



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**SÜT DİŞLERİNDE PRENATAL VE POSTNATAL SERT DOKULAR
ARASINDAKİ FARKLARIN ICP-MS YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ**

Dt. Cengiz GÜLEN

DOKTORA TEZİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğrt. Üyesi İsmet Rezani TOPTANCI

DİYARBAKIR- 2018



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Cengiz GÜLEN 'in hazırladığı “SÜT DİŞLERİNDE PRENATAL VE POSTNATAL SERT DOKULAR ARASINDAKİ FARKLARIN ICP-MS YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 27/11/2018

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi. İsmet Rezani TOPTANCI

Jüri Üyeleri

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Sema ÇELENK
Üye	Prof. Dr. Behiye BOLGÜL
Üye	Doç. Dr. Güvenç BAŞARAN
Üye	Dr. Öğrt. Üyesi İsmet Rezani TOPTANCI
Üye	Dr. Öğrt. Üyesi Mehmet Sinan DOĞAN

İmza

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun //2018 tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

/ /2018

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda 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 ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

24 /10/2018

Dt.Cengiz GÜLEN

TEŞEKKÜR

Doktora ve tez sürecim boyunca bana destek olan, değerli bilgilerini ve katkılarını sunan danışman hocam Dr. Öğrt. Üyesi İsmet Rezani TOPTANCI'ya emekleri ve sabrı için teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca hocam olarak kendisinden çok şey öğrendiğim beraber çalışmaktan onur ve gurur duyduğum aynı zamanda tezimi hazırlama sürecim boyunca ikinci danışmanım olarak hertürlü desteğini gördüğüm Prof. Dr. Fatma ATAĞUL hocama teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora eğitimim boyunca hem klinik hem akademik anlamda bilgi ve tecrübelerini paylaşan değerli hocalarım sayın Prof. Dr. İzzet YAVUZ'a, Sayın Prof. Dr. Sema ÇELENK'e, Sayın Doç. Dr. Buket EROL AYNA'ya, Sayın Doç. Dr. Emin Caner TÜMEN'e, Sayın Dr. Öğrt. Üyesi Mehmet Sinan DOĞAN'a

Tez çalışmamın kimyasal solüsyonlarını hazırlayan Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalında görevli Sayın Elif Varhan ORAL'a Tez çalışmamın deneysel ve kimyasal analizlerinde bana bilgilerini sunan Dicle Üniversitesi Adli Tıp Fakültesi Dr. Öğrt. Üyesi Enes ARICA'ya, hayatım boyunca her zaman desteklerini hissettiğim değerli aileme ve eşime teşekkürü bir borç bilirim.

**Bu Araştırma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğünce Desteklenmiştir.
Proje No: DİŞ.18.005 Yıl: 2018**

İÇİNDEKİLER

KAPAK

İÇ KAPAK

ONAY	I
BEYAN	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
RESİMLER DİZİNİ.....	IXI
TABLolar DİZİNİ	X
ÇİZELGELER DİZİNİ	XII
GRAFİKLER DİZİNİ	XIII
1.ÖZETLER	1
1.1.Türkçe Özet.....	1
1.2. Abstract	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ.....	5
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1. Minedeki Normal ve Morfolojik Özellikler.....	7
3.1.1. Minenin gelişimsel kusurları.....	10
3.1.1.1 Minenin hipomineralizasyonu.....	10
3.1.1.2. Diş florozisi.....	11
3.1.1.3. Mine hipoplazisi.....	12
3.1.2. Minenin Gelişimi.....	13
3.1.3. Mine demineralizasyonu	15
3.1.4. Prenatal ve postnatal mine.....	17
3.1.4.1. Mine prizma çaplarının ölçümleri.....	17
3.1.4.2. Mineralleşme derecesi.....	17
3.1.4.3. Doğum sonrası minenin mineralizasyon.....	18
3.1.4.3.1. SIMS analizi.....	18
3.1.4.3.2. Mine büyümesi.....	21
3.1.4.3.3. Mine hipoplazisi.....	21
3.1.5. Neonatal çizgi.....	23
3.2. Dentin	24
3.2.1. Dentinin yapı, bileşim ve mineralizasyon.....	24

3.2.2. Dentin: yapı-ultra yapı-üç bölümlü modeli.....	24
3.2.2.1. Çevresel dış tabakalar	25
3.2.2.2. Circumpulpal dentinler.....	26
3.2.3. Odontoblastlar: Sentezde ima ve sekresyon ve ecm dentin mineralizasyonu.....	30
3.2.3.1. Odontoblastlar ve dentin oluşumu	30
3.2.3.1.1 Preodontoblastlardan presektuar polarize olan odontoblastlara dönüşüm.....	30
3.2.3.1.2 Odontoblastlar farklılaşması ve fonksiyonel hale gelmesi.....	31
3.2.3.1.3. Fonksiyonel Odontoblastlar	31
3.2.3.1.3.1. Kollajen	31
3.2.3.1.3.2. Fosforlanmış proteinler	32
3.2.3.1.3.3. Glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar	33
3.2.3.1.3.4. Ekstraselüler matriksin küresel bileşimi	33
3.2.3.2 Mineralizasyon: ECM Moleküllerinin Mineral Fazının Oluşumu.....	35
3.2.3.3. Dentinogenezde Rol Alan ECM Molekülleri.....	36
3.2.3.3.1. Dentin ECM için dentin kodlaması.....	37
3.2.3.3.2. Tip 1 kollajen	37
3.3. Mine ve Dentindeki Minerallerin Önemi.....	38
3.4. Adezyon	41
3.4.1. Adezyon ilkeleri	42
3.4.2 Adeziv tekniklerin avantajları	43
3.4.3. Diş dokusunda adezyonu etkileyen faktörler	43
3.4.3.1. Mine ve dentinin yapısı.....	44
3.4.3.2. Dentin yapısındaki değişiklikler	45
3.5. Metal Analizi İçin Kullanılan Temel Yöntemler	46
3.5.1. Atomik absorpsiyon spektroskopisi:.....	48
3.5.2. İndüktif eşleşmiş plazmalı atomik emisyon spektrometrisi:.....	48
3.5.3. İndüktif eşleşmiş plazmalı kütle spektrometrisi:.....	49
3.5.4. ICP-MS cihazının yapısı	49
3.5.4.1. Numune giriş sistemi:	50
3.5.4.2. Plazma:.....	52
3.5.4.3. Örneklem arabirimi:	54
3.5.4.4. İyon yönlendiriciler:.....	56
3.5.4.4.1. Oktopol reaksiyon sistemi (ORS):	59
4. GEREÇ VE YÖNTEM	63

4.1. Örneklerin Alınması.....	63
4.1.1. Restorasyonun yapılması.....	67
4.2. ICP-MS analizi uygulanacak dişler.....	71
4.2.1. ICP-MS uygulanması	72
4.2.2. Örneklerin analiz öncesi ön işlemleri.....	74
4.2.3. Örneklerin analiz işlemleri	75
4.3. İstatistiksel Yöntem.....	78
5. BULGULAR	79
6. TARTIŞMA	85
7. SONUÇLAR	96
8.KAYNAKLAR.....	97
9. ÖZGEÇMİŞ	122
10. EKLER.....	123
10.1. EK-1 ETİK KURUL ONAYI	123
11. ORJİNALLİK RAPORU	124

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ICP-MS: Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer

V: Vanadium

Fe: Demir

Co: Kobalt

Ba: Baryum

Cr: Krom

Mn: Manganez

Ni: Nikel

Cu: Bakır

Zn: Çinko

As: Arsenik

Se: selenyum

Cd: Kadmiyum

Ti: Titanyum

Pb: Kurşun

Ag: Gümüş

He: Helyum

F: Flor

Ne: Neon

SPSS: Statistical Package for the Social Science

Mm: milli metre

µm: mikrometre

XRMA: X-ışını mikroanalizi

SEM: Tarama Elektron Mikroskobu

NNL: Neonatal Çizgi

POLMI: Polarize Işık Mikroskobu

EDJ: Mine Dentin Birleşimi

pH: Hidrojenin Gücü

SIMS: Secondary Ion Mass Spectroscopy

MMP: Matris Metalloproteinazın

NCP: Kolajen Proteinler

BM: Bazal Membran

ECM: Ekstraselüler Matriks

TEM: transmisyon elektron mikroskobu

GF AAS: Grafit Fırınlı Atomik, Absorbsiyon Spektrometresi

AAS: Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi

ICP-AES: İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometresi

LXRF / KXRF: L-Kabuğu/K-Kabuğu X-Işını Floresan,

PIXE: Yüklü Parçacıklı X-Işını Emisyonu

DPASV/ASV: Diferansiyel Puls/Anodik Sıyırma Voltametrisi

IDMS: İzotop Seyreltimi Kütle Spektrometresi

HNO₃: Nitrik asit

ORS: Octopole Reaksiyon Hücresi

CO₃: Karbonat

OH: Hidroksil

PO₄: Fosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Normal mine ve hipomineralize minenin SEM görüntüleri.....	10
Şekil 2. Hipoplazinin SEM görüntüsü	22
Şekil 3. Konkav prenatal ve konveks postnatal prizma sonlarını gösteren bir primer kesici dişin dekalsifiye olmayan bölümlerinin SEM görüntüsü	23
Şekil 4. Atomik Spektroskopu.....	48
Şekil 5. Emisyon enerjisi.....	49
Şekil 6. Tipik bir ICP-MS şematik gösterimi.....	50
Şekil 7. ICP-MS Numune giriş sistemi	51
Şekil 8. Elementlerin iyonlaşma enerjisi.....	52
Şekil 9. Torch ve RF Bobini aksenal kesiti	53
Şekil 10. Plazmanın basitleştirilmiş modeli.....	54
Şekil 11. Örnekleme Arabirimi (Interface) kesiti.....	55
Şekil 12. İyon Yönlendiriciler.	57
Şekil 13. İyon-Omega Lensler ve Octopole Reaksiyon Hücresi.....	58
Şekil 14. Octopole Reaksiyon Hücresi.....	59
Şekil 15. Reaksiyon Hücresinde He etkileşimi.....	60
Şekil 16. İnterferans Yapan Moleküllerin Parçalanması.....	61
Şekil 17. ORS Hidrojen Etkileşimleri.....	61
Şekil 18. Süt kesici dişin dentin gelişimindeki Pb biyobelirtecine genel bakış şeması.....	64
Şekil 19. Üst kesici mine ince kesit ve inkramental işaretleri. Mine gelişiminin salgılama aşamasında bir diş taç (a) uzun eksen boyunca (b) büyüme yönünü gösteren ince bir kesit. Retzius çizgileri (c).....	65

RESİMLERDİZİNİ

Resim 1. Sample ve Skimmer Cone.....	56
Resim 2. Sample ve Skimmer Cone uzun süre kullanımı.....	56
Resim 3. Çekilmiş yirmi beş adet süt dişi.....	63
Resim 4. Kavite açılacak sağlam süt dişi.....	66
Resim 5. Kavitesi hazırlanmış anterior süt dişi.....	66
Resim 6. Diş dolgu materyalleri.....	67
Resim 7. Kavite duvarlarının adeziv materyalleriyle bondlanması.....	67
Resim 8. Hazırlanan kavitenin dolgu materyali ile doldurulması.....	68
Resim 9. Sarı kuşak frez ile dolgunun düzeltilmesi	68
Resim 10. Sarı renk parlatma lastiği ile polisaj yapımı	68
Resim 11. Kök kısmı mikrosızıntısının önlenmesi için akışkan kompozitle kapatılması.....	69
Resim 12. Dolgu yapılan kısımlar hariç tüm diş yüzeyinin oje ile kapatılması.....	69
Resim 13. Dişin çift yönlü elmas kaplı separe ile freze edilmesi.....	70
Resim 14. Çift yönlü elmas kaplı separe ile freze edilen dişin görünümü.....	70
Resim 15. Nikon SMZ-800 Steromikroskop cihazı.....	71
Resim 16. Mavi kapaklı polipropilen tüpler.....	73
Resim 17. Yıkılan dişlerin kurutulması için kurutma kağıtlarıyla cam tabla üzerinde numaralandırma sırasına göre dizilimi.....	73
Resim 18. Yüksek Sıcaklığa Dayanıklı Teflon Tüpler (15, 50 ml' lik).....	74
Resim 19. Standart referans maddesi multi element standart solüsyonu.....	75
Resim 20a-20b. Mikrosızıntının steromikroskop altında gözlemlenmesi (postnatal bölgede daha fazla artış olduğu gözlemlenmektedir.	83

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Dentinin Temel Bileşimi.....	24
Tablo 2. Dentinin Temel Birleşiminin Ekstraselüler Matriksteki Molekülleri.....	34
Tablo 3. Minenin İnorganik Yapısını Oluşturan Elementler	40
Tablo 4. ICP-MS’de Elementlerin Gözlenebilme Sınır Değerleri	49
Tablo 5. Normalite Test Sonuçları.....	80
Tablo 6. Parametrik Test.....	81
Tablo 7. Non-parametrik Test.....	83
Tablo 8. One-Sample Statistics testi ile mikrosızıntı değerlendirilmesi.....	84
Tablo 9. One-Sample Statistics testi ile dönemler arası mikrosızıntı eşleşmeleri.....	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Genel İnterferanslar	60
Çizelge 2. Mikrodalga Fırınına Ait Diş Yakma Programı	75
Çizelge 3. Elementlere Göre Cihaz Modları ve İnternal Standartlar	76
Çizelge 4. ICP-MS Cihaz Ayar Raporu.....	77



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Olgunlaşmamış mine (1-4 aylık bireyler) ve olgun minede (19 aylık birey) Karbon, Florit, Magnezyum ve Sodyum konsantrasyonu üzerine grafikler.....	19
Grafik 2. Olgunlaşmamış mine (1-4 aylık bireyler) ve olgun minede (19 aylık birey) Klorür, Potasyum ve Stronsiyum konsantrasyonları üzerindeki grafikler.....	20
Grafik 3. Minenin gelişimi sırasında mandibular santral kesici dişlerin bukkal mine kalınlığının, bireyin yaşı ile ilgili grafiği.....	21
Grafik 4. ICP-MS cihazının diğer yöntemlerle beraber Hassasiyet-Analiz Sayısı Grafiği.....	46
Grafik 5. Bir atom için uyarılma, iyonlaşma ve emisyon basamakları.....	48

1. ÖZETLER

SÜT DİŞLERİNDE PRENATAL VE POSTNATAL SERT DOKULAR ARASINDAKİ FARKLARIN ICP-MS YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Dt. Cengiz GÜLEN

Danışman: Dr. Öğrt. Üyesi İsmet Rezani TOPTANCI

Anabilim Dalı: Çocuk Diş Hekimliği

1.1. Türkçe Özet

Amaç: Çalışmamızda, önceki çalışmalarda temel olan 19 aylık bireyin minesini olgun mine kabul edildiği önermesinden dolayı 24 ay barem alınarak çekilen süt dişlerin analizleri yapılmıştır. Amacımız prenatal ve postnatal dönemdeki sert doku oluşumları arasındaki mineralizasyon yoğunluk farklılıklarını tespit etmek ve dolgu materyalinin mikrosızıntısını yüksek çözünürlüklü mikroskop altında gözlemlemektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmamızda sağlamdişler kullanıldı. Çalışmamızda kullandığımız dişler Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalına başvurmuş olan 19 aylıktan büyük çocukların alt ve üst çenedeki travma, mobilite, vb. sebeplerden dolayı çekilmiş olan kesici dişleridir. Dişlere Analitik Kimya Anabilim Dalı laboratuvarında ICP-MS analizi yapılmıştır. Mikrosızıntı değerlendirilmesi, stereomikroskop altında milimetre cinsinden marjinde boyalarla boyanması ölçülerek yapılmıştır. Çalışmamızda ICP-MS analizine giren 25 adet diş ikiye bölünerek 50 adet prenatal ve postnatal örnek oluşturmuştur. İstatistiksel sonuçları SPSS (Statistical Package for the Social Science) 21.0 yazılım programı kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Normalite testi sonrası V, Fe, Co, Ba elementlerinin normal dağılım gösterdiği diğer elementlerin ise (Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ba, Cd, Tl, Pb, Ag) sonuçlarının ise normal dağılım göstermediği belirlendi. Dönemler arasında istatistiksel değerlendirme yapıldığında postnatal dönemde mikrosızıntıda bir artış olduğu görülmüştür ($p=0.00$, $p<0,05$).

Prenatal ve postnatal sert dokularda iyonik farklar Vanadium, Manganez, Nikel, Bakır, Çinko, Arsenik ve Kurşun elementleri için anlamlı olduğu saptanmıştır.

Sonuç:Prenatal ve postnatal sert doku yapıları çalışmamızda değerlendirilip, yapılar arasındaki iyonik olarak bazı elementlerde farklılıklar gözlemlenmiştir. Bu farklılık çevresel özelliklere göre değişiklik gösterdiği başka çalışmalarda da gösterilmiştir. Bu elementlerin, mikrosızıntı ve dental materyallerin dişe bağlanmasını etkilemeleri açısından ileri çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: süt dişi, mine, dentin, prenatal-postnatal sert doku, ICP-MS analizi



INVESTIGATION OF DIFFERENCES BETWEEN PRENATAL AND POSTNATAL HARD TISSUES IN MILK TEETH BY ICP-MS METHOD

Student's Surname and Name: Dt.GÜLEN Cengiz

Adviser of Thesis: Assist. Prof. Dr. İsmet Rezani TOPTANCI

Department: Pediatric Dentistry

1.2. Abstract

Aim: In our study, the analysis of the milk teeth which were taken for 24 months were considered because of the suggestion that 19 months old mines were accepted as mature enamel. Our aim is to determine the mineralization density differences between hard tissue formations in prenatal and post natal period and to observe microleakage of filling material under high resolution microscope.

Materials and Methods: Strong teeth were used in this study. The teeth we used in our study were applied to Dicle University Faculty of Dentistry, Department of Pediatric Dentistry. Children older than 19 months old had trauma, mobility, etc. in the lower and upper jaw. cutter teeth are taken due to reasons. ICP-MS analysis was performed in the department of Analytical Chemistry. Microleakage assessment was performed by measuring dye progression in millimeter margin under a stereomicroscope. In our study, 25 teeth that were entered into ICP-MS analysis were divided into two and formed 50 prenatal and postnatal samples. Statistical results were made by using SPSS 21.0 software program.

Results:After the normality test, the results showed that V, Fe, Co, Ba and other elements showed normal distribution (Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ba, Cd, TI, Pb, Ag). There was an increase in microleakage in postnatal period when statistical evaluation was done between the periods ($p = 0.00$, $p < 0.05$).

Ionic differences in prenatal and postnatal hard tissues have been significant for Vanadium, Manganese, Nickel, Copper, Zinc, Arsenic and Lead elements.

Conclusion: Prenatal and postnatal hard tissue structures were evaluated in our study. This difference has also been shown in other studies that vary according to environmental characteristics. These elements should be supported by further studies to influence the attachment of microleakage and dental materials to the teeth.

Key words: primary teeth, enamel, dentin, prenatal-postnatal hard tissue, ICP-MS analysis



2.GİRİŞ ve AMAÇ

Mine, hem fonksiyonel hem de estetik açıdan dişin en önemli yapılarından biridir. Mine histolojik olarak incelendiğinde, diş oluşumu sırasındaki metabolik rahatsızlıkların incelenmesinde benzersiz bir yapı ortaya koymaktadır. Birincil mine intrauterin süreçte ve yaşamın ilk yılı boyunca meydana gelen belirli metabolik ve fizyolojik olaylarla ilgili bilgileri taşır. Mineralizasyon kusurlarını değerlendirirken normal gelişim ve mine yapısı hakkındaki bilgilerin ayrıntılı bir şekilde bilinmesi önemlidir.

Süt dişlerinde minenin mineralleşmesi uterusda başlar ve postnatal olarak devam eder. Gelişim süresi sınırlıdır. Etik kuralları nedeniyle, mineralleşme sırasındaki olayların seyri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Mine oluşumu sırasında, farklı elementlerin oluşuma dahil edildiği veya emildiği zamanın bilinmesi, normal mineralleşmesinin ve kusurlarının anlaşılması için önemlidir.

Diş çürüklerinin oluşumunda, minenin kimyasal içeriğinin yalnızca faktör olmamasının yanında, mine apatitindeki bazı eser elementlerin bileşiminin minenin direncini arttırdığına inanılmaktadır. Mine yapısı farklı konsantrasyonlara, iyon dağılımına ve karaktere sahiptir. Mine yapısı diğer insan yapılarından ayrıcalıklı olarak farklı bir özelliğe sahiptir: Erüpsiyon öncesinde minenin yapısı sabittir ve yaşamın ilk evresinde eser elementlerin emiliminin kaydını sağlayabilir. Böylece çürük oluşum süreci, insanın intrauterin hayattaki beslenmesi ve zehirli metallere maruz kalması hakkında önemli bilgiler sağlanabilmektedir (1).

Bu metaller eser elementlerdir. Eser elementler dişin yapısında %0.01'den daha az orana sahiptir. Bu elementler minenin dokusunda değişikliklere sebep olurlar ve yüzeyden 100 ile 150 µm'ye kadar tükürükten etkilenmektedir. Minedeki mineralizasyon ve dişin olgunlaşması sürecinde eser elementler çevreden kaynağını alırlar ve minedeki bu elementlerin vazifesi hakkında çok fazla bilgi yoktur. Buna rağmen yapılan araştırmalara göre flor gibi bazı eser elementler minenin çözünme pH'ını değiştirerek ve kristallerin boyutunu ve şeklini biçimlendirerek çürüğün yüksek insidansının azalmasında önemli bir role sahiptir (1).

Birincil dişlenme döneminde dişler gebelik periyodunda mineralleşmeye başlar ve son birincil dişin mineralleşmesi yaklaşık 3–3.5 yaş civarında tamamlanır(2,3). Ameloblastlar, mine formasyonunda görev alanileri derecede farklılaşmış ve özelleşmiş hücrelerdir. Ameloblastlar bozulmuş işlevlerini geri kazanmak ve minenin yeniden yapılandırılması hususunda sınırlı bir kapasiteye sahiptirler. Minenin amelogenez periyodu için bir kimograf olduğu söylenir. Bu nedenle, primer dişlerin histo-morfolojik çalışmaları prenatal ve postnatal dönemlerde ameloblastları etkileyen olaylar hakkında bilgi içerebilir. Doğum zamanına bağlı olarak ayrı bir artımsal çizginin (neonatal çizgi) varlığı prenatal ve postnatal olarak şekillendirilmiş mine arasında ayırım yapmayı mümkün kılar.

Dişler ve özellikle de mine, mineralizasyonun tamamlanmasından ve ağız boşluğuna sürdükten sonra çok az morfolojik değişime uğrarlar. Bu prensip bileşimi için de son derece reaktif olan florid ile temasa geçmiş, asidik ortamda kalan mine yüzeyi dışında tüm mine yüzeyleri için geçerlidir.

Bu tez çalışmasının amacı; Çalışmamızda ki gaye 19 aylıktan büyük çocukların alt ve üst çenedeki kesici dişlerinin travma, mobilite, alttaki daimi dişlerin sürmesi vb. sebeplerden dolayı çekilmiş dişlerin ICP-MS analiziyle prenatal ve postnatal dönemde sert doku oluşumları arasındaki mineralizasyon yoğunluk farklılıklarını tespit etmek ve prenatal-postnatal diş sert dokuları arasındaki dolgu materyalinin mikrosızıntısını yüksek çözünürlüklü mikroskop altında gözlemlemektir.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Minedeki Normal ve Morfolojik Özellikler

Mine dişin kronun en dış ve en sert dokusudur ve insan vücudundaki en yüksek mineralize doku olduğu bilinmektedir (4). Mine yaklaşık %96 oranında inorganik yapı içerir, bu yapı biyolojik hidroksi apatit kristallerinden oluşur. Minede gelişme döneminden arda kalan proteinler ve su bulunur(4). Geri kalan bileşenler, ağırlıkça, organik madde (yaklaşık% 0.6) ve su (yaklaşık% 3.5) (5).

Mine, inert bir hücresele dokuya ve kalıcı dişlerde yaklaşık 1- 2 mm kalınlığa, primer dişlerde 0.5-1 mm kalınlığa sahiptir (4). Mine dış yüzey bölgesi morfolojik analizlerde prizmatik olmayan bir doku olan aprismatik tabaka olarak görülür. Aprismatik tabaka süt dişlerde daha sık görülür, aprizmatik yüzey zonun genişliğinin daimi dişlere göre daha büyük olduğu görülür (6). Analiz edilen sütdişlerin% 60'ından fazlası, 16-45µm kalınlığında aprismatik yüzey zonuna sahipken, daimi dişlerin yarısı 5µm'den az kalınlıkta aprismatik bir bölgeye sahiptir(6).

Mine, hidroksil apatit kristallerden paketlenmiş ve düzenlenmiş prizmalardan yapılmıştır. Böylece kristallerin oryantasyonu prizmaların görünümünü oluşturur. Sıkıca hizalanmış prizmalar, dentin-mine birleşiminden mine yüzeyine kadar uzanır. Kristallerin birleşmesinde prizmaların periferi-interprizmatik boşluklara komşu alanlar- intraprizmatik yapıya göre biraz daha gevşektir. Makroskopik seviyede, hidroksil apatit kristallerinin bağları çok sıkıdır, ancak kristaller; su ve organik malzeme ile dolu boşluklarla ayrılır (7).

Genler, özel durumlar (hipokalsemi gibi) ve diş gelişimi sırasında bireyin beslenmesi, minenin kimyasal içeriğini etkileyebilir (8, 9,10). Bazı elementler normal mineralizasyon sürecini etkilerler buna örnek olarak flor gösterilebilir(11). Sağlıklı bireylerde birincil ve daimi mine arasında kimyasal ve mineral içerikleri mine kalınlığına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (12-14). Mineral içeriği aynı dişteki sağlıklı minede iç ve dış mine arasında farklılık gösterdiği gösterilmiştir (14). Dahası, çalışmalar, minenin kimyasal içeriğinin, çevresel eser elementlerin oluşumuna bağlı olduğunu göstermiştir (15). Preterm doğan çocuklarda mineleri,

normal zamanda doğan çocukların minelerine göre farklı konsantrasyonlardakimyasal içeriğe sahiptir(16). Preterm doğan çocuklarda karbon konsantrasyonu daha yüksek bulunmuştur (16).

Perikymata, bukkal yüzeylerinde sıklıkla gözlenen, dişin etrafında dairesel, yatay bantlar olarak görülür. Perikymata, Retzius çizgilerinin diş yüzeyindeki tezahürlerdir. Retzius çizgileri, enine kesitli minede düzenli olarak 30-50µm aralıklarla ritmik artımsal hatlardır (17). Retzius çizgileri, normal gelişim sırasında prizmanın bükülmesinin bir yansımasıdır (18). Retzius çizgileri, bir polarize ışık mikroskobu (POLMI), ışık mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile ve taramalı elektron mikroskobu (BSE) ile görülebilir. İnsan minesinde, , mine boyunca periyodik olarak, yaklaşık 8-10 gün arayla meydana gelen Retzius çizgileri ve çapraz prizmalar şeklinde, prizmaların günlük apozisyonu olarak günde bir kez gözlenir (19,20). Çapraz çizgiler, prizmalar boyunca periferik kristalitlerin oryantasyonunun değişmesine bağlı olarak gözlemlenebilir(21).

Inkremental çizgileri, fizyolojik ve patolojik koşullara bağlı olarak çeşitli tipte stresler sonunda oluşur(18). Retzius çizgilerinin morfolojik görünümleri, tamamen gelişimsel orijindir(18, 21). Belirgin inkremental çizgiler, prizmaların, prizmatik kılıfların ve / veya interprizma zonlarındaadım benzeri yırtımlar sonucu meydana gelir(18).

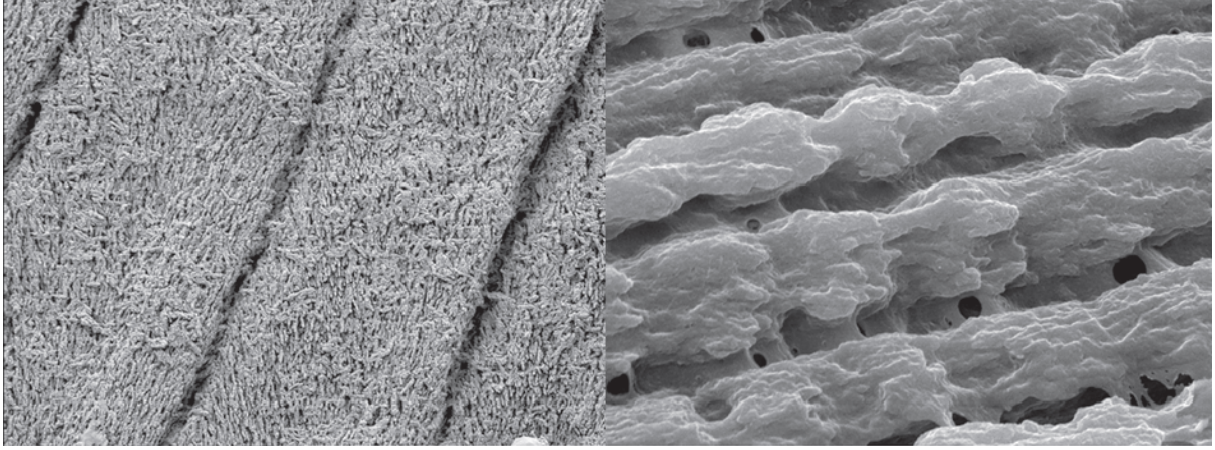
Neonatal çizgi tüm süt dişlerinde (mine ve dentin) bulunur ve hipomineralize bir yapı olarak tanımlanır (22). Neonatal çizgi, minede büyümede duraklamayı temsil eder ve doğumun biyolojik bir işareti olarak görülür (23). Neonatal çizgiden önce oluşan mine yani neonatal çizgi ve mine-dentin-birleşim yeri arasındaki mine, prenatal mine olarak adlandırılır. Postnatal mine ise neonatal çizgi ve yüzey arasındaki mine'yi temsil eder. Prenatal mine, postnatal mine ile karşılaştırıldığında daha homojen bir yapıya sahiptir (22, 24). Dişlerin germleriçocuk doğduğu zaman farklı gelişim aşamalarında olduğundan, neonatal çizginin yeri dişlerde farklılık gösterir, bu nedenle minedeki neonatal çizginin yeri, doğrudan gebelik sürecinin uzunluğuna bağlıdır (25). Doğumda daha sonraki gelişim aşamasında olan bir dişte neonatal çizginin yeri daha servikal olarak konumlanacaktır(25).

Neonatal hattın daha önce kalınlık bakımından değiştiği bulunmuştur (26, 27). Diyabetik annelerin çocuklarından elde edilen süt dişlerinde neonatal çizginin, polarize ışık mikroskobu ve mikroradiografi ile incelendiğinde daha geniş görünmektedir (26). Ayrıca, düşük doğum ağırlığına sahip çocukların normal doğum ağırlığına sahip çocuklara kıyasla daha geniş bir neonatal çizgiye sahip oldukları gösterilmiştir (24).

Dekalsifiye olmamış minenin histolojik görünümü iyi belgelenmiştir, bununla birlikte, yapısı ve bileşimi karmaşıktır ve mine üzerinde çalışırken birden fazla araştırma yöntemine ihtiyaç vardır. Minenin POLMI incelemeleri, negatif çift-kırıcı minenin nispeten homojen bir yapıya sahip olduğunu gösterirken, pozitif çift kırıcı mine nispeten heterojendir (18).

Her bir mine prizması, bir ameloblasttan geliştirilmiştir (28). Prizmalar mine dentin sınırından başlayıp ve mine yüzeye doğru uzanarak devam eder (şekil 1). Süt dişiminesinin ortalama prizma çapı 2,9 μm 'dir ($\pm 1.2\mu\text{m}$) (29). Prizmaların yüzeye doğru açılanması dişin tepesi boyunca değişir ve servikal bölgedeki açılı koronal alandakilerine göre yaklaşık 70 ° 'ye yakın daha diktir (29).

Prizmalardaki kristal oryantasyonu iyi organize edilmiştir. Prizma prensip olarak bir silindir şeklinindedir ve prizmayı oluşturan kristaller prizmanın uzun eksene paraleldir. Bu en merkezi kristaller içinde geçerlidir; prizmaların periferinde bulunan kristaller, prizma merkezinden uzaklaştıka gittikçe artan bir derecede eğimlenmektedir(4). Her bir prizma, kristallerin farklı yönlere yöneldiği, interprizmatik boşluklarla çevrelenmiştir (4). Bu, enine kesitlerin% 75'inde belirgin ve net olarak görülür (4). Hipomineralize minede interprizmatik boşluklar daha geniş olup prizmaların çapı küçüktür(şekil 1) (30).



Şekil 1. Normal mine ve hipomineralize minenin SEM görüntüleri (Nina Sabel, Enamel of Primary teeth, Swadish Dental Journal Supplement 222.2012)

Sağlıklı bireylerin normal minelerinde kimyasal içerik oldukça eşit dağılmış olmasına rağmen kimyasal içerik ve mineralizasyon derecesinde bireyden bireye farklılık gösterir (31, 32, 33, 34,13, 14). İnsan minesi içindeki hidroksil apatit tam bir bileşik değildir çünkü ortamdaki eser elementler mine oluşumunda biyolojik mineralizasyona katılır (35).

3.1.1.Minenin gelişimsel kusurları

Makroskopik olarak, diş minesinin normalde yarı saydam beyazımsı renk ve parlak pürüzsüz bir yüzeyi vardır, ancak klinikte, minede kusurlar sıklıkla görülür. Minenin gelişimsel kusurları mine mineral disfonksiyonundan kaynaklanan,normal mine görünümünden sapmalardır (36). Kusurların sınıflandırılması klinik makroskopik görünüme dayanmaktadır. Ana defekt 3 tiptir; sınırları belirli opasite, diffüz opasite ve mine hipoplazisidir (36). Opaklık,minenin hipomineralizasyonunu yansıtan niteliksel bir kusurdur. Mine hipoplazisi ise kantitatif bir defektir.

Minedeki gelişimsel bozukluklar, hem birincil hem de kalıcı dişlemelerde görülür ve bir takım farklı etiyolojik geçmişlere sahip olabilir, bazıları kronolojiktir, yani, mine oluşumu sırasında belirli bir süre veya periyot ile ilişkili olabilir.

3.1.1.1 Minenin hipomineralizasyonu

Olgunlaşma aşamasında, matriks proteinleri rezorbe olur. Matriks kalırsa, proteinler inhibitör etki gösterir ve mine tam olarak mineralize olamaz (37). Bu,

mine hipomineralizasyonu anlamına gelir ve tek bir diş üzerinde lokal olarak meydana gelebileceği gibi dişlemede tüm dişleri etkileyebilir. Minenin hipomineralizasyon derecesi farklılıklar gösterebilir ve normal mineye göre farklı sınırlara sahip olabilir (sınırlanmış veya dağınık). Mine hipomineralizasyonu klinik olarak diş üzerinde beyaz, sarı ve / veya kahverengi opak bölge olarak görülebilir, bu alan normal mineden daha az mineralize olan bir bölgedir. Serumdan gelen proteinin(albümin) kalsiyum hidroksiapatit kristallerinde tam mineralleşmenin bir inhibitörü olması muhtemeldir (38,39). Albümin, olgunlaşma aşamasında mine organına dışa göç yoluyla girebilir, bu da diş yüzeyinde görünür beyaz / opak ve daha az mineralli alanlara neden olabilir (32).

Fluorid, diş sert dokularının mineralizasyonu sırasında önemli bir elementtir ve fluoride olmuş apatit kristallerinin stabilitesini artırır, bununla birlikte mineralize dokuyu da önemli ölçüde değiştirebilir. Floridin, minedeki gelişimsel bozukluklara katkıda bulunduğu bilinmektedir. Diş mineralizasyonu sırasında aşırı miktarlarda sistemik olarak uygulandığında, mine, hipomineralize olabilir bu durum diş florozisi olarak adlandırılır(Şekil 1) (40). Ek olarak, florür, mine yüzeyinin post eruptif mineralleşmesinde ve demineralizasyonun önlenmesinde önemli bir rol oynar diş yüzeyine lokal olarak uygulandığında florit apatiti asitte daha az çözünür hale getirir (41).

