maxilla and mandible. Clin Oral Implants Res 15:213–218

Farah, R.A. Swain, M.V., Drummond, B.K., Cook, R. ve Atieh, M. (2010). Mineral density of hypomineralised enamel. Journal of Dentistry, 38, 50-58

Farge P, Ranchin B, Cochat P. (2006). Four-year follow-up of oral health surveillance in renal transplant children. Pediatr Nephrol 2006;21:851–855.

Farley JR, Wergedal JE, Baylink DJ. (1983). Fluoride directly stimulates proliferation and alkaline phosphatase activity of bone-forming cells. Science. Oct 21;222(4621):330-2

Fawell J, Bailey K, Chilton J, Dahi E, Fewtrell L, Magara Y. (2006). Fluoride in drinking water. IWA Publishing, London p.346-352

Fejerskov O, Ekstrand J. Burt BA. (1996). Fluoride in Dentistry. 2nd. ed. Munksgaard, Copenhagen. Boisen Print.

Fejerskov O, Larsen MJ, Richards A, Baelum V. (1994). Dental tissue effects of fluoride. Adv Dent Res, 8:15-31.

Flora S.J., M. Mittal, D. Mishra. (2009) Co-exposure to arsenic and fluoride on oxidative stress, glutathione linked enzymes, biogenic amines and DNA damage in mouse brain, J. Neurol. Sci. 285:198–205.

Fratzl P., P. Roschger, J. Eschberger, B. Abendroth ve K. Klaushofer. (1994). Abnormal bone mineralization after fluoride treatment in osteoporosis: A small-angle x-ray-scattering study. J Bone Miner Res. Oct;9(10):1541-9.

Freeman JJ, Wopenka B, Silva MJ, Pasteris JD. (2001). Raman spectroscopic detection of changes in bioapatite in mouse femora as a function of age and in vitro fluoride treatment. Calcif Tissue Int 68:156-162.

Gaiser S., Deyhle, H., Bunk, O., White, S.N. ve Muller, B. (2011). Understanding Nano-Anatomy of Healthy and Carious Human Teeth: a Prerequisite for Nanodentistry. Biointerphases, 7, 1-4.

Ganong WF. (1997). Review of Medical Physiology, 18th ed. Appleton&Lange, Stamford, Connecticut

Ghosh D, Sarkar S, Maiti R, Jana D, Das UB. (2002). Testicular toxicity in sodium fluoride treated rats: Association with oxidative stress. Reproductive toxicology, 16(4):385-90.

Gruber HE, Baylink DJ. (1991). The effects of fluoride on bone. Clin Orthop Relat Res. Jun;(267):264-77.

Grynpas MD. (1990). Fluoride effects on bone crystals. J. Bone Miner Res 5(Suppl 1):169-175.

Grynpas MD, Rey C. (1992). The effect of fluoride treatment on bone mineral crystals in the rat. Bone 13:423-429.

Guan Z.Z, Yu Y.L, Zhuang Z.J. (1987). Studies on the DNA and RNA content of the heart, liver and kidney of rats with chronic fluorosis. *Chin. J. Prev Med*; 21:90-1.

Guan ZZ, Wang YN, Xiao KQ, Dai DY, Chen YH, Liu JL, Sindelar P, Dallner G. (1998). Influence of chronic fluorosis on membrane lipids in rat brain. *Neurotoxicol Teratol*, 20(5):537-42.

Guan ZZ, Xiao KQ, Zeng XY, Long YG, Cheng YH, Jiang SF, Wang YN. (2000). Changed cellular membrane lipid composition and lipid peroxidation of kidney in rats with chronic fluorosis. *Arch Toxicol*; 74 (10):602-8.

Gui CZ, Ran LY, Li JP, Guan ZZ. (2010). Changes of learning and memory ability and brain nicotinic receptors of rat offspring with coal burning fluorosis. *Neurotoxicol Teratol*, 32(5):536-41.

Guidelines on the use of fluoride in children: (2009). An EAPD policy document. *Eur Arch Paediatr Dent*, 10(3):129-35

Guo MK, Nopakun J, Messer HH, Ophaug R, Singer L. (1988). Retention of skeletal fluoride during bone turnover in rats. *J Nutr. Mar*;118(3):362-6.

Gutknecht J, Walter A. (1981). Hydrofluoric and nitric acid transport through lipid bilayer membranes. *Biochim Biophys Acta*;644:153–156.

Guyton AC, Hall JE. (1996). *Textbook of Medical Physiology*, 9th edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia

Güner Şirin. (2012). Doğum öncesi ve sonrası kronik olarak değişik konsantrasyonlarda sistemik florid verilen yavru ratların diş, kemik ve beyin dokularının makroskopik ve mikroskopik incelenmesi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Ali R. Menteş).

Haguenauer D, Welch V, Shea B, Tugwell P, Wells G. (2000). Fluoride for treating postmenopausal osteoporosis. Cochrane Database Syst Rev CD002825

Hall BK. (1987). Sodium fluoride as an initiator of osteogenesis from embryonic mesenchyme in vitro. Bone 8:111-116.

Heikens A, Sumarti S, van Bergen M, Widianarko B, Fokkert L, van Leeuwen K, Seinen W. (2005). The impact of the hyperacid Ijen Crater Lake: risks of excess fluoride to human health. Sci Total Environ. Jun15;346(1-3):56-69.

Heng-Li Huang , Jui-Ting Hsu , Michael Y. C. Chen , Cheng Liu , Ching-Han Chang, Yu-Fen Li , Kuan-Ting Chen. (2011). Microcomputed tomography analysis of particular autogenous bone graft in sinus augmentation at 5 months: differences on bone mineral density and 3D trabecular structure 10.1007/s00784-012-0725-1

Hideto Sano, Yukihiro Ueda, Nobuyuki Takakura, Genzou Takemura, Toshio Doi, Hiroshi Kataoka. (2000). Blockade of Platelet-Derived Growth Factor Receptor-Pathway Induces Apoptosis of Vascular Endothelial Cells and Disrupts Glomerular Capillary Formation in Neonatal Mice American Journal of Pathology, Vol. 161, No. 1, July, Pages 135-143

Holick MF. (1996). Vitamin D and bone health. J Nutr. Apr;126(4 Suppl):1159-64

Hu Y M, Benedict M A, Ding L Y. (1999). Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-1-mediated caspase-9 activation and apoptosis. EMBO J. 18: 3586- 3595

Hui Xiong A., Bakr.M. Rabie And Urban Hagg. (2005) Neovascularization And Mandibular Condylar Bone Remodeling In Adult Rats Under Mechanical Strain Frontiers In Bioscience 10, 74-82, January 1,

Huang T.T.Y., Jones, A.S., He, L.H., Darendeliler, M.A. ve Swain, M.V. (2007). Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray micro-tomography. *Journal of Dentistry*, 35: 737-743

Huang H, Ba Y, Cui L. (2008). COL1A2 gene polymorphisms (Pvu II and Rsa I), serum calciotropic hormone levels, and dental fluorosis. *Community Dent Oral Epidemiol* 36:517–522.