3.1.1.2. Diş florozisi

Diş florozisi diş gelişimi sırasında florürle yoğun şekilde teması sonucu hipomineralizasyonun doza bağımlı bir cevabıdır(40). Florür alım miktarı mineralizasyon bozukluğu ile doğru orantılıdır(Fejerskov ve diğerleri, 1988(40). Amelogenesis (salgılama ve / veya olgunlaşma aşaması) sırasında, florür normal mineralleşmeyi engeller (42). Diş formasyonu sırasında uzun süreli aşırı florür alımına maruz kalmak, tüm dişlerde dental florozis belirtilerine yol açabilir (40).

Dişlerdeki florürden etkilenmiş mine, normal mine ile karşılaştırıldığında daha gözenekli olması, düşük dereceli dental florozisin beyaz görünmesini sağlar (43). Bu gözenekler prizmaların periferinde yer alır, prizma kristallerinin nihai

büyümesinin işlev bozukluğunu yansıtır (Şekil 1)(40). Bu nedenle prizmalar daha az yoğun bir şekilde hizalanmış olup, özellikle dış kısımda daha gözenekli bir mine yapısına katkıda bulunmaktadır(40, 43). Minenin diş florozisine maruz kalma şiddeti ile minenin mikro sertliği arasında negatif bir ilişki mevcuttur; şiddetli bir diş flüorozisi, minenin daha az dirençli bir yapıya sahip olmasına sebep olur(44).

Hipomineralize minenin florozisi, florürün minede amelogenin tutulumunun bir sonucu olabilir (45). Mine gelişimi sırasında florürün etkisinin, amelogenin minede tutulmasına katkıda bulunan bir proteinaz seviyesinin düşürdüğü gösterilmiştir (45).

3.1.1.3. Minehipoplazisi

Mine hipoplazisi, minenin formasyon periyodu sırasında ameloblastların etkilenmesinden kaynaklanan, minenin bir kusurudur (46,47). Sekresyon aşamasında mine matriks sekresyonunun bozulması olarak kabul edilebilir (46). Hipoplazinin etiyojisi hipokalsemiye dayanır (48). Mine formasyonu sırasındaki düşük kalsiyumun serum değerleri, süt dişlerinde hipoplazi ile doz cevabı ilişkisine sahiptir(48,49, 24).

Süt dişlerde hipoplazi ve minede gelişimsel defekt gelişimi için en büyük risk doğumdan sonraki on aya kadar geçen süredir(22). Prenatal dönemde gelişen minede hipoplazi nadir görülür, ancak gebelik sırasında yetersiz beslenen veya alkol tüketen annelerin çocuklarında hipoplazi görülmüştür(22). Süt dişlerdeki mine hipoplazisinin lokalizasyonuneonatal çizgiye karşılık gelir(24). Hipoplazi, minede bükülmüş prizmalar tarafından oluşturulan servikal yuvarlak sınırlara sahiptir(24).

Süt ikinci molardaki mine hipoplazisi çocuk nüfusunun yaklaşık olarak % 3,9'unda olduğu bildirilmiştir (50). Ek olarak, birincil dişlemede dişlerin% 20'sinde hipoplazi bulunmuştur (51). Mine hipoplazinin ikizlerde karşılaştırıldığında, tekil doğumlarda daha fazla görülmesinin, en makul nedenin entübasyon dâhil olmak üzere çevresel faktörler olmasıdır (52). Düşük doğum ağırlığı ve kısa gebelik yaşı olan çocuklar hipoplazilerin prevalansında artış gösterilmiştir (53). Düşük doğum ağırlığı(% 56,9), normal kilolu (% 16) çocuklara göre daha yüksek bir hipoplazi prevalansı ile korelasyon göstermiştir (53). Daha kısa gebelik haftasına sahip olan

çocukların (1,6), normal yaştaki çocuklara göre(0,3) daha fazla hipoplaziden etkilenmiş dişe sahip olduğu gösterilmiştir (53).

3.1.2. Minenin Gelişimi

Süt dişi dişilenmesinin kalsifikasyonu uterusu başlar. Mandibular dişlerin kalsifikasyon sıralanması, merkezi kesiciler ardından yan kesici dişler, köpek dişler, ilk molarlar ve ikinci molarlar şeklindedir (54). Santral ve lateral kesici dişler ve köpek dişlerinin kalsifikasyonları bireysel bir büyüme merkezi olarak bir noktada başlarlar (54). Kalsifikasyon cephesindeki komşu ameloblastlar daha sonraki zamanlarda kalsifikasyona başlar (54). Süt santral kesici dişi gebeliğin 15. haftasında kalsifikasyona başlarken lateral kesici dişler gebeliğin 16. haftasında başlar (54). Köpek dişlerinin ilk kalsifikasyonu, 17 haftalık gebelik sırasında başlar. Birinci süt molar kalsifikasyonunun başlangıcı, meziobukkal cusp ile uterusu yaklaşık olarak 18-19. haftada başlar (54). Süt ikinci molarlarda, kalsifikasyon meziobukkal cusp, ardından meziolingual, distobukkal ve distolingual cusp kısmında sırasıyla meydana gelir. Uterusta 36. haftada, kalsifikasyonun tamamlanmasından önce, mine ve oklüzal yüzeyi kalsifiye edilmiş bir mine tabakası ile kaplıdır, ancak mine gelişimini tamamlanmadan önce önemli bir mine çökeltisi meydana gelir. (54).

Süt ikinci azı dişlerinde mine mineralizasyonu, hayatın ilk yılının sonuna kadar tamamlanmış olur (3). Bu nedenle, on dokuz aylıkken, süt ikinci mandibular kesici dişin, gelişmekte olan süt dişlerin kronolojisinin şematik görünümüne göre tam olarak geliştiği düşünülmektedir (22).

Mine başlangıcında, ameloblastlar EDJ'den hareket eder. Dentin sialofosfor proteini ve tuftalin nükleasyonuna veya mineral oluşumuna katkıda bulunur (55). Tuftalin, EDJ'deki mine oluşumunun başlangıcında bir öncü olarak hareket eder, burada tuftalinin mezenkimal ve ektodermal hücreler arasındaki ilk etkileşimde dentin ve mine oluşumuna yol açan rolü vardır (56). Dentin ilk mineralizasyonundan sonra, ameloblastlar farklılaşır ve mine matrisinin salgılanmasına başlar. Dentin ve mine birleşimi sıkıdır, çünkü mine matrisi dentin içerisine girer (19). Mine oluşumu biyokimyasal ve görsel olarak tanımlanabilir aşamalara sahiptir (57).

Sekresyon aşaması: Kısmen mineralleştirilmiş matris salgılanır. Mine yarı şeffaf bir görünüme sahiptir.

Geçiş aşaması: Bozulmuş matriksin doku sıvısıyla değiştirilmesiyle gerçekleşir. Mine yarı şeffaf bir görünüme sahiptir.

Olgunlaşma aşaması: Artık matriks, genişlik ve kalınlıkta kristal büyümesi ile ilişkili mineral alımı ile değiştirilebilir doku sıvısı ile değiştirilir. Mine beyaz ve gözenekli (opak) bir görünüme sahiptir.

Bir prizma, EDJ'den yüzeye doğru uzanan bir ameloblast tarafından oluşturulur (28). Sekresyon aşamasında matris, iki tercih edilen bölgeden ameloblastlar tarafından salgılanır (19). Yüzeysel alan geliştirmekte olan mine yüzeyin en önemli kısımlarını oluşturur ve ikinci konum Tomes sürecinden gelir (19). Ameloblastların belirgin konumundan itibaren, uzun kristaller geliştirmekte olan mine genel düzlemine diktir (interpit materyal) (19). Tomes'un sürecinden gelen, kristallerin prizma oryantasyonu boyunca c-ekseni, mine yüzeyine neredeyse diktir (19). Kristaller, birbirine paralel olarak, altıgen enine kesitin daha büyük yanları ile hizalanmış ve gruplar halinde kümelenmiştir (19). Sekresyon aşamasında kristallerin uzaması, mineye bağlıdır. Mine olmadan, mine kristalitlerinin başlangıcı ve uzamasının olmadığı gözlemlenmektedir(58). Mine oluşumu sırasındaki farklı gelişmeler çeşitli enzimler tarafından yönlendirilir ve kontrol edilir; kristal büyümesinin modülasyonu için (amelogenin, enamelin ve ameloblastin) kristal iyonunun bağlanması için(amelogenin ve enamelin), hücre büyümesi için(ameloblastin, amelogenin, tuftalin) prizmatik yapının belirlenmesi için(ameloblastin) kristal büyümesinin desteklenmesi için (amelogenin ve enamelin), salgılama kontrolü için (parçalanma ürünleri) ve mineral fazın korunması için (amelogenin ve enamelin) görev aldığı bilinmektedir (55).

Kristaller ilk önce boy ve daha sonra genişlik ve kalınlık yönlerini izleyerek büyürler. Mine olgunlaşmasında, tamamlanma için gerekli olan inhibitör proteinlerin tamamen çıkarılması gerçekleşir (37). Matris kalınlaştıkça ve ortam kristalleşmeye uygun hale geldikçe, su ve proteinler emilir. Kallikrein, olgunlaşma aşamasında proteinlerin mineden çıkarılmasında önemli görevler üstlenmektedir(59). Kallikrein olmadan, mine proteinleri matriste kalır, mine prizması birbirine yapışmaz ve birlikte

büyümez, sonuçta mine kırığına ve fonksiyonun hızlı bir şekilde aşınmasına neden olur (59). Amelogenin, salgılama safhasında organik matrisin (% 90) bir kısmını oluşturur ve olgunlaşma süreci sırasında kaybolur, enamelin ise salgılanmaya devam eder (60). Enamelin, gelişmekte olan mine matriksinde % 10-15 oranında bulunur, ancak olgun minede, enamelin içeriği toplam matriks proteinlerinin % 50'sini oluşturur (60).

Amelogenезin erken aşamalarında, mine % 20-30 oranında protein içerir (61). Mineralizasyon süreci sırasında, protein oranı olgunlaşma aşamasının başlangıcında yavaş yavaş % 7'ye düşmektedir. (61). Normal birincil mine yaklaşık% 0.22 protein içerirken diami mine% 0.15 ve benzer bir protein bileşimi içerir. (62). Yeni süren dişlerin mine yüzeyi su, protein ve lipitten oluşan kısmın hacmi yaklaşık olarak % 12-14'ünü oluşturur (63).

Amelogenез sırasında meydana gelen kusurların ortaya çıkması, ameloblastlarda bir yaralanmanın meydana geldiği safhaya bağlıdır. Mine hipoplazisi, salgılama aşamasında hücrelerin zarar görmesinden kaynaklanır, hipomineralizasyon amelogenезisin salgılanmasının veya olgunlaşmasının geç aşamalarında ortaya çıkar. (64,47).

3.1.3.Mine demineralizasyonu

Yüksek mineral mineralizasyon derecesi, mineyi asitlerle demineralizasyona karşı savunmasız hale getirir (4). Mine, mineralizasyon tamamlandıktan sonra dokuyu tamir edebilen veya yeniden yapılandırabilen hiçbir canlı hücresi olmayan ölü doku olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, mine ve dış çevre (tükürük, oral biyofilm) arasında geçirgen ve iyonik bir değişim meydana gelebilir. Mine içerisindeki kristaller arası alanlar, genellikle mikro gözenekler olarak adlandırılan, potansiyel difüzyon yollarının kristaller arası bir ağını oluşturur. Mine mikro gözenekli bir katı olarak düşünülebilir (63).

Demineralizasyon, mineral kısmın uzaklaştırılması ve organik matrisle erişimin sağlanması işlemidir. Bu, in vivo olarak fizyolojik veya patolojik yollarla gerçekleşir (65). Demineralizasyon ve remineralizasyon, diş yüzeyinde sürekli olarak ortaya çıkar. Bu süreç, kalsiyum ve fosfat değişiminin sürekli meydana geldiği

dinamik bir süreçtir. Yeterince yüksek konsantrasyonlarda kalsiyum ve fosfat içeren tükürük mineyi demineralizasyona karşı daha dirençli hale getirir (66). pH değeri, biyofilmin kritik pH'ının(pH = 5,1) altında olduğunda demineralizasyon gerçekleşir, pH kritik pH'dan daha yüksek olduğunda remineralizasyon gerçekleşir (67). Çürüklere dış biyofilminde mikrobik olarak oluşan asit neden olur. Mine içindeki mineral fazın çözünmesinde dış çürüğünün ilk adımı, düşük pH'lı bir çözeltinin oluşturulmasından kaynaklanır. Asit üretiminin sıklığı ve büyüklüğü, remineralizasyon onarımı sürecini bozarsa bir boşluk oluşur (65).

Demineralize bir lezyon derin yüzey lezyonu olarak ortaya çıkacaktır. Bu derin yüzey lezyonu, POLMI'de, minenin dış kısmında gözenekli fakat sağlam bir yüzey tabakası altında daha yüksek bir gözeneklilik derecesine sahip bir alan olarak görülmektedir. Gözeneklilik lezyonun merkezinde en yüksek seviyededir (63). Derin yüzey lezyonu mikroradiograflarda, minerallerin kaybı, derinlemesine genişleme, koronal ve servikal yönde yayılma açısından iyi tanımlanmış bir lezyon olarak görülür. Yüzey tabakası sağlam kalır. SEM'de, farklı topografik paternin ayrı bir alanı, lezyonu normal mineralden ayırır ve demineralize lezyonu oluşturur.

İn vitro olarak bulunan demineralizasyon, biyomateryalde mineral fazın organik matriksten izole edilmesinden oluşur (65). İnsanın minerallize dokularının ile asit etkileşiminde adhezyon / dekalsifikasyon mekanizması meydana gelir(68). Asit hidroksiapatitler ile iki fazda reaksiyona girer; mine ve adhezyon/dekalsifikasyon sürecinde meydana gelen reaksiyondur, diğeri de minenin kristalliğinden bağımsız olarak gerçekleşir (68). Ayrıca, minenin bozulmamış yüzeyinden organik asidin difüzyon oranı demineralizasyonda oldukça önemlidir (69). Mineraller çözünme ile uzaklaştırıldığında, kristaller arası boşluklar genişleri ve doku gözenekliliğinin artar. Bu şekilde bireysel kristaller azalır (63). Böylece, mine daha gözenekli hale gelir. Sıkı bir şekilde bağlanan kristallerin toplam kütlesi ile oluşan toplam mineral yüzeyi eşit kabul edilirse dahi demineralizasyon sonucunda meydana gelen mineral kaybı kristaller arasındaki boşluklarda göreceli olarak daha belirgin bir artışla sonunda meydana gelen bir durumdur (63). Hafif bir mineral kaybı bile minenin gözenekli yapısında belirgin bir değişikliğe neden olmaktadır (63).

Süt dişlerinde mine mineralleşmesi uterusda başlar ve postnatal olarak devam eder. Gelişim süresi sınırlıdır. Etik kuralları nedeniyle, mineralleşme sırasındaki olayların seyri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Mine oluşumu sırasında, farklı elementlerin dahil edildiği veya emildiği zamanın bilinmesi, normal mineralleşmesinin ve kusurlarının anlaşılması için önemlidir.

Daha önceki yapılan çalışmalar incelendiği zaman X-ışını mikroanaliziyle (XRMA) kombinasyon halinde tarama elektron mikroskopunda (SEM) neonatal çizginin (NNL) analizleri daha önce yapılamamıştır. Prenatal ve postnatal prizmaların çapı ile ilgili karşılaştırmalar yapılmamıştır. Doğumda ameloblastlar tarafından sekresyonun kesilmesi her zaman bir neonatal çizgi ve bazen de bağlanan bir mine hipoplazisi ile sonuçlanır. Ameloblastlara yönelik yaralanma, mine yapısındaki belirli sapmalara neden olur. SEM araştırmaları, morfolojik yapıyı daha ayrıntılı olarak açıklığa kavuşturma potansiyeline sahiptir.

Literatürde, minenin bilinen kimyasal içeriğe sahip emülsifikasyonu ile ilgili sınırlı bilgi bulunmaktadır. Bu nedenle, bireysel araştırmalar demineralizasyona bağlı kimyasal içeriğin ve mineralizasyon derecelerinin ortaya çıkması, önemli klinik etkilere yol açabilir.

3.1.4. Prenatal ve postnatal mine

3.1.4.1. Mine prizma çaplarının ölçümleri

Bir prizmanın çapı, beş prizmanın (prizmaların uzunluk eksenine dik) bir set üzerindeki mesafenin ortalama değeri olarak hesaplanmıştır. Doğum sonrası prizmalar genel olarak daha küçük bir çapa sahiptir. Minedeki ortalama prizma çapı sırasıyla Postnatal dönemde 4.80 μm ve prenatal dönemde ise 5.35 μm olarak bulunmuştur(13).

3.1.4.2. Mineralleşme derecesi

ImageJ® grafilerindeki değerler gri değer aralığı için ne kadar yüksekse, görüntü o kadar parlaktır. Yüzeydeki mine, daha yüksek bir mineralizasyon

derecesine bağılı olarak EDJ'deki mine ile karşılaştırıldığında daha düşük bir gri değere sahiptir. (13).

Neonatal çizgi daha düşük bir gri değerine sahiptir ve daha düşük mineral içeriğinin bir etkisi olarak çevredeki mine ile karşılaştırıldığında mikroradiograflarda daha koyu (daha fazla radyolüsent) ortaya çıkmıştır.

Nina Sabel ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada minenin kimyasal içeriği, mine ve neonatal çizgi boyunca XRMA ile analiz edildiğinde, her bir elementin tek tek karşılaştırılması, neonatal çizgi boyunca kalsiyum ve fosfor içeriğinde gözle görülür bir değişiklik olmaksızın yapılmıştır. Sodyum ve magnezyum, bazı örneklerde neonatal çizginin lokasyonunda ağırlıkça %' lik bir düşüş göstermiştir (13).

3.1.4.3. Doğum sonrası minenin mineralizasyon

3.1.4.3.1. SIMS analizi

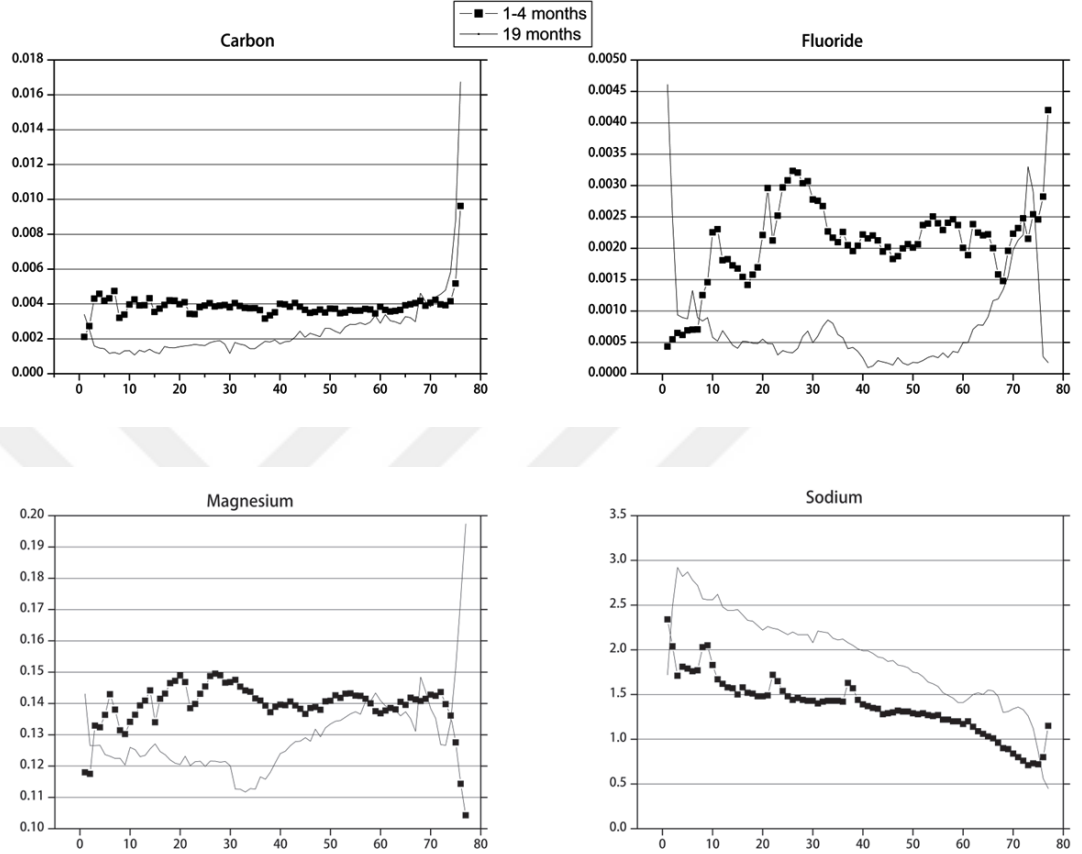
Diş tomurcuğunun minesinde ölçülen değerlerin yorumlanması için mine kalınlığının, mineralizasyonun değerinin ne kadar ilerlediğine bağılı olarak değiştiği vurgulanmıştır. 19 aylık bireyin minesini olgun süt dişi minesini olarak kabul edilmiştir(13).

Yapılan önceki çalışmalarda Karbon, florür, magnezyum ve potasyum içeriği en yaşlı bireyin minesinin dış tabakasında artmış, bu elementler daha genç örneklerde ise azaldığı gözlemlenmiştir(13).

19 aylık bireyin minesinde karbon içeriği, daha genç bireylerden alınan örneklerle karşılaştırıldığında, minenin kütlesine göre önemli ölçüde daha düşük değerlere sahip olduğu saptanmıştır. Genç bireylerin minesini boyunca aynı seviyede karbon varlığı saptanmıştır. 19 aylık bireyin dış minesinde, karbon grafiği bir zirve göstermiştir, bu da dış mine tabakasının daha genç yaştaki bireylerden alınan örneklerinin aksine bir karbon azalmasına sahip olduğunu göstermektedir (13).

Nina Sabel ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada florür ile ilgili olarak, mine kitlesindeki içerik genç bireylerde daha yüksek bulunmuştur. Karbonun aksine

olarak, genç bireylerden alınan örneklerin, en yüksek değerleri 19 aylık bireylerden alınan örneklerdeki mine yüzeyinde bulunmuştur(grafik 1).



Grafik 1. Olgunlaşmamış mine (1-4 aylık bireyler) ve olgun minede (19 aylık bireysel) Karbon, Florit, Magnezyum ve Sodyum konsantrasyonu üzerine grafikler. (Nina Sabel, Enamel of Primary teeth, Swadish Dental Journal Supplement 222.2012)

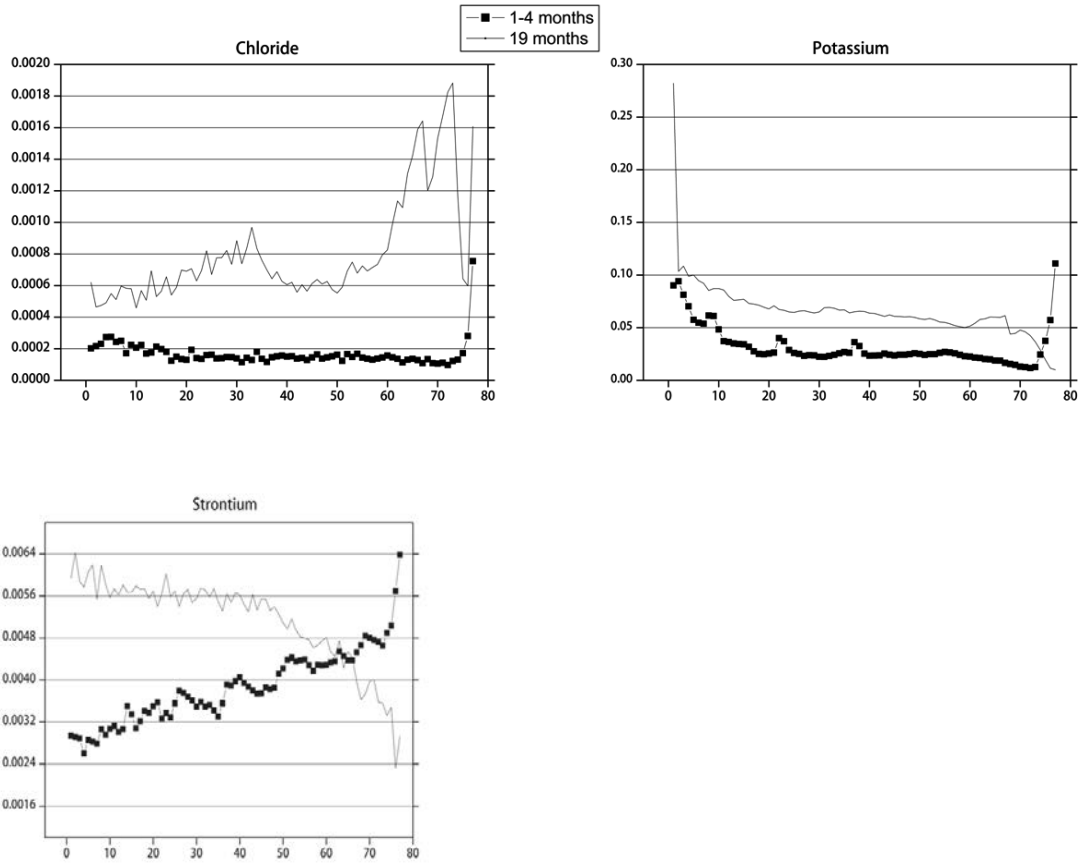
Magnezyumun minenin olgunlaşması sırasında değişmediği görülmüştür. Genç örneklerde alınan magnezyum içeriğinin yaş ile ilgili bir ilişkisi olmadığı, daha çok bireysel bir varyasyon görülmüştür (grafik 1).

Daha genç bireylerden alınan örneklerle karşılaştırıldığında, 19 aylık örnekteki sodyum ve potasyum değerleri daha yüksek çıkmıştır. 19 aylık bireyin dış minesindeki sodyum içeriği, genç bireylerin dış minesindeki daha yüksek değerlere sahip olduğunun aksine, daha düşük değerlere sahiptir. Yaşlı örneklerde, daha

genç örneklemelere kıyasla mine yüzeyinde de potasyum konsantrasyonunun artmış olduğunu göstermiştir (grafik 1, 2) (13).

Genç bireylerin klorür konsantrasyonu, 19 aylık minenin tüm kalınlığı boyunca alınan örneklerdeki değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür (grafik 2).

Dış yüzeydeki stronsiyum içeriği, genç bireylerden alınan örneklerle 19 aylık bireylerden alınan örnekler karşılaştırıldığında, yaşlı bireyde daha yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Genç örnekler arasında kronolojik yaşlarla ilişkili bir konsantrasyon paterni yoktur (grafik 2) (13).



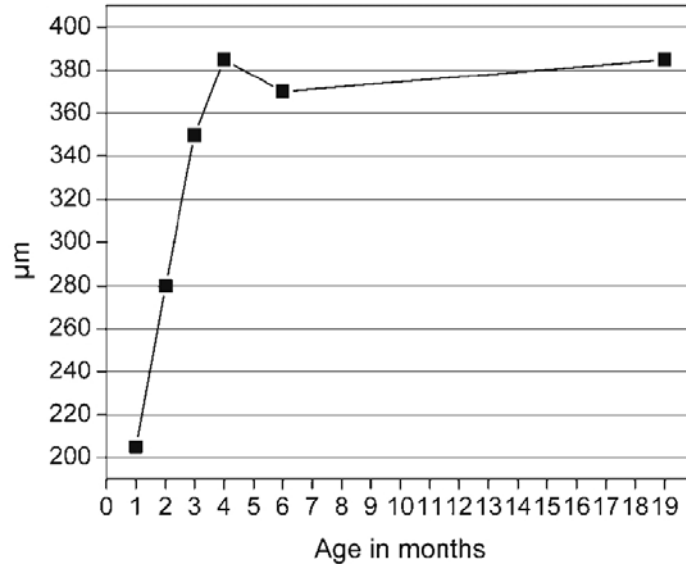
Grafik 2. Olgunlaşmamış mine (1-4 aylık bireyler) ve olgun minede (19 aylık bireysel) Klorür, Potasyum ve Stronsiyum konsantrasyonları üzerindeki grafikler. (Nina Sabel, Enamel of Primary teeth, Swadish Dental Journal Supplement 222.2012)

Ölçülen elemanların konsantrasyonu analiz edilen örnekler arasında farklılık göstermiştir. Postnatal mineralleşmenin nasıl ilerlediğini görselleştirmek için

toplanan verilerden grafikler oluşturuldu. Ayrıca, 1-4 aylık bireylerden mine içerisindeki element konsantrasyonları için ortalama değerler 19 aylık numunenin mine ile karşılaştırılmıştır(13).

3.1.4.3.2. Mine büyümesi

Minenin kalınlığı 1 aylık bir bebekte 205 μm 'den iken, 19 aylık bir bebekte 385 μm 'ye yükselmiştir (grafik 3). Minenin tam kalınlığı 3 ile 4 aylık periyot arasındaki değer aralığındadır.



Grafik 3. Minenin gelişimi sırasında mandibular santral kesici dişlerin bukkal mine kalınlığının, bireyin yaşı ile ilgili grafiği. (Nina Sabel, Enamel of Primary teeth, Swadish Dental Journal Supplement 222.2012)

3.1.4.3.3. Mine hipoplazisi

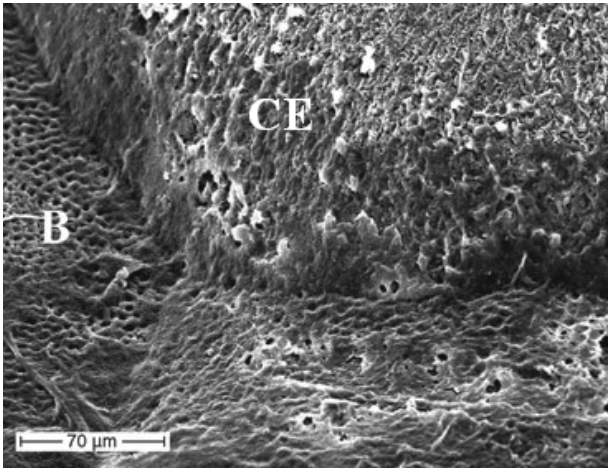
Mine hipoplazisinin klinik olarak mine hacminin görünür yüzey yetersizliğidir, bu yetersizlik mine oluşumundaki yerel bozukluklara bağlıdır. Hipoplazi yuvarlatılmış kenarlara sahiptir ve tabanın zemini oluşturan kısmı, pürüzlü bir yüzeye sahiptir(13).

Mine hipoplazisinin morfolojik yapısı ile ilgili olarak POLMI ve SEM bulguları arasında bir uyum görülmüştür. Hipoplazinin sınırı, yani komşu servikal mineye kadar, yuvarlak ve pürüzsüz görünmüştür. Kesici ve molar hipoplazisindeki

dişlerin minelerinin hipoplazik alanlarının POLMİ ve SEM bulgularında sınırlarının görünüşünde hiçbir fark olmadığı saptanmıştır.

Mine hipoplazilerin servikal sınırları retzius çizgisiyle bağlantılı olarak bulunmuştur.

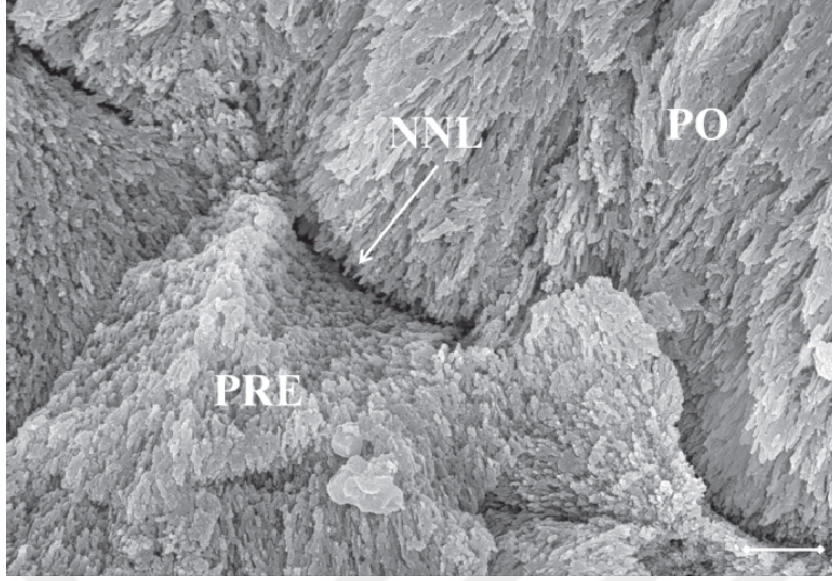
Hipoplazik minenin tabanındaki mine normal bir mine yüzeyi ile karşılaştırıldığında hacimce azaldığı, daha kaba ve gözenekli bir yapıda olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 2). Aprismatik bir mine tabakası görüntüsü bulunmamıştır(13).



Şekil 2. Hipoplazinin SEM görüntüsü. Hipoplazinin tabanı (B), bir mine hacmini azalttığı ve yuvarlatılmış servikal mineden daha gözenekli olduğu görülmüştür. (Nina Sabel, Enamel of Primary teeth, Swadish Dental Journal Supplament 222.2012)

POLMİ'de, hipoplazinin alt tabakasında gözenekli mine alanlarına karşın tamir dentini oluşumu bulunmuştur. Bu durum göstermiştir ki, ağız ortamında bulunan toksinler veya bakteriler için hacmi azaltılmış ve daha gözenekli mine dentin tübüllerine geçişinin olası bir yoludur.

Hipoplazinin servikal kısmı ile yenidoğan çizgisinin birleşme noktasında, mine prizmaları ayrı bir kopma göstermektedir. Doğum öncesi prizmalar konkav uçlara sahipken, doğum sonrası olarak oluşturulan prizmalar konveks uçlara sahiptir(Şekil 3) (13).



Şekil 3. Konkav prenatal ve konveks postnatal prizma sonlarını gösteren bir primer kesici dişin dekalsifiye olmayan bölümlerinin SEM görüntüsü (Büyütme 10 000 · bar = 1 um)(Nina Sabel, Enamel of Primary teeth, Swadish Dental Journal Supplement 222.2012)

3.1.5. Neonatal çizgi

Neonatal çizginin genişliği bireyler arasında farklılık göstermiştir (49). POLMI'daki analiz örnekteki gözeneklilik derecesini yansıtırken, mikroradyograflar ise mineralizasyon derecesini yansıtmaktadır. Neonatal çizgi bu nedenle daha gözenekli ve daha az mineralli bir yapının artan bir çizgisi olarak tarif edilebilir(13).

Yapılan çalışmalarda neonatal çizgideki analizlerden elde edilen kimyasal veriler, normal mine ile karşılaştırıldığında sadece küçük sapmalar olduğunu göstermiştir. İnkremental çizgi boyunca yapılan analizler, varyasyonları göstermek için çok yakın analizlerin yapılması gerektirdiğini göstermektedir

Prenatal olarak oluşturulan mine prizmaların çapı, doğum sonrası oluşan prizmalara kıyasla daha büyüktür. Prenatal mine postnatal mine ile karşılaştırıldığında, prenatal minenin daha muntazam olduğu ve daha az defekt içerdiği üzerine yapılan çeşitli çalışmalar vardır (18, 22).

Floroziste görüldüğü üzere hipomineralizasyon, sekresyon aşamasında aşırı miktarda florürün bir sonucudur (70). Neonatal çizgi salgılama aşamasındaki

olaylara birer kanıt olduğu için dikkate alınması gereken bir hipomineralize yapıdır. Buna uyumlu olarak, florozis neonatal çizgi bölgelerindeki hipoplazinin sık rastlanan bulgularıdır.

3.2. Dentin

Dentin, diş sert dokusunda minenin hemen altında dental pulpanın ve kök kanallarının çevresinde yerleşik olarak bulunmaktadır. Yapı, bileşim ve mineralizasyonu açısından mineden farklılıklar gösterir.