Ibáñez R. (2009). Bone mineral density measurement techniques *An Sist Sanit Navar*. 26 Suppl 3:19-27.

Ibarra-Santana C, Ruiz-Rodriguez Mdel S, Fonseca-Leal Mdel P, Gutierrez-Cantu FJ, Pozos-Guillen Ade J. (2007). Enamel hypoplasia in children with renal disease in a fluoridated area. *J Clin Pediatr Dent*;31:274–278.

Inoue M, Nagatsuka H, Tsujigiwa H, LeGeros RZ, Yamamoto T, Nagai N. (2005). In vivo effect of fluoride-substituted apatite on rat bone. *Dent Mater J* 24:398-402.

Ishiguro K, Nakagaki H, Takeuchi K, Mukai M, Yoshioka I, Miyauchi K, Robinson C, Weatherell JA. (1994). Distribution of fluoride in the dental tissues and their supporting mandibular bone from the same individual. *Arch Oral Biol*, 39(69), 535-537.

Jacqueline Ho, Kar Hui Ng, Seymour Rosen, Ales Dostal, Richard I. Gregory, ve Jordan A. (2008). Kreidberg. Podocyte-Specific Loss of Functional MicroRNAs Leads to Rapid Glomerular and Tubular Injury *J Am Soc Nephrol* 19: 2069–2075.

Jarnberg PO, Ekstrand J, Ehrnebo M. (1983). Renal excretion of fluoride during water diuresis and induced urinary pH changes in man. *Toxicol Lett*;18: 141–146.

Janos Z, Krishnamurti D. (2005). *Oxidative stress and disease 10: Nutrients and cell signaling*. Taylor & Francis.

Jett S, Shrout MK, Mailhot JM, Potter BJ, Borke JL. (2004). An evaluation of the origin of trabecular bone patterns using visual and digital image analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* Nov;98(5):598-604.

Jiang G, Matsumoto H, Fuji A. (2003). Mandible bone loss in osteoporosis rats. *J Bone Miner Metab.* 21:388–95.

Jonasson G, Bankvall G, Kiliaridis S. (2001). Estimation of skeletal bone mineral density by means of the trabecular pattern of the alveolar bone, its interdental thickness, and the bone mass of the mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* Sep; 92(3):346-52.

Jonasson G, Jonasson L, Kiliaridis S. (2007). Skeletal bone mineral density in relation to thickness, bone mass, and structure of the mandibular alveolar process in dentate men and women. *Eur J Oral Sci.* Apr; 115(2):117-23.

Jowsey, J., Kelly, P. J. (1968). Effect of fluoride treatment in a patient with osteoporosis. *Mayo Clin. Proc.* 43:435-43

Jowsey, J., Riggs, B. L., Kelly, P., Hoffman, D. L. (1972). Effect of combined therapy with sodium fluoride, vitamin D and calcium in osteoporosis. *Am. J. Med.* 53:43-49

Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. (1998). *Basic Histology*, 9th. Edition. Appleton&Lange Stamford, Connecticut

Jun Liao, Meigui Ke, Teng Xu and Lili Lin. (2012). Electroacupuncture inhibits apoptosis in annulus fibrosis cells through suppression of the mitochondria-dependent pathway in a rat model of cervical intervertebral disc degradation *Genetics and Molecular Biology*, 35;(3), 686-692

Juul A. (2001). The effects of oestrogens on linear bone growth. *Hum Reprod Update*. May-Jun;7(3):303-13.

Kaminsky LS, Mahoney MC, Leach J, Melius J, Miller MJ. (1990). Fluoride: benefits and risks of exposure. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1(4):261- 81

Kanwar KC, Singh M. (1981). Zinc depletion following experimental fluorosis in mice. *Sci Total Environ*; 22(1):79-83.

Karaöz Erdal, Kanat Gülle, Ethem F. Mumcu, Alpaslan Gökç Men, Meral Öncü (2003). The Structural Changes In Second Generation At The Rats Kidney And Liver Tissues Which Have Experimentally Acquired Chronic Fluorosis. *T Klin T.P Bilimleri* 2003, 23:129-134

Karube H., G. Nishitai, K. Inageda, H. Kurosu, M. Matsuoka. (2009). NaF activates MAPKs and induces apoptosis in odontoblast-like cells, *J. Dent. Res.* 88 461–465.

Kaur T, Bijarnia RK, Nehru B. (2009). Effect of concurrent chronic exposure of fluoride and aluminum on rat brain. *Drug and chemical toxicology*, 32(3):215-21.

Kerr J F R, Wyllie A H, Currie A R. (1972). A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26: 239-245

Kerstetter JE, O'Brien KO, Insogna KL. (2003). Dietary protein, calcium metabolism, and skeletal homeostasis revisited. *Am J Clin Nutr.* Sep;78(3 Suppl):584S-592S.

Kessabi M, Hamliri A, Braun JP, Rico AG. (1985). Experimental Acute Sodium Fluoride Poisoning in SHEEP: Renal, Hepatic, and Metabolic Effects. *Fundam Appl Toxicol.*; 5:1025–1033.

Kessabi M, Hamliri A, Braun JP. (1986). Experimental fluorosis in sheep: alleviating effects of aluminum. *Vet Hum Toxicol*; 28(4):300-4.

Khadar Basha S. ve K. Jayantha Rao. (2014). Sodium Fluoride Induced Histopathological Changes In Liver And Kidney Of Albino Mice *Acta Chim. Pharm. Indica*: 4(1), 2014, 58-62

Khandare AL, Rao GS, Lakshmaiah N. (2002). Effect of tamarind ingestion on fluoride excretion in humans. *Eur J Clin Nutr*;56:82–85.