3.2.1. Dentinin yapı, bileşim ve mineralizasyon

Kalın bir dentin tabakası, mineralize diş dokuları olan dişin büyük bir kısmını oluşturur. Dentin son derece mineralize ve koruyucu, mineden yapılmış bir taç tarafından kapatılmıştır. Kökünde ise, dişlerin kemik soketine bağlandığı yapı olan diş sementiyle kaplıdır. Dişler merkezi parçalarında genellikle mineralize doku olmayan diş pulpası vardır. Bu yumuşak bağ dokusu aynı zamanda, sinir dokuları ve periodental ligament ve kemik soketi çevreleyen dokularla bağlantılı bir vasküler ağ içerir. Bir bütün olarak ele alındığında, dentinin genel bileşimi tablo 1 de özetlenmiştir.

Mineral faz	Ağırlıkça %70	Hacimce %40-45
Organik matriks	Ağırlıkça %20	Hacimce %30
Su	Ağırlıkça %10	Hacimce %20-25

Tablo 1: Dentinin Temel Bileşimi

Ağırlık bazında, dentin mineden daha az(%96), fakat kemik veya diş sementinden daha fazla (%65) minerallidir. Ancak, bu küresel dağılım aşırı basitleştirilmiş bir görünüm sağlar çünkü dentin farklı işlevleri yansıtan ve kendi özgürlüklerini taşıyan farklı dentin türlerinin bir bulmacasıdır.

3.2.2. Dentin: yapı-ultra yapı-üç bölümlü modeli

Fizyolojik ve anatomik olarak dentin karmaşık bir yapıdır. Bütün dentin olarak adlandırılan yapı içinde, tek bir tür içinde bile farklı türlerde dentin olduğu tespit edilmiştir.

Phylogenetik çalışmalar ortaya çıkardı ki, evrim sırasında lakura içinde kemikle çevrili osteositlerde olduğu gibi aslında alveol içinde yer alan osteoblast/odontoblast benzeri hücreler ile dentin analogları kemiklerle çok benzerdi(71,72). Osteodentin olarak adlandırılan bu organizma, kemirgenler gibi bazı memeli türlerinde diş gelişimi sırasında ve insanlarda onarıcı dentin olarak hala görülmektedir (73). Odontoblastlar polarize olur, uzar ve iki farklı parça olarak görüntülenmeye başlarlar: bir hücre gövdesi ve bir süreç.

3.2.2.1. Çevresel dış tabakalar

Bazı varyasyonlarla, çoğu memeli türünün koronal bölgede dişin çevresinde 15-30 mm kalınlığında bir dış manto tabakası vardır. Bu temelde birkaç ince ve kavisli tübüllere sahip bir atübüler katmandır. Bu temelde birkaç ince ve kavisli tübüllere sahip bir atübüler katmandır.

Tübüllerin lümeni etrafında pertübüller dentin bulunmasına rağmen, circumpulpal dentinin en çok belirgin kısmı intertübüller dentin tarafından oluşturulur. İnterkütan ve peritübüler dentin arasındaki oran türlere bağlıdır. Peritübüler dentin sürekli büyüyen kemirgen kesici dişlerinde eksiktir. Aksine, atlarda, oran kabaca %50 dir ve hesaplama yapılan bölgedeki büyük varyasyonlara bağlı olarak insanlarda yaklaşık olarak %10-20 azalmaktadır.

Kökte, benzer tabakaları tamamen birleşmemiş kalsferit yapıları tarafından oluşturulan Tomes gronülleri tabakası olarak tanımlanan ve sonuç olarak interglobüler boşluklarla her 15-30 mikrometre kalınlığında Hopewell-Smith tabaka gözlemlenmektedir. Muhtemelen organik kalıntıların oluşturduğu gözenekler ağı, dikey olarak yönlendirilir ve tübüller ile ilgisizdir (74). Bu çevresel tabakaların ağı açık bir şekilde tespit edilmemiştir. Ancak bazı hipotezler onların fiziksel ve kimyasal özelliklerinden elde edilir.

Taçta, manto dentin denilen, Vickers mikrosertlik olarak kullanılan girinti ölçümleri dış tabakada 200 mm boyunca sertlikte kademeli bir artış gösterir (75). Bu dış tabaka daha az minerallidir ve sonuç olarak esnek manto dentin basınçları ve kuvvetleri dağıtmak için uygulanabilir. Aksi takdirde, minenin çatlakları ve parçalanmış minenin dış dentin-mine birleşiminden ayrılmasına neden olur. Dentin

tübülleri dış dentin katmanlarında eksik veya sayı olarak azalmış ve bükülmüştür (76). Birkaç yıl boyunca “tüm boyama” yöntemini kullanırken gözlem veya dentin fosfoproteinine karşı geliştirilen antikolar hakkında bir tartışma vardı(77). Circumpulpal dentinin aksine manto dentin lekesizdi ve sonuç olarak Takagi ve Sasaki bu tabakanın fosfor ile proteinlerden mahrum edilmesini önerdi. Bununla birlikte kimyasal analizler, genellikle fosforize edilmiş proteinlerin fiilen mevcut olduğunu, ancak fosforize edilmiş bir formda ya da hiç fosforlanmamış olduğunu gösterdi(78). Bu bağlamda şunu belirtmek ilginçtir ki, manto dentin x-bağlantılı hipofosfatemiden etkilenmez(79), bunun aksine raşitizm içinde dentin ECM molekülleri olan circumpulpal dentinde genişlemiş,mineralize olmamış interglobular boşluklar üretir(80). Bu nedenle, NCP'nin yapısı manto ve circumpulpal dentin arasında farklılık gösterir, dış tabaka organik fosfor durumundan etkilenmez. Sonuç olarak taçta, dış tabakalar dentinin geri kalanından daha az minerallidir. Bazı elastik özellikler gösterirler ve bu nedenle bazı esneklikler sağlarlar, mekanik açıdan önemli ve stres kuvvetlerinin yayılmasına izin verilmesi(81). Bununla birlikte dış tabakanın kalınlığı yaklaşık 200 µm'dir, bu nedenle varsayılan manto dentin genişliğinden daha büyüktür.

Dişin kökünde, yine elastik modül tek düze değildir ve dış kısım eksenel ve yanal basınçlara dayanabilecek bir çerçeve sağlar. Yapısal bir bakış açısıyla, dentin tübülleri manto dentininde nadirdir ve pek çok durumda eksiktir. Bükülmüş ve dar tübüller gronüler Tomes tabakasında bulunan kalsiyosfer yapıları tarafından ayrılır.

Bu erken aşamadaki membran incelemeleri, polarize odontoblastlarla taban zarının paralel olduğunu gösterdiğini belirtmeye değer(81). Bu membran uzantıları kopar ve kırıldık ve kemikte tarif edilenlere çok benzeyen matriks vesiküller haline gelir ve bu vesiküllerin ilk dentin mineralleşmesine katkıda bulunduğu düşünülür. Bir hücrenin türevli organelin dentinogenez sırasında doğrudan mineralizasyona katıldığı yerde tek örneğidir. Çoğu kısım için hücreler mineralizasyon sürecinde yer alan hücre dışı matris üretirler.

3.2.2.2. Circumpulpal dentinler

Circumpulpal dentin, dentin tabakasının en büyük kısmını oluşturur. Dentinogenezin ilk aşamalarındaki inceliğinin kalınlığı, başta pulpa tarafından işgal

edilen alanda sürekli olarak artar (günde yaklaşık olarak 4mm). Ayrıca, homojen bir dentin tabakası değildir. Tübüllerin lümeni etrafında peritübüler dentin bulunmasına rağmen, circumpulpal dentinin en çok belirgin kısmı intertübüler dentin ile oluşturulur. İnterkütan ve peritübüler dentin arasındaki oran türlere bağlıdır.

Peritübüler dentin sürekli büyüyen kemirgen kesici dişlerde eksiktir. Bunun aksine, atlarda, oran yaklaşık % 50'dir ve hesaplamalarda yapıldığı bölgeye bağlı olarak büyük değişimler gösterir ve insanlarda (yaklaşık% 10-20) azalır.

İki dentinin yapısı ve bileşimindeki farklılıklar doğru bir şekilde belgelenmiştir. Peritübüler dentinde kolajen fibrilleri hiç gözlenmemesine karşın, Tip 1 kolajeni, intertübüler dentinin ana proteinidir (%90). İki dentinin kolajen olmayan proteinlerinin birleşimindeki farklılıklarda rapor edilmiştir ve bu hatlar boyunca, inter ve peritübüler dentinin bazı kristalize kimyasal özellikleri oluşturulmuştur(82, 83).

Intertübüler dentinde, plaka benzeri kristalitelerin s formu, 2-5 mm kalınlığında ve 60 mm uzunluğundadır. Düşük büyümeye, intertübüler kristaliteler iğne benzeri bir görünüme sahiptirler. Kristaliteler rastgele interfibriler boşlukları doldururlar; kolajen fibrillerin yüzeyinde ya da kolajen fibril eksenine paralel olarak bulunurlar(84). İnterkütanöz dentinin demineralizasyonu kolajen olmayan proteinlerle kaplanmış yoğun bir kolajen fibril ağını açığa çıkarır. Katyonik boyalarla boyanan glikozaminoglikanlar, kolajen alt birimlerinin örtüşmesinden kaynaklanan kolajen delik bölgeleriyle ilişkilidir. Peritübüler dentinde, çapı yaklaşık 25 nm olan simetrik yapılar rapor edilmiştir(82, 85). Daha yüksek çözünürlük kristaller aşağıdaki ölçümleri taşıra= 36nm , $b=25\text{nm}$ ve $c=9,75\text{nm}$ (86). Tübüllerin lümeni etrafında bir halka oluştururlar. Hafif demineralizasyon sonrası kollajen fibrilleri saptanmayabilir, ancak kollajen olmayan proteinlerin ve fosfolipitlerin ince ağı gözle görülür(82, 83, 84).

Odontogenezis sırasında, odontoblastlar, diş fonksiyonel hale gelene kadar birincil dentin oluşumu için kritiktir. Antagonist çarpışmalar arasında iletişim kurulduğunda, ikincil dentin oluşumu hemen başlar ve hayat boyunca devam eder. İlk oluşum esnasında odontoblastlar sürekli olarak 10 mikrometre kalın tabaka oluşumuna neden olan matris molekülleri üretmekteydi, daha sonra günlük 4

mikrometre birikim seviyesine düşürüldü, fakat birincil ve ikincil dentin arasında pek fark yoktur tek büyük fark morfolojiktir ve çekilen bir pulpanın çevresinde bulunan odontoblastların kademeli olarak kısaltılması nedeniyle tübüllerin S-eğrisi ikinci dentinde daha fazla görülür. İçeriği ve peri tübeller şeklindeki dentin oluşumu, iki farklı mineralizasyondan kaynaklanır. Inter-tübüler dentin, şimdilerde manto dentin dediğimiz, mineralizasyonun önünde ve arkasında yer alan dentin ve dinamik mineralize olmayan pre-dentin arasında meydana gelen değişikliklerden sonuçlanır(87). Polarize odontoblastlar, ECM' nin salgısının hem dentinde hem pre-dentinde gerçekleştiği uzun bir süreçle birlikte extraselüler matris moleküllerinin birleşenleri için anahtar olan bir hücre bedeniyle oluşturulur. Proseslerde, bazı CEM moleküllerinin bozulması sonrasında bazı parçaların içselleştirilmesiyle ilişkilidir. Diğer ECM molekülleri mineralizasyon önüne yakın bir şekilde veya tüplerin lümeni içine daha zenginleştirilmiş bir biçimde sıralanmasına rağmen, bazı ECM Molekülleri yani kolajen ve proteoglikanlar, pre-dentinde gizlendirilmişlerdir. Proximal pre-dentinde odontoblastlar, kollenin fibrilasyonunda pota olmuş bazı proteoglastlarla birlikte (dekor, boğulan, lumikan, fibromodülün) ile birlikte yer alan type 1 yerli salgılamadan sorumludur(88,89). Bazı kolajen proteinler(NCP), mineral fazın hücreleşmesinde ve büyümesinde veya inhibisyonunda ortaya çıkar. Çoğu fosforile proteinler, mineralizasyon önüne yakın metadentinde salgılanır. Proximal ön bölgesinde(hücre bedenleri yakınında) kolajen fibrillerinin ortalama çapı 40 nm'dir ve distal kısımda, mineralizasyon önüne yakın, fibril çapı 55-75 nm arasında değişir(90). Bu kolajen alt ünitesinin yanal toplama işleminden dolayı dinanometrenin arttığını göstermektedir(91). Bununla birlikte, mineralize edilmiş dentinde, kolajen fibrillerinin çapı stabildir.

Inter-tübüler dentinin oluşumu, eşsiz -türetilmiş mineralizasyon yapmak için çok uygun bir katmanlı model sunar. Anatomik olarak üç ardaşık katmanlar:

- 1- Hücresel stratum (odontoblast hücre bedenleri ve pulpa çevresinde bulunan Höehl's hücreleri)(92)
- 2- Sabit 15 -20 mikrometre kalınlığı olan olgunlaşmamış önyanlama tabakası

- 3- Mineralizasyonun başından mantolyon dentalino-mayavun kavşağına kadar olan mineralize edilmiş dentin.

Bu model, üç parçanın da bulunduğu bölme kemik modeline benzer: osteoblast/ kemik, astar hücreleri, taban, osteoid ve kemik. Bu gözlem, kemik ve dentin tarafından paylaşılan bir süreçte ışık tutabilir. Bununla birlikte, kemik ve diş oluşumu arasında bazı benzerlikler olabilirken, arada benzersiz özellikler de vardır. Örneğin, kemik oluşumu, osteoklast-osteoblast etkileşimli nedeniyle hormonal etkilenir ve matris metalloproteinazın(MMP) çoğu var olan matris proteinlerinin bozulması nedeniyle düzenli bir yeniden birleştirme izleyerek takip edilir, ancak dentin, oluşmasından sonra oldukça stabil bir yapıdır.

Peritübüler dentin, predentinin dentin içinde dönüşmesinden kaynaklanmaz ama bir amorf matrisin tübüllerinin lümeni boyunca adsorpsiyonu yerine dentin içindeki odontoblast süreçleri tarafından salgılanmış olabilir veya serumdan köken almıştır(dentinal lanf). Proteoglikanlar, lipitler ve diğer ECM proteinleri, yoğun hipermineralize peritübüler dentini ortaya çıkaran ince bir amorf ağın oluşmasında rol oynamaktadırlar(93, 94). Şimdiye kadar incelenen diğer türlerde, peritübüler dentin oluşumu mineralleşme önüne uzak mesafede olan tübüllerde oluşur ve çoğunlukla circumpulpalın iki iç kısmında gelişir.

Çürüklü dişlerde veya çürümeye veya aşınmaya bir tepki olarak yeni bir dentinogenezis oluşur buna tersiyer veya üçüncü dentin denir. Bu dentin, nispeten diğer dentin tiplerine göre daha fosforile olduğu varsayılan asidik proteinlerde yetersizdir. Manto dentinde olduğu gibi, bu durum ya proteindeki post-translasyonel modifikasyon nedeniyledir (yani fosforilasyon) ya da bu proteinlerin yokluğundan kaynaklanmaktadır. Reaktif dentin yada osteodentin tipi bir katman olarak yada tübüler veya tübüler ortodontik olarak, hız ve çürüğün atağına bağlı olarak reaksiyonun ilerlemesi ve hastanın yaşına bağlı olarak görülür. Bu dentin, bazı diş dolgusu malzemelerinin bileşenlerinin, reçinelerin serbest monomerlerinin veya cıva içeren gümüş amalgamın salınmasına yönelik fizyopatolojik bir cevap olabileceği düşünülmektedir.

Reaksiyon dentin, odontoblastlar tarafından sentezlenir veya bu hücreler değiştirilirse, bu katman latent yetişkin progenitörleri olan ön odontoblastların son

bölüşümü için verilen Höehlon tabakasının alt hücreleri tarafından üretilir. Tepkisel dentin onarılmış dentinden farklıdır. Ancak, bu son dentin tipi, odontoblastların veya bunların ilişkili hücrelerinin aktivitesinin sonucu değildir ama özellikle kemik benzeri veya yapı bakımından daha az mineralleşmenin oluşumunda rol oynayan (pulpa diffüz veya pulpa taşı) pulpa pregenitörlerinin sonucudur. Bu yapılar dentin yerine kemiğe daha yakındır.

Dentin tipine ve yerine bağlı olarak dentinde en az 3 farklı fizyolojik mineralizasyon süreçleri meydana gelir. İlk olarak, dentin dış katmanları sonucu matriks vesikülleri ve bunların varlığını içeren yapının mineralizasyonudur. Bu süreç odontoblast apoptozu ile ilişkili olabilir veya olmayabilir. İkincisi, preentinin dentine aktif dönüşümü intertübüler dentin oluşumunun kökenidir. Bu type 1 kolajen matriksin en az kolajen olmayan protein taşıyıcısı olarak büyük bir rol oynadığı matriks-kontrollü bir süreçtir. Üçüncü olarak, serum türevi moleküllerin pasif depoziti, tübül duvarları boyunca peritübüler dentin oluşumuna yol açar. İşte bu yüzden dentigonezin genel adı altında, farklı mineralizasyon türleri özellikle birçok farklı doku üretmektedir.

3.2.3. Odontoblastlar: Sentezde ima ve sekresyon ve ecm dentin mineralizasyonu

3.2.3.1. Odontoblastlar ve dentin oluşumu

3.2.3.1.1 Preodontoblastlardan presekretuar polarize olan odontoblastlara dönüşüm

Odontogenezin erken evreleri sırasında, nöral tepeden köken alan hücreler paraksimal mezenşime doğru göç ederler ve ilk branşial arkbölgesine ulaştıkları yerde diş tomurcuklarının oluşumuna katkıda bulunurlar. Maksillanın orta hattına, ön-odontoblastlar fronto-nasal tomurcuktan göç ederler. Dental laminanın epitel hücreleri ve mezenşimal arasındaki etkileşim embriyonik pulpa oluşumuna katkıda bulunur. Branşial arktan hareket döneminde, pre-odontoblastlar çoğalır ve bu hücrelerin diş pulpasına ulaşmasını sağlar. Son mitoz sırasında, bazal membran (BM) ile yakın olan yada temas halinde bulunan eş hücreler, prepolarize edilmiş odontoblastlar haline gelir. Eş hücreler BM'den uzakta, Höehl katmanını

oluştururlar. Başlangıçta, bu hücreler işlevsel gibi görünmeyebilirler ama daha sonra apoptozis tarafından yok edilen eski odontoblastların yenilenmesi için bir rezervuar oluştururlar(95).

3.2.3.1.2 Odontoblastlar farklılaşması ve fonksiyonel hale gelmesi

Odontoblastlar farklılaştığında, terminal polarizasyona uğrarlar. Daha sonra 4 olay gerçekleşir:

1)Golgi aparatının bazal kısımdan supra-nükleer alana göçü

2)Sitoskeletal proteinlerin,mikrotübüllerin ve ciliumun,aktin mikrofilamentlerinin, vimentin ve Netsin içeren ara filomentlerin gelişimi

3)Bir eklem dışta kompleksi oluşumu desmozom benzeri kavşaklar,boşluklar ve bazı türlerde sıkı kavşaklar içerir. Bu birleşme kompleksleri bazı geçirgenlik membranı oluştururlar ve hücre içi difüzyonlar, küçük moleküler ağırlığa sahip moleküler ile sınırlıdır.

4)Fenestred kılcal damarlar odontoblast tabakasına sızar. Amino asitler,yağ asitleri,şekerler ve iyonlar,hücre içi ve ECM molekülleri,endotel hücreleri ve BM arasındaki boşluğa geçer. Odontoblastlar içine dahil edilmemişlerdir(90, 96).

Terminal hücre bölümlerinde bulunan odontoblastlar ilk önce BM'ye paraleldir ancak kısa bir süre sonra onların büyük eksenini BM ile dik açılanırlar. Odontoblastlar diş pulpasının yüzeyinde hizalıdır. Çit benzeri bir yapı oluştururlar. Terminal polarizasyon ECM 'de tüm organellerin rol aldığı hücre gövdesi arasındaki bölüme yol açar. ECM'de sentezlemeler, golgi aparatı,olgunlaşmamış ve olgun lizozomal ekipmanla ilişkili sekretuar veziküller (GERL,küçük ve büyük lizozomal veziküller,multiselüler yapılar) mevcuttur ve predentinde çıkan uzantılar tübüllerin dentinal duvarlarına yapışırlar. Sürenin uzunluğunun sorusu cevapsız kalır(96).

3.2.3.1.3. Fonksiyonel Odontoblastlar

3.2.3.1.3.1. Kollajen

Odontoblastlardan kolejen yapımı radyografik çalışmalarda net bir şekilde açıklanmıştır. Radyografik ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlardan ³H

prolin gibi işaretli aminoasitlerin kullanılması ile kolajen sentezi açıklığa kavuşturmuştur(90, 91, 92). Radyografik çalışmalarda yapılan radyoaktif madde enjeksiyonundan sonra ortalama 5-30 dakika içerisinde,odontoblast hücreleri içerisindeki endoplazmik retikulum ve golgi içerisinde gümüş tanecikleri görülür. 1-2 saat arasında bu sayı hücrenin proximal ve santral kısımlarında artar. Predentinin farklı kısımları tamamen gümüş iyonları ile doluyken, hücre gövdesindeki gümüş iyonları azalır.24 saat sonra predentinde dentinin iç kısmında 10-20 mikrometrelik bir alanda gümüş birikimi gözlemlenir(93). Sonra bu yapı saf dentinle 48 saatte çevrelenir. Bu çevreleme stabildir ve uzun zaman sonra bile kalır.

Bu olaylar dizisi,ilk olarak odontoblastlarda prokollajen fibrillerinin sentezi meydana gelir. Prolin içeri hücrelerden ve pro-alfa1 ve pro-alfa 2 zincirlerinde hidrokisprolin sentezi ile başlar(94). Uçtan uca net şekilde uzama ve lateral agregasyon ile fibrillerin çapında artış meydana gelir(91). Predentin mineralizasyonun başladığı yere doğru fibrillerde yönelme meydana gelir. Buralarda sentezlenen kolajen predentine göç eder.Bu süreç dinamik bir süreçtir. Olgunlaşmanın bazı aşamalarında (muhtemelen çapraz bağlar olduğunda), kollajen fibrillerinde stabilizasyonun sağlanmasına yardımcı olur. Bazı çalışmalarda elde edilen radyografik veriler,predentinde mineralizasyonun proximalden distal predentine olduğunu göstermiştir (90).

3.2.3.1.3.2.Fosforlanmış proteinler

Weinstock ve Lebland'ın yaptıkları çalışmalarda çıkan sonuçlara göre mineralizasyon sırasında görülen predentinin dentine dönüşmesinde moleküller arasında iki farklı protein salgısının olduğu ve iki farklı salgı geninin olduğu fazlar önüne sarılmıştır(97). Fosfat ve gümüş mineral dağılımı farklılığından dolayı dentin oluşumunda sentezlenen fosfoproteinlerin kollajenlerden farklı olduğu anlaşılmıştır.

Proksimal predentin de ortaya çıkan sentezlenmiş kolajen sekresyonu,mineral toplayan fosforile protein ile minerali predentin /dentin birleşimine yakın yerde toplanmasını sağlar.

3.2.3.1.3.3.Glikozaminoglikanlar ve proteoglikanlar

Mineral faz içerisinde önemli rol oynarlar. Yapılan çalışmalarda [³⁵S] Sülfat enjeksiyonundan sonra, yoğun şekilde mineralizasyonu destekleyen bir sistemin parçaları olarak çalıştırdıklarını göstermiştir(98). Prezentinde bulunan muhtemelen kollajen migrasyonu ve defibrilasyonu ile ilişkili bu yapılar sitomeksin (MMP3) için bir substrat görevi görürler (99). Kollajen fibrillerin çapı ile ilgili işlemleri yerine getirirken, ikinci grup küçük proteoglikanlar mineral faz ile ilgili ve prezentin-dentin bileşiminden salgılanır.

3.2.3.1.3.4.Ekstraselüler matriksin küresel bileşimi

Tablo 2 farklı tiplerde detonlardan ekstra edilen hücre dışı matris bileşenlerini listelenmektedir.

Kollajenler %90		Tip 1 kollajen(%89)+ Tip 1 trimer(11)	+ 1-3% tip III ve tip V kollajenler
Kollajen olmayan proteinler(%10)	Fosforlanmış proteinler	SIBLINGs (Small Integrin Binding Ligand, N-linkedGlycoproteins) [56]	DSPP (Dentin Sialo Phospho Protein) (Mw between 155 et 95kDa),after cleavage : • DSP (Dentin sialo Protein)(N-terminalproteoglycan forming dimers) : 100- 280kDa • DGP (Dentin Glyco Protein) : 19kDa • DPP (Dentin Phospho Protein or dentin phosphoryn) (C-terminal) 94kDa mineralization nucleator DMP-1 (Dentin Matrix Protein-1) : 61kDa, a proteoglycan, nucleator BSP (Bone SialoProtein): 95kDa, proteoglycan, nucleation & crystal growth. OPN (Osteopontin) : 44kDa glycoprotein (mineralization inhibitor). MEPE (Matrix Extracellular Phospho glyco Protein) 66kDa, glycoprotein (mineralization inhibitor)
		SLRPs (Small Leucine-Rich Proteoglycans)	Decorin (and possibly other SLRPs)
		Amelogenin	Forms resulting from alternative splicing: • A+4 : 8.1kDa • A-4 (LRAP): 6.9kDa
		Diğer mine proteinleri	Ameloblastin
		Lipit proteinleri	Matriks fosfolipitler
	Fosforilize edilmiş proteinler	*Osteocalcin &DPG : dentin gla-protein (acid gamma carboxy glutamic-rich protein) * Matrix Gla Protein (MGP)	• 5.7kDa mineralization inhibitor • 14kDa, not a mineralization inhibitör
		Osteonectin or SPARC protein	43kDa
		Proteins taking origin from blood serum	*Albumin (lipid carrier) *Alpha2 -HS glycoprotein (only found in mineralized tissues) *Fetuin, implicated in serum-derived mineralization (nucleator HAP)
		SLRPS	CS/DS PGs: decorin, biglycan 42kDa KS PGs: lumican, fibromodulin, osteoadherin 50kDa
		Büyüme faktörleri	FGF2, TGF beta1, BMPs, ILGF I & II, PDGF
		Enzimler	Alkaline and acid phosphatases, serine proteases Collagenases: MMP-1, -8, -13 Gelatinases: A: MMP-2, B: MMP-9 Stromelysin 1: MMP-3 MT1-MMP, enamelysine or MMP-20 ADAMs and ADAMTS Thrombospondin1
		Poliaminler	Spermine, spermidine, putresceine
	Calcium binding proteins	Calmodulin, Calbindin, Annexines, Nucleobindin	

Tablo 2: Dentinin Temel Birleşiminin Ekstraselüler Matriksteki Molekülleri

Yapısal proteinler olarak, ECM molekülleri dentin oluşumu ve mineralizasyona neden olur. Konsantrasyon ve post-translasyonel modifikasyona bağlı olarak başlatıcı veya inhibitör olarak hareket edebilirler. Bazıları matriküler moleküler gibi karakterize edilir. Bu hücrelerin fonksiyonlarının ve modülatörün araçları olarak biyolojik görev yaptıkları anlamına gelir. Hücreler ile etkileşirler, yani hücre yüzeyi reseptörleri integrinler veya büyüme faktörleri ve proteazların aktivitesi modüle ederler. Gen ekspresyonu ve hücre fenotipi üzerinde aşağı akış etkilerinin spesifik olanlarını belirler(100). Dentin içinde SPARC, OPN ve BSP matriküler proteinler olarak tanımlanır ancak diğer moleküllerle benzer rol oynamaktadır. ECM molekülleri de hücre sinyalizasyonunadahi olabilir(101). Bu 3 özelliğe göre etkileşim ve sınıflandırma yapmak zordur.

3.2.3.2 Mineralizasyon: ECM Moleküllerinin Mineral Fazının Oluşumu

Kalsifikasyon kalsiyum ve fosfat arasındaki fiziko kimyasal etkileşimden meydana gelir ve yumuşak dokularda bir mineral fazın oluşumuna nedendir. Bu durumun hem olumlu hem de olumsuz sonuçları vardır. Birçok örnek içinde kalsifikasyon, vasküler kalsifikasyon ve böbrek taşı oluşumu bulunur. Kireçlenme sonucu olarak ortaya çıkabilir veya nekrotik sonrası olaylar tarafından indüklenebilir. Mineral kompleksleri kendiliğinden çökmesinde meydana gelebilir ancak genel olarak kararsız bir formda değildir. Kalsifikasyon genellikle fizyolojik olmayan mineralizasyon genellikle fizyolojik olan bir olaydır. Genel olarak, biyomineralizasyon hücreleri mineral birikimini düzenleyen bir süreçtir. Omurgalılarda, biyomineralizasyon iskelet yapılarının matriste (ECM) hidroksiapatit (HA) tarafından hücre dışında biriktirildiği hücre aracılığıyla ile yapılan bir süreçtir. ECM'nin yapısal molekülleri ve bir dizi enzim sadece kemik ve mineralli diş doruklarında mineral turlarının girişini ve fiksasyonunu yönlendirir.

Dentinogenez sırasında en az üç farklı mineralizasyon alanı tanımlanır:

1) Esas olarak manto dentinde meydana gelen hücre kaynaklı matris vesisleri kaynaklı mineralizasyon

2) ECM moleküllerinden türetilmiş mineralizasyon, dentin formasyonunun çoğunluğunu muhasebeleştirir ve

3) Peritübüler dentinde meydana gelen kan-serum kaynaklı çökeltiler.

Üç çeşit mineralizasyon arasında önemli farklar olmasına rağmen mekanizmalar hakkında genel bir kavram öneren bazı ortak özellikler vardır.

Yapılan çalışmalarda hafif demineralizasyon, spesifik boyama ve diğer yöntemler ile sadece kristalin yüzeyinde bulunan organik kılıflar veya zarfların varlığını göstermiştir. Onlar literatürde "hayalet kristaller" adı verilir. Bu yapılar birleşik proteinler, proteoglikanlar ve fosfolipitler ve fosfo-gliko-lipo-proteinler olarak tanımlanırlar. Enzim bakımından zengin ancak enzimatik olarak aktif olmayan bir zarf olarak, başlangıçta dentin ve pulpa tamirinde manto dentin oluşumunda, yapısal olarak hücre dışı matriks veziküllerin yapımında görev alır. Ayrıca, mineralizasyonun başladığı yer olarak tanımlanan bazı embriyonik kemik ve kalsifiye kırıldak noktalarında bulunur(103). Matriks vezikülleri ve kristal hayaletlerle ilişkili enzimlerin aktivitelerindeki mineralleşmeyi etkileyen genel mekanizmalar üzerinde yer alırlar.

Maddelere yol açan olayların akışını açıklayan bir çalışma hipotezi olarak kolajen bazlı dokular, bir dizi adım belirtmiştir. İlk hücre aracılı olaylar matrü bağımlıdır. Mineralizasyonda fibronektin ve daha sonra kolajen depolanır. Kolajen olmayan proteinler kazein kinazlar (fosforilasyon), protein ile posttrasyonel olarak modifiye edilmiştir ve fosfatazlar (defosforilasyon), BMP1 ve PHEX (parçalanma) ve sülfatazlar (sülfasyon), Ca^{++} iyonları asidik kalıntılarla etkileşir ve dahası PO_4 -mineralleşme sürecini başlatır. Kolajen matrisi üzerinde mineral kristalleri biriktiren mekânsal bir şablon sağlar. Bu kristallerin büyümesinde ECM proteinleri tarafından yönetilir (104).

3.2.3.3. Dentinogenezde Rol Alan ECM Molekülleri

Dentinogenezde rol oynayan proteinleri ve diğer matris bileşenlerini tanımlamak için çalışmalar yapılmıştır. Bunlar, dentinogenez transkripsiyonu tanımlayan gen çalışmalarını keşfetmek için proteinler ile gen ekspresyonu aynıdır.

3.2.3.3.1.Dentin ECM için dentin kodlaması

Sıçanın kesici dişlerinde eksprese edilen gelenler arasında,alfa 1 ve alfa 2 kolajen ve dekorin için en bol koddur(105). Osteodentin,PHEX,DSPP,BSP ve minelizin,sıçan dentininde de eksprese edilir(106).

Bununla birlikte,odontoblastlar tarafından ifade edilen ve dentinogenez bağlamında önemli görülen başka genlerde vardır. Bu genler,SIBLING proteinleri, fosforile olmayan,kolajen olmayan proteinler(örneğin osteokalsin)ve SHARP ailesinin bazı üyeleri için koddur. Tablo 2'de listelenen diğer birçok ECM molekülü, hücreler içinde veya matriks içerisinde bulunur. Ayrıca dentinogenezin bazı yönlerine katkıda bulunabilirler ancak ya etkileri çok zayıftır ya da her yerde bulunabilirler ve bu sürece öncelikli olarak dahil olmayabilirler. Ek olarak bazı moleküller kan serumu ve odontoblastlar tarafından sentezlenemez.

Son 50 yılda,hemen hemen tüm büyük dentin ECM moleküllerinin tespit edildiğine dair büyük bir olasılık vardır. Bu süre zarfında büyük moleküllerin kodlarını oluşturan genlerin üç boyutlu yapısını oluşturmak için protein ve fonksiyonlarını keşfeder. Amaç, başlangıçta dentin biomineralizasyonunda önemli bir rol oynayan hedef molekülleri tanımlamaktır. Benzer moleküller kemik ve dentin içinde mevcut olduğu için,aynı işleve sahip olabilirler. Ancak, kemiğin aksine,dentinde çok az ya da hiç yeniden yapılanma yoktur. Sonuç olarak,dentinogenez iskelet dokularının biyomineralizasyon süreçlerini incelemek için mükemmel bir model sağlar. Bu hedef genişletildi ve artık ECM moleküllerinin çok işlevli, yapısal, matrikselüler ve sinyal molekülleri olduğu çok açıktır. Sürekli olarak birbirleriyle etkileşirler,diğer ECM molekülleri tarafından yukarı veya aşağı düzenlenirler. Etkilerin molekül konsantrasyonu ile modüle edildiği açıktır. Doz bağımlılığına ek olarak, Etkiler ve potansiyel reseptörler arasında etkileşime izin veren zaman aralığı, biyolojik modülü eden önemli bir faktördür. Molekülün bazı sunumlarında açığa çıkarılan veya gizlenen molekülün spesifik alanları ve birçoğu asıl olarak düzensiz olan ECM proteinlerinin spesifik özelliklerine,yakın zamanda vurgu yerleştirilmiştir (107).

3.2.3.3.2.Tip 1 kollajen

Kollagen, dentinde bulunan başlıca proteindir. Organiklerin yaklaşık % 90'ını matriks oluşturur. Eser miktarda III olmasına ve V rapor edilmesine rağmen kolejinin çoğunu type 1 dir. Kollajen fibrillerinin yaklaşık% 3'ü tip III ve / veya tip V kollajenlerinden oluşur(108).

Fibrillerin büyümesi, esas olarak, fibril alt birimlerinin lateral kendi kendine birleşmesinden ve ardından kollajen uzatmada rol oynayan lineer füzyondan kaynaklanmaktadır(109). Kollajen fibrillojenezi dentin küçük lösin bakımından zengin proteoglikanlardan etkilenir(110). GAG'ların çıkarılması fibrillojenezi geciktirir.PG'ler 50-25 mikrogram / mL konsantrasyonları üzerinde fibrilogenez ve fibril kalınlığını inhibe eder.

Kollajen sentezlendikten sonra odontoblastlar tarafından kontrol edilir. Kollajen zincirlerinin montajı endoplazmik içinde başlatılır,Golgi cisimciğinde retikulum, glikozilasyon ve sülfatasyon meydana gelir ve erken sekretuar veziküllerde prokollajen matürasyonu oluşur. Bu veziküller içinde küçük fibrilleri biriktirir. Prokollajen hücre içi transfer modu olarak abaküs benzeri yapılar içeren bir yapı halini alır.

Procollagen non-helisel uzantılar prokollagen peptidazlar tarafından parçalanır ve fibriller doğal kolajene dönüşür.

Proksimal predentinde yeni kollajen fibrillerin% 88 ± 4 'ü mineralizasyon cephesine paraleldir. Bu, fibrilleri mineralleşmenin gerçekleştiği yere doğru itildiğini öne sürdürmüştür. Güçlerine akısı, vinblastine enjeksiyonu ile değiştirilebilen, sentezi sekresyonu donduran bu transfere dahil edildi. Bu tür in vivo deneylerde, dörtte bir fibril bu oryantasyonu kaybeder.Sonuç olarak kollajen fibrillerin oryantasyonu rasgele olur(90).

Kökte, inter-odontoblastic kollajen fibrilleri, sözde von Korff fibrilleri, ayrıca dentin iç yüzeyine dik açılı olarak da yönlendirilir. Kademeli olarak azalmaya katkıda bulunabilecek kök çapı iplikçilerinde hızlanmıştır.

3.3.Mine ve Dentindeki Minerallerin Önemi

Hidroksiapatit kristali minenin inorganik yapısının meydana getirir. Kristaller kalsiyum, hidroksil (OH) ve fosfat (PO₄) iyonlarından meydana gelmektedir ancak saf değildir çünkü minenin gelişimi sırasında başta karbonat (CO₃) iyonu olmak üzere kristal yapıya katılan çok eser miktarlarda birçok inorganik element de içermektedir (111). Bunların inorganik eser elementlerdir. Eser elementler dişin yapısında %0.01'den daha az orana sahiptir. Eser elementler minenin yapısında değişikliklere sebep olurlar ve dış yüzeyden 100 ile 150 µm'ye kadar tükürükten etkilenmektedir. Minedeki mineralizasyon ve dişin gelişimi sürecinde eser elementler çevreden kaynağını alırlar ve minedeki bu eser elementlerin önemi hakkında yeterli kadar bilgi yoktur. Buna rağmen yapılan araştırmalara göre flor ve fosfat gibi bazı eser elementler minenin çözünürlüğünü değiştirir, kristallerin şeklini ve boyutunu biçimlendirerek çürüğün insidansının azalmasında önemli bir etkiye sahiptir (112).

Diş çürüklerinin oluşumunda, minenin kimyasal dokusunun tek başına faktör olmamakla beraber, mine apatitindeki birkaç eser elementin bileşiminin minenin direncini arttırdığına inanılmaktadır. Mine yapısı çeşitlikonsantrasyonlarda dağılma karaktere sahiptir. Mine dokusu diğer insan dokularından ayrıcalıklı olarak farklı bir özelliğe sahiptir: Dişin sürmesinden önce minenin yapısı sabittir ve erken gelişim evresinde eser elementlerin emiliminin kaydını sağlayabilir. Böylece çürük oluşum süreci, insanın doğum öncesi beslenmesi ve zehirli metallere maruz kalması hakkında çeşitli bilgiler sağlanabilmektedir (112, 113). Çürük potansiyelleriyle ilişkili olarak elementleri sınıflandırmıştır:

1. Karyostatik elementler: Fosfor (P) flor (F),
2. Az karyostatik elementler: Molibden (Mo), bakır (Cu), stronsiyum (Sr), lityum (Li), bor (B), vanadyum (V), altın (Au)
3. Şüpheli (belirgin olmayan) elementler: Berilyum (Be), mangan (Mn), kalay (Sn), kobalt (Co), çinko (Zn), brom (Br), iyot (I)
4. Çürükte etkisi olmayan elementler: Baryum (Ba), alüminyum (Al), demir (Fe), nikel (Ni), paladyum (Pd), titanyum (Ti)
5. Çürüğü destekleyen elementler: Selenyum (Se), magnezyum (Mg), kadmiyum (Cd), platin (Pt), magnezyum (Mg), kurşun (Pb), silisyum (Si)

Mine ve dentin hidksiapatit kristallerinden oluşmuştur fakat daha sonradan yapısına girerek kristalin saflığını bozan iyonlar nedeni ile değişime uğramaktadır. CO₃ iyonunun PO₄ ve OH iyonları ile yer değiştirebilme özelliğinden dolayı iyi kristalize olmamış CO₃ apatit terimide mine kristalleri için kullanılmaktadır. Ayrıca; Kalsiyum (Ca) iyonu sodyum (Na), magnezyum (Mg), çinko (Zn) ve selenyum (Se) ile, PO₄ iyonu CO₃ veya asit fosfat iyonu ile, F iyonu ise hidroksil iyonu ile yer değiştirebilir (Ca, Mg, Na, Zn, Se)₁₀ (PO₄,CO₃,HPO₄)₆ (OH, F)₂. Flor iyonu, mineral kristallerini stabilize ederken, diğer elementler (Mg, Na, Se, CO₃, asit fosfat) kristallerin stabilitesini bozar ve bu da kristallerin çürüğe karşı direncini azaltır. Hidroksiapatitin içindeki eser elementler, yaşanan bölgenin toprak, su ve gıda maddelerindeki eser elementlerinin yoğunluğunu yansıtır. Minedeki hidroksiapatit kristallerinde 40'dan fazla eser element olduğu tespit edilmiş ancak bunların büyük çoğunluğunun çürük duyarlılığı açısından çok fazla önemi olmadığı belirtilmiştir (114).

Minede bulunan temel elementler Ca, P, Na, Mg ve Cl, K'dir. Minenin kimyasal kompozisyonu aynı ağız içerisindeki farklı dişler arasında hatta aynı dişte minenin yüzeyel ve derin tabakaları arasında dahi değişkenlikler göstermektedir. Minenin inorganik yapısını oluşturan elementlerin maksimum ve minimum değerleri tablo 3'de gösterilmiştir (115).

İyonlar	Ca	P	Na	Mg	Cl	K
Ağırlık%	33,6-39,4	16,1-18,0	0,25-0,90	0,25-0,56	0,19-0,30	0,05-0,30

Tablo 3: Minenin inorganik yapısını oluşturan elementler (Michel Goldberg and al. Dentin; Structure, Composition and mineralization)

Minenin yüzeyinde kimineral içeriği ve yoğunluğunun, mine-dentin sınırına doğru belirli bir şekilde azalmıştır (116). Buna örnek olarak kalsiyum ve fosfor elementlerinin yoğunluğunun da aynı şekilde minenin dış yüzeyinden iç kısımlara doğru gittikçe azaldığı tespit edilmiştir. Bunun aksine Ca/P oranının kısmen sabit kaldığı ancak bu oranın minenin dış yüzeyinde daha düşük olduğu gözlenmiştir. PO₄ iyonu ile CO₃ iyonları yer değiştirebilir olduğu bilinmektedir. CO₃ iyonları ise minenin derin tabakalarında daha çok yoğunluktadır. Bu durum yüzeyde fosfat oranının azalarak Ca/P oranının daha yüksek olmasına neden olabilir. Eugene

1976yılında yaptığı çalışmalara göre Ca/P oranının, gençlerde yaşlılara göre daha fazla olduğu gözlenmiştir(115), fakat bunun aksine Ca ve P ağırlık yüzdelerinin gençlerde yaşlılara oranla daha az olduğu tespit edilmiştir (116). Ayrıca daimi dişlerdeki Ca ve P yoğunluğunun, süt dişlerine oranla daha fazla olduğu gözlenmiştir (117).

Sağlam dişteki Ca ve P yoğunluğunun ve Ca/P oranının çürük diş oranla daha fazla olduğu bilinmektedir. Sağlam minede, mine yüzeyinden mine dentin sınırına doğru Mg konsantrasyonunun arttığı ve artışın dentin dokusu içinde de devam ettiği bilinmektedir. Çürük minede CO₃ ve Mg yüzdesi düşüktür, çünkü demineralizasyon esnasında bu maddelerin öncelikle çözülmüş olmasıdır (115). Mine ve dentinin Ca/P oranının 1,72 ile 2,05 arasında değiştiği ve bu farkın apatit kristal yapısı içerisinde bulunan Ca ve PO₄ iyonlarının Mg ve CO₃ iyonları ile yer değiştirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (115).

Mine ve dentinin Ca/P oranının değişmesi ile dişin geçirgenliği, adeziv özellikleri, çözünürlüğü, demineralizasyon süreci ve değişebileceği savunulmaktadır. Adeziv sistemler dentinin hidroksiapatit yapısına PO₄-Ca bağlarına bağlanır ve Ca miktarındaki ve Ca/P oranındaki değişiklikler adezyonu olumsuz yönde etkileyebilir (118). Ayrıca Ca, P ve Ca/P oranı dişin inorganik kısmının çoğunluğunu oluşturduğu için bu değerlerle ilgili birçok çalışma yapılmıştır (119, 120, 121, 122,123, 124, 125, 126, 127). Çalışmalarda Ca ve P oranına kütleli olarak ICP-AES cihazlarıyla bakılırken, yüzeyel olarak SEM-EDX ile bakılmıştır.

3.4.Adezyon

Bağlanma, yapışma ve birleşme gibi olarak adlandırılan adezyon terimi, bir maddenin başka bir maddeye bağlanması olarak kabul edilir. Bağlanan doku yüzeyine aderent, bağlayıcı özellikte olan materyale ise adeziv denir(128).

Bağlanma dayanımı ya da diğer adıyla adezyon kuvveti, adezivin kuvvetlere karşı dayanma kapasitesi ve aradaki oluşan bağın etkin olduğu süredeki dayanıklılığıdır (129).

3.4.1. Adezyon ilkeleri

Adezyon, moleküller ya da atomlar arasındaki kuvvet ya da enerji bağları aralarındaki iki fazı bir arada tutar (130). Bağlanma testleri yaparken, adezyon genellikle makaslama ve çekme kuvvetlerine mazur bırakılır ve kırılmanın tipi değerlendirilir. Eğer bağlantı, iki yapı arasında başarısızlığa uğrarsa, başarısızlığın tipi adeziv bağlantı; başarısızlık ara yüzde olmayıp yapının birinde olursa, başarısızlığın tipi koheziv bağlantıdır. İki yapı arasında ya da yapının birinde olursa başarısızlığın tipi karışık olarak ifade edilir. Adezyonda dört teori bulunmaktadır (131):

Mekanik teori, katı haldeki adezivin aderentin yüzeyindeki düzensizliklere ve pürüzlülüğe mikromekanik bağlanması ile olmaktadır.

Adsorbsiyon teorisi, kimyasal bir bağlanmadır. Çünkü adeziv ile aderent arasında primer (iyonik ve kovalent), sekonder (hidrojen, dipol bağlanma, London kuvveti) değerlik kuvvetlerini içeren tüm kimyasal bağlanmaları kapsar (131).

Difüzyon teorisi, hareketli moleküller arasındaki bağlanmadan oluşur. Her iki ara yüzden gelen polimerler birbiri içine geçip diğer tarafın molekülleriyle etkileşebildikleri için ara yüz kaybolur, iki parça tek parçaya dönüşür.

Elektrostatik teoride, bir metal ve bir polimer arasında elektriksel çift tabaka meydana gelir, bunun da bağlanmaya katkısının olduğu düşünülmektedir (131).

Ara yüz ilişkisinin oluşması için bağlanacak iki yüzeyin birbirine yeterince yakın ilişkide bulunması yüzey ıslatılabilirlikleri açısından önemlidir. Bu ancak yüzey geriliminin, sadece aderent yüzey enerjisinden düşük olduğu durumlarda, adezivin yeterli ıslatılabilirliği ortaya çıkar (132, 133, 134). Sıvı ile yüzeyin ıslatılabilirliği, yüzeyde bir damlanın yaptığı değme açısıyla alakalıdır (135). Eğer sıvı, katı yüzeye tamamen yayılıyorsa, tamamen ıslatılabilirliğini gösterir ve değme açısı 0 derecedir diyebiliriz (131).

Mineye adezyon , ıslatma ve yüzey enerjisi teorisine göre dentine adezyondan daha kolaydır. Mine yapı olarak yüksek yüzey enerjisine sahip olan hidroksi apatitlerden, dentin ise düşük yüzey enerjisine sahip hidroksi apatitten ve kolajenden oluşmaktadır. Ağız ortamında diş yüzeyi adezivin yeterli ıslatılabilirliğini bozan organik pelikül ile kontaminedir (136). Kavite preparasyonu esnasında diş dokusunun aşındırılmasıyla, smear tabakası oluşur. Adezyonun daha başarılı bir

bağlantılıoluşmasını sağlamak için diş yüzeyinin bonding işlemlerinden önce tamamentemizlenmesi gerekmektedir (131).

3.4.2 Adeziv tekniklerin avantajları

Adeziv restorasyonların geleneksel metotlara kıyasla avantajları daha fazladır. Geleneksel olarak restorasyonun stabilizasyonu ve retansiyonunun artırılması için restorasyona kavite açarken daha fazla sağlıklı diş dokusunun uzaklaştırılması gerekmektedir. Adezyonun amaçlarından birisi de restorasyon ile diş arayüzünde oluşan mikrosızıntının azaltılmasıdır. Mikrosızıntının ve postoperatif hassasiyetin azaltılması, marjinal boya penetrasyonu ve yeni çürük oluşumu gibi restorasyonun ömrünü kısaltan klinik problemler doğru adhezyon ile azaltılır (137, 138, 131).

Adeziv restorasyon, dişlerde fonksiyon esnasında oluşacak streslerini diş ile bağlanan kısımları doğrultusunda ettiklerinden, zayıf diş dokusuna destek olarak güçlendirirler (139, 140, 141).

Estetik restoratif diş hekimliğinde adeziv tekniklerin uygulanması günümüzde oldukça yaygınlaşmıştır (143). Günümüzde yaş ve cinsiyetten bağımsız olarak hastaların estetiğe daha çok önem verdikleri görülmektedir. (131). Adeziv tekniklerin kullanım yerleri; inley-onleyleyler, PLV'ler gibi anterior ve posterior porselen restorasyonların rezin simanlarla yapıştırılmasında gibi endikasyonları vardır. Ayrıca adezivleri metal altyapıların retansiyonunda, dentin hassasiyetinin giderilmesinde, kırılmış porselen ortodontik braketlerin yapıştırılmasında, sabit protezlerin simantasyonunda, periodontal ve ortodontik splintlerin yapıştırılmasında ve amalgam ve rezin kompozitlerin tamirinde kullanılır. Koruyucu tedavinin bir parçası olarak uygulanan pit ve fissür örtücü işlemleri, adezyonla sağlanmaktadır (131).

3.4.3. Diş dokusunda adezyonu etkileyen faktörler

Adezivlerin dayanıklılığı ve ömür süresi pek çok faktörden etkilenmektedir. Aderent ve adezivin fiziko-kimyasal özellikleri, aderentin materyalin yapısal özellikleri, kavite yüzeyinin özellikleri, bonding aşamalarını bozabilecek hertürlü iatrojenik faktör ile beraber yaşanan yerin termal ve iklim özellikleri ve bunlara bağlı oluşacak olan stresler ve bonding birleşimi sırasında uygulanan kuvvetlerin iletim ve dağıtım mekanizmalarıdır. Bunlarla beraber, nem, ısı ve pH

değişikliklerine, fiziksel streslere, beslenme ve çiğneme alışkanlıklarına göre değişen ağız hijyeni, materyal ve diş dokusu arasındaki adeziv ilişkiyi etkiler (142, 131).

3.4.3.1. Mine ve dentinin yapısı

Mine ve dentinin yapısal ve içerik özellikleri farklıdır, bu sebeple bu iki yapının adezyon stratejileri de farklıdır. Mine mineralize bir dokudur. Mineralizasyon, fibriler yapıdaki protein matriksi üzerinde meydana gelir. Bu matriks sadece minede keratin yapısındayken, diğer dokularda kollajen yapıdadır. Mine saydam bir yapıda olup, diş kronunu tamamen sarmaktadır. Minenin kalınlığı köleden başlar ve en kalın yeri tüberkül tepesinde 2,5 mm'ye ulaşır. Minenin renginde süt ve daimi dişlerde farklılık gösterir, süt dişi minesinde mavimsi-beyaz, daimi dişlerde sarımsı-beyaz veya grimsi-beyaz olarak 3 tip beyaz tonu bulunmaktadır (143, 144). Olgun minenin inorganik içeriği ağırlıkça %95 - %98 arasında, hacimce %86'dır ve temel içerik hidroksiapatittir. Geri kalanı su (ağırlıkça %4, hacimce %12) ve organik materyal (ağırlıkça %1-2, hacimce %2)'dir (145). Majör inorganik yapı, submikron düzeyindeki kristallerle devamlı ilişkili ve genelde üç boyutlu şekillenen rod yada prizma denilen mikroskobik birimlere sahiptir (146, 145, 142, 131).

Dentin, yapısal olarak mineden farklıdır. Dentinde yüksek oranda su (ağırlıkça %12), esas olarak Tip 1 kollajen (147) olan organik materyal (ağırlıkça %18) ve hidroksiapatit (148) (ağırlıkça %70) içerir. İnorganik yapı (hacimce %25) ve su (hacimce %25) toplam inorganik yapıyı (hacimce %50) oluşturmaktadır (148). Bu içerik intertübüler ve peritübüler dentin içinde düzenli bir oranda dağılmadığından dolayı dentin dokusu heterojendir (131). Dentin tübülleri, dentin kalınlığı boyunca dentini çok geçirgen hale getiren pulpadan dentin yüzeyine doğru diklemesine uzanır (149, 150). Dentin tübülleri odontoplastik uzantılar içerir ve canlı pulpaya direk bağlantılıdır (151). Mineni dışsal travmalara karşı savunmasız iken, dentin dışsal travmalara karşı özel bir savunma mekanizması geliştirebilen canlı ve dinamik bir dokudur (152). Tübüllerin çapı ve sayısı pulpadan mineye doğru azalmaktadır; pulpa yakınında 2,5 µm (mikrometre)'den, mine dentin birleşiminde 0,8 µm'ye düşer. Aynı şekilde tübüllerin sayısı pulpa yakınında 45 000/mm² den mine dentin sınırında 20 000/mm²'ye düşer (149). Dentinin hacmini ortalama 30 000 tübül/ mm² ile dentinin çeperleri oluşturur. Tübüller, hipermineralize peritübüler

dentin ile çevrilidir. İntertübüler dentin daha az mineralize olup daha çok organik kollajen fibril içerir. Toplam tübül uzunluğunun en derin üçte birini oluşturan odontoblastik uzantıların yanı sıra, tübüller doku sıvısı (dental sıvı) ile doludur, organik membran yapısı lamina limitans olarak bilinir. İnatübüler kollajen fibrillerin orijinleri ve fonksiyonları hakkında yeteri kadar bilgi bulunmamaktadır (131).

Dentin tübüllerinin konik şeklidir, yüzeysel dentinin %96'sı intertübüler dentinden, %1'i dentin tübülleri içindeki sıvıdan ve %3'ü peritübüler dentinden oluşur (149, 153, 154). Kesit alınmış dentinde, pulpa yakınında peritübüler dentin %66 oranında, intertübüler dentin %12 oranında, su ise %22 oranında bulunmaktadır. Dentin tübülleri, yüzeysel dentinde %3 iken, derin dentinde %22 oranındadır. Ortalama dentin tübül çapı dentin kalınlığına bağlı olarak 0.63 µm ile 2,37 µm arasında değiştiği transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve SEM ile belirlenmiştir (155). Bu nedenle, dentin tübülleri içindeki dentin sıvısı durgundur ancak pulpadan dışarı yönde basınç vardır (131).

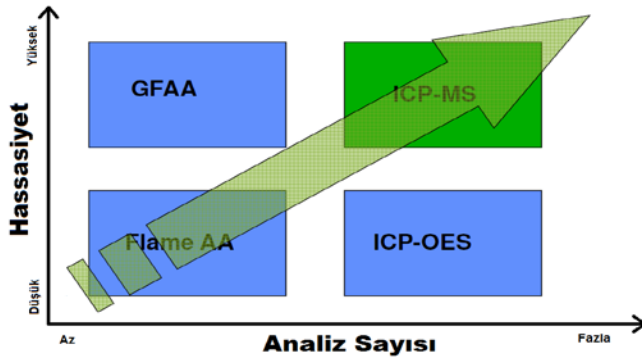
3.4.3.2. Dentin yapısındaki değişiklikler

Dentin, canlı ve tamir yeteneği olan bir doku olduğu için, içeriğinde ve mikroyapısında sürekli fizyolojik ve patolojik değişiklikler gerçekleşmektedir (156, 157). Çürük, travma, abrazyon, ya da erozyondan etkilenmiş dentin ile sağlıklı dentin birbirinden farklıdır. Mekanik abrazyon ve kimyasal erozyon gibi yaşlanmayla oluşan etkenlerle fizyolojik dentin sklerozu meydana gelir(156).

Sklerotik dentinde dentin tübülleri az olduğundan, geçirgenliği çok düşüktür (158, 159) ve bu da dış uyaranlara karşı hassasiyete neden olur (158, 160, 161, 162). Sklerotik dentindeki odontoblastik uzantılar ya atrofiye uğrar ya da mineralize olur (163, 156, 151). Yoğun hipermineralize sklerotik dentinin asitleme yapıldığında bile tübülleri açılmayan tam hipermineralize alanları olabilir (164, 165). Bu alanlar, tübüllerin ağzından dentin yüzeyinin üstüne kadar uzanan yoğun mineral sklerotik yapıları ve mineralize odontoblastik uzantılardan oluşmaktadır(131). Sklerotik dentinin, adeziv uygulamalara normal dentinden daha az yatkınlık göstermesinin nedeni, fizyolojik ve patolojik süreç sonucu morfolojik ve yapısal değişikliklerin meydana gelmesindedir (164, 161, 166, 167, 168, 169, 131).

3.5. Metal Analizi İçin Kullanılan Temel Yöntemler

Metal analizleri için önceden birçok inorganik ve organik ortamların bütün yada sınırlı oranlarda çözümüleştirilerek uygun örnekler elde edilir (170). Kuru veya yaş olmak üzere iki çeşit küllendirme metodu uzun protokollü ve yavaştır. Bu sebepten metal analizlerinde yakma işlemi; asit kullanılarak mikrodalga fırında çözme, daha kullanışlı, işlevsel ve ayrıca kabul görmüş bir yöntemdir (171). İnorganik veya organik matrislerden doğru analiz yapılacak örneklerin ön işlemlerle hazırlanması tüm çalışmanın %60-%80' ini kapsarken, çalışmada ve analizde oluşacak tüm hataların ise yaklaşık % 30'una neden olur (170, 172). Metal analizleri için genellikle şu yöntemler kullanılır. İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Kütle Spektrometrisi (ICP-MS), Grafit Fırınlı Atomik, Absorbsiyon Spektrometresi (GF AAS), Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi (AAS), İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometrisi (ICP-AES), L-Kabuğu/K-Kabuğu X-Işını Floresan (LXRF / KXRF), Yüklü Parçacıklı X-Işını Emisyonu (PIXE), Diferansiyel Puls/Anodik Sıyırma Voltametrisi (DPASV/ASV), İzotop Seyreltimi Kütle Spektrometrisi (IDMS) (173).

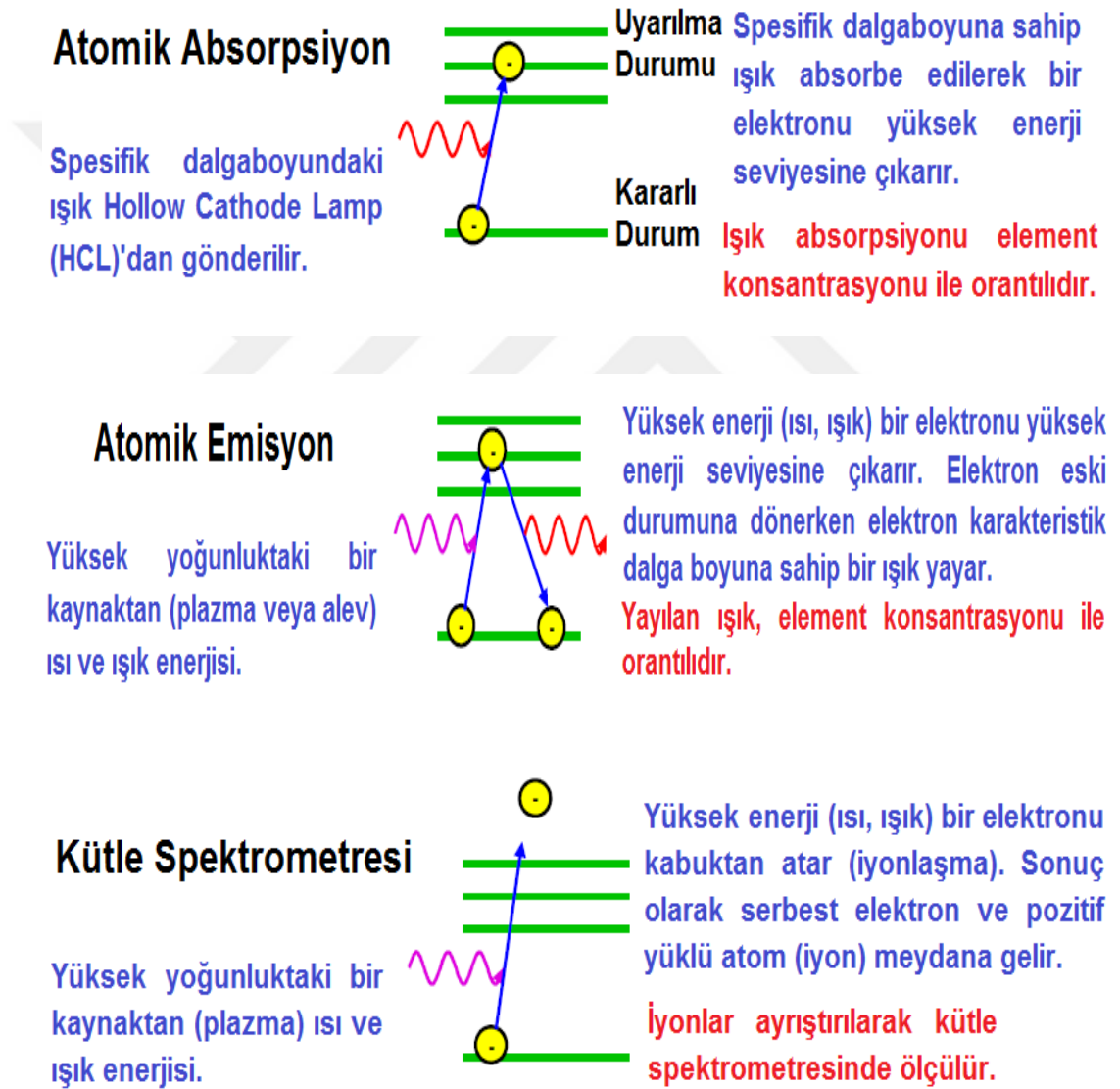


Grafik 4. ICP-MS cihazının diğer yöntemlerle beraber Hassasiyet-Analiz Sayısı Grafiği (Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır.).

(ICP-MS), (AAS), (GF AAS), (ICP-AES) bu 4 temel yöntem en çok kullanılan yöntem olup, hassasiyet ve analiz sayısı ile ilgili değerlendirme grafik olarak Şekil 1.3.1'de gösterilmektedir. İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Atomik Emisyon Spektrometrisi (ICP-AES), İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES) olarak da adlandırılır.

Atomik spektroskopi, gaz halindeki atomların veya tek atomlu iyonların absorpsiyon, emisyon ve floresans özellikleri üzerine kurulmuş olan spektroskopi dalına denir.

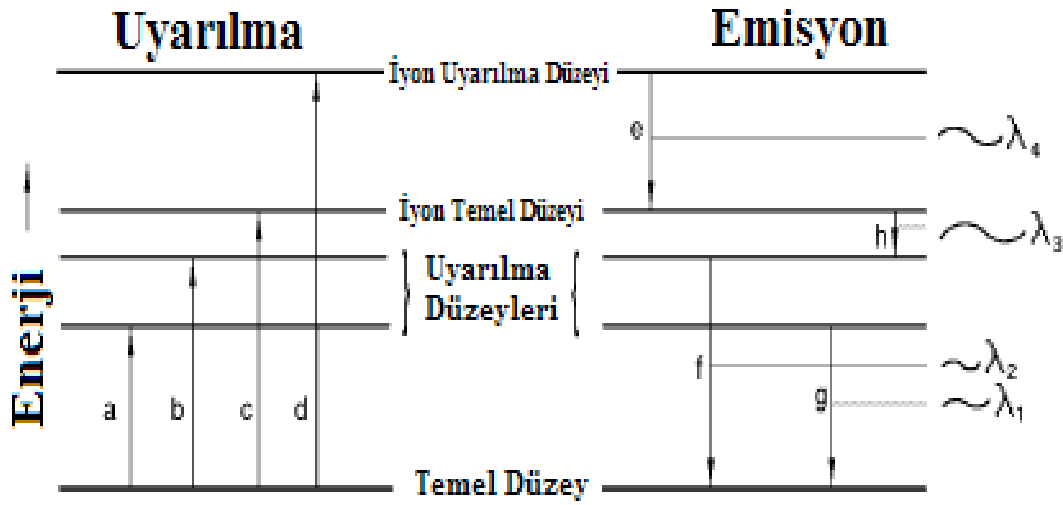
Atomik absorpsiyon spektroskopisi, ikiye ayrılır; Alevli (Flame) (AAS) ve Grafit tüplü (GF AAS) diye ayrılırken, ICP yönteminde emisyon (ICP AES) ve kütle spektroskopisi (ICP MS) olarak ikiye ayrılır.



Şekil 4. Atomik Spektroskopi(Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

3.5.1. Atomik absorpsiyon spektroskopisi:

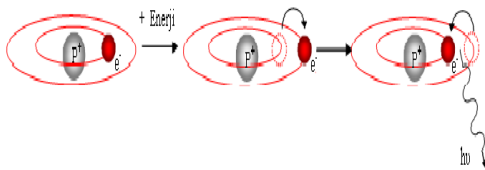
Tüm atomlar ışığı absorblayabilir özelliklerdedir, bu sebeple örnek içerisinde analit özel bir dalga boyuna sahip ışık geçirilir. Absorbe edilen ışık miktarı konsantrasyonla orantılıdır. Analitik numuneler belirli bir sıcaklıkta gaz halinde atomlar ve gaz halinde tek atomlu iyonlar haline getirilir. Bundan sonra numunenin absorpsiyon spektrumu alınır, ve sonuç olarak, atomlar hem kalitatif, hem de kantitatif tayinleri yapılır.



Grafik 5. Bir atom için uyarılma, iyonlaşma ve emisyon basamakları. Atom için enerji seviyeleri yatay çizgilerle ve enerji geçişleri dikey oklarla gösterilmiştir. (Varian Australia Pty Ltd (A.C.N. 004 559 540) 1997).

3.5.2. İndüktif eşleşmiş plazmalı atomik emisyon spektrometrisi:

Plazmadan kaynaklanan enerji, elektronu daha yüksek bir enerji seviyesine çıkarır, elektron tekrar eski seviyesine dönerken karakteristik bir ışık yayar, yayılan ışık miktarı elektron konsantrasyonuyla orantılıdır.



Şekil 5. Emisyon enerjisi (Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

3.5.3. İndüktif eşleşmiş plazmalı kütle spektrometrisi:

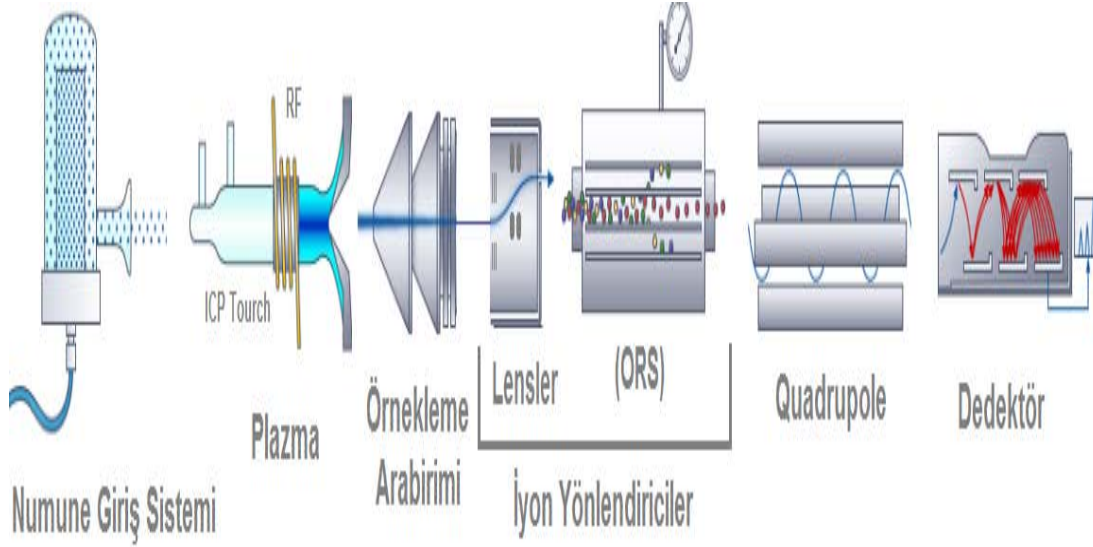
Plazmadan kaynaklanan enerji, elektronu kabuğun dışına atar (iyonlaşma), böylece pozitif yüklü analit iyonu oluşur. İyonlar kütle spektrometresi (MS) ile ayrıştırılarak ölçülür. Ölçülen iyon miktarı analit konsantrasyonu ile orantılıdır.



Tablo 4. ICP-MS'de elementlerin gözlenebilme sınır değerleri (PerkinElmer Inc. Guide Book 2004).

3.5.4. ICP-MS cihazının yapısı

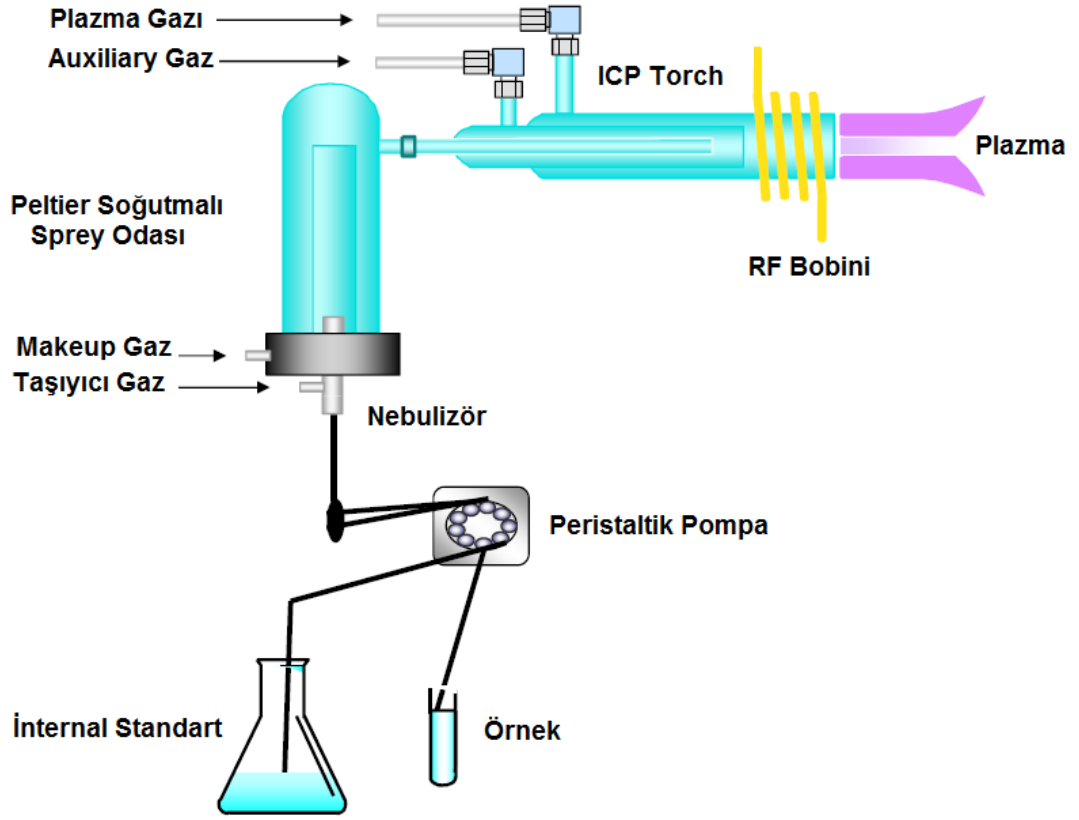
ICP-MS, farklı örnek matrislerinde eser ve ultra eser seviyede ve aynı zamanda birden çok ağır metalin hızlı tayinini sağlayan en hassas analitik tekniklerden biridir (174). Ticari olarak 1983' lerde ilk modelleri piyasaya çıkan ICP-MS cihazı şekil6.' da görüldüğü üzere; numune girişi, plazma, örnekleme arabirimi, iyon yönlendiriciler, quadropole yani kütle ayırma kısmı ve dedektör bölümü olmak üzere 6 temel parçadan oluşmaktadır (175).