Khandare AL, Kumar PU, Shanker RG, Venkaiah K, Lakshmaiah N: (2004).Additional beneficial effect of tamarind ingestion over defluoridated water supply to adolescent boys in a fluorotic area. *Nutrition*; 20:433–436.

Khandare AL, Harikumar R, SivakumarB. (2005). Severe bone deformities in young children from vitamin D deficiency and fluorosis in Bihar-India. *Calcif Tissue Int*; 76:412–418.

Kobayashi CAN, Leite AL, Silva TL, Santos LD, Nogueira FCS, Oliveira RC, Palma MS. (2009). Proteomic analysis of kidney in rats chronically exposed to fluoride. *Chemico biological interactions*, 180(2):305-11.

Koch MJ, Buhrer R, Pioch T, Scharer K. (1999). Enamel hypoplasia of primary teeth in chronic renal failure. *Pediatr Nephrol*;13:68–72.

Kohji Matsushita, Wei Meng, Xiaoying Wang, Minoru Asahi, Kazuko Asahi, Michael A Moskowitz and Eng H Lo. (2000). Evidence for Apoptosis After Intracerebral Hemorrhage in Rat Striatum. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 20, 396–404

Kohli Vivek, Selzner, Markus; Madden, John F.; Bentley, Rex C.; Clavien, Pierre-Alain. (1999). Endothelial Cell and Hepatocyte Deaths Occur By Apoptosis After Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat Liver. *Transplantation*. 67(8):1099-1105.

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

Kubota K., D.H. Lee, M. Tsuchiya, C.S. Young, E.T. Everett, E.A. Martinez-Mier, M.L. Snead, L. Nguyen, F. Urano, J.D. Bartlett. (2005). Fluoride induces endoplasmic reticulum stress in ameloblasts responsible for dental enamel formation, *J. Biol. Chem.* 280(3) 23194–23202.

Kumari DS, Rao PR. (1991). Erythrocyte glutathione metabolism in human chronic fluoride toxicity. *Biochem Int;* 23(2):349-57.

Kuscu Ö, Ozgur Onder, Nuket Sandalli, Serdal Dikmen, Orkun Ersoy, Ilkan Tatar, Ismet Turkmen, Esber Cağlar. (2013). Association of amoxicillin use and molar incisorhypomineralization in piglets: Visual and mineral density evaluation archives of oral biology 16;58(10):1422-33

Kwon TG, Park HS, Ryoo HM, Lee SH. (2006). A comparison of craniofacial morphology in patients with and without facial asymmetry—a three-dimensional analysis with computed tomography. *Int J Oral Maxillofac Surg;*35:43–8.

Laib A, Barou O, Sico L, Lafage-Proust M, Alexandre C, Ruegsegger P. (2000). 3D microcomputed tomography of trabecular and cortical bone architecture with application to a rat model of immobilization osteoporosis. *Med Biol Eng Comput;*38:326–33.

Lakshmaiah N, Srikantia SG. (1977). Fluoride retention in humans on sorghum and rice based diets. *Indian J Med Res* 65:543–548.

Landis E.N. ve Keane, D.T. (2010). X-ray microtomography. *Material Characterization*, 61, 1305-1316.

Lantz O, Jouvin MH, DeVernejoul MC, Druet P. (1987). Fluoride-Induced Chronic Renal Failure. *Am J Kidney Dis.*; 10: 136–139.

Lee J.H., J.Y. Jung, Y.J. Jeong, J.H. Park, K.H. Yang, N.K. Choi, S.H. Kim, W.J. Kim. (2008). Involvement of both mitochondrial-and death receptor-dependent apoptotic pathways regulated by Bcl-2 family in sodium fluoride-induced apoptosis of the human gingival fibroblasts, *Toxicology* 243 340–347.

Lee Melissa M., Emily Y. Chu, Mohga M. El-Abbadi, Brian L. Foster, Kevin A. Tompkins, Cecilia M. Giachelli, and Martha J. Somerman. (2010). Characterization of Mandibular Bone in a Mouse Model of Chronic Kidney Disease. *J Periodontol* February 2010. doi: 10.1902/jop..090379

Levis S, Altman R. (1998). Bone densitometry: clinical considerations. *Arthritis Rheum.* Apr;41(4):577-87.

Levy SM, Broffitt B, Marshall TA, Eichenberger GJM, Warren JJ. (2010). Associations between fluorosis of permanent incisors and fluoride intake from infant formula, other dietary sources and dentifrice during early childhood. *J Am Dent Assoc.*, 141(10):1190-2201

Li Y, Liang C, Slemenda CW, Ji R, Sun S, Cao J, Emsley CL, Ma F, Wu Y, Ying P, Zhang Y, Gao S, Zhang W, Katz BP, Niu S, Cao S, Johnston CC Jr. (2001). Effect of long-term exposure to fluoride in drinking water on risks of bone fractures. *J Bone Miner Res.* May;16(5):932–9

Liang H, Liang Y, Gardella JA, He P, Yatzor BP. (2011). Potential release of hydrogen fluoride from domestic coal in endemic fluorosis area in Guizhou, China. *Chinese Science Bulletin*, 56(22):2301-2303

Liu YJ, Gao Q, Wu CX, Guan ZZ. (2010). Alterations of nAChRs and ERK1/2 in the brains of rats with chronic fluorosis and their connections with the decreased capacity of learning and memory. *Toxicology letters*, 192(3):324-9.

Liu YQ. (1993). Promotive action of sodium fluoride on precancerous lesions of hepatocellular carcinoma induced by diethylnitrosamine (DEN) in rats-stereologic study of enzyme histochemistry. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*; 22(5): 299- 301.

Loredana Farilla, Hongxiang Hui, Cristina Bertolotto, Elizabeth Kang, Angela Bulotta, Umberto Di Mario, and Riccardo Perfetti. (2002). Glucagon-Like Peptide-1 Promotes Islet Cell Growth and Inhibits Apoptosis in Zucker Diabetic Rats. Volume 143 Issue 11 | November 1,22-31

Lu J, Ashwell K, Ken W S, Waite P. (2000). Advances in spinal cord injury: Role of Apoptosis. *Spine* 25: 1859-1866

Luo K, Liu Y, Li H. (2012). Fluoride content and distribution pattern in groundwater of eastern Yunnan and western Guizhou, China. *Environmental geochemistry and health*, 34(1):89-101

Lyaruu DM, Bronckers AL, Santos F, Mathias R, DenBesten P. (2008) The effect of fluoride on enamel and dentin formation in the uremic rat incisor. *Pediatr Nephrol*;23:1973–1979.

Magne P. (2007). Efficient 3D finite element analysis of dental restorative procedures using micro-CT data. *Dental Materials*, (23), 539-548.

Maguire A, Zohouri FV, Mathers JC, Steen IN, Hindmarch PN, Moynihan PJ. (2005). Bioavailability of fluoride in drinking water: a human experimental study. *J Dent Res*;84:989–993.

Mandinic Z, Curcic M, Antonijevic B, Carevic M, Mandic J, Djukic CD, Lekic CP. (2010). Fluoride in drinking water and dental fluorosis. *The Science of the total environment*, 408(17):3507-12.

Manual for Bruker-microCT CT. (2013). Analyser v. 1.13

Marcus R, Feldman D. Kelsey J. (1996). *Osteoporosis*: Academic Press, San Diego, CA, USA,

Martínez MEA, Soto RAE, Ureña CJL, Stookey GK, Dunipace AJ. (2003). Fluoride intake from foods, beverages and dentifrice by children in Mexico. *Community Dent Oral Epidemiol*, 31:221-230.

Mary L Bouxsein, Stephen K Boyd, Blaine A Christiansen, Robert E Guldberg, Karl J Jepsen and Ralph Muller. (2010). Guidelines for Assessment of Bone Microstructure in Rodents Using Micro-Computed Tomography. *Journal of Bone and Mineral Research*, Vol. 25, No. 7, July 2010, pp 1468–1486

Marya CM, Dhingra S, Ashokkumar MV. (2010). Relations of dental fluorosis at different concentrations of fluoride in endemic areas: Epidemiological study. *Journal of clinical pediatric dentistry*. 35(1):41-45.

Mascarenhas AK, Burt BA. (1998). Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste. *Community Dentistry Oral Epidemiology*, 26:241– 248.

Mascarenhas AK. (2008). High fluoride concentration in drinking water may increase the prevalence and severity of dental fluorosis and decrease occurrence of caries. *Journal of Evidence Based Dental Practice*, 8(1):15-16.

Mavropoulos A., S. Kiliaridis, A. Bresin and P. Ammann. (2004). Effect of different masticatory functional and mechanical demands on the structural adaptation of the mandibular alveolar bone in young growing rats. *Bone* 35 191 – 197

Michel-Crosato E, Biazevic MG, Crosato E. (2005). Relationship between dental fluorosis and quality of life: a population based study. *Braz Oral Res.* Apr-Jun;19(2):150-5

Michael Kleerekoper and Raffaella Balena. (1991) fluorides and osteoporosis, *Annu. Rev. Nutr.* 11 :309-24

Mijares Dindo, Anupama Kulkarni, Kanthi Lewis, Fang Yao, Qing Xi, Samar Tannous, Renata Dias, Racquel Z. LeGeros. (2011). Oral bone loss induced by mineral deficiency in a rat model: Effect of a synthetic bone mineral (SBM) preparation *Archives of Oral Biology*. doi:10.1016/j.archoralbio.2012.02.021

Mitropoulos, P., Rahiotis, C., Stamatakis, H. ve Kakaboura, A. (2010). Diagnostic performance of the visual caries classification system ICDAS II versus radiography and micro-computed tomography for proximal caries detection: An in vitro study. *Journal of Dentistry*, 38, 859-867.

Mittal M, Flora SJS. (2007). Vitamin E supplementation protects oxidative stress during arsenic and fluoride antagonism in male mice. *Drug chemical toxicology*, 30(3):263-81.39(2):163–6.

Mohammadi S., M. Movahedin, S.J. Mowla. (2009) Up-regulation of CatSper genes family by selenium, *Reprod. Biol. Endocrinol.* 81:539–544

Monjo Marta, Sebastien F. Lamolle, S. Petter Lyngstadaas, H. Jacob Rønold, Jan Eirik Ellingsen. (2008). In vivo expression of osteogenic markers and bone mineral density at the surface of fluoride-modified titanium implants. *Biomaterials* 29 3771–3780

Moon HS, Won YY, Kim KD, Ruprecht A, Kim HJ, Kook HK. (2004). The three-dimensional microstructure of the trabecular bone in the mandible. *Surg Radiol Anat*;26:466–73.

Moore KL, Persaud TVN. (1993). Before We Are Born—Essentials of Embryology and Birth Defects, 4th edition. WB Saunders

Morinaga K, Kido H, Sato A, Watazu A, Matsuura M. (2009). Chronological changes in the ultrastructure of titanium bone interfaces: analysis by light microscopy, transmission electron microscopy, and micro computed tomography. Clin Implant Dent Relat Res 11:59–68

Mousny M, Banse X, Wise L, Everett ET, Hancock R, Vieth R, Devogelaer JP, Grynpas MD. (2006). The genetic influence on bone susceptibility to fluoride. Bone;39:1283–1289.

Mousny M, Omelon S, Wise L, Everett ET, Dumitriu M, Holmyard DP, Banse X. (2008). Fluoride effects on bone formation and mineralization are influenced by genetics. *Bone*, 43(6):1067-74.

Mulder L, Koolstra JH, Van Eijden TM. (2004). Accuracy of microCT in the quantitative determination of the degree and distribution of mineralization in developing bone. Acta Radiol; 45:769–77.

Mulder L, Koolstra JH, De Jonge HW, Van Eijden TMGJ. (2006). Architecture and mineralization of developing cortical and trabecular bone of the mandible. Anat Embryol ;285:659–667

Mulder L, Koolstra JH, Jaap M.J. den Toonder, Van Eijden TM. (2007). Intratrabecular distribution of tissue stiffness and mineralization in developing trabecular bone Bone 41 256 – 265

Murao H., N. Sakagami, T. Iguchi, T. Murakami, Y. Suketa. (2000). Sodium fluoride increases intracellular calcium in rat renal epithelial cell line NRK-52E, Biol. Pharm. Bull. 23 581–584.