Şekil 6. Tipik bir ICP-MS şematik gösterimi (Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

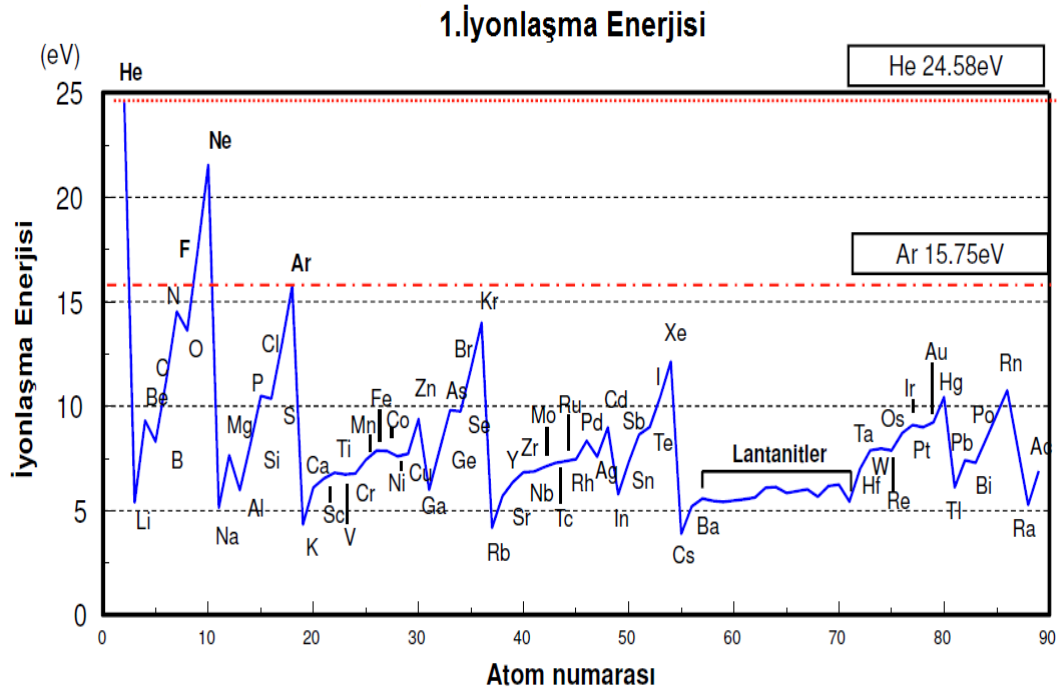
3.5.4.1. Numune giriş sistemi:

Numune Giriş Sistemi; Peristaltik Pompa, Nebülizör (Sisleştirici) ve gaz girişleri bulunmaktadır. Şekil 7.'de görüldüğü gibi peristaltik pompa yardımıyla nebülizöre gelen sıvı örnekleri Peltier Soğutmalı Sprey Odasında (Peltier Cooled Cyclonic Spray Chamber) Ar gazı tarafından örnek aerosoluna dönüştürülmektedir. Peltier Soğutmalı Sprey Odası plazmaya gidecek olan partikül boyutlarının belirlenmesi ve belli büyüklükte oluşmasını sağlar ve plazmaya yüklenen su miktarını azaltır bunun sonucu olarak plazma sıcaklığını ayarlayarak, sıcaklığın yüksek ve sabit kalması sağlanmış olur buda iyonlaşma etkinliğini artırır ve sinyal kararlılığı ile daha iyi matris ayrışımı yapar. Azaltılmış su buharı poliatomik interferansları da (ArO, ArOH) azaltır. En küçük sıvı damlacıkları sprej odasından geçerek iyon kaynağına (plazma) ulaşır. Plazmada sıvı damlacıklar buharlaşır ve iyonlar oluşur (176).



Şekil 7. ICP-MS Numune giriş sistemi. (Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

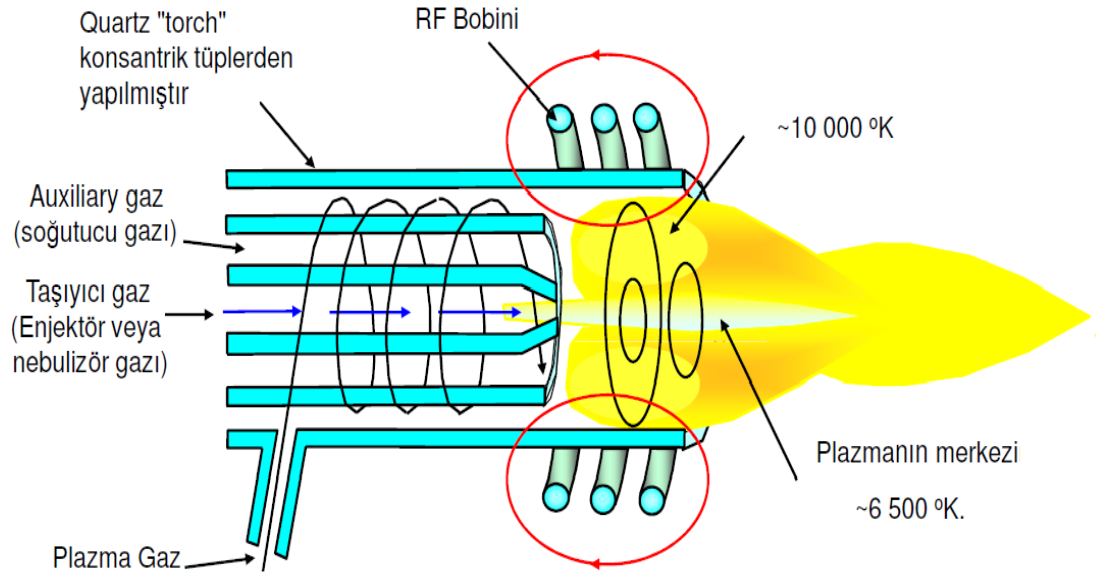
Ar inert bir gaz olup yüksek saflıkta kolayca elde edilebilir. Ar nispeten daha ucuzdur. Şekil 8' de görüldüğü gibi Argonun 1. iyonlaşma enerjisi 15.75 elektron volt (eV) ve hemen hemen bütün diğer elementlerin 1. iyonlaşma enerjilerinden büyük (He, F, Ne hariç) ve bütün diğer elementlerin 2. iyonlaşma enerjisinden küçük (Ca, Sr, Ba, gibi). Plazma iyonizasyon ortamı Ar tarafından tanımlandığı için hemen tüm elementler etkin bir şekilde tek atomlu iyonlar oluşturur.



Şekil 8. Elementlerin iyonlaşma enerjisi(Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır)

3.5.4.2. Plazma:

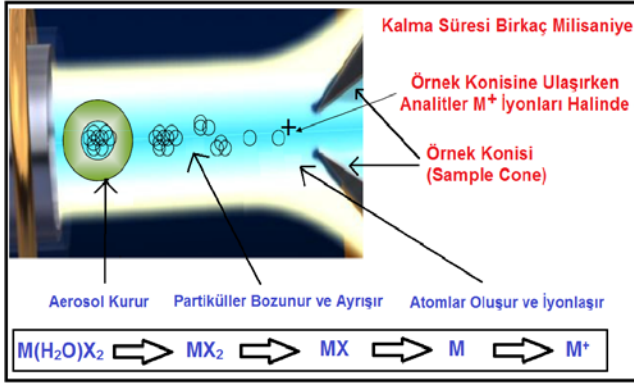
Endüktif olarak eşleşmiş plazma elektriksel bir yük boşalmasıdır, kimyasal bir alev değildir. Plazma görüntüsü alev gibi olmasına rağmen bir yanma olayı meydana gelmez. ICP kaynağı iyonlaşmış bir argon gazı akışı ile genellikle 27 veya 40 MHz'lik güçlü ve hızlı salınan radyofrekans alanının serbest elektronların endüktif birleşmesi sonucu oluşturulur. Argon gazının kullanıldığı plazma atmosfer basıncında olup çok yüksek sıcaklıktadır. Plazma; quartz bir tüp (torch) içerisinde geçen gaz akışında tutulur. Örnek aerosolü yaklaşık 6000-8000 °C sıcaklıktaki plazmanın merkezinden geçer ve enerji çarpışması ile argon moleküllerine geçer. Plazmada; ayrışma, atomizasyon ve iyonizasyon gerçekleşir. Bundan sonra iyonlar spektrometre içerisine yönlendirilir.



Şekil 9. Torch ve RF Bobini aksel kesiti. (Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

Plazmayı başlatmak için tesla bobini ile argonda ilk iyonlaşma meydana gelir ve oluşan ilk çekirdek elektronlar güçlü radyofrekans alanda yüksek enerjiye ulaşarak çarptıkları diğer argon atomlarını da iyonlaştırırlar. İstenen enerji alanı Radyo Frekans Bobini (RF) ile sağlanır aynı zamanda enerji yüklü Ar iyonlarının ve elektronlarının ani salınımını indükler. Şekil 9'da görüldüğü gibi plazmanın en sıcak kısmı yaklaşık 10.000 °K olup örnek aerosolün plazmanın merkezine taşınmasıyla oluşan ısı kaybı merkezin 6500 °K olmasına neden olur.

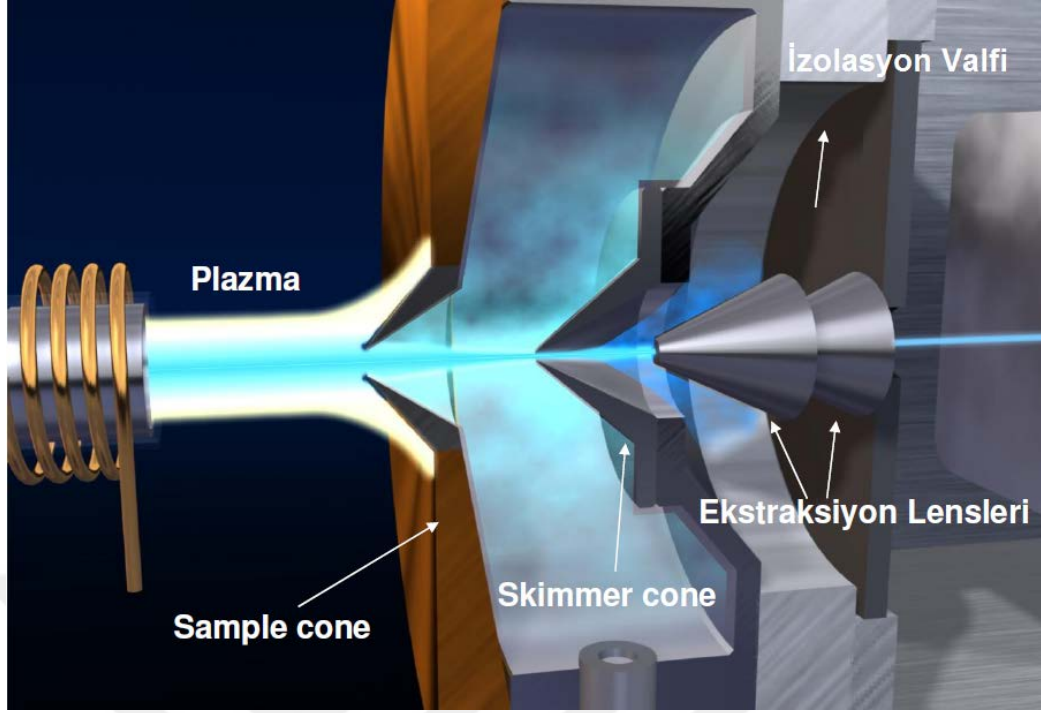
Taşıyıcı gaz ile numune giriş sisteminden plazma merkezine getirilen örnekler aerosolları burada sırasıyla kuruma, ayrışma, atomlaşma ve iyonlaşma safhalarından geçerler. Pozitif yüklü iyon oluşma mekanizması şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Plazmanın basitleştirilmiş modeli (Ha ve ark., 2011 ve Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

3.5.4.3. Örnekleme arabirimi:

Sample Cone ve Skimmer Cone ile Ekstraksiyon Lenslerinde olmak üzere örnekleme arabirimi 3 ana kısımdan oluşur. Arabirim plazmada iyonlaşan atomların ekstraksiyon lenslerine ulaşmasını aracılık eder (Şekil 11). Konlar sırasıyla 1 mm ve 0.4 mm delik çapına sahiptir bu konların kirlenmesi analiz sonuçlarının önemli miktarda etkilenmektedir. Bu sebeplerden ötürü çözelti hazırlanırken çözeltinin fazla derişik olmaması ve temiz çalışılmasının gerekmektedir. Ayrıca dikkat edilmesi gereken bir diğer husus ise belli kullanımdan sonra konların dikkatlice temizlenmesi yada gerekirse yenisi ile değiştirilmesi şarttır. Plazmadan gelen pozitif yüklü iyonlar konların delik çaplarının boyutlarını zamanla genişletip iyonların yönlendiricilere doğru şekilde ulaşmasını engeller (Resim 2).



Şekil 11. Örnekleme Arabirimi (Interface) kesiti. (Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

Tipik olarak nikel (Ni) ve opsiyonel olarak platin (Pt) üretilen konlar bakır (Cu) tarafından kaplıdır. Bu konların ısı iletkenliğini ve konların ömrünün uzamasını sağlar. Konların mükemmel elektrik iletkenliği ise plazmanın topraklanmasıyla sağlanır. Oluşan iyonlar, arabirim bölmesindeki ekstraksiyon lensleri tarafından plazmadan dışarıya çıkartılırlar. İkili ekstraksiyon lensi skimmer konunun arkasından iyonları oldukça etkin bir şekilde toplamaktadır. İkili konik lens tasarımının avantajı, iyonların çoğunun (özellikle hafif kütleli olanların) toplanmadan ve spektrometreye girmeden kaybedilmesini engeller. Plazma atmosfer basıncında gerçekleşmekte fakat örnek arabirimden sonraki kısımlar vakum altında olduğu için ekstraksiyon lenslerinden sonra izolasyon valfi bulunmaktadır (Şekil 11).



Resim 1. Sample ve Skimmer Cone



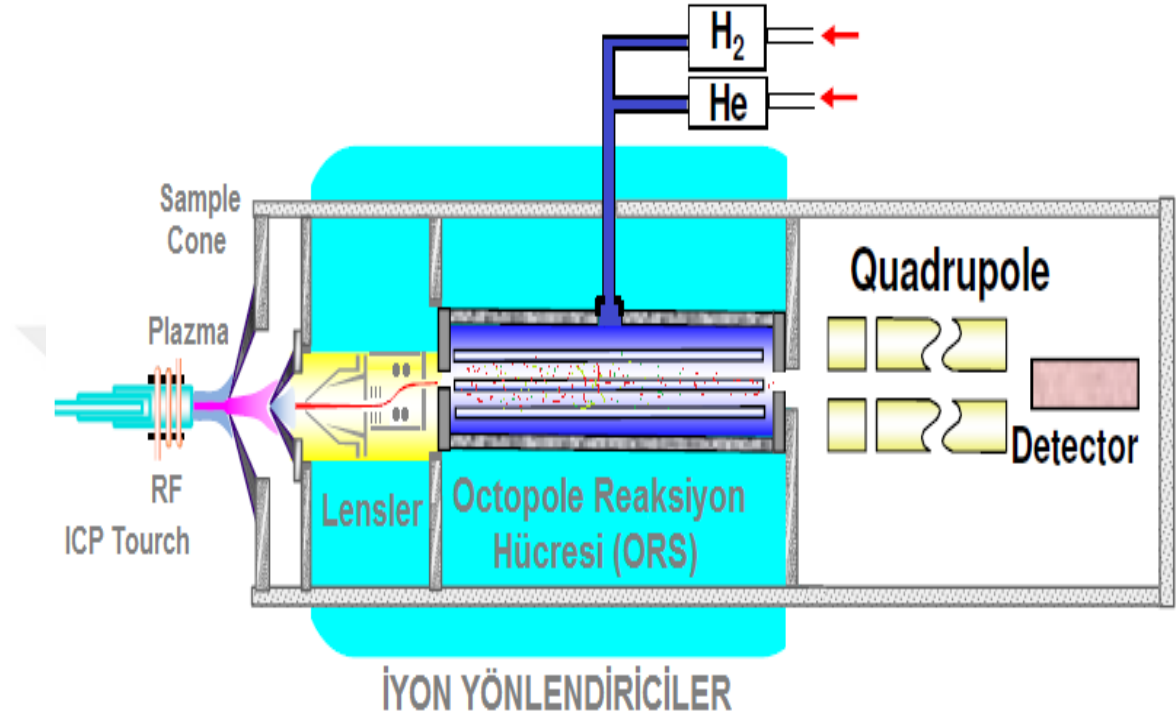
Resim 2. Sample ve Skimmer Cone uzun süre kullanımdan sonrası.

3.5.4.4. İyon yönlendiriciler:

Örnek giriş kısmı ile analizör (spektrometre) arasındaki izolasyon valfi, vakumlu bölgeyi birbirinden ayırarak bakım işlemlerini kolaylaştırır.

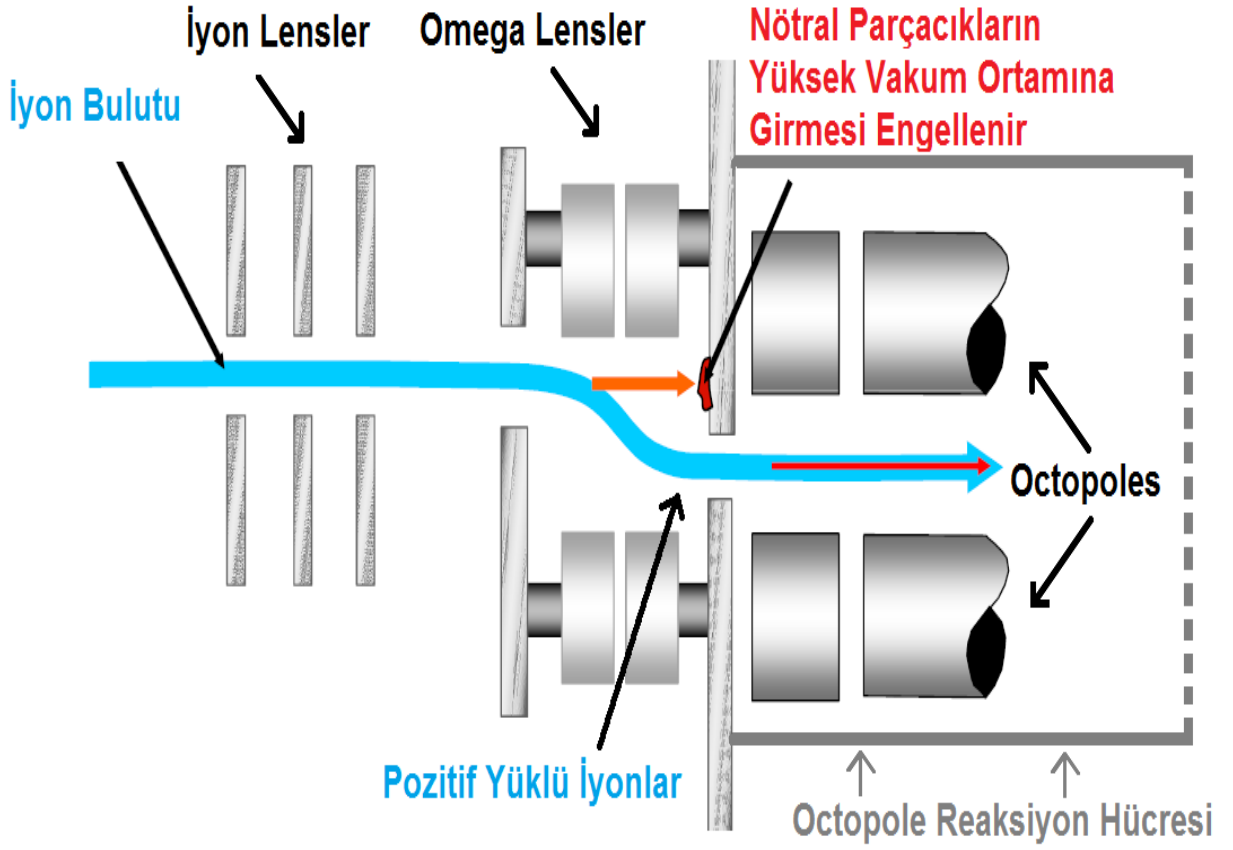
İyonlar, fotonlar ve nötral parçacıkların tümü ara birimden geçerek spektrometreye ulaşırlar. Dedektör iyonlara hassas olduğu gibi, nötrallere ve fotonlara da hassastır. İyonlar yüklü parçacıklardır bu yüzden elektrik alanlar kullanılarak saptırılabilirlerken, fotonlar doğrusal olarak hareket eder. İyonlar eksen

dışına saptırılırsa yüksüz parçacıklardan (fotonlar ve nötraller) ayrılmış olurlar ayrıca iyonlar saptırılırken kütle sapmasının (mass bias) oluşmaması sağlanır.



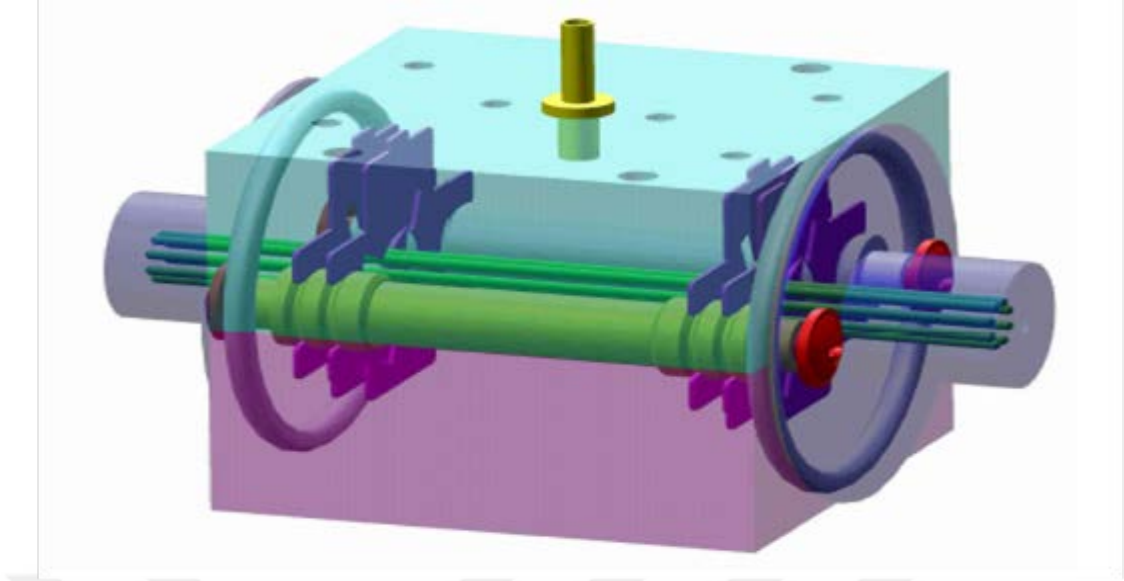
Şekil 12. İyon Yönlendiriciler

İyon lensleri ve octopole, iyonları odaklar ve yönlendirir. Omega lensleri iyon akısının eksenini değiştirerek fotonların dedektöre ulaşmasını engeller.



Şekil 13. İyon-Omega Lensler ve Octopole Reaksiyon Hücresi

İyon bulutu daima odaklanmış olarak ilerlediğinden Kütle Sapması (mass bias) meydana gelmez, iyonlar hâlâ foton ve nötrallerden ayrılmamış haldedir fakat nötral kalıntılar iyon odaklanmayı etkilemez. İyon lenslerinde (düşük voltajlı lensler) sapma azdır daha kolay kontrol edilebilir ayrıca hafif iyonlar daha tutarlıdır. İyonlar ancak düşük enerji ile seyredirken saptırılabilirler. Omega lenslerinde nötral parçacıkların vakum ortamına girmesi engellenir (Şekil13).



Şekil 14. Octopole Reaksiyon Hücresi

3.5.4.4.1. Oktopol reaksiyon sistemi (ORS):

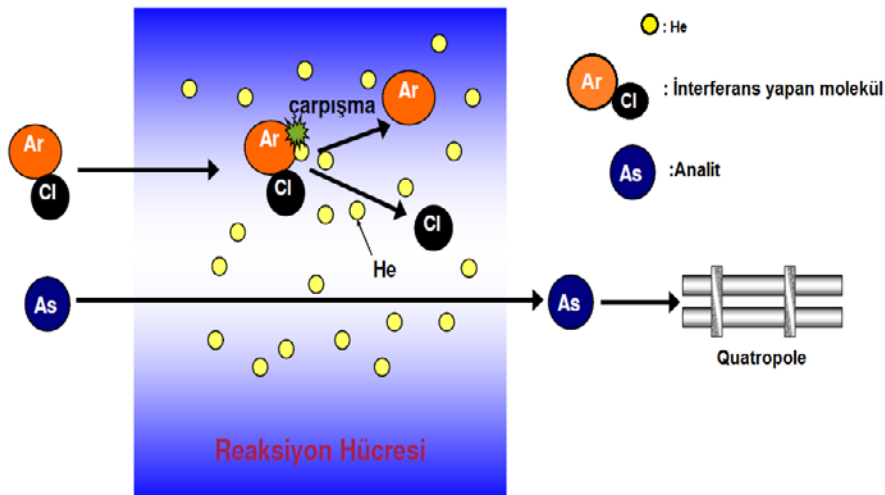
Oktopol reaksiyon hücresi H_2 veya He gazlarıyla doldurulan paslanmaz çelik bir gövde içerisine yerleştirilmiş, sekiz-kutuplu (octopole) iyon yönlendiricisidir. ORS kapalı bir hücre ortamı olup (Şekil 14) omega ve iyon lensler takımı ile quadropol (kütle filtresi) arasında bulunur (Şekil 12). İyonlar bu hücreye girdiklerinde içerideki gaz ile etkileşerek moleküler interferansları azaltır. Böylece bu interferanslar, blank çözeltideki seviyelerinin altına inerler. ORS yüksek reaktif gazlar kullanılmadan da çalıştırılabilir. Octopole tasarımı, daha iyi iyon odaklama ile yüksek hücre basıncı sayesinde reaksiyon alanının genişlemesine olanak sağlar. Deniz suyu ve klinik örnekler gibi kompleks matrislerde uzaklaştırılmayan interferansları elimine eder. He gazıyla çarpıştırılarak interferans yapan moleküllerin parçalanmasının yanı sıra enerji transferinden faydalanılarak kinetik enerji dağılımına göre quadropole sadece analitin girmesine olanak verilir. Moleküler interferans (ör: $ArCl$), analite (ör: As) oranla daha geniş geçiş alanına ihtiyaç duyar bu da He ile daha sık çarpışmalara yol açar ve interferans yapan molekülün parçalanmasına neden olur. Çizelge 1 'de genel interferansların listesi görülmektedir.

Genel İnterferanslar

Element (amu)	İnterferanslar
Si (28)	N ₂ , CO
K (39)	ArH
Ca (40)	Ar
V (51)	ClO, ArC
Cr (52)	ArC, ClOH
Mn (55)	ClO, KO
Fe (56)	ArO, CaO
Co (59)	ArNa, CaOH
Cu (63)	ArNa
Zn (66)	ArMg
As (75)	ArCl
Se (78)	ArAr, Br

Çizelge 1. Genel İnterferanslar(Agilent Technologies Guide Book 2013'den uyarlanmıştır).

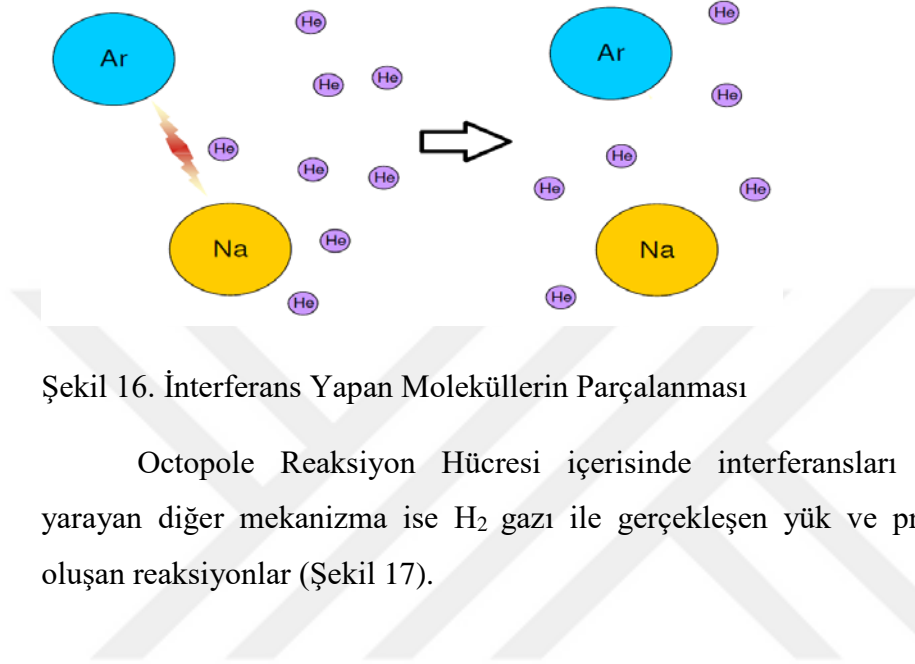
Şekil 15'de görüldüğü gibi atom ağırlığı analit ile aynı olan interferans yapan molekül He molekülleriyle parçalanarak Quatropole geçmesi engellenmiştir.



Şekil 15. Reaksiyon Hücresinde He etkileşimi

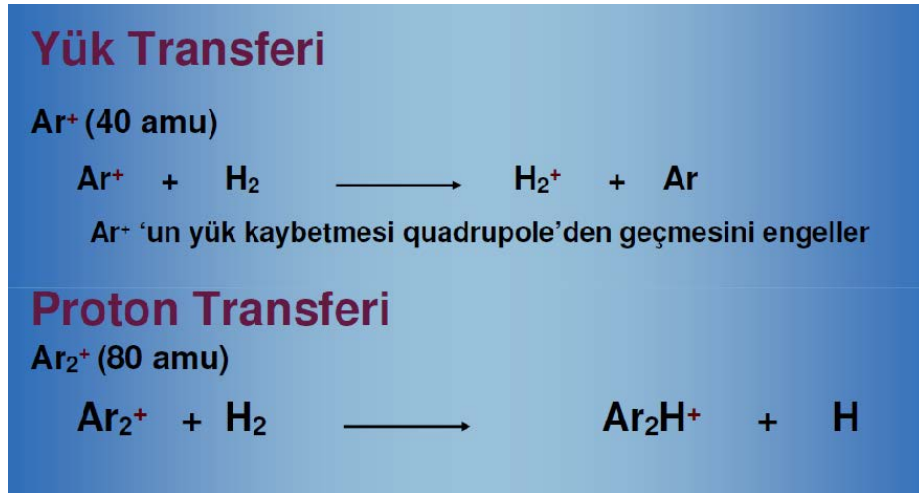
Çarpışmasal olarak endüklenmiş ayrıştırma ile interferans ortadan kaldırılır (Şekil 16). Çarpışma sonucu parçalanma olmayan poliatomik interferanslar analite

göre kinetik enerjisinde önemli ölçüde azalma meydana gelir bu elektriksel potansiyel farkı enerji dağılımına göre filtreleme gerçekleştirir buda quadropole sadece analitin girmesine olanak verir.



Şekil 16. İnterferans Yapan Moleküllerin Parçalanması

Octopole Reaksiyon Hücresi içerisinde interferansları elimine etmeye yarayan diğer mekanizma ise H₂ gazı ile gerçekleşen yük ve proton transferiyle oluşan reaksiyonlar (Şekil 17).



Şekil 17. ORS Hidrojen Etkileşmeleri

ORS'de reaksiyon gazı kullanılsa da kullanılmasa da, quadropol'e etkin iyon geçişi sağlanır. İyon akımının fiziksel boyutu, merkezsiz doğrultuda hareket eden iyonların kinetik enerjisi ve etkin potansiyel kuyusunun şekli tarafından önceden

belirlenmiştir. ORS’de, potansiyel kuyusunun, octopole’ün quadropole oranla daha küçük çapı ile birleştirilmiş geometrisi (yassı dipli) reaksiyon gazı kullanılsın veya kullanılsın, etkin bir iyon geçişini çarpışmalı odaklama gerektirmeden sağlar.



4.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmamız Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi etik kurulundan “Süt Dişlerinde Prenatal ve Postnatal Sert Dokular Arasındaki Farkların ICP-MS Yöntemiyle İncelenmesi”çalışma başlığı ve 23.06.2017/ 8 sayılı karar ile onay almıştır

4.1.Örneklerin Alınması

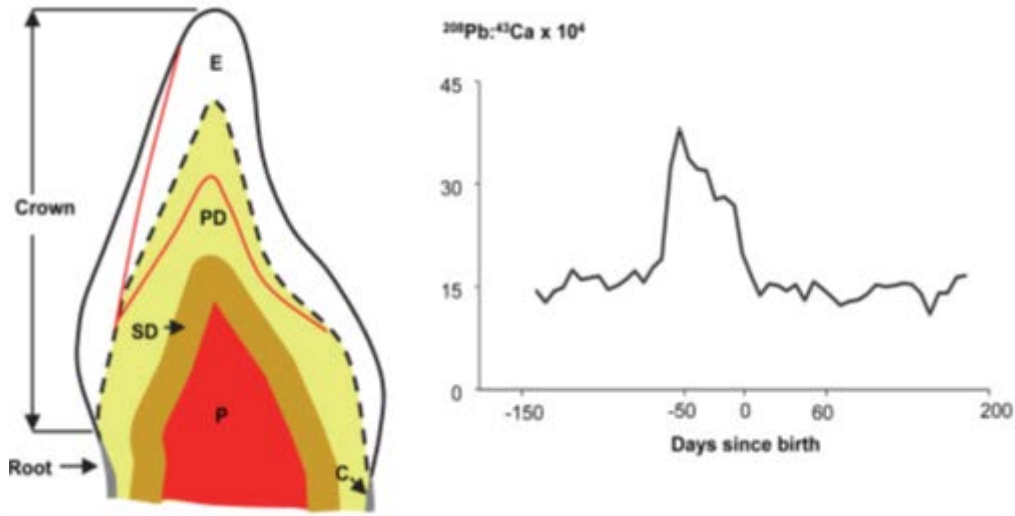
Bu çalışmadaki örnekler Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalına çeşitli nedenlerle başvuran yaşları 19 aydan büyük olarak belirlenmiştir (13). Çalışmaya bu yaşın üzerindeki çocuklarda çeşitli nedenlerle çekilmesine karar verilen (travma, aspe, vs.) anterior ön bölge dişler alınmıştır (Resim 3).



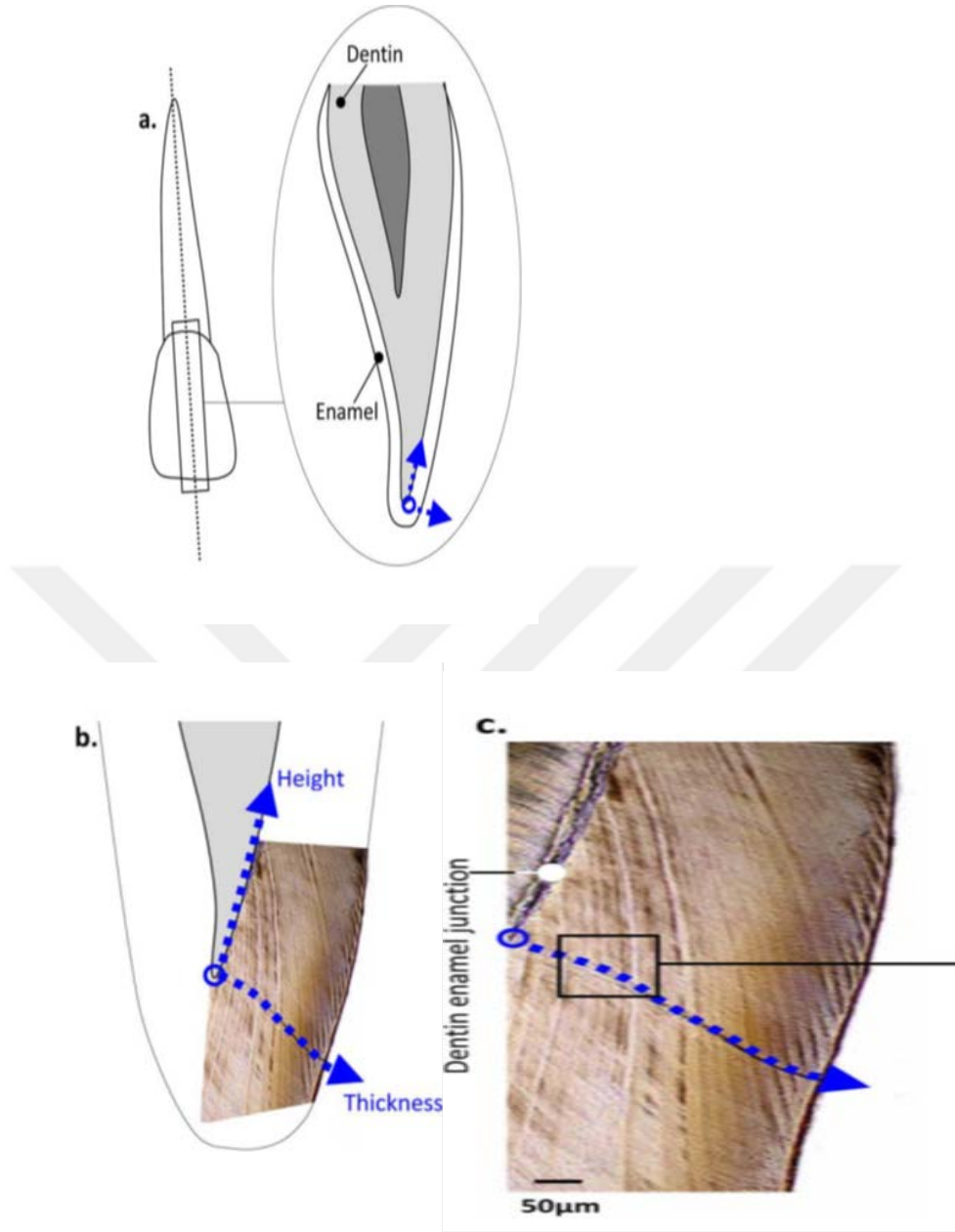
Resim 3. Çekilmiş yirmi beş adet süt dişi

Anterior bölge diş kullanılması sebebi: bu dişlerin mineralizasyonun büyük kısmını anne rahminde intrauterin hayatta tamamlamış olmasıdır. Bu çalışmadaki amacımıza uygun olarak intrauterin hayatla doğum sonrası hayattaki mineralizasyonların karşılaştırılmasıdır.Çalışmaya katılan hastaların dişlerindeki, mineral analiz sonuçlarında standardizasyonu sağlamak için hastaların son üç ay

içerisinde herhangi bir şekilde antibiyotik tedavisi almamış olması herhangi bir sistemik hastalık sebebiyle rutin tedavi görüyor olmaması aynı zamanda birbirine yakın coğrafi koşullarda yaşıyor olması kriterleri çalışmanın temel kriterlerini oluşturmuştur. Toplanan dişler herhangi bir mineral kaybı olmasın ve dış etkenlerden etkilenmesin diye doğal ortama en uygun ortam olan serum fizyolojik(%9 NaCl) ortamında saklanmıştır. Çalışma gününe kadar hergün günde iki defa 12'şer saat arayla solüsyon yenilenmiştir. 25 adet mineral analizi için 25 adet diş ise mikrosızıntı için diş bu çalışma analizi için elde edilmiştir. Toplanan dişler su altında organik artıklarından temizlenmiştir. Organik artıklarında arındırılan dişler arora ve ark yapmış olduğu çalışmalarda belirtmiş olduğu neonatal çizgi yerinden kesilmek üzere hazırlanmıştır. Organik artıklar uzaklaştırıldıktan sonra IPS-MS Analizi yapılacak olan dişlerin kesim çizgileri arora ve ark yapmış oldukları çalışmaya uygun olarak belirlenmiştir.(Şekil 18, 19a, 19b, 19c)



Şekil 18. Süt kesici dişinin dentin gelişimindeki Pb biyobelirtecine genel bakış şeması. Diş formasyonu sırasında mine (E) ve primer dentin (PD) matriksinin birikmesi mine-dentin bağlantısında (kesikli çizgi) başlar. Doğumda, doğum öncesi oluşan dişlerden prenatal olarak şekillendirilen kısımları ayırt etmek için bir yer işareti sağlayan mine ve dentinde neonatal çizgi (kırmızı çizgi) oluşur,



Şekil 19: Üst kesici ince kesit ve inkramental mine işaretler. Mine gelişiminin salgılama aşamasında bir diş taç (a) uzun eksenini boyunca (b) büyüme yönünü gösteren ince bir kesit. Retzius çizgileri (c) 34–10'luk bir büyütmede ortaya çıkar. Çapraz çizgiler 320–40'luk bir büyütmede açığa çıkar ve Retzius çizgileri arasında çalışır. Patrick Mahoney* Human Osteology Research Lab., School of Anthropology and Conservation, University of Kent, Canterbury, CT2

Dişlerin mine sement sınırında kökleri kesilerek sement dokusu ve kronal kısımdaki pulpa artıkları uzaklaştırılmıştır. Elde kalan kronal mine ve dentin dokusu kesim işlemi için serum fizyolojik sıvı içerisinde yirmi dört saat boyunca bekletilmiştir. Mikrosızıntı bakılacak olan 25 adet dişi ise organik artıklarından temizlenerek saf su solüsyonu içerisinde bekletilmiştir. Bu dişler bol su ve periodontal küret kullanılarak organik deprislerinden uzaklaştırılmıştır. Bu çalışmada mikrosızıntıları test edilecek dişler 2x2x2 mm ölçülerinde prenatal ve postnatal yapıları da içine alacak şekilde black V kavite açılmıştır. Dişlerin hem bukkal hemde lingual yüzeylerinde okluzal köşenin 1,5 mm altında ve gingival kenarda mine sement sınırının 1,5 mm üstünde kalacak şekilde black V kavite preparasyonu olarak dizayn edilmiştir (Resim 4, 5).



Resim 4. Kavite açılacak sağlam süt dişi



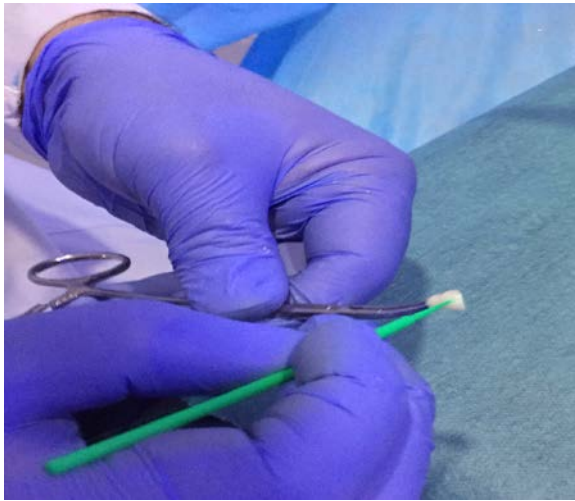
Resim 5. Kavitesi hazırlanmış anterior süt dişi

4.1.1. Restorasyonun yapılması

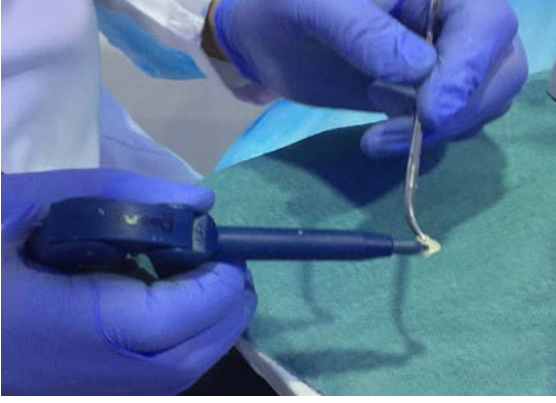
Tüm gruplarda kavitelere adeziv prosedürler uygulandıktan sonra restorasyonları yapılmıştır. Restorasyonlar için Dyract XP (Dentsply, DENTSPLY-IH. Ltd. UK) kompomer materyali kullanılmıştır. Seçilen A2 renginde kompomer şırıngasından ağız spatülü ile alınıp dişlere kondanse edilerek tabakalar halinde uygulanmıştır. Tabakalara 20 saniye ışın verilerek polimerizasyonu sağlandı. Kavite kenarlarında kalan fazla kompomer materyali bir bistüri yardımıyla temizlendi. En son tabakaya bir kere daha 20 saniye ışın verildi. (Resim 6, 7, 8)



Resim 6: Diş dolgu materyalleri



Resim 7: Kavite duvarlarının adeziv materyalleriyle bondlanması

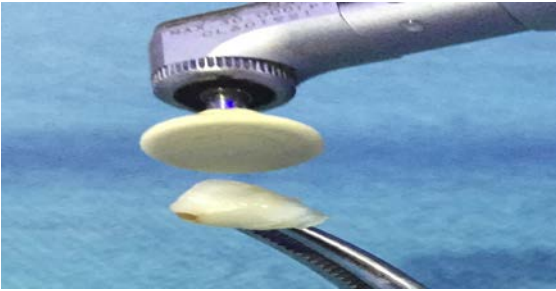


Resim 8: Hazırlanan kavitenin dolgu materyali ile doldurulması

Restorasyon yapılan dişlere 24 saat sonra bitirme ve polisaj diskleri ile bitirme işlemleri uygulandı.(Resim 9, 10)



Resim 9. Sarı kuşak frez ile dolgunun düzeltilmesi



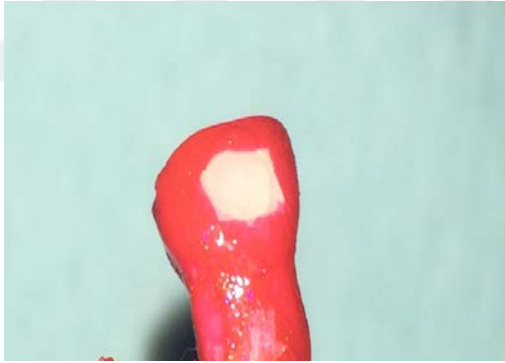
Resim 10. Sarı renk parlatma lastiği ile polisaj yapımı

Bitirme işleminin tamamlanmasında sonra dişler 24 saat +4 derecede bekletildikten sonra toplu halde su banyosuna tabii tutuldu. Su banyosu Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı. Su banyosu için örneklere, 5 ve 55 derecelik su banyosunda, banyolar arasında 3 saniyelik farkla her banyoda 1'er dakikalık kalacak şekilde 500 döngü yapıldı.

Boya penetrasyon testi için dişlerin apeksleri, bifurkasyon noktaları, rezorbsiyon olan alanlar ve mikrosızıntı testini olumsuz etkileyecek her kısım mumla kapatıldı (Resim 11). Daha sonra kavite kenarlarında 1mm'lik açık kalacak şekilde dişin yüzeyi iki kat tırnak cilası ile kapatılmıştır (Resim 12). Böylelikle sadece dolgu yapılan yüzeylerin boya ile teması sağlandı.



Resim 11. Kök kısmı mikrosızıntısının önlenmesi için akışkan kompozitle kapatılması

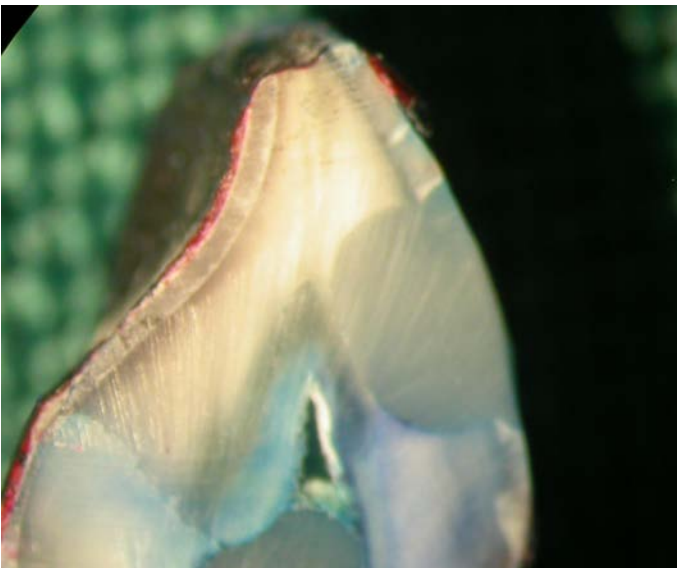


Resim 12. Dolgu yapılan kısımlar hariç tüm diş yüzeyinin oje ile kapatılması

Cilalama işlemi bittikten sonra dişler suda çözülmüş %1'lik metilen mavisi solusyonu içerisinde 24 saat bekletildikten sonra, dişlerin üzerindeki tırnak cilaları uzaklaştırılarak mum ile kapatılan yerlerin üzerindeki mum artıkları uzaklaştırıldı. Dişler tekrar bol su ile yıkandıktan sonra bukkal-lingual taraflarında yapılan dolguların tam ortasından geçecek şekilde ayarlanarak hava su spreyi ile çalışan bir mikro motor ve ucuna takılan çift yönlü elmas kaplı separe ile frez yapıldı (Resim 13). Dişin bukkal yüzlerindeki dolgular teker teker mikrosızıntı açısından incelendi.



Resim 13. Öje artıklarından temizlendikten sonra dişin çift yönlü elmas kaplı separe ile freze edilmesi.



Resim 14. Çift yönlü elmas kaplı separe ile freze edilen dişin görünümü

Kesim işlemleri yapıldıktan sonra mikrosızıntı incelenecek olan dişlerdeki ölçümü Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan stereo mikroskop (Nikon SMZ-800 Steromikroskop, Nikon İnst. İnc. Nikon Corporation Kawazaki/ Japon) (Resim 15) ile X60 büyütmede öküler mikrometre kullanılarak yapılmıştır. Ölçüler millimetre(mm) cinsinden kayıt edilerek değerlendirilmiştir.



Resim 15. Nikon SMZ-800 Steromikroskop cihazı

Mikrosızıntıyı kontrol etmek için inzisal kenara yakın olan kavite duvarları prenatal, köle bölgesine yakın olan kısım ise postnatal olarak değerlendirilmiştir.

4.2. ICP-MS analizi uygulanacak dişler

IPS-MS Analizi yapılacak olan dişlerin kesim çizgileri Arora ve ark yapmış oldukları çalışmaya uygun olarak belirlenmiştir. Çalışmanın bu ayağında kullanılan malzemeler;

- ICP-MS 7700x (Agilent Technologies, Santa Clara, United States) cihazı

- Hassas Terazı (Mettler Toledo 4, digit Analytical Balance AL 104, N.V. Mettler-Toledo S.A.)
- Mikrodalga Fırın (Mars Xpress, Gulf Scientific, USA)
- Manyetik Karıştırıcı (MIRAK, Barnstead|Thermolyne, Dubuque, IA)
- Su Pürifikasyon Sistemi (Human UP 900 Scholar-UV, Human Crop, South Korea)
- Etüv (Memmert, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach)
- Otomatik Pipetler (Eppendorf, Eppendorf AG, Germany)
- Polipropilen, Kapaklı Tüpler (15, 50 ml' lik)
- Cam Malzemeler
- Yüksek Saflıkta Helyum Tüpü
- Yüksek Saflıkta Argon Tüpü

Dişler Arora ve ark. çalışmalarında gösterdiği gibi prenatal ve post natal gelişim dönemleri farklı olacak şekilde kesilmiştir. Kesim işlemi daha önceki çalışmalarda gösterilen prenatal ve postnatal çizgi dikkate alarak dişin kronu bukkolingual yönünde kesim yapıldıktan sonra prenatal ve postnatal diş parçaları % 9'luk serum fizyolojik içerisinde bekletilmiştir. Dişleri prenatal ve post natal dönemleri ayrı olacak şekilde numaralandırma yapılmıştır.

4.2.1.ICP-MS uygulanması

Dişlere analiz öncesi yıkama-kurutma işlemleri sırasıyla; prenatal ve postnatal olarak iki farklı parçalara ayrılan dişler hidrojen peroksit ile mavi kapaklı polipropilen tüplerde bir süre bekletilerek temizlenmesi sağlanmıştır (Resim 16). Hidrojen peroksitte bekletilen dişler saf su ile yıkanarak hidrojen peroksit ve diğer atıklar uzaklaştırılmıştır. Yıkanan dişler kurutma kâğıtlarının üzerine alınarak kurutulması için cam tabla (Resim 17) üzerinde tabla ile birlikte birer saat çeker ocak altında kurumaya bırakıldı daha sonra önceden 75°C'ye ayarlanmış etüvde 24 saat kurumaya bırakılarak doku ağırlığının sabitlenmesi amaçlandı.

Resim 16.Mavi kapaklı polipropilen tüpler



Resim 17.Yıkanan dişlerin kurutulması için kurutma kağıtlarıyla cam tabla üzerinde numaralandırma sırasına göre dizilimi

4.2.2. Örneklerin analiz öncesi ön işlemleri

Kurumaya bırakılan doku örnekleri etüvden çıkarılarak hassas terazi ile kuru ağırlıkları (nihai ağırlık) belirlenmek üzere tartıldı ve ortalama kuru diş dokusu prenatal ağırlığı 0.046278 ± 0.008 gr, postnatal ağırlığı olarak tespit edildi. Nihai ağırlığa ulaşmış olan dokular yüksek sıcaklığa dayanıklı teflon tüplerin(Resim 18) içine konuldu. Daha sonra teflon tüplerin içine yani dokuların üzerine 10 ml %65'lik HNO_3 ilave edilerek, mikrodalga fırında yakma işlemi gerçekleştirildi.



Resim 18.Yüksek Sıcaklığa Dayanıklı Teflon Tüpler (15, 50 ml' lik)

Mikrodalga fırını yakma işlemine ait program Çizelge 2.1'de verilmiştir. Yaklaşık olarak hacmi 10 ml olan yakılan doku örnekleri 15 ml'lik polipropilen tüplere aktarılıp, toplam hacim deiyonize su ile 14 ml'ye tamamlandı. Daha sonra 1ml alınarak son hacim 5 ml olacak şekilde başka bir 15 ml döner kapaklı polipropilen tüplere alındı ve toplamda 7 kat seyreltme gerçekleşmiş oldu. Örnek çözelti analiz işlemine kadar $+4^{\circ}\text{C}$ ' de muhafaza edildi.

Çizelge 2. Mikrodalga fırının ait dış yakma programı

Max. Güç (Watt)	Güç %	Zaman (dk)	Basınç psi	Sıcaklık (°C)	Bekleme (dk)
600	100	10:00	350	200	10:00

4.2.3.Örneklerin analiz işlemleri

Asit ile mikrodalga fırında yakılarak çözelti haline getirilen ve analize hazırlanan dış dokularında kurşun düzeyleri; Agilent marka 7700x model, İndüktif Eşleşmiş Plazmalı Kütle Spektrometrisi (ICP-MS) cihazı ile belirlenmiştir.

10 ppm'lik multi-element calibration standard 2A Agilent® (Şekil 2.1.) stok solisyonundan, öncelikle 1 ppm'lik daha sonrada 100 ppb'lik ara stok çözeltileri hazırlandı. Kalibrasyon eğrisini oluşturmak için 1 ppm'lik ara stok çözeltilerinden yararlanılarak 50 ppb, 25 ppb ve 10 ppb konsantrasyonları hazırlandı, 100 ppb'lik ara stok çözeltilerinden faydalanılarak 5ppb ve 1ppb çözeltiler oluşturuldu. İnternal standart olarak 100 ppm'lik ²⁰⁹Bi (Bizmut) içeren ICP-MS İnternal Std Mix Agilent® kullanıldı. Standart referans maddesi multi element standart solüsyonu(Labmix24 GmbH İnd. 18A 46499 Hamminkeln GERMANY)kullanıldı (Resim 19). Toplam da 6 farklı konsantrasyon ile kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Hazırlanan standartlara, kirliliği ve gürültüyü önlemek için 5 µl %65 saflıkta HNO₃ eklendi.

Resim 19. Standart referans maddesi multi element standart solüsyonu(Labmix24 GmbH İnd. 18A 46499 Hamminkeln GERMANY)

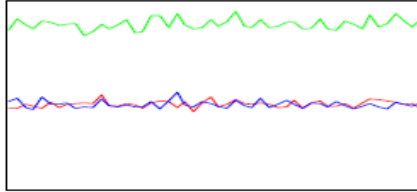
Element	Mass	Confirmation Mass ¹	Mode	Internal Standard ²	Approx. Integration Time (sec/Point)
Be	9		No gas	⁶ Li	0.3
B	11		No gas	⁶ Li	0.1
Na	23		He	⁴⁵ Sc	0.05
Mg	24		He	⁴⁵ Sc	0.05
Al	27		He	⁴⁵ Sc	0.3
P	31		No Gas	⁶ Li (⁷² Ge, ⁴⁵ Sc) ³	0.1
K	39		He	9 or 71	0.05
Ca	44	43	He	9 or 71	0.1
V	51		He	⁴⁵ Sc	0.5
Cr	52	53	He	⁴⁵ Sc	1
Mn	55		He	⁴⁵ Sc	0.1
Fe	56	57	He	⁴⁵ Sc	0.1
Co	59		He	⁴⁵ Sc	0.1
Ni	60		He	⁴⁵ Sc	1
Cu	63	65	He	⁴⁵ Sc	0.1
Zn	66	64	He	⁷² Ge	0.1
As	75		He	⁷² Ge	1
Se	78		He or (H ₂) ⁴	⁷² Ge	5
Br	79		No Gas	⁷² Ge	0.1
Mo	95	98	He	¹⁰³ Rh	0.1
Ag	107	109	No Gas	¹¹⁵ In	0.1
Cd	111	114	No Gas	¹¹⁵ In, (²⁰⁹ Bi)	1
Sn	118		No Gas	¹⁰³ Rh (¹¹⁵ In, ²⁰⁹ Bi)	0.1
Sb	121		No Gas	¹¹⁵ In, (²⁰⁹ Bi)	0.1
I	127		No Gas	¹⁰³ Rh (¹¹⁵ In, ²⁰⁹ Bi)	0.1
Ba	137	135	No Gas	¹¹⁵ In, (²⁰⁹ Bi)	0.1
Hg	201	202	No Gas	²⁰⁹ Bi	1
Tl	205		No Gas	¹⁷⁵ Lu, (²⁰⁹ Bi)	0.1
Pb	208		No Gas	¹⁷⁵Lu, (²⁰⁹Bi)	0.1
Th	232		No Gas	¹⁷⁵ Lu, (²⁰⁹ Bi)	0.1
U	238		No Gas	¹⁷⁵ Lu, (²⁰⁹ Bi)	1

Çizelge 3. Elementlere göre cihaz modları ve internal standartlar (Agilent Technologies Guide Book 2013).

Kalibrasyon eğrisinde kullanılan 6 standart çözelti (100 ppb, 50 ppb, 25ppb, 10ppb, 5ppb ve 1ppb) için 3 tekrarlı ölçümler yapıldı. Örnekler için de 3 tekrarlı ölçüm yapıldı. Kalibrasyon 50 örnekte bir tekrarlandı. Cihazda Argon gazı; yürütücü gaz olarak, plazmanın yakılması ve soğutucu gaz olarak kullanıldı. Üretici firma Agilent Techology tavsiye ettiği üzere He gazı ile interferans gidermeye gerek olmadığı için No gaz modunda çalışıldı (Çizelge 3). Analiz öncesi cihaza tune çözeltisi verilerek cihaz ayarları yapıldı (Çizelge 4).

Tune Report

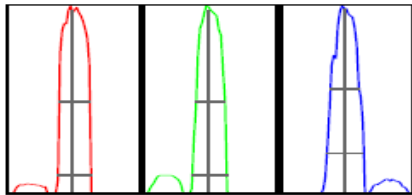
[No Gas]



Mass	Range	Count	RSD%	Background
7	10000	4566	3.812	3.700
89	20000	17610	3.257	4.300
205	20000	9098	4.153	20.200

Ratio (oxide) 156/140 0.953 % Ratio (2+) 70/140 2.114 %

Integration Time [sec] 0.1 Sampling Period [sec] 0.311



Mass	Peak Height	Axis	W-50%	W-10%
7	4650.18	7.00	0.68	0.741
89	17510.68	88.95	0.64	0.778
205	9207.94	204.90	0.64	0.834

Integration Time [sec] 0.1 Acquisition Time [sec] 22.74 Y Axis Linear

Tune Parameters

Plasma Parameters

RF Power	1550 W	Nebulizer Pump	0.10 rps
RF Matching	1.80 V	S/C Temp	2 °C
Smpl Depth	8.0 mm	Gas Switch	Makeup Gas
Carrier Gas	1.09 L/min	Makeup/Dilution Gas	0.00 L/min
Option Gas	0.0 %		

Lenses Parameters

Extract 1	0.0 V	Cell Entrance	-30 V
Extract 2	-175.0 V	Cell Exit	-50 V
Omega Bias	-80 V	Deflect	12.0 V
Omega Lens	7.3 V	Plate Bias	-40 V

Cell Parameters

Use Gas	false	OctP Bias	-8.0 V
He Flow	0.0 mL/min	OctP RF	200 V
H2 Flow	0.0 mL/min	Energy Discrimination	5.0 V
3rd Gas Flow	0 %		

[He]

Mass	Range	Count	RSD%	Background
59	5000	2044	4.993	0.600
89	2000	1031	5.761	0.200
205	5000	4334	4.893	0.200

Ratio (oxide) 156/140 0.896 % Ratio (2+) 70/140 1.743 %

Integration Time [sec] 0.1 Sampling Period [sec] 0.31

Çizelge 4. ICP-MS Cihaz Ayar Raporu.

4.3.İstatistiksel Yöntem

Bu çalışmada ICP-MS analizine giren 25 adet diş ikiye bölünerek 50 adet prenatal ve post natal örnek oluşturmuştur. Bu çalışmanın istatistiksel sonuçları SPSS (Statistical Package for the Social Science) 21.0 yazılım programı kullanılarak yapılmıştır. Bunların normalite testleri Kolmogorov-Smirnov testine göre yapılmıştır. Normal dağılıma uyan örnekler için Paired Samples T Test'ine göre, normal dağılıma uymayan verilerin istatistiksel analizleri için Wilcoxon Signed Rank Test'ine göre yapılmıştır. Mikrosızıntı testleri için ise Paired Sample T Test kullanılarak yapılmıştır.



5. BULGULAR

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı kliniğine çeşitli nedenlerle anterior diş çekimi için başvuran 24 aydan büyük çocuklarda alınan dişlerin prenatal ve postnatal sert doku mineralizasyonlarının incelenmesi ve bu mineralizasyon farklılıklarının çocuk diş hekimliğinde en çok kullanılan dolgu materyalinin mikrosızıntısına etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

25 adet diş prenatal ve postnatal bölgeler olmak üzere(arora ve ark belirtmiş olduğu şekilde yayın yazılacak) ayrıldıktan sonra toplam 50 adet diş numunesinde 16 farklı element konsantrasyonu tespit edildi. Her element için prenatal ve postnatal dönem düzey farkları alınarak elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildi, örneklem sayısı otuza yakın olduğu için verilerin normal dağılıp uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testine göre belirlendi. Normal dağılıma uyan verilerde istatistiksel analiz *Paired-Samples T test'ine* göre, normal dağılıma uymayan verilen istatistiksel analizleri *Wilcoxon Signed Ranks Test'ine* göre yapıldı. Normalite testi sonrası V, Fe, Co, Ba elementlerinin normal dağılım gösterdiği diğer elementlerin ise (Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Se, Ba, Cd, Tl, Pb, Ag) sonuçlarının ise normal dağılım göstermediği belirlendi(Tablo 5).

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Vfark	.110	25	x .200	.977	25	.815
CrFark	.325	25	.000	.709	25	.000
MnFark	.296	25	.000	.813	25	.000
FeFark	.150	25	x .153	.891	25	.011
CoFark	.163	25	x .085	.963	25	.476
NiFark	.281	25	.000	.618	25	.000
CuFark	.217	25	.004	.708	25	.000
ZnFark	.277	25	.000	.799	25	.000
AsFark	.213	25	.005	.822	25	.001
SeFark	.215	25	.004	.818	25	.000
BaFark	.120	25	x .200	.918	25	.045
CdFark	.539	25	.000	.203	25	.000
TiFark	.284	25	.000	.660	25	.000
PbFark	.227	25	.002	.695	25	.000
AgFark	.293	25	.000	.799	25	.000

Tablo 5.Normalite Test Sonuçları

Verileri normal dağılan elementlere, Parametrik test olan Paired-Samples TTest uygulanmış olup Tablo.6. de görüldüğü üzere; sadece V elementinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir.($p= 0.038, p<0.05$)

Tespit edilen anlamlı fark; prenatal dönemdeki konsantrasyonların postnatal dönemde azaldığı yönünde olmuştur. Vanadyum (V) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde anlamlı yönde azaldığı görülmüştür ($p=0.038, p<0.05$) (tablo 6)

Demir(Fe) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0.613, p>0,05$)(tablo 6)

Kobalt (Co) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0,667; p>0,05$)(tablo 6)

Baryum (Ba) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0.3, p>0,05$)

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 VPre - VPost	63.52353115	144.7744273	28.95488547	3.76358468	123.2834776	2.194	24	.038
Pair 2 FePre - FePost	-2847.04110	27801.22002	5560.24400	-14322.82070	8628.73851	-.512	24	.613
Pair 3 CoPre - CoPost	-7.26105	83.24889	16.64978	-41.62450	27.10241	-.436	24	.667
Pair 4 BaPre - BaPost	719.52915	3394.37844	678.87569	-681.60141	2120.65970	1.060	24	.300

Tablo.6.Parametrik Testi

Verileri normal dağılmayan elementlere, Non-parametrik test olan Wilcoxon T-Test uygulanmıştır.

Manganezin(Mn) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür($p=0.09, p<0,05$)(tablo 7).

Nikelin (Ni) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür ($p=0.010, p<0,05$)(tablo 7).

Bakır(Cu) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür($p=0.001, p<0.05$) (tablo 7).

Çinko(Zn) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür($p=0.002, p<0.05$) (tablo 7).

Arsenik(As) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür($p=0.003$, $p<0.05$) (tablo 7).

Kurşun(Pb) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür elementlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir($p=0.032$, $p<0.05$) (tablo 7).

Selenyum (Se) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0.711$, $p>0.05$) (tablo 7).

Kadmiyum (Cd) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0.663$, $p>0.05$) (tablo 7).

Titanyum(ti) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0.853$, $p>0.05$) (tablo 7).

Gümüş(Ag) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0.683$, $p>0.05$) (tablo 7).

Krom(Cr) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir($p=0.458$, $p>0.05$) (tablo 7).

Tespit edilen anlamlı fark; prenatal dönemdeki konsantrasyonların postnatal dönemde azaldığı yönünde olmuştur.

Tablo7.Non-parametrik Test

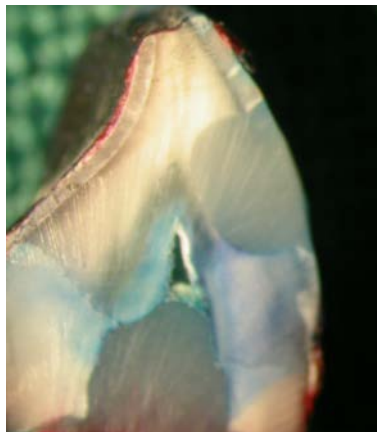
Test Statistics ^a											
	CrPre - CrPost	MnPre - MnPost	NiPre - NiPost	CuPre - CuPost	ZnPre - ZnPost	AsPre - AsPost	SePre - SePost	CdPre - CdPost	TiPre - TiPost	PbPre - PbPost	AgPre - AgPost
Z	-.767 ^b	-2.570 ^b	-2.543 ^b	-3.215 ^b	-2.947 ^b	-2.919 ^b	-.390 ^b	-.457 ^b	-.202 ^c	-2.139 ^b	-.434 ^b
Asymp. Sig. (2-tailed)	.443	.010	.011	.001	.003	.004	.696	.648	.840	.032	.664
Exact Sig. (2-tailed)	.458	x .009	x .010	x .001	x .002	x .003	.711	.663	.853	x .032	.683
Exact Sig. (1-tailed)	.229	.004	.005	.000	.001	.001	.356	.332	.427	.016	.341
Point Probability	.008	.000	.000	.000	.000	.000	.010	.010	.010	.001	.012

a. Wilcoxon Signed Ranks Test

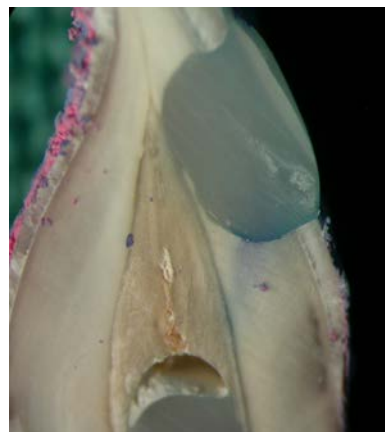
b. Based on negative ranks.

c. Based on positive ranks.

Mikrosızıntı test değerlendirilmesi için 25 adet süt dişi dolgu yapılarak mikrosızıntı analizi yapılmıştır. Her iki dönemin mikrosızıntı karşılaştırılması Paired Samples Test testi kullanılarak yapılmıştır. Yapılan mikrosızıntı analizinde X60 büyütmede stereo mikroskop verileri değerlendirildiğinde prenatal bölgede mikrosızıntı ortalaması $7,240 \pm 6,105$ mm olarak bulunmuştur. Postnatal mikrosızıntı değerlendirilmesinde ise bu ortalama $22,48 \pm 12,826$ mm olarak bulunmuştur. Dönemler arasında istatistiksel değerlendirme yapıldığında postnatal dönemde mikrosızıntıda bir artış olduğu görülmüştür ($p=0.00$, $p<0,05$) (Resim 20a, 20b) (tablo 8, 9).



20a.



20b.

Resim 20a, 20b. Mikrosızıntının stereo mikroskop altında gözlemlenmesi (postnatal bölgede daha fazla artış olduğu gözlemlenmektedir).

Tablo 8. One-Sample Statistics ile mikrosızıntı karşılaştırılması

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
prenatal	25	7,2400	6,10519	1,22104
postnatal	25	22,4800	12,82615	2,56523

Tablo 9. One-Sample Statistics testi ile dönemler arası mikrosızıntı eşleşmeleri

		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	df	Sig. (2-tailed)
Pa ir 1	prenatal	-15,24000	12,33315	2,46663	24	,000
	- postnatal					

6. TARTIŞMA

Sert dokuda analiz yapılması isteniyorsa en kolay elde edilen sert doku materyalleri mine ve dentindir. Çünkü bu dokular sürekli metabolize olan dokular değildirler (177).

Bu dokular ağır metal iyonları için rezervuar görevi görürler. Bu materyallerin zararlı etkilerinin belirlenmesi biriktiği dokulardan elde edilecek analiz verileri ile anlaşılmaktadır. Kanlanma seviyesindeki değişiklik ve Prenatal ve Post natal dönem arasında farklılıkların olması gibi nedenler bu dokularda birikme seviyesinde oynamalara neden olmaktadır.

Anne rahminde placentaya denilen ve fetüsü prenatal dönem boyunca koruyan zırhın bulunması ve u zırhın içeriye geçen materyalleri tamamen kontrol etmesinedeni ile beklenen prenatal yapıların neredeyse mükemmel yakın oluşmasıdır. Ancak annenin yaşadığı ortam, alınan besinler veya çevre kirliliği gibi maruz kalınan dış etkenler prenatal yapıların oluşumunda bazı değişikliklere neden olabilmektedir (178). Yine aynı zamanda postnatal dönemde bebeklik ve çocukluk döneminde mine ve dentinin mineralizasyon sürecinde meydana gelen çeşitli olaylar hakkında bilgi edinmek için bu mineral analizlerinin yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Sadece çevrenin etkileri değil hayatın prenatal ve sonrasında postnatal dönemin erken evrelerde gerçekleşen mineral birikmesi beraberinde ağır metal birikmesini de sağlar. Böylece dış ortamda varolan değişiklikler sert dokunun yapısına katılır. Bu dönemler hakkında yapılacak olan analizler ise maruz kalınan çevre şartları ve gelişim koşulları hakkında araştırmacılara bilgi sağlanmasında önemli rol oynar (178).

Gerek prenatal dönem gerekse postnatal dönemde meydana gelen olaylar o dönemlere ait özellikler taşıyarak sert dokuların o yönde oluşmalarında etkinlik gösterirler.

Bu çalışmada amacımız süt dişlerinde prenatal ve postnatal dönemlerde oluşan dental sert dokularda iki dönem arasında farklılığın mikrosızıntıyı nasıl etkilediğini araştırmak ve diş hekimliğinde önemli bir sorun olan mikrosızıntı fenomenine farklı bir pencereden bakmaktır. Mineralizasyonları, tübül yapıları,

özellikleri birbirinden mikroskobik olarak daha farklı olan bu iki dönemde oluşan dental sert dokuların süt dişlerinde sürekli kullanılan Kompomer dolgulara karşı verdiği yanıtların mikrosızıntı açısından değerlendirilmesi mikrosızıntı fenomenine bazı noktalarda açıklık getireceği kanısındayız. Daha önce yapılan bir çok çalışma (179, 177, 178) sadece dişleri incelemiş ve biriken mineral/metal seviyelerini incelemiştir. Ancak bizim çalışmamızda incelenen ağır metal seviyesinin kullanılan dolgu ile ilişkisi değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Tüm kalsifiye dokular Hidroksiapatit minerallerinden oluşmuştur. Kalsifiye dokulardaki biyolojik apatitler, ideal HA yapısından farklıdır, çünkü farklı kimyasal yapıları genellikle bunları daha zayıf ve asitlerle temasta daha çözünür hale getirir (180). HA, molar dişte ideal kalsiyum/ fosfat oranı (Ca / P) 1.67 olarak bulunmuştur. Hekzagonal kristal yapısına ve $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ formülüne sahiptir. Mine ve dentin apatiti maturasyon esnasında dönemsel olarak değişiklik gösteriri ve kimyasal maddelere bağlı olarak değişken bir bileşime sahiptir (180).

Böylece mine ve dentinde bulunan mineral, kalsiyum açısından eksik, karbonat bakımından zengin ve HA ile ilgili yüksek oranda süstitüe edilmiş bir formdur. Magnezyum (Mg) ve sodyum (Na) gibi metal iyonları, kalsiyum yerine geçebilirken, karbonat, fosfat ve hidroksil gruplarının yerini alabilir (180).

Bu iyonik değişimler yapıyı bozar ve daha da çözünür hale getirir. Belki de en yararlı iyonik değişim, formülde hidroksil grubu (OH) yerine geçen ve yapısını daha güçlü ve daha az çözünür hale getiren flor (F) iyonudur (180).

HA diğer minerallere karşı, kalsifiye dokuda meydana gelen iyonel eksikliklerin giderilmesine metallere replasman olarak dikkate değer bir ilgi gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle yapıya giren birden fazla metal iyonu veya diğer elementler minenin dışarıdan gelecek olan birçok etkiye drenajını değiştirmektedir.

Bu tez çalışmamızdan önce yapılan birden fazla çalışmada (Arora, Mahoney) prenatal ve post natal yapılarda biriken metal iyonları değerlendirilmiştir. Ancak mikrosızıntı değerlendirilmesi yapılan bir çalışma yapılan literatür incelemelerinde bulunamamıştır.

Birçok çalışma göstermiştir ki kimyasal bağlanma ile dolgu işlemlerinde dişlerin inorganik kısmının kalitesi çok önemlidir. Yüzeylerin tutunmayı sağlamak için hazırlanması ve kullanılan bondin ajanların yüzey gerilimlerini değiştirerek iyonik ve kovalent bağların oluşmasını sağlaması temelde iyonik iki farklı yapının birbirleri ile kimyasal bağlantı yolu ile tutunmasını sağlar (181).

Mekanik bağlantıdan daha kuvvetli olması beklenen bu bileşkenin zaman içinde bağların kopması veya iki yüzeydeki yetersizlik yani mine veya dentinin inorganik yapısındaki değişiklikler veya dolgu maddesindeki yeterlilikten kaynaklı olarak oluştuğu düşünülmektedir (181).

Bizim yaptığımız bu çalışmada mikrosızıntı değerleri postnatal kısımda prenatal kısma göre daha fazla olduğu görülmüştür. X 60 büyütmede milimetre cinsinden ölçümde prenatal alanda mikrosızıntı değerleri postnatal bölgede 22,48 mm ve prenatal bölgede ise 7,24 mm olarak bulunmuştur. Bu istatistiksel olarak anlamlı oluşun nedeni öncelikle bu iki dokunun histolojik gelişim dönemlerindeki farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz (180, 181). Prenatal yapıların düzenli ve daha stabil bir yapı oluşturduğu bilinmektedir (181, 182, 183). Doğum sonrasında diş etkenlere maruz kalarak oluşan postnatal dokuların mikrosızıntıya verdikleri yanıtın bu derece farklı olmasının sebebinin ise prenatal dokulara göre nispeten daha düzensiz yapıların oluşu ve minerallerde ki değişimlerdir (181).

Moleküler seviyede verilen bu yanıt doku ile kimyasal materyal arasında oluşması beklenen kimyasal bağların yetersizliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu çalışmamızda postnatal kısımda meydana gelen yetersizliklerin anne rahmindeki korunaklı ortamda oluşan dokulardaki organizasyon ve bu organizasyonda yer alan minerallerin doğum sonrasında farklı bir şekilde yapıya katılarak yapısal değişimlerinden kaynaklandığı görüşü diğer yazarlar tarafından da literatürde öne çıkarılan bir görüştür (178,181) .

Bu çalışmamızda kullanılan dişlerin 24 ay ve sonrası çocuklardan alınan dişler olmasının sebebi postnatal minenin kesici dişlerde tamamlanma yaşı 19 ay olarak belirlenmesindedir (Arora, 13, 182) böylelikle deneysel olarak dişlerde daha net sonuçlara ulaşılabilir olduğu görüşü çeşitli araştırmacılar tarafından da destek görmüştür (Arora, 13).

Bu çalışmada test edilen metal iyonlarından birisi olan Vanadium (V) kemiklerde ve dişlerde yapı materyali olarak görev yapmaktadır. Kaymağı alınmış süt, istakoz, bitkisel yağlar Vanadium kaynağı olarak vücudumuza giren bu metal iyonunu karşılar. Günlük olarak Vanadium alınımı 10µg ile 2 mg arasındadır. Bu oran çevre koşullarına; hava, su ve topraktaki mineral seviyesine bağlı olarak değişiklik gösterir. Hayvanlar açısından her öğünde 1-10 µg oranında alınması sert doku formasyonu için önemlidir (184). Bowden ve arkadaşlarının 1980 yılında yaptıkları bir çalışmada Rat markırlarında Vanadium'un mine de dentine göre daha az bulunduğunu bildirmiştir (185). Vanadium belirli oranda insülin büyüme hormonu (IGF) taklit ederek osteojenik ve odontojenik aktiviteyi provake eder. Osteoblastik ve odontoblastik aktiviteyi artırır (184, 185). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde Vanadium metali Prenatal minde daha fazla çıkmıştır ($p=0.038$ ve $p<0.05$). Prenatal dokuların gelişiminin daha iyi olmasının IGF hormon aktivitesinin intaruterin hayatta daha etkin olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz (180, 182, 183).

Lakomaa ve arkadaşları tarafından Finlandiya toplumunda yapılan demir çalışması günümüzde geçerli olan çalışmalardan birisidir (186). Ancak son yıllarda yapılan çalışmaların çoğunluğu demir iyonunun postnatal dönemde çürüğe karşı etkinlikleri ve boyama potansiyeli üzerine olmuştur. Halse ve Selving 1974 yılında ratlarda yaptıkları çalışmalarda daha önceki çalışmalara da atıfta bulunarak ameloblastların pigment granüllerinin ferritin içerdiğini bildirmişlerdir(187).

Ancak Kallenbach'in 1970 yılında yapmış olduğu çalışmada da belirttiği gibi demirin gelişim ve maturasyon esnasında herhangi bir proteine bağlanmadığını bildirmiştir (188). Belkide bu yüzden mineralizasyon esnasında Demir (Fe) ile ilgili çalışmalar daha kısıtlı bir çerçevede kalmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada da prenatal ve postnatal dokular arasında Demir (Fe) seviyeleri arasında bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p=0.613$, $p>0.05$).

Kallenbach prenatal ve postnatal dönemde demir iyonlarının ameloblastlarda pigment taşınmasını sağladığı ve pigmentasyonda görev aldığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda seviye farkında farklılık olmamasının en belirgin etkeninin hem

prenatal hemde postnatal dönemde de aynı etkiyi gösterdiğinden dolayı olduğunu düşünmekteyiz.

Neiman ve arkadaşlarının 1975 yılında yaptıkları çalışmalarda Kobalt iyonunun fazlalığı veya artışının ameloblastların sekresyonunu engellediğini göstermiştir (189). Kobalt florürün tersi olarak ilk hipomineralize bir tabaka üretilmesinde daha sonra hipermineralize bir tabaka üretilmesinde rol oynar (189). Bizim çalışmamızda Cobalt (Co) iyonunun prenatal ve post natal dokularda anlamlı farklılık göstermediği görülmüştür ($p= 0.667$, $p>0.05$). Benzer şekilde daha sonra yapılan çalışmalarda Kobalt iyonlarının artışının Ameloblastlarını sekresyonun inhibe ettiği de görülmüştür (190). Günümüzde Kobalt iyonunun etkileri hakkında çalışmalar çok az düzeydedir.

Baryum (Ba) çevrede yaygın bir elementtir. Doğada çoğunlukla barit ($BaSO_4$) biçiminde bulunur. Baryum, jeolojik süreçler ile çevreye bırakılır, ancak ana kaynağı antropojenik aktivitedir. Toprakta bulunan baryum nispeten sabittir; bununla birlikte, substratın asitleştirilmesi, suda çözünebilir bileşiklerin oluşmasına yol açar. Ba'nın içme suyundaki içeriği oldukça değişkendir ve diğer yanı sıra sertliğine bağlıdır. Canlı organizmaların dokularındaki baryum konsantrasyonu farklıdır. Gıdalardaki ortalama konsantrasyon 0.1 mg Ba / kg 'ı aşmamaktadır. İnsan vücuduna gıda ile alınan günlük Ba dozu, $0.3-1.8 \text{ mg}$ arasındadır ve başlıca süt ve süt ürünleri ile alınır (191).

Hamilelik sırasında, anneden fetüse Ba transportu, umbilikal kord serumlarında daha düşüktür. Ba plesenta aracılığı ile bebeğe geçişi oldukça sınırlıdır (191). Literatür çalışmaları ayrıca, annelerin sütündeki Ba konsantrasyonunun, süt dişlerinin sert dokularındaki konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (192). Baryumun vücuttaki fizyolojik rolü açıklanamamaktadır. Bu elementin metabolizmaya dahil olmadığı ve homeostazı koruma sürecine katılmadığı bilinmektedir (193). Baryum vücutta çeşitli dokularda (akciğer, yağ dokusu, deri, göz dokusu) bulunur, ancak bu elementin konsantrasyonunun % 91'i kemik dokusunda biriktirilir (192). Mineralli dokuların ana bileşeni, element değiştirme yeteneği olan hidroksiapatittir. Ba'nın hidroksiapatit yapısına dahil edilmesi, kalsiyum dahil olmak

üzere fizyolojik olarak gerekli elementlerin konsantrasyonunun değişimine neden olur (194).

Fischer ve arkadaşlarının Polonya toplumunda süt dişlerinde yaptığı çalışmada (195) süt dişlerinde Baryum oranının $10.47 \pm 3.24 \mu\text{g/g}$ olduğunu bildirmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ise $719,529 \pm 3394,37$..olarak bulunmuştur. Bu değer bizim çalışmamızda istatistiksel olarak anlamsızdır ($p=0.3$, $p>0,05$). Baryumun postnatal dokularda daha fazla olması beklenirken bizim çalışmamızda oranlar benzerlik göstermiştir. Biz bunun çevresel faktörlere bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Ancak Baryumun bölgemiz coğrafi koşullarında ne kadar alınabildiği de önemli bir araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kalsifiye dokularda kromun varlığı bugüne kadar bir çok çalışmada bildirilmiştir. Kromun dokularda önemli olduğu bilinmektedir, çünkü insülinin periferik etkisi için bir kofaktör görevi görür (196). Bununla birlikte, kalsifiye dokularda kromun ayrıntılı araştırması yapılmamıştır ve kromun kalsifiye dental dokuların organik veya inorganik bileşenleriyle ilişkili olup olmadığı hala daha bilinmemektedir. Kurşun ve kadmiyum benzeri krom kanserin gelişimini tetikleyen bir faktör olarak sınıflandırılmıştır. Boya, tanen ve çimento üretiminde kullanılır. Galvanizleme sürecinde elde edilen antikorozyf kaplamalarda eleman bulunur. Krom maruziyeti cilt lezyonlarına ve solunum ve sindirim sistemlerinde bozukluklara neden olabilir. Aynı zamanda mutajenik ve embriyokoksik etki göstermektedir. Wychowanski ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada iki farklı yerleşim yerinde ikamet eden çocuklardan alınan süt dişleri analiz edilmiş ve iki popülasyonda yaşayan dentin dokusunda bulunan Krom elementin ortalama içeriği de aynı değerleri kabul etmiş ve $0.640 \mu\text{g} / \text{g}$ olarak hesaplanmış ve ortalama krom konsantrasyonu, bireylerin ikamet yerine bakılmaksızın $0.575 \mu\text{g} / \text{g}$ olmuştur (178) . Bizim çalışmamızda Krom Postnatal ve Prenatal örnekler karşılaştırıldığı zaman anlamlı farklılık göstermemiştir ($p=0.458$, $p>0.05$). Daha önceki yapılan çalışmalarda böyle bir karşılaştırma yapılmamış olmasına rağmen farklılık olmamasının olumlu olduğu kanaatindeyiz.

Manganez, metalurji, kimya ve seramik endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca boya, böcek ilacı ve gübrelerin üretiminde de kullanılır. Manganez'e yüksek

maruz kalma, solunum sistemine zarar verebilir. Bu element sinir sisteminin olgunlaşması ve işlevi üzerinde özellikle olumsuz bir etkiye sahiptir. Mn, protein ve enerji metabolizmasına ve metabolik düzenlemeye dahil olan enzimatik reaksiyonlarda gerekli bir besin ve kofaktördür (197). Bununla birlikte, insan çalışmaları, Mn ile yaşamın erken dönemlerinde temas süresinin uzamasının, gelişen organizma üzerinde zararlı etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

Wychowanski ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada iki farklı yerleşim yerinde ikamet eden çocuklardan alınan süt dişleri analiz edilmiş ve iki popülasyonda yaşayan dentin dokusunda bulunan Manganez'in tarım alanlarında kalan bireylerde konsantrasyonu $0.485 \mu\text{g} / \text{g}$, minede ortalama $0.639 \mu\text{g} / \text{g}$ içerdiği ve dentin bu elementin $0.320 \mu\text{g} / \text{g}$ 'ını içerdiği görülmüştür (178). Gunier ve arkadaşlarının California da yaptıkları bir çalışmada Prenatal dentin, prenatal maternal kan ve 24 aylık idrarda Mn düzeyleri çiftliklerde yaşayan çocuklar arasında daha yüksek ($p < 0.05$) olarak bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar Diş dentininde ölçülen Mn düzeylerinin prenatal Mn maruziyetin belirlenmesinde ümit verici bir biyobelirteç olarak tanımlamışlardır (198). Bizim çalışmamızda alınan örneklerde Manganezin (Mn) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür ($p=0.09, p<0,05$). Biz bunun dış etkenler ile karşılaşan çocukta postnatal mine yapısına daha fazla Manganezin girmesinden kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. Böylece anne rahminde izole ortamda bulunan çocuğun dış etkiler ile temasının bir yansıması olarak postnatal dönemde artışın olduğunu görmekteyiz.

Kadmiyum, bakır, çinko ve demir de dahil olmak üzere alaşımların üretim süreçlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, mikroçipler veya bilgisayarların anakartları gibi son derece uzmanlaşmış elektronik ürünlerin üretiminde de kullanılır. Bu nedenle, elden çıkarılması uygun olmayan veya biyolojik olarak zararlı kimyasalların çevreye salınmasıyla ilişkili olan "e-atık" in bir bileşenidir. Kadmiyum tehlikeli bir kanserojen faktör olarak kabul edilir (197). Ayrıca, bu elemente maruz kalmanın böbreklere ve iskeletin gelişimsel bozukluklarına zarar verdiği varsayılmaktadır (178).

Wychowanski ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada iki farklı yerleşim yerinde ikamet eden çocuklardan alınan süt dişleri analiz edilmiş ve tarım alanlarının sakinlerindeki dişlerin sert dokularındaki ortalama kadmiyum konsantrasyonu $0.020 \mu\text{g} / \text{g}$ iken, kentsel alanlardan elde edilen sert doku durumunda $0,033 \mu\text{g} / \text{g}$ düzeyinde anlamlı olarak daha yüksek olarak bulmuştur (178). Bizim çalışmamızda ise Kadmiyum (Cd) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir ($p=0.663$, $p>0.05$). Bunun nedeninin çocukların bizim bölgemizde Kadmiyum ile temasının daha az olabileceğinden kaynaklandığını, sonuç olarak teknolojik atıklara ulaşma ve bunların dokuya penetrasyonu için gerekli endüstriyel bölge özelliğini bölgemiz taşımamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Nikel, Kalsiyumdan daha büyük iyonik yarıçapa sahip zehirli bir metaldir. Bu nedenle, Ca varlığında, Hidroksiapatit içindeki hücrelerin c-ekseni boyunca dizimini azaltır. Kalsiyumun yerine geçerek Nikel Fosfat $\text{Ni}_3(\text{PO}_4)_2$ oluşturmak için oksijen ve fosfatlar ile bağlanır. Bu nedenle sert doku oluşumunda negatif rol oynar. Ghadimi, Ni^{2+} konsantrasyonu ile diş minedeki kristal boyutu arasında ters bir ilişki olduğunu bildirmiştir (199). Bizim yaptığımız çalışmada Nikelin prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür ($p=0.010$, $p<0,05$). Bunun çocuğun dış ortam ile ilişkisinin postnatal dönemde artışından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Nikel diş minesinin yapısına girebilir ve fiziko-kimyasal özelliklerini etkileyebilir. Bu nedenle seviyesi bizim çalışmamızda da olduğu gibi post natal dönemde de önemlidir(200).

Bakır, diş çürüğü ve erozyon gelişiminde temel bir süreç olan emayenin asit çözünürlüğü üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir (201). Minenin çözünmesi, bakır iyonlarının varlığında azalır. Diş yüzeyindeki koruyucu bakır fosfat fazının çöktürme yeteneği, mine yüzeyinin kristal yapının stabilizasyonu yoluyla demineralizasyonu azaltır ve inhibe eder. Ayrıca, bakır bakteriyel büyüme ve bakteriyel metabolik enzimlerin inhibisyonu yoluyla karyostatik etki gösterir (202). Klimuszko ve arkadaşlarının daimi dişler üzerinde 2018 yılında yaptıkları çalışmalarda ortalama

bakır konsantrasyonu, mine dış yüzeyden 150 µm derinliğe kadar artma göstermiştir. Sonra bu mineral seviyelerinin hafif bir düşüş ile 450 µm derinliğe kadar düşüş gösterdiği gözlemlenmiştir (203). Bizim yaptığımız çalışmada Bakır (Cu) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür ($p=0.001$, $p<0.05$). Çevresel etkilere bağlı olarak artış gösterdiği ve prenatal dokularda daha az bulunmasının bu dokuların demineralizasyona daha dayanıksız olduğunu göstermiştir.

Çinko, kallikrein dahil olmak üzere serin proteazların en güçlü inhibitörlerinden biridir. Çinko, alkalın fosfatazda bulunur ve bu enzimin aktivasyonunda önemli bir rol oynar. Çinkonun çoğunluğu, erüpsiyonundan hemen sonra dişlerde toplanır ve protein bağlanması çinko seviyesini belirleyen bir mekanizmadır (203). Üstelik, enamelisin ve transkripsiyon faktörleri Krox 25 ve Krox 26 dahil olmak üzere bazı metaloproteinazların bir bileşenidir (204). Bu mineral aynı zamanda kristal yüzeyinde emilir ve kristal yapının içine katılır ve bu yol ile hidroksiapatit ile etkileşime girer. Bu elementin düşük konsantrasyonları remineralizasyonu değiştirir veya inhibe eder; Bununla birlikte, aynı zamanda emaye çözünmeyi önemli ölçüde azaltırlar (205). Ameloblast çekirdeğindeki çinko konsantrasyonu mine oluşumu sırasında artar ve mine olgunlaşmasının erken evresinde en yüksek seviyeye ulaşır. Bizim yaptığımız çalışmada ise Çinko (Zn) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnasal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür ($p=0.002$, $p<0.05$). Bunun nedeninin ise çinkonun gelişim sürecini destekleyici bir element olduğu ve bu yüzden postnatal artış gösterdiğini düşünmekteyiz. Klimuszko ve arkadaşlarının daimi dişler üzerinde 2018 yılında yaptıkları çalışmalarda ortalama çinko konsantrasyonu, dış mine yüzeyden başlayarak 150-300 mikron katmandaki maksimum konsantrasyonla belirgin şekilde artmıştır. Bizim yaptığımız çalışmada da benzer şekilde artışın postnatal sert dokuda olması gelişim dönemselliğindeki benzerliği açısından paralel bir sonuç olduğu düşünülmektedir.

Arsenik zehirli bir metal olarak flor ile beraber bulunmaktadır. Ufak dozlarda bile etkilidir ve zehirlenmelerde önemli rol oynamaktadır. Bizim yaptığımız

çalışmada prenatal dönemde neredeyse yok denecek kadar az olan arsenik post natal dönemde oldukça artış göstermiştir. Bu artışın ($p=0.003$, $p<0.05$). Chakraborti ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmalarda (206), yeraltı sularında ve topraktan kaynaklı Arsenik birikmesinin yükselidğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda aynı şekilde Arsenik seviyesinin yükselmesinin dış etkenler ile temasın artmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Selenyum gıda alımı veya inhalasyon yoluyla vücut tarafından emilen, doğada yaygın olarak yayılmış metalik olmayan bir element. Monteil, Selenitli fosfatın anyonik değişimi ile sentetik HAP içinde Se^{4+} dahil olduğunu bildirmiştir (207). Ghadim ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda Se^{4+} , bir eksen ve C ekseni boyunca mine yapısı ile ilişki içerisinde (199). Muhler, Se^{4+} konsantrasyonunun dış erozyonuna / çürümesine karşı mine direncine olan etkisinin önemsiz olduğunu bildirmiştir (208). Bowen ise Se^{4+} 'nın mine çözünmesi ile doğrudan ilişkili olduğunu ileri sürmüştür (209). Bizim yaptığımız çalışmada Selenyum (Se) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir ($p=0.711$, $p>0.05$). Bu hem postnatal hemde prenatal dönem için benzer çözünebilirlik değeri gösteren bir yapının olduğunu düşündürmektedir.

Titanyum'un iyonik yarıçapı kalsiyumdan daha küçüktür. Bu nedenle, Ca iyonlarının sentetik HAP içerisindeki Ti ile yerdeğiştirmesi edilmesi kristallerin alan büyüklüğünü azaltır. Böylece mine Ti konsantrasyonu artışı yapının moleküler büyüklüğünü azaltarak daha rijit bir yapının oluşmasını sağlamaktadır (210). Bizim yaptığımız çalışmada Titanyum (Ti) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir ($p=0.853$, $p>0.05$). Bunun yapısal olarak dayanım ve moleküler seviyede değişikliğin olmadığını gösterdiğini düşünmekteyiz. Ergun 2008 yılında yaptığı çalışmada HA yapısının hacimsel olarak Ti miktarını arttırarak daraldığını belirtmiştir. Ti'nin iyonik yarıçapı HA: Ca, O ve P'nin tüm bileşenlerinden daha küçük olduğundan, Ti'nin yer değiştirmesinin apatit yapısal hacminin büzülmesine yol açtığını kabul edilmesi gerektiğini bildirmiştir.

Kurşun (Pb) insan vücudu için zararlı ve zehirli olan ağır bir metal, Pb, Ca'ların yerine sentetik hidroksiapatit kristallerine girebilir. Düşük konsantrasyonda HAP ile Pb etkileşimi kristal boyutunu azaltır. Pb'nin mine apatit büyüklüğü ile negatif korelasyonunu kanıtlayan bir araştırma ile desteklenmiştir (199, 211). Bizim çalışmamızda Kurşun (Pb) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı arttığı görülmüştür elementlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.032$, $p<0.05$). Bunun nedeninin tamamen postnatal yapılarıdaki hidroksiapatit kristallerinin daha sıkı yapıda bağlanma gösterdiğinden ve postnatal yapıların moleküler hacminin daha küçük olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Shishniashvili ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada (212) Pb'in diş sert dokulardaki içeriğinin, daha az kirlenmiş alanlara kıyasla çevre kirliliğine marız alanlarda daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu, diş dokularının çevre kirliliğinin bir göstergesi olarak kullanılabileceği varsayımını doğrulamaktadır.

Gümüş (Ag) dişin yapısında çok eser miktarlarda yapısal stabiliteyi ve dış etkenlere karşı korumayı sağlayan bir metal iyonudur (183, 187, 188). Gümüş iyonunun daha çok çürük önleme amacı ile daha sonrasında çeşitli bileşikleri kullanılır. Hem antibakteriyel özellikleri hem de Floridli bileşikleri ile çürük önleme de alternatif olarak kullanılmaktadır. Bizim yaptığımız çalışmada Gümüş (Ag) prenatal dönemde konsantrasyonu ile postnatal dönem konsantrasyonlar karşılaştırıldığında postnatal dönemde konsantrasyonları arasında anlamlı değişiklik görülmemiştir ($p=0.683$, $p>0.05$). Bunun ile dişin her döneminde dışarıdan yapısal korumaya ihtiyaç duyabildiğini gösterdiğini düşünmekteyiz. Her iki döneminde çürüğe ve mineral çözünmesine eşit oranda drenç gösterdiğini düşünmekteyiz.

7. SONUÇLAR

1. Prenatal ve Postnatal sert doku yapıları bu çalışmamızda değerlendirilmiş olup bu yapılar arasında iyonik olarak bazı elementlerde farklılık gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu farklılık çevresel özelliklere göre değişiklik gösterdiği daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir. Yine aynı zamanda bu minerallerde farklılıkların dişin yapısal özelliklerini dönemsel olarak değiştirdiği de belirlenmiştir.

2. Yapısal farklılıkların intrauterin hayat ile postnatal dönemde mineralize olan dokular için uygulanacak olan restoratif malzemelere karşı yanıtı da değiştirdiği kısmen mikrosızıntı değerlerinden gözlemlenmiştir. Bunun daha ileri düzeyde araştırılması gerekir.

3. çevresel etkilerin dişlerde önemli olduğu bilinmektedir. Gelişimsel bu iki dönemde de çevresel etkenler iyon seviyesinde değişikliğe neden olur. Bunlar bazı minerallerin postnatal dönemde daha fazla olması veya azlaması ile kendini gösterdiği çalışmamızda gözlemlenmiştir. Bu değişiklikler yapısal olarak dişlerde farklılık meydana getiri. Dişin belirli dönemleri hakkında bizlere detaylı bilgiler verebilir.

4. Bizim yaptığımız bu tez çalışmanın bizden önceki çalışmalara ile desteklenen tarafları olduğu gibi mikrosızıntı çalışmaları ile dişin iyonik yapısı arasındaki bağın araştırılması açısından daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu kanısındayız.

8.KAYNAKLAR

- 1.Reitznerova´ , E., D. Amarasiriwardena, M. Kopca´kova´ and R. M. Barne. 2000. Determination of some trace elements in human tooth enamel. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 8:748–754.
2. M Massler, I Schour 1946– Growth of the child and the calcification pattern of the teeth. *American journal of orthodontics and oral surgery*, Pages 495-517.
3. Lunt & Law 1974- A review of the chronology of calcification of deciduous teeth. *The Journal Of The American Dental Association*, Page 599-606.
- 4.Ten Cate, A. R. (1994). *Oral Histology: development, structure, and function*. St Louis, Mosby.
- 5.Ehrlich, H., Koutsoukos, P. G., Demadis, K. D. & Pokrovsky, O. S. (2009). Principles of demineralization: modern strategies for the isolation of organic frameworks. Part II. Decalcification. *Micron*, 40, 169-193.
- 6.Whittaker, D. K. (1982). Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol*, 27, 383-392.
- 7.Garnett, J. & Dieppe, P. (1990). The effects of serum and human albumin on calcium hydroxyapatite crystal growth. *Biochem J*, 266, 863-868.
- 8.Aguirre, J. M., Rodriguez, R., Oribe, D. & Vitoria, J. C. (1997). Dental enamel defects in celiac patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 84, 646-650.
- 9.Aine, L., Maki, M., Collin, P. & Keyrilainen, O. (1990). Dental enamel defects in celiac disease. *J Oral Pathol Med*, 19, 241-245.

10. Nikiforuk, G. & Fraser, D. (1981). The etiology of enamel hypoplasia: a unifying concept. *J Pediatr*, 98, 888-893.
11. Fejerskov, O., Baelum, V., Manji, F. & Möller, I. (1988). *Dental fluorosis – a handbook for health workers*. Copenhagen, Munksgaard.
12. Derise, N. L. & Ritchey, S. J. (1974). Mineral composition of normal human enamel and dentin and the relation of composition to dental caries. II. Microminerals. *J Dent Res*, 53, 853-858.
13. Sabel, N., Dietz, W., Lundgren, T., Nietzsche, S., Odelius, H., Rythén, M., Rizell, S., Robertson, A., Norén, J. G. & Klingberg, G. (2009). Elemental composition of normal primary tooth enamel analyzed with XRMA and SIMS. *Swed Dent J*, 33, 75-83.
14. Wong, F. S., Anderson, P., Fan, H. & Davis, G. R. (2004). X-ray microtomographic study of mineral concentration distribution in deciduous enamel. *Arch Oral Biol*, 49, page 937-944.
15. Lakomaa, E. L. & Rytomaa, I. (1977). Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res*, 85, page 89-95.
16. Rythén, M., Sabel, N., Dietz, W., Robertson, A. & Norén, J. G. (2010). Chemical aspects on dental hard tissues in primary teeth from preterm infants. *Eur J Oral Sci*, 118, page 389-395.
17. Risnes, S. (1990). Structural characteristics of staircase-type Retzius lines in human dental enamel analyzed by scanning electron microscopy. *Anat Rec*, 226, page 135-146.

- 18.** Gustafson, A. G. (1959). A morphological investigation of certain variations in the structure and mineralization of human dental enamel. *Odontologisk Tidsskrift*, 365-466.
- 19.** Boyde, A. (1997). Microstructure of enamel. *Ciba Found Symp*, 205, 18-27; discussion 27-31.
- 20.** Dean, M. C. (1989). The developing dentition and tooth structure in hominoids. *Folia Primatol (Basel)*, 53, 160-176.
- 21.** Helmcke, J.-G., Schulz, L. & Scott, D. B. (1963). Querstreifung der menschlichen Schmelzprismen. *Deutsche Zahnärztl. Z*, 18, 569-575, 626-637.
- 22.** Massler, M. & Schour, I. (1946). Growth of the child and the calcification pattern of the teeth. *Am J Orthod Oral Surg*, 32, 495-517.
- 23.** Schour, I. (1936). The neonatal line in enamel and dentin of the human deciduous teeth and first permanent molar. *Jour. A.D.A.*, 23, 1946-1955.
- 24.** Norén, J. G. (1983). Enamel structure in deciduous teeth from low-birth-weight infants. *Acta Odontol Scand*, 41, 355-362.
- 25.** Szpringer-Nodzak, M. (1984). The location of the neonatal line in human enamel. *J Int Assoc Dent Child*, 15, 1-6.
- 26.** Norén, J. G. (1984). Microscopic study of enamel defects in deciduous teeth of infants of diabetic mothers. *Acta Odontol Scand.*, 42, 153-156.
- 27.** Ranggard, L., Ostlund, J., Nelson, N. & Norén, J. G. (1995). Clinical and histologic appearance in enamel of primary teeth from children with neonatal hypocalcemia induced by blood exchange transfusion. *Acta Odontol Scand*, 53, 123-128.

- 28.** Skobe, Z. (2006). SEM evidence that one ameloblast secretes one keyhole-shaped enamel rod in monkey teeth. *Eur J Oral Sci.*,114, 338-342; discussion 349-350, 382.
- 29.** Radlanski, R. J. & Renz, H. (2006). Developmental movements of the inner enamel epithelium as derived from micromorphological features. *Eur J Oral Sci.*,114, 343-348; discussion 349-350, 382.
- 30.** Fejerskov, O., Silverstone, L. M., Melsen, B. & Moller, I. J. (1975). Histological features of fluorosed human dental enamel. *Caries Res*, 9, 190-210.
- 31.** Hallsworth, A. S., Robinson, C. & Weatherbell, J. A. (1972). Mineral and magnesium distribution within the approximal carious lesion of dental enamel. *Caries Res*, 6, 156-168.
- 32.** Hallsworth, A. S., Weatherell, J. A. & Robinson, C. (1973). Loss of carbonate during the first stages of enamel caries. *Caries Res*, 7, 345-348.
- 33.** Lodding, A., Frostell, G., Kkoch, G., Norén, J., Odellius, H., Petersson, LG (1981). Ion probe and electron probe study of element concentrations at different depths in sound and hypomineralized teeth. *J Microsc Spectrosc electron*, 6, 201-211.
- 34.** Norén, J. G., Lodding, A., Odellius, H. & Linde, A. (1983). Secondary ion mass spectrometry of human deciduous enamel. Distribution of Na, K, Mg, Sr, F and Cl. *Caries Res*, 17, 496-502.
- 35.** Lakomaa, E. L. & Rytomaa, I. (1977). Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res*, 85, 89-95.

- 36.** Clarkson, J. (1989). Review of terminology, classifications, and indices of developmental defects of enamel. *Adv Dent Res*, 3, 104-109.
- 37.** Robinson, C., Kirkham, J., Stonehouse, N. J. & Shore, R. C. (1989). Control of crystal growth during enamel maturation. *Connect Tissue Res*, 22, 139-145.
- 38.** Garnett, J. & Dieppe, P. (1990). The effects of serum and human albumin on calcium hydroxyapatite crystal growth. *Biochem J*, 266, 863-868.
- 39.** Robinson, C., Kirkham, J., Brookes, S. J. & Shore, R. C. (1992). The role of albumin in developing rodent dental enamel: a possible explanation for white spot hypoplasia. *J Dent Res*, 71, 1270-1274.
- 40.** Fejerskov, O., Baelum, V., Manji, F. & Möller, I. (1988). *Dental fluorosis – a handbook for health workers*. Copenhagen, Munksgaard.
- 41.** Fejerskov, O., Ekstrand, J. & Burt, B. A. (1996). *Fluoride in dentistry*. Copenhagen, Munksgaard.
- 42.** Rozier, R. G. & Dudley, G. G. (1981). Dental fluorosis in children exposed to multiple sources of fluoride: implications for school fluoridation programs. *Public Health Rep*, 96, 542-546.
- 43.** Fejerskov, O., Silverstone, L. M., Melsen, B. & Moller, I. J. (1975). Histological features of fluorosed human dental enamel. *Caries Res*, 9, 190-210.
- 44.** Vieira, A. P., Hancock, R., Eggertsson, H., Everett, E. T. & Grynepas, M. D. (2005). Tooth quality in dental fluorosis genetic and environmental factors. *Calcif Tissue Int*, 76, 17-25.

- 45.** Zhang, Y., Yan, Q., Li, W. & DenBesten, P. K. (2006). Fluoride down-regulates the expression of matrix metalloproteinase-20 in human fetal tooth ameloblast lineage cells in vitro. *Eur J Oral Sci*, 114 Suppl 1, 105-110; discussion 127- 109, 380.
- 46.** Hu, J. C., Chun, Y. H., Al Hazzazi, T. & Simmer, J. P. (2007). Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 186, 78-85.
- 47.** Suga, S. (1989). Enamel hypomineralization viewed from the pattern of progressive mineralization of human and monkey developing enamel. *Adv Dent Res*, 3, 188-198.
- 48.** Nikiforuk, G. & Fraser, D. (1981). The etiology of enamel hypoplasia: a unifying concept. *J Pediatr*, 98, 888-893.
- 49.** Ranggard, L. & Norén, J. G. (1994). Effect of hypocalcemic state on enamel formation in rat maxillary incisors. *Scand J Dent Res*, 102, 249-253.
- 50.** Hong, L., Levy, S. M., Warren, J. J. & Broffitt, B. (2009). Association between enamel hypoplasia and dental caries in primary second molars: a cohort study. *Caries Res*, 43, 345-353.
- 51.** Needleman, H. L., Leviton, A. & Allred, E. (1991). Macroscopic enamel defects of primary anterior teeth--types, prevalence, and distribution. *Pediatr Dent*, 13, 208-216.
- 52.** Taji, S. S., Seow, W. K., Townsend, G. C. & Holcombe, T. (2011). Enamel hypoplasia in the primary dentition of monozygotic and dizygotic twins compared with singleton controls. *Int J Paediatr Dent*, 21, 175-184.
- 53.** Vello, M. A., Martinez-Costa, C., Catala, M., Fons, J., Brines, J. & Guijarro-Martinez, R. (2010). Prenatal and neonatal risk factors for the development of enamel defects in low birth weight children. *Oral Dis*, 16, 257-262.

- 54.** Kraus, B. S. & Jordan, R. E. (1965). *The human dentition before birth*. Philadelphia, Lea & Febiger.
- 55.** Robinson, C., Brookes, S. J., Shore, R. C. & Kirkham, J. (1998). The developing enamel matrix: nature and function. *Eur J Oral Sci*, 106 Suppl 1, 282-291.
- 56.** Deutsch, D., Palmon, A., Dafni, L., Mao, Z., Leytin, V., Young, M. & Fisher, L. W. (1998). Tuftelin--aspects of protein and gene structure. *Eur J Oral Sci*, 106 Suppl 1, 315-323.
- 57.** Robinson, C., Briggs, H. D. & Atkinson, P. J. (1981). Histology of enamel organ and chemical composition of adjacent enamel in rat incisors. *Calcif Tissue Int*, 33, 513-520.
- 58.** Hu, J. C., Hu, Y., Smith, C. E., McKee, M. D., Wright, J. T., Yamakoshi, Y., Papagerakis, P., Hunter, G. K., Feng, J. Q., Yamakoshi, F. & Simmer, J. P. (2008). Enamel defects and ameloblast-specific expression in Enam knockout/ lacz knock-in mice. *J Biol Chem*, 283, 10858-10871.
- 59.** Simmer, J. P., Hu, Y., Lertlam, R., Yamakoshi, Y. & Hu, J. C. (2009). Hypomaturational enamel defects in Klk4 knockout/LacZ knockin mice. *J Biol Chem*, 284, 19110-19121.
- 60.** Termine, J. D., Belcourt, A. B., Christner, P. J., Conn, K. M. & Nysten, M. U. (1980). Properties of dissociatively extracted fetal tooth matrix proteins. I. Principal molecular species in developing bovine enamel. *J Biol Chem*, 255, 9760- 9768.
- 61.** Sasaki, T., Takagi, M. & Yanagisawa, T. (1997). Structure and function of secretory ameloblasts in enamel formation. *Ciba Found Symp*, 205, 32-46; discussion 46-50.

- 62.** Wright, J. T., Hall, K. & Yamauchi, M. (1997). The protein composition of normal and developmentally defective enamel. *Ciba Found Symp*, 205, 85-99; discussion 99-106.
- 63.** Thylstrup, A. & Fejerskov, O. (1986). *Textbook of cariology*. . Copenhagen, Munksgaard.
- 64.** Hu, J. C., Chun, Y. H., Al Hazzazzi, T. & Simmer, J. P. (2007). Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 186, 78-85.
- 65.** Ehrlich, H., Koutsoukos, P. G., Demadis, K. D. & Pokrovsky, O. S. (2008). Principles of demineralization: modern strategies for the isolation of organic frameworks. Part I. Common definitions and history. *Micron*, 39, 1062- 1091.
- 66.** Dawes, C. & Jenkins, G. N. (1962). Some inorganic constituents of dental plaque and their relationship to early calculus formation and caries. *Arch Oral Biol*, 7, 161-172.
- 67.** Ehrlich, H., Koutsoukos, P. G., Demadis, K. D. & Pokrovsky, O. S. (2009). Principles of demineralization: modern strategies for the isolation of organic frameworks. Part II. Decalcification. *Micron*, 40, 169-193.
- 68.** Yoshioka, M., Yoshida, Y., Inoue, S., Lambrechts, P., Vanherle, G., Nomura, Y., Okazaki, M., Shintani, H. & Van Meerbeek, B. (2002). Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res*, 59, 56-62.
- 69.** Margolis, H. C. & Moreno, E. C. (1992). Kinetics of hydroxyapatite dissolution in acetic, lactic, and phosphoric acid solutions. *Calcif Tissue Int*, 50, 137-143.
- 70.** den Besten, P. K. (1986). Effects of fluoride on protein secretion and removal during enamel development in the rat. *J Dent Res*, 65, 1272-1277.

- 71.** Orvig, T. Phylogeny of tooth tissues: evolution of some calcified tissues in early vertebrates. In: Miles, AEW., editor. Structural and chemical organization of teeth. Academic Press; New York and London: 1967. p. 45-110.
- 72.** Kawasaki K, Buchanan AV, Weiss KM. Gene Duplication and the Evolution of Vertebrate Skeletal Mineralization. *Cells Tissues Organs*. 2007; 186: 7–24. [PubMed: 17627116]
- 73.** Takuma S, Yanagisawa T, Lin WL. Ultrastructural and microanalytical aspects of developing osteodentin in rat incisors. *Calcif Tissue Res*. 1977; 29: 215–222. [PubMed: 202378]
- 74.** Kagayama M, Sasano Y, Tsuchia M, Watanabe M, Mizoguchi I, Kamakura S, Motegi K. Confocal microscopy of Tomes's granular layer in dog premolar teeth. *Anat Embryol*. 2000; 201: 131–137. [PubMed: 10672365]
- 75.** Wang RZ, Weiner S. Strain-structure relations in human teeth using Moiré fringes. *J Biomech*. 1998; 31:135–141. [PubMed: 9593206]
- 76.** Takagi Y, Sasaki S. Histological distribution of phosphophoryn in normal and pathological human dentins. *J Oral Pathol*. 1986; 15: 463–467. [PubMed: 2433419]
- 77.** Rahima M, Tsay TG, Andujar M, Veis A. Localization of phosphophoryn in rat incisor dentin using immunocytochemical techniques. *J Histochem Cytochem*. 1988; 36: 153–157. [PubMed: 3335773]
- 78.** MacDougall M, Slavkin HC, Zeichner-David M. Characteristics of phosphorylated and nonphosphorylated dentin phosphoprotein. *Biochem J*. 1992; 287:851–856.

79. Goldberg M, Septier D, Bourd K, Hall R, Jeanny J-Cl, Jonet L, Colin S, Tager F, Chaussain-Miller C, Garabedian M, George A, Goldberg H, Menashi S. The dentino-enamel junction revisited. *Connect Tissue Res.* 2002; 43: 482–489. [PubMed: 12489202]

80. Boukpepsi T, Septier D, Bagga S, Garabedian M, Goldberg M, Chaussain-Miller C. Dentin alteration of deciduous teeth in human hypophosphatemic rickets. *Calcif Tissue Int.* 2006; 79: 294– 300. [PubMed: 17115324]

81. Wang R, Weiner S. Human root dentin : structural anisotropy and Vickers microhardness isotropy. *Connect Tissue Res.* 1998; 39: 269–279. [PubMed: 11063007]

82. Goldberg M, Molon Noblot M, Septier D. Effect of 2 methods of demineralization on the preservation of glycoproteins and proteoglycans in the intertubular and peritubular dentin in the horse. *J Biol Buccale.* 1980; 8: 315–330. [PubMed: 6783643]

83. Gotliv B-A, Veis A. Peritubular Dentin, a Vertebrate Apatitic Mineralized Tissue without Collagen: Role of a Phospholipid-Proteolipid Complex. *Calcif Tissue Int.* 2007; 81: 191–205.[PubMed: 17674072]

84. Goldberg, M.; Boskey, AL. *Progress in Histochem Cytochem.* Vol. 31. G. Fisher; Stuttgart: 1996. Lipids and biomineralizations; p. 1-189.

85. Lester, KS.; Boyde, A. The surface morphology of some crystalline components of dentine. In: Symons, NBB., editor. *Dentine and pulp: their structure and reactions.* Thomson & co LTD; Dundee: 1968. p. 197-219.

- 86.** Schroeder L, Frank RM. High resolution transmission electron microscopy of adult human peritubular dentine. *Cell Tissue Res.* 1985; 242: 449–451. [PubMed: 4053174]
- 87.** Goldberg M, Septier D. A comparative study of the transition between pre dentin and dentin using various preparative procedures in the rat. *Europ J Oral Sciences.* 1996; 104: 269–277.
- 88.** Goldberg M, Septier D, Rapoport O, Iozzo RV, Young MF, Ameye LG. Targeted disruption of two small leucine-rich proteoglycans, biglycan and decorin, exerts divergent effects on enamel and dentin formation. *Calcif Tissue Int.* 2005; 77: 297–310. [PubMed: 16283572]
- 89.** Goldberg M, Septier D, Oldberg A, Young MF, Ameye LG. Fibromodulin-deficient mice display impaired collagen fibrillogenesis in pre dentin as well as altered dentin mineralization and enamel formation. *J Histochem Cytochem.* 2006; 54: 525–537. [PubMed: 16344330]
- 90.** Goldberg, M.; Septier, D.; Escaig-Haye, F. *Progress in Histochemistry Cytochemistry.* Vol. 17/2. Stuttgart: G.Fischer Verlag; 1987. Glycoconjugates in dentinogenesis and dentine; p. 1-113.
- 91.** Silver FH, Langley KH, Trelstad RL. Type I collagen fibrillogenesis: initiation via reversible linear and lateral growth steps. *Biopolymers.* 2004; 18: 2523–2535. [PubMed: 526548]
- 92.** Höehl E. Beitrag zur histology der pulpa und des dentins. *Archiv für Anatomie und Physiologie.* 1896; 32: 31–54.
- 93.** Jones, SJ.; Boyde, A. Ultrastructure of dentin and dentinogenesis. In: Linde, A., editor. *Dentin and dentinogenesis.* Vol. Chapter 4. CRC Press; Boca Raton, Florida: 1984. p. 81-134.

- 94.** Azevedo N, Goldberg M. Le développement post-natal des structures dentaires chez *Didelphis albiventris*. *J Biol Buccale*. 1987; 15: 23–35. [PubMed: 2435710]
- 95.** Ruch J-V, Lesot H, Begue-Kirn C. Odontoblast differentiation. *Int J Dev Biol*. 1995; 39: 51–68 [PubMed: 7626422]
- 96.** Goldberg M, Septier D, Lécolle S, Chardin H, Quintana MA, Acevedo AC, Gafni G, Dillouya D, Vermelin L, Thonemann B, Schmalz G, Bissila-Mapahou P, Carreau JP. Dental mineralization. *Int J Dev Biol*. 1995; 39: 93–110. [PubMed: 7626424]
- 97.** Weinstock M, Leblond CP. Synthesis, migration and release of precursor collagen by odontoblasts as visualized by radioautography after 3H-proline administration. *J Cell Biol*. 1974; 60: 92–127. [PubMed: 4129079]
- 98.** Lormée P, Lécolle S, Beaudin, Septier D, Goldberg M. Dual incorporation of (35S) sulfate into dentin proteoglycans acting as mineralization promoters in rat molars, and predentin proteoglycans. *Calcified Tissue International*. 1996; 58: 368–375. [PubMed: 8661973]
- 99.** Hall R, Septier D, Embery G, Goldberg M. Stromelysin-1 (MMP-3) in forming enamel and predentine in rat incisor – coordinated distribution with proteoglycans suggests a functional role. *Histochemical J*. 1999; 31: 761–770.
- 100.** Alford AI, Hankenson KD. Matricellular proteins: extracellular modulators of bone development, remodeling, and regeneration. *Bone*. 2006; 38: 749–757. [PubMed: 16412713]
- 101.** Jadowiec JA, Zhang X, Li J, Campbell PG, Sfeir C. Extracellular matrix-mediated signaling by dentin phosphophoryn involves activation of the Smad pathway independent of bone morphogenetic protein. *J Biol Chem*. 2006; 281: 5341–5347. [PubMed: 16326713]

- 102.** Bonucci E. Fine structure of early cartilage calcification. *J Ultrastruct Res.* 1967; 20: 3. [PubMed: 4195919]
- 103.** Anderson HC. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J Cell Biol.* 1969; 41: 59–72. [PubMed: 5775794]
- 104.** Qin C, D’Souza R, Feng JQ. Dentin matrix protein 1 (DMP1): new and important roles for biomineralization and phosphate homeostasis. *J Dent Res.* 2007 Dec; 86(12):1134-41.
- 105.** Matsuki Y, Nakashima M, Amizuka N, Warshawsky H, Goltzman D, Yamada KM, Yamada Y. A Compilation of Partial Sequences of Randomly Selected cDNA Clones from the Rat Incisor. *J Dent Res.* 1995; 74: 307–312. [PubMed: 7876422]
- 106.** Buchaille R, Couble ML, Magloire H, Bleicher F. A subtractive PCR-based cDNA library from human odontoblast cells: identification of novel genes expressed in tooth forming cells. *Matrix Biol.* 2000; 19: 421–430. [PubMed: 10980418]
- 107.** Tompa P. *Structure and Function of Intrinsically Disordered Proteins*, CRC Press, Boca Raton, FLA, 2009],
- 108.** Van der Rest M, Garrone R. Collagen family of proteins. *FASEB J.* 1991; 5: 2814–2823. [PubMed: 1916105]
- 109.** David L, Christiansen, Huang Eric K, Frederick H. Silver Assembly of type I collagen: fusion of fibril subunits and the influence of fibril diameter on mechanical properties. *Matrix Biology.* 2000; 19 : 409–420. [PubMed: 10980417]
- 110.** Milan AM, Sugars RV, Embery G, Waddington RJ. Modulation of Collagen Fibrillogenesis by Dentinal Proteoglycans. *Calcif Tissue Int.* 2005; 76: 127–135. [PubMed: 15549638]

- 111.** Shashikiran ND, Subba Reddy VV, Hiremath MC. Estimation of trace elements in sound and carious enamel of primary and permanent teeth by atomic absorption spectrophotometry: an in vitro study. *Indian J Dent Res.* 2007;18:157-62.
- 112.** Reitznerova E, Amarasiriwardena D, Kopcakova M, Barnes RM. Determination of some trace elements in human tooth enamel. *Fresen J Anal Chem.* 2000;367:748-754.
- 113.** Navia JM. Evaluation of nutritional and dietary factors that modify animal caries. *J Dent Res.* 1970;49:1213-28.
- 114.** Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent.* 2004;28:119-24.
- 115.** Eugene PL. *Dental Biochemistry*, 2nd ed. Lea & Febiger, 1976, p. 1–347.
- 116.** He B, Huang S, Zhang C, Jing J, Hao Y, Xiao L, Zhou X. Mineral densities and elemental content in different layers of healthy human enamel with varying teeth age. *Arch Oral Biol.* 2011;56:997-1004.
- 117.** De Menezes Oliveira MA, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FC, Palma- Dibb RG, Borsatto MC. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech.* 2010;73:572-7.
- 118.** Rohanzadeh R, LeGeros RZ, Fan D, Jean A, Daculsi G. Ultrastructural properties of laserirradiated and heat-treated dentin. *J Dent Res.* 1999;78:1829-1835.

- 119.** Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Compositional and structural changes of human dentin following caries removal by Er, Cr:YSGG laser irradiation in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent.* 2002;26:377-82.
- 120.** Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Atomic analysis and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er, Cr:YSGG laser irradiation in vitro. *J Oral Rehabil.* 2003;30:515-21.
- 121.** Çelik EU, Ergucu Z, Turkun LS, Turkun M. Effect of different laser devices on the composition and microhardness of dentin. *Oper Dent.* 2008;33:496-501.
- 122.** Seçilmiş A, Altıntaş S, Üğümez A, Berk G. Evaluation of mineral content of dentin prepared by erbium, chromium:yttrium scandium gallium garnet laser. *Lasers Med Sci.* 2008;23:421- 5.
- 123.** Omae M, Shinnou Y, Tanaka K, Abo T, Nakata T, Suzuki K, Hatsuoka Y, Iwata N, Yoshikawa K, Nishitani Y, Yamamoto K, Yoshiyama M. XPS analysis of the dentin irradiated by Er: YAG laser. *Dent Mater J.* 2009;28:471-6.
- 124.** Seçilmiş A, Üşümez A, Üşümez S, Berk G. Evaluation of mineral content of enamel prepared by erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium-garnet laser. *Lasers Med Sci.* 2010; 25: 467- 72.
- 125.** Shahabi S, Zendedel S. Atomic analysis and hardness measurement of the cavity prepared by laser. *Lasers Med Sci.* 2010; 25: 379-83.
- 126.** Rodriguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Olea-Mejia OF, Sanchez-Flores I, Centeno-Pedraza C. Morphological and structural changes on human dental enamel after Er:YAG laser irradiation: AFM, SEM, and EDS evaluation. *Photomed Laser Surg.* 2011;29:493-500.

- 127.** Seçilmiş A, Dilber E, Gokmen F, Ozturk N, Telatar T. Effects of storage solutions on mineral contents of dentin. *J Dent Sci.* 2011;6: 189-194.
- 128.** Kinloch AJ. Adhesion and Adhesives. Science and Technology. 1st ed. London, Chapman and Hall, 1987.
- 129.** Allen KW. Adsorption theory of adhesion. Theories of adhesion. Essex, England, Longman, 1992.
- 130.** Packham DE. Adhesion. Essex, England, Longman, 1992.
- 131.** Van Meerbeek BV, Landuyt KV, Munck JD, Inoue S, Yoshida Y, Perdigao J, Lambrechts P, Peumans M. Bonding to Enamel and Dentin. 3rd. China, Quintessence Publishing Co Inc, 2006.
- 132.** Erickson RL. Surface interactions of dentin adhesive materials. *Oper Dent.* 1992;Suppl 5: 81-94.
- 133.** Ruyter IE. The chemistry of adhesive agents. *Oper Dent.* 1992;Suppl 5: 32-43.
- 134.** Eliades G. Clinical relevance of the formulation and testing of dentine bonding systems. *J Dent.* 1994; 22: 73-81.
- 135.** Padday J. Contact angle measurement. Essex, England, Longman, 1992.
- 136.** Baier RE. Principles of adhesion. *Oper Dent.* 1992;Suppl 5:1-9.
- 137.** Phillips RW. Skinner's Science of Dental Materials. 8th edition. Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1982.
- 138.** Duke ES. Adhesion and its application with restorative materials. *Dent Clin North Am.* 1993;37:329-40.

- 139.** Morin D, DeLong R, Douglas WH. Cusp reinforcement by the acid-etch technique. *J Dent Res.* 1984;63: 1075-8.
- 140.** Eakle WS. Fracture resistance of teeth restored with class II bonded composite resin. *J Dent Res.* 1986;65: 149-53.
- 141.** Hansen EK. In vivo cusp fracture of endodontically treated premolars restored with MOD amalgam or MOD resin fillings. *Dent Mater.* 1988;4: 169-73.
- 142.** Gwinnett AJ. Interactions of dental materials with enamel. *Trans Acad Dent Mater.* 1990;3: 30.
- 143.** Moss S. *Growing up Cavity Free: A Parent's Guide to Prevention.* Chicago, Quintessence Publishing Co Inc, 1993.
- 144.** Cengiz T. *Endodonti.* 4. baskı. İzmir, Barış yayınları, 1996.
- 145.** Nordenvall KJ, Brannstrom M, Malmgren O. Etching of deciduous teeth and young and old permanent teeth. A comparison between 15 and 60 seconds of etching. *Am J Orthod.* 1980;78: 99-108.
- 146.** Lyon D. Orientation of the crystallites in human dental enamel. *Br dent J.* 1957;102: 483.
- 147.** Linde A. The extracellular matrix of the dental pulp and dentin. *J Dent Res.* 1985;64 Spec No: 523-9.
- 148.** Mjör IA, Fejerskov O. *Human Oral Embryology and Histology.* 1st ed. Copenhagen, Munksgaard, 1986.

- 149.** Garberoglio R, Brannstrom M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol.* 1976;21: 355-62.
- 150.** Pashley DH. Smear layer: physiological considerations. *Oper Dent Suppl.* 1984;3: 13-29.
- 151.** Yamada T, Nakamura K, Iwaku M, Fusayama T. The extent of the odontoblast process in normal and carious human dentin. *J Dent Res.* 1983;62: 798-802.
- 152.** Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate--a review. *Scanning Microsc.* 1989;3: 161-74; discussion 174-6.
- 153.** Pashley DH. Interactions of dental materials with dentin. *Trans Acad Dent Mater.* 1990;3: 55.
- 154.** Heymann HO, Bayne SC. Current concepts in dentin bonding: focusing on dentinal adhesion factors. *J Am Dent Assoc.* 1993;124: 26-36.
- 155.** Marchetti C, Piacentini C, Menghini P. Morphometric computerized analysis on the dentinal tubules and the collagen fibers in the dentine of human permanent teeth. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol.* 1992;35: 125-9.
- 156.** Stanley HR, Pereira JC, Spiegel E, Broom C, Schultz M. The detection and prevalence of reactive and physiologic sclerotic dentin, reparative dentin and dead tracts beneath various types of dental lesions according to tooth surface and age. *J Oral Pathol.* 1983;12: 257-89.
- 157.** Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate--a review. *Scanning Microsc.* 1989;3: 161-74; discussion 174-6.

- 158.** Yoshiyama M, Masada J, Uchida A, Ishida H. Scanning electron microscopic characterization of sensitive vs. insensitive human radicular dentin. *J Dent Res.* 1989;68:1498-502.
- 159.** Tagami J, Hosoda H, Burrow MF, Nakajima M. Effect of aging and caries on dentin permeability. *Proc Finn Dent Soc.* 1992;88 Suppl 1: 149-54.
- 160.** Yoshiyama M, Noiri Y, Ozaki K, Uchida A, Ishikawa Y, Ishida H. Transmission electron microscopic characterization of hypersensitive human radicular dentin. *J Dent Res.* 1990; 69: 1293-7.
- 161.** Duke ES, Lindemuth J. Variability of clinical dentin substrates. *Am J Dent.* 1991;4: 241-6.
- 162.** Van Meerbeek B, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. *J Dent.* 1994; 22: 141-6.
- 163.** Frank RM, Voegel JC. Ultrastructure of the human odontoblast process and its mineralisation during dental caries. *Caries Res.* 1980;14: 367-80.
- 164.** Mjör I. Reactions patterns of dentin. Oxford, England, IRL Press, 1987.
- 165.** Ten Cate JM, Jongebloed WL, Simons YM. Adaptation of dentin to the oral environment dentine and dentine reactions in the oral cavity. In: Thylstrup A, Leach SA, Qvist V, ed. *Adaptation of dentin to the oral environment* Oxford, England, IRL Press, 1987, p. 67.
- 166.** Duke ES. Adhesion and its application with restorative materials. *Dent Clin North Am.* 1993;37: 329-40.

- 167.** Burrow MF, Takakura H, Nakajima M, Inai N, Tagami J, Takatsu T. The influence of age and depth of dentin on bonding. *Dent Mater.* 1994;10: 241-6.
- 168.** Sattabanasuk V, Shimada Y, Tagami J. The bond of resin to different dentin surface characteristics. *Oper Dent.* 2004;29: 333-41.
- 169.** Tay FR, Pashley DH. Resin bonding to cervical sclerotic dentin: a review. *J Dent.* 2004;32:173- 96.
- 170.** OLIVEIRA ED (2003). Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and Future Trends. *J. Braz. Chem. Soc.*,**14(2)**:174-182.
- 171.** TÜZEN M (2002). A comparison of sample preparation procedures for the determination of heavy metals in Lichen samples by GFAAS. *Analytical Letters.*,**35(10)**:1667–1676.
- 172.** Buszewki B, Szultka M (2012). Past, present, and future of solid phase extraction: A review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry.*,**42**: 198–213.
- 173.** U.S. DHHS (2003). Report on Carcinogens Background Document for Lead and Lead Compounds. U.S. Department of Health and Human Services. <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/newhomeroc/roc11/Lead-Public.pdf>.
- 174.** Rao, RN, Talluri MVNK (2007). An overview of recent applications of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in determination of inorganic impurities in drugs and pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*,**43**:1–13.

- 175.**Ha Y, Tsay, Og, Churhcill, Dg (2011). A tutorial and mini-review of the ICP-MS technique for determinations of transition metal ion and main group element concentration in the neurodegenerative and brain sciences. *Monatsh Chem.*, 142:385–398.
- 176.** Agilent Technologies Guide Book 2013
- 177.**Grobler S. R., Theunissen F. S., Kotze T. J. The relation between lead concentrations in human dental tissues and in blood. *Archives of Oral Biology*. 2000;45(7):607–609. doi: 10.1016/s0003-9969(00)00024-8.
- 178.** Piotr Wychowanski and Konrad Malkiewicz, “Evaluation of Metal Ion Concentration in Hard Tissues of Teeth in Residents of Central Poland, ” *BioMed Research International*, vol. 2017, Article ID 6419709, 7 pages, 2017.
- 179.** Robbins N., Zhang Z.-F., Sun J., Ketterer M. E., Lalumandier J. A., Shulze R. A. Childhood lead exposure and uptake in teeth in the Cleveland area during the era of leaded gasoline. *Science of the Total Environment*. 2010;408(19):4118–4127. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.04.060.
- 180.** Sakaguchi, R. L., & Powers, J. M. (2012). *Craig's restorative dental materials-e-book*. Elsevier Health Sciences (S:7-9)
- 181.** Eliades, G., Eliades, T., & Watts, D. C. (2005). *Dental hard tissues and bonding*. Springer-Verlag Berlin " Heidelberg.
- 182.** Chiego, D. J. (2018). *Essentials of Oral Histology and Embryology E-Book: A Clinical Approach*. Elsevier Health Sciences.
- 183.** Nanci, A. (2017). *Ten Cate's Oral Histology-E-Book: Development, Structure, and Function*. Elsevier Health Sciences.
- 184.** Vladimir Badmaev, Subbalakshmi Prakash, Muhammed Majeed

Vanadium: A Review of its Potential Role in the Fight Against Diabetes The Journal of Alternative and Complementary Medicine VOL. 5, NO. 3

Published Online: 24 Sep 2007 <https://doi.org/10.1089/acm.1999.5.273>

185. Bawden JW, Deaton TG, Chavis M In vivo and in vitro study of 48V uptake in developing rat molar enamel. J Dent Res. 1980 Oct;59(10):1643-8.

186. Lakomaa, E. L., & Rytömaa, I. (1977). Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. European Journal of Oral Sciences, 85(2), 89-95.

187. Halse, A., & Selvig, K. A. (1974). Incorporation of iron in rat incisor enamel. European Journal of Oral Sciences, 82(1), 47-56.

188. Kallenbach, E. (1970). Fine structure of rat incisor enamel organ during late pigmentation and regression stages. Journal of ultrastructure research, 30(1-2), 38-63.

189. Neiman, A., & Eisenmann, D. R. (1975). The effect of strontium, cobalt and fluoride on rat incisor enamel formation. The Anatomical Record, 183(2), 303-321.

190. Salama, A. H., Eisenmann, D. R., & Zaki, A. E. (1989). Effect of cobalt on Ca²⁺ Mg²⁺ ATPase in rat incisor maturation ameloblasts. Calcified tissue international, 45(5), 298-304.

191. Oskarsoon A, Reeves AL (2007) Barium. In: Nordberg GF et al (eds) Handbook on the Toxicology of metals. Elsevier, Amsterdam, S: 407–414

192. Krachler M, Rossipal E, Micetic-Truk D (1999) Concentrations of trace elements in sera of newborns, young infants, and adults. Biol Trace Elem Res 68:121–135

- 193.** Austin C, Smith TM, Bradman A, Hinde K, Joannes-Boyau R, Bishop D, Hare DJ, Doble P, Eskenazi B, Arora M (2013) Barium distributions in teeth reveal early-life dietary transition in primates. *Nature* 13(498):216–220
- 194.** Tomczyk J, Szostek K, Komarnitki, Mańkowska-Pliszka H, Zalewska M (2013) Dental caries and chemical analyses in reconstruction of diet, health and hygienic behaviour in the Middle Euphrates (Syria). *Arch Oral Biol* 58:740–751
- 195.** Fischer, A., Malara, P., & Wiechuła, D. (2014). The study of barium concentration in deciduous teeth, impacted teeth, and facial bones of Polish residents. *Biological trace element research*, 161(1), 32-37
- 196.** Doi, Y., Aoba, T., Okazaki, M., Takahashi, J., & Moriwaki, Y. (1981). Organic-bound chromium in enamel, dentin, and bone studied by electron spin resonance. *Journal of Dental Research*, 60(6), 1053-1056.
- 197.** Toxicological Profile for Manganese; Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Atlanta, GA, 2012.
- 198.** Gunier, R. B., Mora, A. M., Smith, D., Arora, M., Austin, C., Eskenazi, B., & Bradman, A. (2014). Biomarkers of manganese exposure in pregnant women and children living in an agricultural community in California. *Environmental science & technology*, 48(24), 14695-14702.
- 199.** Ghadimi E, Eimar H, Marelli B, Nazhat SN, Asgharian M, Vali H, et al. Trace elements can influence the physical properties of tooth enamel. *Springerplus*. 2013; 2:499.
- 200.** Qamar, Z., Chew, H. P., & Fatima, T. (2017). Influence of trace elements on dental enamel properties: A review. *J Pak Med Assoc*, 67, 116-20.

- 201.** Sierpińska T, Orywal K, Kuc J, Golebiewska M, Szmitkowski M. Enamel mineral content in patients with severe tooth wear. *Int J Prosthodont.* 2013;26(5):423–428
- 202.** Abdullach AZ, Strafford SM, Brookes SJ, et al. The effect of copper on demineralization of dental enamel. *J Dent Res.* 2006;85:1011–1015.
- 203.** Klimuszko, E., Orywal, K., Sierpiska, T., Sidun, J., & Golebiewska, M. (2018). The evaluation of zinc and copper content in tooth enamel without any pathological changes—an in vitro study. *International journal of nanomedicine*, 13, 1257.
- 204.** Lee SK, Kim YS, Lee SS, et al. Molecular cloning, chromosomal mapping, and characteristic expression in tooth organ of rat and mouse Krox-25. *Genomics.* 2004;83(2):243–253
- 205.** Lingawi H, Barbour ME, Lynch RJ, et al. Effect of zinc ions (Zn 2+) hydroxyapatite dissolution kinetics studied using scanning micro-radiography. *Caries Res.* 2011;45:195.
- 206.** Chakraborti, D., Rahman, M. M., Chatterjee, A., Das, D., Das, B., Nayak, B., ... & Sengupta, M. K. (2016). Fate of over 480 million inhabitants living in arsenic and fluoride endemic Indian districts: Magnitude, health, socio-economic effects and mitigation approaches. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38, 33-45.
- 207.** Monteil-Rivera F, Fedoroff M, Jeanjean J, Minel L, Barthes MG, Dumonceau J. Sorption of selenite (SeO₃²⁻) on hydroxyapatite: an exchange process. *J Colloid Interface Sci.* 2000; 221:291-300.
- 208.** Muhler JC, Shafer WG. The Effect of Selenium on the Incidence of Dental Caries in Rats. *J Dent Res.* 1957; 36:895-6
- 209.** Bowen W. Effect of Selenium and

Vanadium on Caries Activity in Monkeys (*Macaca irus*). *J Dental Research* 1972;51:1285

210. Ergun C. Effect of Ti ion substitution on the structure of hydroxylapatite. *J Euro Cer Soc.* 2008; 28:2137-49.

211. Mavropoulos E, Rossi AM, Costa AM, Perez CAC, Moreira JC, Saldanha M. Studies on the mechanisms of lead immobilization by hydroxyapatite. *Envir sci& tech.* 2002; 36:1625-9.

212. Shishniashvili, T. E., Suladze, N. N., & Margvelashvili, V. V. (2016). Primary teeth and hair as indicators of environmental pollution. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 40(2), 152-155.



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	CENGİZ	Soyadı	GÜLEN
Doğum Yeri	KARLIOVA	Doğum Tarihi	13.09.1990
Uyruğu	T.C	Tel	05465020414
E-posta	cengiz.dent38@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2012
Lise	Korg. Hulusi Sayın Lisesi	2007

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Diş Hekimi	Cizre ağız ve diş sağlığı merkezi ŞIRNAK	2013-2015
Diş Hekimi	Diyarbakır Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi	2015- devam

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
53,75								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	93		

10. EKLER

10.1. EK-1 ETİK KURUL ONAYI

DICLE ÜNİVERSİTESİ DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURULU

ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO	ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ
23-06-2017	6	8	Yrd.Doç Dr. İsmet Rezanı TOPTANCI Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı

KARAR

'Süt Dişlerinde Prenatal Ve Postnatal Sert Dokular Arasındaki Farkların Ips-Ms Yöntemiyle İncelenmesi' başlıklı, 2017/21 protokol no.lu çalışma etik kurulumuz tarafından görüşülmüş olup, etik kurallara uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Görevi	Adı Soyadı	Bölümü	Evet	Hayır	İmza
Başkan	Prof.Dr. Beyza KAYA	Diş.Hek. Fak. Ağız, Diş,Çene Hst. ve Cerrahisi A.D			
Başkan Yrd.	Prof. Dr. Remzi NİĞİZ	Diş.Hek.Fak. Protetik Diş Tedavisi A.D	✓		
üye	Prof. Dr. Seher GÜNDÜZ ARSLAN	Diş.Hek.Fak Ortodonti A.D	✓		
üye	Prof.Dr. Nezahat AKPOLAT	Tıp Fak. Mikrobiyoloji A.D	✓		
üye	Prof.Dr. M.Zülfük AKDAĞ	Tıp Fak. Biyofizik A.D	✓		
üye	Doç.Dr. Emin Caner TÜMEN	Diş.Hek. Fak. Pedodonti A.D			
üye	Doç.Dr. Ayfer AKTAŞ	D.Ü. Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji A.D	X		
üye	Doç.Dr. Bayram İNCE	Diş.Hek. Fak. Konservatif Diş Tedavisi A.D			
Raportör	Doç.Dr. Ela Tules KADİROĞLU	Diş.Hek. Fak. Periodontoloji A.D	✓		
üye	Yrd.Doç.Dr. Ersin UYSAL	D.Ü. Teknik Bilimler Meslek Yük. Okulu	✓		
üye	Av. Sahhanım KAPLAN	D.Ü Hukuk Müşavirliği			