Neves A., Coutinho, E., Cardoso, M.V., Jaecques, S.V. ve Van Meerbeek, B. (2009). Micro-CT based quantitative evaluation of caries excavation. *Dental Materials* 26, 579-588

Nopakun J, Messer HH. (1990). Mechanism of fluoride absorption from the rat small intestine. *Nutr Res*;10:771–9.

Nuzzo S, Lafage-Proust MH, Martin-Badosa E, Boivin G, Thomas T, Alexandre C. (2002). Synchrotron radiation microtomography allows the analysis of three-dimensional microarchitecture and degree of mineralization of human iliac crest biopsy specimens: effects of etidronate treatment. *J Bone Miner Res*;17:1372– 82.

Ohashi T, Matsunaga S, Nakahara K, Abe S, Ide Y, Tamatsu Y, Takano N. (2010). Biomechanical role of peri-implant trabecular structures during vertical loading. *Clin Oral Invest* 14:507–513

Opinya GN, Imalingat B. (1991). Skeletal and dental fluorosis: two case reports. *East Afr Med J. Apr*;68(4):304-11.

Orcel P, De Vernejoul MC, Prier A. (1990). Stress fractures of lower limbs in osteoporotic patients treated with fluoride. *J Bone Miner Res* 5:S91–S94

Ortizperez D. (2003). Fluoride induced disruption of reproductive hormones in men. *Environmental Research*, 93(1):20-30

Özdemir H. (2002). Elazığ ve Çevresindeki Sigir ve Koyunların Kan Serum, İdrar, Kemik ve Dislerindeki Flor Düzeylerinin Araştırılması. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 16(2):187-197.

Pak CYC, Zerwekh JE., Antich P. (1995). Anabolic Effects of Fluoride on Bone, *Trends in endocrinology and Metabolism*, 229-234

Parsons V, Choudhury AA, Was JAH, Vernon A. (1975). Renal excretion of fluoride in renal failure and after transplantation. *Br Med J*; 1:128-30.

Parsons V., Mitchell, C. J., Reeve, J., Hesp, R. (1977). The use of sodium fluoride, vitamin D and calcium supplements in the treatment of patients with axial osteoporosis. *Calcif. Tissue Res.* 22(Suppl.):236-40

Pascale Chavassieux. (1990). Bone effects of fluoride in animal models *in vivo*. A review and a recent study. *Journal of Bone and Mineral Research* Volume 5, Issue Supplement S1, pages S95–S99, March 1990

Paul V, Ekambaram P, Jayakumar AR. (1998). Effects of sodium fluoride on locomotor behavior and a few biochemical parameters in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 6:187–191.

Pendrys DG. (2000). Risk of enamel fluorosis in nonfluoridated and optimally fluoridated populations: considerations for the dental professional. *J Am Dent Assoc.* Jun;131(6):746-55

Pendrys DG, Haugejorden O, Bårdsen A, Wang NJ, Gustavsen F. (2010). The Risk of Enamel Fluorosis and Caries Among Norwegian Children Implications for Norway and the United States. *JADA*, 141(4):401-414

Penman AD, Brackin BT, Embrey R. (1997). Outbreak of acute fluoride poisoning caused by a fluoride overfeed, Mississippi, 1993. *Public Health Rep.* Sep-Oct;112(5):403-9.

Perault-Staub AM, Staub JF, Milhaud G. (1974). A new concept of plasma calcium homeostasis in the rat. *Endocrinology* 95:480–484.

Phillips PJ, Phillipov G. (2006). Bone mineral density - frequently asked questions. *Aust Fam Physician.* May;35(5):341-4.

Piper M. Treuting, Suzanne M Dintzis, Charles W. Frevert, Denny Liggitt, Kathleen S. Montine. 2002. Comparative Anatomy and Histology A Mouse and Human Atlas, First edition 2002, United States of America 2002 pg: 57-61

Polzik EV, Zinger VE, Valova GA, Kazantsev VS, Yakusheva MY. (1994). A method for estimating individual predisposition to occupational fluorosis. Fluoride; 27:194–200.

Porto IM, Saiani RA, Chan KLA, Kazarian SG, Gerlach RF, Bachmann L. (2010). Organic and inorganic content of fluorotic rat incisors measured by FTIR spectroscopy. Spectrochimica acta, 77(1):59-63.

Rao HV, Beliles RP, Whitford GM, Turner CH: (1995). A physiologically based pharmacokinetic model for fluoride uptake by bone. Regul Toxicol Pharmacol;22:30–42.

Rao R V, Hermel E, Castro-Obregon S. (2001). Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program: mechanism of caspase activation. J Biol Chem 276: 869-874

Rathore S., Tyndall, D., Wright, T. ve Everett, E. (2008). Comparison of micro-ct and histology in dental caries diagnosis. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 105, 58-59.

Rebaudi A, Benedicenti S (2010) Sinus grafting with magnesiumenriched bioceramic granules and autogenous bone: a microcomputed tomographic evaluation of 11 patients. Int J Periodontics Restorative Dent 30:53–61

Reggabi M. (1984). Renal functions in residents of endemic fluorosis area in southern Algeria. Fluoride; 17:35-41.

Renders GAP, Mulder L, Van Ruijven LJ, Van Eijden TMGJ (2006) Degree and distribution of mineralization in the human mandibular condyle. *Calcif Tissue Int* 79, 190–196.

Renders G. A. P., L. Mulder, L. J. van Ruijven and T. M. G. J. van Eijden. (2007) Porosity of human mandibular condylar bone *J. Anat.* 210 , pp239–248

Rhee, Y., Hur, J.H., Won, Y.Y., Lim, S.K., Beak, M. H., Cui, W.Q., Kim, K.G. & Kim, Y.E. (2009) Assessment of bone quality using finite element analysis based upon micro-CT images. *Clinics in Orthopedic Surgery* (1): 40–47.

Ri-An Yu, Tao Xia, Ai-Guo Wang Ve Xue-Min Chen. (2006). Effects Of Selenium And Zinc On Renal Oxidative Stress And Apoptosis Induced By Fluoride In Rats. *Biomedical And Environmental Sciences* 19, 439-444

Richter H, Kierdorf U, Richards A, Melcher F, Kierdorf H. (2011). Fluoride concentration in dentine as a biomarker of fluoride intake in European roe deer (*Capreolus capreolus*) an electron microprobe study. *Archives of oral biology*, 56(8):785-92

Riggs BL, Hodgson SF, O'Fallon WM, Chao EY, Wahner HW, Muhs JM, et al. (1990). Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 322:802-809.

Riggs BL., W.M. O'Fallon, A. Lane, S.F. Hodgson, H.W. Wahner, J. Muhs, E. Chao ve L.J. Melton. (1994). Clinical trial of fluoride therapy in postmenopausal osteoporotic women: Extended observations and additional analysis. *Journal of Bone and Mineral Research*. Volume 9, Issue 2, pages 265–275, February

Riksen EA, Kalvik A, Brookes S, Hynne A, Snead ML, Lyngstadaas SP, Reseland JE. (2011). Fluoride reduces the expression of enamel proteins and cytokines in an ameloblast-derived cell line. *Archives of Oral Biology*, 56(49):324–33.

Ritman E.L. (2004). Micro-computed tomography-current status and developments. *Annual Review Biomedical Engineering*, 6, 185-208

Robinson C, Kirkham J. (1990). The effect of fluoride on the developing mineralized tissues. *J Dent Res*, 69:685–691.

Roschger P, Grabner BM, Rinnerthaler S, Tesch W, Kneissel M, Berzlanovich A. (2001). Structural development of the mineralized tissue in the human L4 vertebral body. *J Struct Biol*;136:126–36.

Rosen CJ, Bilezikian JP. (2001). Clinical review: Anabolic therapy for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.*;86(3):957-64.

Rude RK, Gruber HE, Norton HE, Wei LY, Frausto A, Kilburn J. (2005). Dietary magnesium reduction to 25% of nutrient requirement disrupts bone and mineral metabolism in the rat. *Bone*;37(2):211–9.

Rugg-Gunn AJ, al-Mohammadi SM, Butler TJ. (1997). Effects of fluoride level in drinking water, nutritional status, and socioeconomic status on the prevalence of developmental defects of dental enamel in permanent teeth in Saudi 14-year-old boys. *Caries Res*;31:259–267.

Rwenyonyi C, Bjorvatn K, Birkeland J, Haugejorden O. (1999). Altitude as a risk indicator of dental fluorosis in children residing in areas with 0.5 and 2.5 mg fluoride per litre in drinking water. *Caries Res*;33:267–274.

Salgado-Bustamante M., M.D. Ortiz-Pérez, E. Calderón-Aranda, L. Estrada-Capetillo, P. Niño-Moreno, R.D. González-Amaro, D. Portales-Pérez. (2010) Pattern of expression of apoptosis and inflammatory genes in humans exposed to arsenic and/or fluoride, *Sci. Total Environ.* 408 760–767.

Sampaio F, Ramm von der Fehr F, Arneberg P, Petrucci Gigante D, Hatloy A. (1999). Dental fluorosis and nutritional status of 6- to 11-year-old children living in rural areas of Paraiba, Brazil. *Caries Res*;33:66–73.

Schiffl HH, Binswanger U. (1980). Human urinary fluoride excretion as influenced by renal functional impairment. *Nephron*;26:69–72.

Schnitzler CM, Solomon L. (1985). Trabecular stress fractures during fluoride therapy for osteoporosis. *Skeletal Radiol* 14:276–279

Schwass D.R., Swain, M.V., Purton, D.G. ve Leichter, J.W. (2009). A System of Calibrating Microtomography for Use in Caries Research. *Caries Research*, 43, 314-321

Shanthakumari D, Srinivasalu S, Subramanian S. (2004). Effect of fluoride intoxication on lipidperoxidation and antioxidant status in experimental rats. *Toxicology*, 204(2-3):219-328.

Shanthakumari D, Subramanian S. (2007). Effect of fluoride intoxication on bone tissue of experimental rats. *Research journal of enviromental sciences* 1 (3): 82-92, 2007

Shashi A, Thapar SP. (2001). Histopathology of myocardial damage in experimental fluorosis in rabbits. *Fluoride*; 34:43-50.

Shashi A., Jp Singh, Sp Thapar, Patiala, India. (2002). Toxic Effects Of Fluoride On Rabbit Kidney. *Fluoride* Vol. 35 No. 1 38-50

Shen V, Liang XG, Birchman R, Wu DD, Healy D, Lindsay R, Dempster DW. (1997). Short term immobilization-induced cancellous bone loss is limited to regions undergoing high turnover and/or modeling in mature rats. *Bone*;21(1):71–8.

Shoji Nogae, Masanabu Miyazaki, Nobuyuki Kobayashi, Takao Saito, Keishi Abe, Hiroshi Saito, Paul K. Nakane, Yoshinobu Nakanishi ve Takehiko Koji. (1998). Induction of apoptosis in ischemia reperfusion model of mouse kidney possible involvement of fas. J Am soc nephrol 9: 320-631

Si-Qin Ding, Yuan Li, Zong-Guang Zhou, Cun Wang, Lan Zhan and Bin Zhou. (2010). Toll-like receptor 4-mediated apoptosis of pancreatic cells in cerulein-induced acute pancreatitis in mice Hepatobiliary Pancreat Dis Int, Vol 9, No 6, December 15

Silva MJ, Ulrich SR (2000). In vitro sodium fluoride exposure decreases torsional and bending strength and increases ductility of mouse femora. J Biomech 33:231-234.

Singer L, Armstrong WD. (1969). Relation between the fluoride contents of rat calcified tissues. J Dent Res. Sep-Oct;48(5):947-50.

Singh Amarjit, Ramji Dass, Sohan Singh. (1962). Skeletal changes in endemic fluorosis. The journal of bone and joint surgery, Vol. 44 B, no 4, 44-46

Singh PP, Barjatiya MK, Dhing S, Bhatnagar R, Kothari S, Dhar V. (2001). Evidence Suggesting that High Intake of Fluoride Provokes Nephrolithiasis in Tribal Populations. Urol Res.; 29(4): 238– 244.

Sireli M, Bülbül A. (2004). The effect of acute fluoride poisoning on nitric oxide and methemoglobin formation in the guinea pig. Turk. J. Vet. Anim. Sci, 28:591-595

Smith FA, Ekstrand J. (1996). The occurrence and chemistry of fluoride; in Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA (eds): Fluoride in Dentistry, ed 2. Copenhagen, Munksgaard, pp 17–26.

Smith GE. (1985). Fluoride and bone: an unusual hypothesis. *Xenobiotica*. Mar;15(3):177-86.

Smith GE. (1988). Fluoride and fluoridation. *Soc Sci Med*. 26(4):451-62.

Soni MG, Kachole MS, Pawar SS. (1984). Alternation in drug metabolising enzymes and lipid peroxidation in different rat tissues by fluoride. *Toxicol Lett* 1984; 21:167-72.

Søgaard CH, Mosekilde L, Richards A, Mosekilde L. (1994). Marked decrease in trabecular bone quality after five years of sodium fluoride therapy—assessed by biomechanical testing of iliac crest bone biopsies in osteoporotic patients. *Bone* 15:393-399.

Søgaard CH, Mosekilde L, Schwartz W, Leidig G, Minne HW, Ziegler R. (1995). Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. *Bone* 16:163-169.

Sun J. ve Gibson, S. L. (2008). X-ray microcomputed tomography for measuring polymerization shrinkage of polymeric dental composites. *Dental Materials*, 24, 228-234.

Talmage RV, Roycroft JH, Anderson JJ. (1975). Daily fluctuations in plasma calcium, phosphate, and their radionuclide concentrations in the rat. *Calcif Tissue Res* 1975;17:91–102.

Tamer MN, Kale Köroğlu B, Arslan C, Akdoğan M, Köroğlu M, Cam H, Yıldız M. (2007). Osteosclerosis due to endemic fluorosis. *Sci Total Environ*. Feb 1;373(1):43-8

- Tanaka M, Ejiri S, Nakajima MS, Kohno M, Ozawa H. (1999). Changes of cancellous bone mass in rat mandibular condyle following ovariectomy. *Bone*;25(3):339–47.
- Tanck E, Homminga J, van Lenthe GH, Huiskes R. (2001). Increase in bone volume fraction precedes architectural adaptation in growing bone. *Bone*;28:650–4.
- Tao X, Rong XU, Wang YZ. (2006). Effects of dietary fluoride levels on growth, serum indekses and antioxidant systems in growing pigs. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 30:65–70.
- Teotia M, Teotia SP, Kunwar KB. (1971). Endemic skeletal fluorosis. *Arch Dis Child*. oct; 46(294)686-91
- Touchette N, Fogle S. (1991). Apoptosis: it chimes with mitosis. *JNIH Res* 3:75-78
- Trautner K, Einwag J. (1989). Influence of milk and food on fluoride bioavailability from NaF and Na₂FPO₃ in man. *J Dent Res* 1989;68:72–77.
- Turner CH, Hasegawa K, Zhang W, Wilson M, Li Y, Dunipace AJ. (1995). Fluoride reduces bone strength in older rats. *J Dent Res* 74: 1475-1481.
- Turner CH, Owan I, Brizendine EJ, Zhang W, Wilson ME, Dunipace AJ. (1996). High fluoride intakes cause osteomalacia and diminished bone strength in rats with renal deficiency. *Bone*. Dec;19(6):595-601.
- Turner C. H., L. P. Garetto, A. J. Dunipace, W. Zhang, M. E. Wilson, M. D. Grynpas, D. Chachra, R. McClintock, M. Peacock, G. K. Stookey. (1997). Fluoride Treatment Increased Serum IGF-1, Bone Turnover, and Bone Mass, but Not Bone Strength, in Rabbits. July 1997, Volume 61, Issue 1, pp 77-83

Urbanska B., Czarnowski W, rechniak J, Inkielewicz I, Stolarska K. (2001). Skeletal metabolism and bone mineral density in fluoride exposed rats. *Fluoride* vol:34, No:2,. p:95-102

Usuda K, Kono K, Dote T, Nishiura K, Miyata K, Nishiura H, Shimara M, Sugimoto K. (1998). Urinary biomarkers monitoring for experimental fluoride nephrotoxicity. *Arch Toxicol*; 72(2): 104-9.

Usuda K, Kono K, Dote T, Nishiura K, Tagawa T. (1999). Usefulness of the assessment of urinary enzyme leakage in monitoring acute fluoride nephrotoxicity. *Arch Toxicol* 1999; 73(6): 346-51.

Ülgen M. (2000). Ortodonti anomaliler, sefalometri, etioloji, büyüme ve gelişim, tanı. T.C. Yeditepe Üniversitesi Yayınları, İstanbul.

Wagner MJ. (1962). Absorption of fluoride by the gastric mucosa in the rat. *J Dent Res* 1962;41:667–671.

Wahner H. (1989). Technical aspects and clinical interpretation of bone mineral measurements. *Public Health Rep.* Sep-Oct;104 Suppl:27-30.

Wang W, Kong L, Zhao H, Dong R, Li J, Jia Z, et al. (2007). Thoracic ossification of ligamentum flavum caused by skeletal fluorosis. *Eur Spine J* 16:1119-1128.

Warren JJ, Levy SM, Broffitt B, Cavanaugh JE, Kanellis MJ, Weber- Gasparoni K. (2009). Considerations on optimal fluoride intake using dental fluorosis and dental caries outcomes a longitudinal study. *J Public Health Dent*, 69:111-115.

Weatherell JA. (1969). Uptake and distribution of fluoride in bones and teeth and the development of fluorosis; in Barltrop W, Burland WL (eds): *Mineral Metabolism in Paediatrics*, ed 1. Oxford, Blackwell, 1969, pp 53–70.

Weatherell JA, Robinson C, Hallsworth AS. (1972). Changes in the fluoride concentration of the labial enamel surface with age. *Caries Res*;6:312–324.

Weidmann SM, Weatherell JA. (1959). The uptake and distribution of fluorine in bones. *J Pathol Bacteriol* 1959;78: 243–255.

Whitford GM. (1994). Effects of plasma fluoride and dietary calcium concentrations on GI absorption and secretion of fluoride in the rat. *Calcif Tissue Int* 1994;54: 421–425.

Whitford GM, Pashley DH, Reynolds KE. (1979). Fluoride tissue distribution: shortterm kinetics. *Am J Physiol* 1979;236: F141–F148.

Whitford GM, Pashley DH, Stringer GI. (1976). Fluoride renal clearance: a pH-dependent event. *Am J Physiol*;230: 527–532.

Whitford GM, Pashley DH. (1984). Fluoride absorption: the influence of gastric acidity. *Calcif Tissue Int*;36:302–307.

Whitford GM. (1990). The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res*, 69:539–44.

Whitford GM. (1994). Intake and metabolism of fluoride. *Adv Dent Res*, 8:5–14.

Whitford GM. (1996). The metabolism and toxicity of fluoride. *Monogr Oral Sci* 1996;16:1–153.

Whitford GM. (1997). Determinants and mechanisms of enamel fluorosis. *Ciba Found Symp* 1997;205:226–241, discussion 241–245.

Whitford GM, Thomas JE, Adair SM. (1999). Fluoride in whole saliva, parotid ductal saliva and plasma in children. *Arch Oral Biol* 1999;44:785–788.

Whitford GM, Sampaio FC, Pinto CS, Maria AG, Cardoso VE, Buzalaf MA. (2008). Pharmacokinetics of ingested fluoride: lack of effect of chemical compound. Arch Oral Biol 2008;53:1037–1041.

WHO (World Health Organization). (2006). Guidelines for drinking water quality. 3th ed, Geneva, p.221-459.

Wilson AC, Bawden JW. (1991). Salivary fluoride concentrations in children with various systemic fluoride exposures. Pediatr Dent 1991;13:103–105.

Wong MH, Fung KF, Carr HP. (2003). Aluminium and fluoride contents of tea, with emphasis on brick tea and their health implications. Toxicology Letters, 137(1-2):111–120.

Varner JA, Jensen KF, Horvath W, Isaacson RL. (1998). Chronic administration of aluminum fluoride or sodium fluoride to rats in drinking water: Alterations in neuronal and cerebrovascular integrity. Brain Res, 16(2):284-298.

Varol E, Varol S. (2010). Çevresel bir hastalık olarak fluorozis ve insan sağlığı üzerine etkisi. TAF Prev Med Bull, 9(3):233-238.

Vieira AP, Hancock R, Limeback H, Maia R, Grynpas MD. (2004). Is fluoride concentration in dentin and enamel a good indicator of dental fluorosis? J Dent Res. 2004 Jan;83(1):76-80.

Vieira AP, Hancock R, Dumitriu M, Limeback H, Grynpas MD: (2006). Fluoride's effect on human dentin ultrasound velocity (elastic modulus) and tubule size. Eur J Oral Sci 2006;114:83–88.

Vieira A, Hancock R, Dumitriu M, Schwartz M, Limeback H, Grynpas M. (2005). How does fluoride affect dentin microhardness and mineralization? J Dent Res;84:951–957.

Vieira AP, Mousny M, Maia R, Hancock R, Everett ET, Grynpas MD. (2005). Assessment of teeth as biomarkers for skeletal fluoride exposure. *Osteoporos Int.* Dec;16(12):1576–82.

Vieira AP, Hancock R, Eggertsson H, Everett ET, Grynpas MD. (2005). Tooth quality in dental fluorosis genetic and environmental factors. *Calcif Tissue Int.* Jan;76(1):17-25.

Villa A, Anabalon M, Zohouri V, Maguire A, Franco AM, Rugg-Gunn A. (2010). Relationships between fluoride intake, urinary fluoride excretion and fluoride retention in children and adults: an analysis of available data. *Caries Res* 2010;44:60–68.

Vogt RL, Witherell L, LaRue D, Klaucke DN. (1982). Acute fluoride poisoning associated with an on-site fluoridator in a Vermont elementary school. *Am J Public Health.* Oct;72(10):1168-9.

Xiu-An Zhan, Min Wang, Zi-Rong Xu, Jian-Xin Li Hangzhou. (2000). Toxic Effects Of Fluoride On Kidney Function And Histological Structure In Young Pigs Research Report Fluoride 39(1)22–26 January-March

Yadav AK, Kaushik CP, Haritash AK, Singh B, Raghuvanshi SP, Kansal A. (2007). Determination of exposure and probable ingestion of fluoride through tea, toothpaste, tobacco and pan masala. *Journal of hazardous materials*, 142(1-2):77-80.

Yan-Li Ji, Hua Wang, Cheng Zhang, Ying Zhang, Mei Zhao, Yuan-Hua Chen and De-Xiang Xu. (2013). N-acetylcysteine protects against cadmium-induced germ cell apoptosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress in testes *Asian Journal of Andrology* 15, 290–296

Yang Song, Jin-cheng Wang, Hui Xu, Zhen-wu Du, Gui-zhen Zhang, Hamid Abdu Selim, Guang-sheng Li, Qing Wang, Zhong-li Gao. (2013). Fluorosis caused cellular

apoptosis and oxidative stress of rat kidneys. Chemical Research in Chinese Universities April, Volume 29, Issue 2, pp 263-269

Yank K, Chen J, Wang G, Liu S. (1998). Study on the antagonistic action of selenite on fluoride-induced lipid peroxidation and on the changes of trace elements in rat. Wet Sheng Yen Chiu 27(3): 201-4.

Yoder KM, Mabelya L, Robison VA, Dunipace AJ, Brizendine EJ, Stookey GK. (1998). Severe dental fluorosis in a Tanzanian population consuming water with negligible fluoride concentration. Community Dent Oral Epidemiol 26(3): 333-9

Yıldız M. (2003). Oral B. Effects of menopause on bone mineral density in women with endemic fluorosis. Clin Nucl Med. Apr;28(4):308-1

Yi J, Cao J. (2008). Tea and fluorosis. Journal of Fluorine Chemistry, 129:76–81

Zeiger D. N., Sun, J., Schumacher, G. E. ve Gibson, S. L. (2009). Evaluation of dental composite shrinkage and leakage in extracted teeth using X-ray microcomputed tomography. Dental Materials 25, 1213-1220.

Ziegler R, Scheidt-Nave C, Scharla S. (1995). Pathophysiology of osteoporosis: unresolved problems and new insights. J Nutr. 1995 Jul;125(7 Suppl):2033S-2037S.

Ek 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Serhat	Soyadı	KARACA
Doğum Yeri	Edremit	Doğum Tarihi	07.04.1984
Uyruğu	T.C.	Kimlik No	32035474334
E-mail	dtserhatkaraca@gmail.com	Tel	5063056211

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2008
Lisans		
Lise	Ümraniye Anadolu Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Doktora Öğrencisi	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi	2009-2014
2.			
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	İyi

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #

KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	66.00							

Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS: International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	Çok İyi
Microsoft Power Point	Çok İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin