

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**FLOROZİSLİ VE SAĞLIKLI SÜT DİŞLERİNİN
STEREOLOJİK METOTLA İNCELENMESİ VE
DİŞLERİN BOYUTSAL ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TUBA ŞENTUT

PEDODONTİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. ZUHAL KIRZIOĞLU

Tez No: 09

2007-İSPARTA

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**FLOROZİSLİ VE SAĞLIKLI SÜT DİŞLERİNİN
STEREOLOJİK METOTLA İNCELENMESİ VE
DİŞLERİN BOYUTSAL ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TUBA ŞENTUT

PEDODONTİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. ZUHAL KIRZIOĞLU

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından 1213-D-05 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 09

2007-İSPARTA

KABUL VE ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü'ne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Pedodonti Anabilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13/12/2007

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Zuhâl KIRZIOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : Prof.Dr. Ayşegül ÖLMEZ
Gazi Üniversitesi

Üye : Prof.Dr.M. Üstün GÜLDAĞ
Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : Prof.Dr.M. Şenol TÜZÜM
Süleyman Demirel Üniversitesi

Üye : Yrd.Doç.Dr. Çiğdem KÜÇÜKEŞMEN
Süleyman Demirel Üniversitesi

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halis KÖYLÜ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Hayatımın önemli ve büyük bir bölümünü kapsayan, uzun yıllarca aldığım eğitim ve edindiğim bilgiler sonucunda, büyük bir dikkat ve titizlikle hazırladığım tez çalışmamı ve doktora eğitimimi tamamlamış olmanın mutluluğunu yaşıyorum.

Çalışmamın, alanında ilk kez yapılan bir çalışma oluşu, örnek çalışmaların bulunmayışı ve gerekli ekipmanların üniversitemizde mevcut olmayışı gibi nedenlerle histolojik işlemlerin gerçekleştirilmesinde bir takım güçlükler yaşamış olsam da bana yol gösteren değerli hocalarım sayesinde ve diğer üniversitelerin desteği ile tez çalışmamı sonlandırmış bulunuyorum.

*Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, bu tezi hazırlayabilecek bilgi, beceri ve yeterlilik seviyesine gelmemde büyük katkıları bulunan, tezimin oluşmasında, şekillenmesinde ve hazırlanmasında emeğini ve desteğini esirgemeyen, değerli danışmanım ve hocam **Prof.Dr. Zuhal KIRZIOĞLU'na**,*

*Tez çalışmamın histolojik değerlendirmeler bölümünde, yardımlarını, bilgisini ve desteğini esirgemeyen, tüm laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan, **ikinci tez danışmanım Doç.Dr. Alparslan GÖKÇİMEN'e**,*

*Doktora tezimin laboratuvar çalışmalarını gerçekleştirmek için beni davet etmiş olan, stereolojik metodu bilimsel hayatıma kazandıran ve gerekli tüm çalışma olanaklarını ve ortamını sağlayarak katkıda bulunan Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyelerinden sayın **Doç.Dr. Hüseyin ASLAN'a**,*

*Doktora Tez İzleme Komitesi Üyesi olarak, tezimin asamalarında olumlu katkı ve eleştiriler yapan sayın **Prof.Dr.M.Üstün GÜLDAĞ'a** ve sayın **Prof.Dr.M.Şenol TÜZÜM'e**,*

*Pedodonti Anabilim Dalı'nda bulunduğum yıllar boyunca, özverili yaklaşımlarıyla yardımlarını esirgemeyen, anlayışı ve olumlu bakış açısı ile her zaman sevgisini hissettiğim sayın **Yrd.Doç.Dr. Çiğdem KÜÇÜKEŞMEN'e** ve birlikte huzur ve mutluluk içinde çalıştığım, tez çalışmam sırasında stresli anlarımı paylaşan tüm **çalışma arkadaşlarıma**,*

*Tez projemi destekleyerek bana maddi olanak sağlayan **S.D.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne**,*

*Beni en iyi koşullarda büyütüp yetiştiren, daima daha iyiye ulaşma çabası içinde olmamı sağlayıp bana başarıma gücü veren, hayatım boyunca sürekli destek olup bugünlere gelmemi sağlayan, varlığımı borçlu olduğum, teşekkürlerin yetmeyeceği, canım **aileme**,*

*Sevgisi ve desteğiyle hayatıma yön veren, en imkânsıza ulaşmayı hedeflediğimde bile başaracağıma inanan ve ulaştığım başarıyı büyük bir heyecanla kutlayan, en güzel ve en zor anlarımda olduğu gibi hiç sona ermeyecekmiş gibi gelen bu tez sürecinde sabrı ve anlayışı ile yanımda olan sevgili eşim ve hayat arkadaşım **Dt. Fatih ŞENTUT'a**,*

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Tablolar	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2-1. Flor	3
2-1.1. Florun kimyasal özelliği	3
2-1.2. Flor metabolizması	3
2-1.3. Florun diş sert dokularına olan etkisi	4
2-1.3.1. Mine dokusunda flor	5
2-1.3.1.1. Diş florozi	6
2-1.3.1.1.1. Histopatolojik özellikleri	8
2-1.3.1.1.2. Kimyasal ve biyokimyasal özellikleri	9
2-1.3.1.1.3. Klinik özellikleri	9
2-1.3.2. Dentin dokusunda flor	12
2-1.3.3. Pulpa dokusunda flor	13
2-1.3.4. Florun diş morfolojisi üzerine etkisi	14
2-1.3.4.1. Diş boyutlarının ölçümü	15
2-2. Diş Pulpası	16
2-2.1. Pulpanın genel özellikleri	16
2-2.2. Pulpanın hücreleri	19
2-2.2.1. Odontoblastlar	19
2-2.2.1.1. Odontoblastların görevi ve yapısal özellikleri	19

2-2.2.1.2. Odontoblastik uzantılar	21
2-2.2.1.3. Odontoblast bağlantıları	22
2-2.2.1.4. Odontoblastlarda görülen değişimler	22
2-2.2.2. Fibroblastlar	23
2-2.2.3. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler	24
2-2.2.4. İmmünokompetent hücreler	25
2-2.2.5. Pulpa hücrelerinin incelenme metotları	27
2-2.2.5.1. Stereolojik metot	27
2-2.2.5.1.1. Optik parçalama	28
2-2.2.5.1.1.1. Kesit örnekleme payı	29
2-2.2.5.1.1.2. Alan örnekleme payı	29
2-2.2.5.1.1.3. Kalınlık örnekleme payı	29
2-2.2.5.1.1.4. Tanecik sayımı	31
3. MATERYAL VE METOT	32
3-1. Deney kurgusu	32
3-1.1. Histolojik değerlendirme	32
3-1.1.1. Doku takibi	33
3-1.1.2. Kesitlerin alınması	33
3-1.1.3. Boyama	34
3-1.1.4. Optik parçalamanın uygulanması	35
3-1.1.4.1. Kesit örnekleme payı (KeÖP)	35
3-1.1.4.2. Alan örnekleme payı (AÖP)	37
3-1.1.4.3. Kalınlık örnekleme payı (KaÖP)	38
3-1.1.5. Optik disektör ile sayım	39
3-1.1.5.1. Odontoblast sayımı	39
3-1.1.6. Pulpa Hacmi	43
3-1.2. Morfolojik değerlendirme	44
3-1.2.1. Çalışma gruplarının belirlenmesi	44
3-1.2.2. Diş boyutlarının ölçülmesi	44

4- BULGULAR	46
4-1. Histolojik değerlendirme bulguları	46
4-1.1. Odontoblast sayısı	46
4-1.2. Pulpa hacmi	47
4-1.3. Odontoblast yoğunluğu	48
4-2. Morfolojik değerlendirme bulguları	50
4-2.1. Süt dişi boyutları	50
4-2.2. Daimi dişi boyutları	54
5- TARTIşMA ve SONUÇ	59
5-1. Histolojik değerlendirme	59
5-2. Morfolojik değerlendirme	71
ÖZET	78
SUMMARY	79
KAYNAKLAR	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

a (çerçeve)	:	çerçeve alanı
a (adım)	:	adım alanı
AÖP	:	Alan Örnekleme Payı
ATP	:	Adenozin trifosfat
B-L	:	Bukkolingual genişlik
°C	:	Santigrat derece
CaF₂	:	Kalsiyum florid
cm	:	santimetre
cm²	:	santimetrekare
CO₃⁻²	:	Karbonat
h	:	disektör yüksekliği
HCO₃⁻	:	Bikarbonat
KaÖP	:	Kalınlık Örnekleme Payı
KeÖP	:	Kesit Örnekleme Payı
M-D	:	Meziodistal genişlik
mg	:	miligram
mg/l	:	miligram/litre
mm	:	milimetre
mm³	:	milimetreküp
mM	:	milimolar
M1	:	1. azı diş
M2	:	2. azı diş
MHC	:	Majör Histocompatibility Complex
N	:	Toplam odontoblast sayısı
NaF	:	Sodyum florid
N_{ob}	:	Odontoblast sayısı
N_{ob}/mm³	:	Odontoblast sayısı/milimetreküp
OH⁻	:	Hidroksil

Ort	:	Ortalama
p(a)	:	sayım cetvelinde bulunan noktalardan her biri
ph	:	çözeltinin asitlik-bazlık derecesini gösteren birim
PO₄⁻³	:	Fosfat
ppm	:	milyonda bir kısım
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskobu
SS	:	Standart Sapma
t	:	kesit kalınlığı
TEM	:	Geçirmeli Elektron Mikroskobu
TFİ	:	Thylstrup-Fejerskov'un Florozis İndeksi
ΣQ	:	Disektörde sayılan odontoblast sayısı
µg	:	mikrogram
µm	:	mikrometre
µm²	:	mikrometrekare

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Optik parçalamada kullanılan optik disektörün gösterimi	30
Şekil 2. Sistematik rastgele metodu ile örneklenen diş kesitlerinin görünümü	36
Şekil 3. Optik parçalama için sistematik rastgele örnekleme ile belirlenen, pulpa dokusunu içeren diş kesiti.	38
Şekil 4. Optik parçalama metodu kullanılarak hücre sayımı ve hacim hesaplamalarının yapıldığı bilgisayar destekli stereolojik analiz sisteminin genel görüntüsü.	40
Şekil 5. Optik disektör metoduyla sayım	42
Şekil 6. Süt azı dişlerin cinsiyete göre dağılımları	51
Şekil 7. Süt azı dişlerin florozis gruplarına göre dağılımı	51
Şekil 8. Daimi dişlerin cinsiyete göre dağılımları	54
Şekil 9. Daimi dişlerin florozis gruplarına göre dağılımı	55

TABLolar

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Süt dişlerinin gruplara göre dağılımı	46
Tablo 2. Odontoblast sayılarının gruplara göre dağılımı	47
Tablo 3. Pulpa hacim değerlerinin gruplara göre dağılımı	48
Tablo 4. Odontoblast yoğunluklarının gruplara göre dağılımı	49
Tablo 5. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin dağılımı	50
Tablo 6. Süt azı dişlerin gruplara göre dağılımı	50
Tablo 7. Süt azı dişlerin gruplara göre boyut değerleri	53
Tablo 8. Daimi dişlerin gruplara göre dağılımı	54
Tablo 9. Üst ene daimi dişlerin gruplara göre boyut değerleri	57
Tablo 10. Alt ene daimi dişlerin gruplara göre boyut değerleri	58

1. GİRİŞ

Toplumun diş çürüğünden koruyucu yöntemler hakkında bilinçlenmesi ve flor kullanımının yaygınlaşması nedeniyle, gelişmiş ülkelerdeki diş çürüğü prevalansı ve insidansı son yıllarda düşüş göstermiştir. Diş çürüğünde azalma kaydedilen toplumlarda aynı zamanda diş florozisi prevalansında artış görülmüştür (1-4). Prevalanstaki bu artış ile ilgili kaygılar, flor elementinin, vücut üzerindeki etkilerinin ve etki mekanizmalarının daha ayrıntılı olarak incelenmesine ve diş florozisi görülen bireylerin diş dokularının yapısal özelliklerinin araştırılmasına yönelik çalışmaların yapılmasına neden olmuştur (5-13).

Diş hekimliğinde restoratif tedavilerin başarısında pulpa hücrelerinin onarım mekanizmalarının rolü büyüktür. Odontoblastlar, dentinin düzenli olarak yapımından ve onarımından sorumlu hücrelerdir (14). Pulpada bulunan fonksiyonel hücrelerin, özellikle de odontoblastların sayılarının, çürük, atrizyon, abrazyon, erozyon, doku hasarı ve travma gibi etkenler varlığında, pulpa ve dentinin yapısal onarım cevabını oluşturmada önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (15,16).

Dentin yaralanmalarında, zarar görmüş dentinin onarılması ve yaralanmaya neden olan uyaran ile pulpa arasındaki dentin bariyerinin arttırılması, bölgede tersiyer dentini oluşturacak odontoblast hücre tabakasının canlılığına bağlıdır (17,18).

Günümüze kadar pulpa dokusu ile ilgili yapılan çalışmalarda, pulpanın hücresel özellikleri, dokunun belli bir bölgesinden alınan kesitlerin iki boyutlu incelenmesi ile ortaya konulmuştur. Ancak, pulpanın hücresel özelliğinin araştırılmasını ve tüm pulpa dokusunun üç boyutlu olarak incelenmesini sağlayan metotlardan biri olan stereolojik metot kullanılarak, florozisli dişlerin incelendiği çalışma bulunmamaktadır.

Pulpada bulunan odontoblast tabakasında görülen değişikliklerin, dişlerin morfolojik özelliklerini ve boyutlarını etkilediği belirtilmekte olup bu konudaki çalışmalar sınırlı sayıdadır. Florozisli dişlerin boyutsal özelliklerini inceleyen az sayıda çalışma vardır ve elde edilen bulgular çelişkilidir.

Bu çalışmadaki amacımız, florozis bulunan ve bulunmayan süt dişlerinin pulpalarındaki odontoblast hücrelerinin ve pulpa boyutlarının, üç boyutlu inceleme metodu olan stereolojik metotla karşılaştırmalı olarak incelenmesidir. Ayrıca, süt ve daimi dişlerin boyutsal özelliklerinin flordan nasıl etkilendiğinin ortaya konulması ve elde edilen verilerin florozis bulunmayan dişlerle karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİ

2-1. FLOR

2-1.1. Florun Kimyasal Özellikleri

Flor, soluk, sarı-yeşil renkte, keskin kokuya sahip, zehirli özellikleri olan bir gazdır ve periyodik tabloda bulunan en reaktif elementtir. Kimyasal olarak en aktif ametal olması ve en reaktif elektronegatif iyon olması nedeniyle, doğada tek başına element halinde bulunamaz. Flor gazının, doğada minerallerle oluşturduğu bileşikler (sodyum florid, kalsiyum florid vb.) neticesinde florid iyonu oluşur. Biyolojik yönden ele alındığında flor, genellikle çok küçük miktarlar halinde bulunması ve biyolojik materyallerdeki derişiminin genellikle milyonda bir düzeyde (ppm) olması nedeniyle eser element olarak sınıflandırılmaktadır (19).

2-1.2. Flor Metabolizması

İnsan organizması florla pek çok şekilde tanışabilir. Doğada su kaynaklarında, havada, toprakta, balık ve çay gibi besinlerde flor bulunmaktadır (19). Pek çok ülkede çürükten korunma amacıyla içme sularına eklenmektedir (2,20-31). Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan flor içerikli ürünler; tabletler, damlalar gibi sistemik veya jeller, vernikler, macunlar, gargaralar gibi lokal olarak uygulanabilmektedir. Lokal olarak uygulanan florun bir kısmı yutularak sistemik dolaşıma geçebilir (31-39).

Olumlu çürük önleyici özelliklerine rağmen flor, dikkatle kullanılması gereken bir maddedir. Yüksek dozların tek seferde alımında veya küçük dozların kronik olarak uzun süreli alımında akut gastrit, böbrek rahatsızlıkları, dişsel ve iskeletsel florozis gibi yan ve toksik etkiler görülebilir (40).

Flor, dokular arasında kan plazması ile taşındığından, kan plazması flor metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Bir yetişkinde, alınan flor miktarının yaklaşık %50'si idrarla atılır, geri kalan miktarın büyük bir kısmı

mineralize dokular tarafından tutulur. Flor, dokulara geri dönüşümsüz olarak bağlanamaz, kemiğin yeniden şekillenmesinde veya günlük flor alım miktarının değişmesi gibi durumlarda dokulardan salınır. Yumuşak dokularda flor, hücre içi ve hücre dışı sıvılar arasında düzenli bir yayılım gösterir. Florun plazma seviyesindeki artış veya azalışla orantılı olarak hücre içi sıvılarda değişiklik meydana gelir (32).

Florun ana emilim yolu gastrointestinal yol olsa da, hava yoluyla, metoksifluran, halotan, enfluran ve isofluran gibi flor içeren genel anesteziğin biyotransformasyonu sonucu inhale edilebilir. Flor, hem mideden hem de bağırsaktan ayrılmamış zayıf asit olan, hidrojen florid formunda emilime uğrar. Mideden emilmeyen florun büyük bir kısmı ince bağırsaklardan emilir (32).

Flor, kan plazmasıyla tüm doku ve organlara yayılır. Dağılım oranı genellikle dokulara olan kan akışı ile ilgilidir. Plazma ile kalp ve karaciğer gibi iyi perfüze dokular arasındaki flor oranı, iskelet kası ve yağ dokusu gibi dokulara göre daha hızlı bir şekilde düzenlenir. Florun, plazmadan kemiğe geçiş oranı kalsiyumdan daha yüksektir. İnsan vücudundaki florun yaklaşık %99'u mineralize dokularda bulunur (40).

Tabletler ve lokal uygulamalar ile sistemik dolaşıma geçen florun neredeyse tamamı emilir. Küçük çocukların farklı miktarlarda diş macunu yutması sonucu, sistemik olarak alınan florun çoğunun emilime uğrayıp kanla yayıldığı ve florozis oluşma riskini arttırdığı gösterilmiştir (34-37).

2-1.3. Florun Sert Dokulara Olan Etkisi

Flor organizmada, kemik dokuyu oluşturan mineral yapıdaki apatite bağlanmış halde bulunur. Mineralize olmamış yumuşak dokularda ve doku sıvılarında daha düşük oranda mevcuttur (41).

Mineralize dokuların flor miktarlarındaki farklılıklar; alınan flor miktarı, florun alım süresi, doku gelişim aşaması, büyüme oranı, yüzey alanının damarlanması, mineral kristallerinin porözitesi ve mineralizasyon derecesi gibi faktörlere bağlıdır. Tüm mineralize dokuların, flor içeren doku sıvısı ile

temasta olan yüzeyinde flor içeriği en yüksek seviyededir ve bu oran yaş ile birlikte değişime uğrar (41-43).

Kristalize yüzeylerden emilmesi veya kan ve doku sıvılarında bulunan miktarın dış mineral tabakalar tarafından tutulması nedeni ile flor, yüzeyel bölgelerde daha fazla oranda bulunur. Yüksek oranda ve düşük pH'da flor, dişe uygulandığında bir miktar apatit kristalleri yıkılır. Dışın mineral içeriğindeki fosfat ve hidroksil iyonları solüsyona katılır ve CaF_2 veya diğer flordan zengin bir bileşik halinde dış minere depolanır. Gelişmekte olan kemiklerde de benzer olaylar gerçekleşir. Mineralize dokuda, apatit yapısına giren florun çoğu OH^- iyonu ile yer değiştirir veya eşit büyüklükteki boşluğu doldurur. Flor iyonu, daha büyük olan PO_4^{3-} iyonu ile yer değiştirir ve aynı zamanda dokuda bulunan CO_3^{2-} ve HCO_3^- iyonlarının yerine geçebilir (43).

Özellikle kemik ve diş olmak üzere, florun bulunduğu dokuların karbonat içeriğinde önemli bir düşüş olur. Bunun nedeni, karbonat ile florun yer değiştirmesi veya kristalize florapatitlerin karbonat ile birleşme miktarının azalması olabilir. Benzer nedenle sitrat oranında bir azalma görülebilir. Flor varlığında dokunun magnezyum içeriğinde genellikle bir artma gözlenir. Bu artışın, Mg-florofosfat bileşikleri nedeniyle olduğu söylenebilir, ancak bu duruma işaret eden doğrudan bir delil yoktur. Bununla birlikte florun, minenin maturasyonunu uzattığı veya geciktirdiği bilinmektedir. Magnezyum bu aşamada birikir. Magnezyum içeriğinin yüksek olması flor alım periyodunun uzamasına bağlıdır (43,44).

2-1.3.1. Mine Dokusunda Flor

Flor, mine oluşumunun başlangıç aşamasında, ameloblastlar kısmen mineralize olmuş protein matriks içerisinde iken doku tarafından alınır. Hücre dışı matriks oluşuktan sonra, maturasyon aşamasına kadar, matriksin geri çekilmesi işlemi gerçekleşir. Oluşan pöröz minere, iyon ve molekül birikimi için uygun bir ortam oluşur ve flor, bu aşamada dokuda birikir. Minenin hızla mineralize olmaya başladığı maturasyon aşamasında, dokudaki flor miktarı en yüksek seviyededir (9,43,45).

Mine oluşumunun en erken safhalarında bile flor, mine dokusunun tamamında homojen olarak dağılmamıştır. Mineralizasyonun henüz tamamlanmadığı safhadaki flor miktarı, dişin dış yüzeyinde en yüksek düzeyde iken iç kısımlarda daha azdır. Tüm sürmüş dişlerde, iç kısımdan yüzeye doğru gidildikçe plato şeklinde bir artış gösterir. Diş yüzeyindeki flor miktarı, diş hekimliği uygulamalarından ve yaştan etkilenerek farklılık gösterir. Genç, ön bölge diş minelerinin, flor oranı en yüksek bölgesi kesici kenarlar iken, en düşük bölgesi servikal kısımdır. Daha olgun dişlerde ise, flor miktarı servikal bölgedeki mine yüzeyinde zamanla artarken, kesici kenarda aşınmaya bağlı olarak azalmaktadır (43).

Mineralizasyonu tamamlanmış minedeki flor miktarının, önemli derecede artması için dokuda pörözite bulunması veya apatit yapının kimyasal olarak yıkıma uğramış olması gerekir. Yüksek oranda flor içeren ve düşük pH'taki solüsyonlar, jeller ve patların uygulanması sonucunda minenin flor konsantrasyonu arttırılabilir (46).

Diş gelişimi sırasında, yüksek miktarlarda flor alındığında, diş florozisi olarak adlandırılan, minenin yapısı ve görüntüsü ile ilgili değişiklikler meydana gelmektedir (40).

2-1.3.1.1. Diş Florozisi

Diş gelişimi sırasında fazla miktarda flor alımı, minenin mineralizasyonunda bozulmalara neden olur. Oluşan florotik mine, histopatolojik olarak incelendiğinde, iyi mineralize bölgeye kadar uzanan, yüzeyaltı pörözitelerin bulunduğu görülür. Florozisin şiddeti arttıkça pöröziteler, minenin çukurcuklu görünümüne sebep olacak şekilde, mine-dentin birleşim bölgesine kadar uzanır ve diş sürdükten sonra mine yüzeyinde kırılmalar meydana gelir (9,46).

Minenin oluşum aşamaları; presekretuar, sekretuar ve maturasyon fazları şeklinde sınıflandırılabilir. Presekretuar fazda farklılaşan ameloblastlar, fenotiplerini kazanırlar ve mine organik matriksini salgılamak üzere hazırlanırlar. Sekretuar fazda ameloblastlar, protein matriksi

oluşturmak için amelogenin proteinini salgırlar. Maturasyon fazı, mine matriksinden amelogenin proteinlerinin uzaklaşmasıyla başlar. Protein kaybı devam ettikçe mineralizasyon daha hızlı meydana gelir ve ağırlığının %1'ini protein oluşturuncaya kadar tüm doku mineralize olur (9).

Geçiş fazı olarak adlandırılan erken maturasyon fazı, florun etkilerine en hassas olan dönemdir (47,48). Florun, sekreter aşamadaki mineyi etkilemediği fakat mine oluşumunun maturasyon aşamasını etkilediği gösterilmiştir (49).

Flor alım zamanının mine florozisinin oluşumundaki önemini inceleyen Ishii ve Suckling'in (50) çalışmasında, içme suyunda 7.8 ppm flor bulunan çocukların dişlerinin florozis dereceleri kaydedildikten sonra, flor seviyesi 0.2 ppm'e düşürülmüştür. Diş oluşumunun maturasyon fazındayken, yani çocuklar 35–42 aylık iken, üst sol santral keser dişlerinde orta-şiddetli seviyede florozis tespit edilmiştir. Bunun yanında, flor seviyeleri değişmeden önce, mine oluşumunun sekreter fazında olan 11–33 aylık çocukların dişlerinde çok hafif florozis tespit edilmiş veya florozis tespit edilemediği bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada ise, yalnızca sekreter faz boyunca alınan florun, maturasyon fazına kadar alımının devam etmemesi sonucunda, maturasyon fazındaki ameloblast dizilimine etki etmediği görülmüştür (51).

Bu çalışmalar, maturasyon fazının flora en hassas dönem olduğunu gösterse de, erken maturasyon fazından önce alınan florun alım süresi, florozis şiddetini etkilemektedir (47,50). Richards ve arkadaşları (49), yaptıkları hayvan çalışmasında, yalnızca maturasyon fazında flor alanlarda florozis görülebileceğini, bununla birlikte, hem sekreter hem de maturasyon fazı boyunca flor alanlarda daha şiddetli florozis görülebileceğini rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak, florozis riskini azaltmak için, sistemik flor alımına, mine oluşumunun sekreter fazından sonra başlanmalıdır ve florun maksimum topikal etkisini elde etmek için diş sürdükten sonra lokal uygulamalara devam edilmelidir (9).

2-1.3.1.1.1. Histopatolojik Özellikleri

Florotik minedeki değişiklikler, ışık ve elektron mikroskop kullanılarak tanımlanmıştır. Thylstrup-Fejerskov'un Florozis İndeksi (TFİ) ile farklı şiddetlerdeki florozisin klinik görünümü ve dokudaki patolojik değişiklikler arasındaki ilişkinin ortaya konması amaçlanmaktadır (52). Dişin oluşumu sırasında flor tüketiminin artması, minedeki pörözite derecesinin artmasına neden olur (53).

TFİ skor 1'de, minenin dış yüzeyinde bulunan Retzius çizgileri boyunca pörözite artmıştır. TFİ skor 2 örneklerinde, Retzius çizgileri daha belirgindir ve mine yüzeyi boyunca devamlılık gösteren, dar pörözite bölgesi görülür. Bu tip vakalarda Retzius çizgilerinde bulunan gözenek hacmi dokunun yaklaşık %5'i oranındadır. TFİ skor 1 ve 2 olan dişlerde, dişlerin yapısal özelliklerine bağlı olarak, servikal bölgede, tüberkül tepelerinde ve kesici kenarlarda genellikle daha düzenli pörözite alanları görülür. Bu nedenle, kurunun bu bölgeleri klinik olarak genellikle daha homojen bir opasite gösterir (52).

TFİ skor 3'e sahip dişlerin kesitlerinde, gözenek hacim oranı %5'ten fazla olan, 80–100 µm genişliğinde yüzeyaltı pörözite bölgeleri görülür. Farklı pörözite derecelerine sahip olan bu bölgeler, dişin servikal bölgesinden tüberküllere ve oklüzal yüzeylere kadar, tüm mine yüzeyi boyunca görülebilir (53).

TFİ skor 4'te, iyi mineralize yüzey tabakasının altında, gözenek hacim oranı %10 veya daha fazla olan ve yaklaşık 50 µm kalınlığında geniş pöröz mine lezyonları bulunur. Pörözite derecesi ve lezyonların derinliği, floradan etkilenme derecesine bağlı olarak değişir. Dişin sürme sırasındaki opak görüntüsü, pörözite derecesini yansıtmaktadır. Şiddetli etkilenmiş dişlerin yüzeyaltı bölgelerindeki gözenek hacim oranı, sürme sırasında %25'ten fazladır ve servikal bölgedeki lezyonlar neredeyse mine-dentin sınırına kadar uzanmaktadır (53).

TFİ 5 ve 6 skoruna sahip dişlerdeki çukurcuklar, histolojik olarak, mikroradyograflarda ve taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelendiğinde, mine yüzeyinde zimba delikleri şeklinde görülür.

Mikroradyografalarda, ağız ortamına açılan pöröz minede önemli değişiklikler gözlenir (52).

TFİ skor 7, 8 ve 9'da yüzeysel tabakanın kırılması sonucu, tüm pöröz mine ağız ortamına açılmıştır. Mevcut minenin mineral içeriğinde, mine kristallerinin boyutunda ve şeklinde düzensizlikler mevcuttur (54).

2-1.3.1.1.2. Kimyasal ve Biyokimyasal Özellikleri

Florotik dişlerin klinik şiddetleri arttıkça, flor miktarlarındaki artış yalnızca yüzeysel mine tabakalarında değil, aynı zamanda derin minede de görülmektedir. Sürme sonrasında, şiddetli yüzey harabiyeti gözlenen dişlerde, oldukça düzensiz flor konsantrasyonlarının bulunması, florun sürme sonrası dönemde ağız ortamından alındığını göstermektedir (55).

Florotik mine, sağlıklı mineye göre daha fazla protein içerir. Maturasyon sırasında, florotik minede daha az miktarda amelogenin kaybedilir. Ortaya çıkan florotik mine nispeten daha fazla oranda olgunlaşmamış matriks proteinlerini içerir (53,56).

Florotik dentinde görülen biyokimyasal değişimleri normal dentinle karşılaştıran ve kesin sonuçlar ortaya koyan sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (57,58). Florotik mine ve dentin dokusunda yapay çürük oluşturan bir in vitro çalışmada, florozis şiddeti arttıkça dentinde oluşan demineralizasyon bölgelerinin derinliğinin arttığı gösterilmiştir (57). Bununla birlikte, florotik dentinde bulunan fosfoproteinlerin yapısının, biyokimyasal olarak değiştiği in vivo olarak rapor edilmiştir (58).

2-1.3.1.1.3. Klinik Özellikleri

Mine oluşumu sırasında uzun dönem boyunca alınan flor sonucunda, düz beyaz çizgili mineden, şiddetli opak ve diş sürdükten kısa bir süre sonra kırılan mineye kadar, farklı klinik şekiller görülebilir. Oluşan bu değişikliklerin şiddeti, florun diş gelişimi sırasındaki tüketim miktarına ve süresine bağlıdır (53).

Florozisin ilk işaretleri, mine yüzeyi boyunca görülen ince beyaz çizgilerdir. Perikimata özelliği gösteren düz opak çizgiler, en belirgin olarak diş yüzeyinin kurutulmasından sonra görülebilir. Florozisin bu derecesinde bile tüberkül tepeleri, kesici kenarlar veya marjinal sırtlar opak beyaz görülebilir. Daha fazla etkilenmiş dişlerde, düz beyaz çizgiler daha geniştir ve daha belirgindir. Çok sayıda çizginin birleşmesi sonucunda küçük, bulutumsu ve opak beyaz bölgelerin yüzey boyunca dağıldığı görülür. Minedeki değişimler yüzeyin silinip kurutulmasından sonra daha belirgin hale gelir. Florozise ait bu bulgular, minenin yapısal içeriğinden, kalınlığındaki farklılıklardan ve alttaki dentinin kalınlığındaki değişimlerden etkilenerek, mine yüzeyi boyunca çeşitlilik gösterebilir. Kesici kenarlar, tüberkül tepeleri ve marjinal sırtlar boyunca, mine kristallerinin dağılımı düzensiz olduğundan ve bu bölgelerde altta bulunan dentin dokusu yansımadığından, florozis daha kolay tespit edilebilir. Ayrıca, minenin dış kısmındaki kristal ve prizmaların dağılımları bireyden bireye ve hatta dişin kendi bölgelerinde bile farklılık gösterebileceğinden, diş yüzeyinin farklı bölgelerinde, farklı derecelerde opasite görülebilmektedir. Florozisin şiddeti arttıkça, diş yüzeyinin tamamında belirgin, opak veya bulutumsu beyaz alanlar görülür. Bu opasiteler arasında bazen perikimata çizgileri görülebilir. Genellikle, servikal mine daha homojen opak görülürken, üst keser dişlerin insizal bölgelerinde değişik derecelerde kahverengimsi renklenmeler bulunabilir. Bu tip kahverengi renklenmeler, sürme sonrası dönemde ağız ortamında meydana gelen boyanma sonucunda oluşur (53).

Şiddetli durumlarda, opak bölgeler birleşerek tüm diş yüzeyinin opak beyaz görünmesine neden olabilir ve kuvvetlice sondlandığında mine yüzeyinin bir kısmının uzaklaştığı görülebilir. Daha şiddetli seviyelerde tüm diş yüzeyi opaktır ve diş minenin bir kısmı kaybedilir. Bu tip küçük mine defektleri genellikle çukurcuklar şeklindedir. Değişik boyutlarda olabilen ve yüzey boyunca dağılım gösterebilen çukurcuklar, genellikle dişin kesici/oklüzal yarısı boyunca görülürler. Şiddetin artmasıyla birlikte çukurcuklar, horizontal bantlar oluşturacak şekilde birleşirler. Daha şiddetli etkilenmiş dişlerde, çukurcuklu bölgelerin birleşmesi sonucunda daha büyük

aşınmış bölgeler oluşur. Kesici kenarlar ve tüberküller boyunca mine yüzeyi genellikle uzaklaşmıştır. Çukurcuklar ve diğer hasarlı bölgeler genellikle renklenmiş görülür. En şiddetli florozisli dişte, normal diş morfolojisi bozulacak derecede yüzey minesinin tamamının kaybı görülür. Mine yüzeyinin kaybı, yalnızca servikal bölgenin bütün kaldığı ve belirgin opak görüldüğü klinik görünümü yaratacak şekilde olabilir. Dişin geri kalan kısmı genellikle koyu kahverengidir. Bu renklenme tamamen, diyet alışkanlıkları gibi çevresel faktörlere bağlı olarak meydana gelir ve bu yüzden renklenmenin derecesi florozisin şiddetini belirlemede kullanılamaz (53).

Diş florozisi gelişimsel kaynaklı olduğu için, karşılaştırılabilir diş yüzeylerinde aynı derecede mine değişimi görülmesi beklenir. Sürmeden önce aynı zaman periyodunda flordan etkilenen tüm diş yüzeyleri, sürme esnasında aynı derecede florozis sergiler. Bununla birlikte, farklı yüzeylerin sürme sonrasında çeşitli etkenlerle karşılaşması neticesinde tüm yüzeylerin aynı florozis skoruna sahip olması beklenmemektedir. Florozisin, maturasyon süresi daha uzun olan arka grup dişlerde, ön grup dişlere göre daha şiddetli görüldüğü rapor edilmiştir. Bu durum, arka grup dişlerin daha kalın mine dokusuna sahip olmalarından kaynaklanabilmektedir (59).

Florozis şiddeti, flordan etkilenme miktarıyla mineralizasyon periyodu arasındaki ilişkiye bağlı olduğundan, florozisin süt dişlerinde nadir olarak rapor edilmesi şaşırtıcı değildir. Süt dişleri, daimi dişlerden daha az miktarda florozis sergilerler, fakat dişlenmedeki dağılımı benzer özellikler gösterir. Daha şiddetli derecelerin teşhisi daha kolayken, süt dişlerinde hafif florozisin değerlendirilmesi, daimi diş minesine göre daha ince ve daha beyaz olan süt dişi minesini yüzünden daha zordur. Ayrıca, daimi dişlere göre Retzius çizgilerinin daha az belirgin olması nedeniyle, florozisin hafif dereceleri daimi dişlerde olduğu kadar karakteristik değildir (53).

Florozise neden olabileceği bilinmesine rağmen flor, dünyanın her yerinde çürükten korunma amacıyla kullanılmaktadır (1). Florun sistemik kullanımı sonucunda vücudun diğer dokularında oluşturduğu etkileri hakkında çok sayıda araştırma mevcuttur (2-13).

2-1.3.2. Dentin Dokusunda Flor

Ektoderm kökenli minenin tersine, dentin, sement ve kemik gibi mezenşimal dokuların kollajenöz matriksleri vardır ve bu matriksler mineralizasyon işlemi sırasında tutulur. Dentinde bulunan apatit kristaller minedekine göre daha küçüktür ve daha az kristalizedir. Kristallerin yüzey alanının fazla olması, tübüler yapı ve doku hidrasyon derecesinin yüksek olması, dentinin flor alım kapasitesini arttırmaktadır (60,61).

Daimi dişlerdeki ortalama flor miktarı, çevresel flor miktarına bağlı olarak, yaklaşık 40 yaşına kadar artar. Flor oranı dentinin pulpa yüzeyleri boyunca en yüksektir. Bu bölgelerde devamlı bir flor emilimi vardır. Dentin oluşumunun devamlı olması ve florun mineralizasyon aşamasında birikmesi nedeniyle, dentindeki flor miktarı hayat boyu artmaktadır. Dentindeki flor miktarı, sistemik dolaşımda bulunan flora bağlı olarak değişim gösterdiği için, vücuttaki toplam flor miktarının göstergesi olarak değerlendirilebilir (62).

İnsan ve sıçan diş pulpalarının flor içeriğinin ve florun fosfataz aktivitesine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada, insan ve sıçan pulpalarının flor içeriği kan plazma seviyesinden oldukça yüksek bulunmuştur (63). 100 mM NaF'dan daha yüksek miktarda flor varlığında alkalin fosfataz aktivitesinde, 0.15 ile 0.25 mM NaF arasındaki flor miktarlarında ise asit fosfataz aktivitesinde bir miktar inhibisyon tespit edilmiştir. Bu nedenle, çok yüksek miktarlar haricindeki flor varlığında, dentin dokusunda flora bağlı değişim görülmemektedir.

Süt dişi dentininin flor içeriği, düşme sırasında pulpal yüzeyde oluşan fizyolojik rezorpsiyon nedeni ile daha karmaşıktır. Süt dişi dentininin pulpal yüzeylerinin flor içeriği, kök oluşumu sırasında artarken, rezorpsiyon döneminde azalmaktadır. Çok köklü süt dişlerinin oluşması ve kök rezorpsiyonu, daha uzun sürede meydana geldiğinden, süt dişi dentininin flor miktarındaki değişimler daha belirgin olmaktadır (43).

Hafif tip floroziste, yalnızca minede histolojik değişiklikler görülürken, şiddetli olgularda dentin de etkilenir. Bu değişiklikler, hipomineralize dentinin pulpaya yakın bölgelerinde Von Ebner çizgilerinde artış şeklinde açıkça görülmektedir (53).

Florozis şiddeti ile dentinin yapısal ve mekanik özellikleri arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada, minedeki flor miktarı ile dentindeki flor miktarı arasında bir ilişki saptanamamış, dentinin flor içeriğinin florozis şiddeti ile birlikte artış gösterdiği bulunmuştur (64). Ayrıca, dentinin flor içeriği arttıkça dentin kanallarının sayılarının ve genişliklerinin de arttığı rapor edilmiştir.

İn vitro olarak, florun pulpadaki, dentindeki ve predentindeki proteoglikanların içeriği ve yapısı üzerine olan etkisi araştırıldığında, flor varlığında üç dokuda da glikozaminoglikan zincirinin boyunun kısaldığı, dentin-pulpa kompleksinin mineralizasyonunda doğrudan veya dolaylı etkileri bulunan proteoglikanların yapısında ve sentezlenmesinde değişiklikler görüldüğü gösterilmiştir (65).

2-1.3.3. Pulpa Dokusunda Flor

Florun, mineralize olmayan yumuşak dokulardaki ve doku sıvılarındaki konsantrasyonu, sert dokulara göre daha düşük ve daha istikrarlıdır (41-43). Bununla birlikte, pulpa dokusunun kimyasal içeriği, elementlerin kan plazmasından difüzyon yolu ile pulpa sıvısına geçmeleri neticesinde olduğundan, pulpada bulunan kimyasal elementlerin konsantrasyonu kan plazmasından genellikle daha düşüktür (66). Pulpanın flor, kalsiyum ve fosfat içeriğinin, diğer yumuşak dokulara göre daha yüksek olduğu ve bu maddelerin yaşla birlikte pulpadaki konsantrasyonlarının arttığı gösterilmiştir (67). Flor, dokuların içeriğindeki kalsiyum miktarı ile doğru orantılı olarak dokularda birikmektedir.

Yapılan bir in vitro çalışmada (68), mikromolar konsantrasyondaki florun, tip I kollajen sentezini etkilemeden, pulpa hücrelerinin proliferasyonunu ve alkalin fosfataz aktivitelerini arttırdığı belirlenmiştir.

Diş hekimliği uygulamalarında öncelikle amaçlanan diş sağlığı doğrudan olarak, pulpa dokusunun sağlıklı oluşuna ve iyileşme potansiyeline bağlıdır. Bu nedenle, pulpa dokusunun yapısal ve hücresel özelliklerinin en iyi şekilde bilinmesi önem taşır.

2-1.4. Florun Diş Morfolojisi Üzerine Etkisi

Toplumların dişsel özelliklerindeki küçük farklılıklar antropolojistler ve diş hekimleri için oldukça önemlidir. Bu farklılıklar, sadece devam eden evrimsel süreçteki değişimleri yansıtmaz, aynı zamanda hastaların tedavileri sırasında göz önünde bulundurulması gereken varyasyonları gösterir (69-71).

Dişlerin boyut farklılıkları genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir (72). Beslenme şekilleri ve hastalıklar gibi çevresel etkenlerin, doğum öncesi dönemdeki gelişim süresinde dişsel özellikleri etkilediği bildirilmiştir (73,74). Garn ve ark (73), organizmanın kalori miktarının veya protein alımının insanların diş boyutlarında değişime neden olduğunu rapor etmişlerdir. Kalıtsal hastalıklardan Ailesel Disotonomi'nin ve Down Sendromu'nun meziodistal ve bukkolingual diş boyutlarını azalttığı gösterilmiştir (74,75). Bunun yanında, prematüre doğan çocukların diş boyutlarında, kontrol grubuna göre önemli bir farklılık tespit edilememiştir (76).

Dişin morfolojik özelliklerinden meziodistal ve bukkolingual yöndeki diş boyutları, dişlerin arklardaki sıralanmalarını ve süt dişlenmeden daimi dişlenmeye geçiş sırasındaki oklüzyonun gelişimini etkileyen önemli faktörlerdir (77). Eser elementlerin dişlerin meziodistal ve bukkolingual boyutlarına olan etkileri bir grup araştırma ile incelenmiştir (78-83). İçme suyunda bulunan 1 ppm florun, 10-11 yaşındaki erkek çocukların diş morfolojisine etkisini araştıran çalışmada, 1. azı dişlerin meziodistal ve bukkolingual boyutlarının florlu grupta önemli derecede daha az olduğu bulunmuştur (79). Benzer olarak, florlu bölgede yaşayan bir grup ebeveyn ve çocuklarının dişlerini inceleyen Goose ve Roberts (80), her iki grupta da florun diş boyutlarında azalmaya neden olduğunu bulmuşlardır. Bu çalışmalar, optimal seviyede florlanmış suyun diş morfolojisini değiştirici etkisini incelerken, yüksek seviyelerdeki diyet florunun etkisi ile ilgili araştırmalar sınırlı kalmıştır. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, diyetle yüksek seviyede alınan florun, azı dişlerinin morfolojilerinde daha belirgin değişimlere neden olduğu bulunurken, içme suyunda 2 mg/lt flor bulunan bölge ile florsuz bölgede yaşayan çocukların dişlerinin meziodistal boyutları

arasında bir fark bulunamamıştır (81,82). İçme sularında optimum ve yüksek seviyede flor bulunan iki ayrı bölgede yaşayan çocukların diş boyutlarını inceleyen Omar (84) ise, içme suyunun flor konsantrasyonu arttıkça diş boyutlarının küçüldüğünü rapor etmiştir. Diyet ve içme suyu ile alınan florun diş morfolojisi üzerine olan etkileri çeşitli çalışmalar ile araştırılmış olsa da yüksek seviyede alınan florun somut bir göstergesi olan florozisli dişlere sahip hastaların dişlerinin morfolojik özellikleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Endemik florozis bölgesinde yaptıkları bir çalışmada, Şahin Sağlam ve ark (83), florozisli dişleri bulunan çocukların dişlerinin ortalama meziodistal boyutlarının daha az olduğunu bulmuşlardır.

2-1.4.1. Diş Boyutlarının Ölçümü

Odontometrik çalışmalardan elde edilen veriler, antropoloji ve diş hekimliği uygulamaları gibi pek çok alanda kullanılabilir. Toplumların tarihsel süreçteki yapısal özelliklerini, kökenlerini ortaya çıkarmak ve coğrafi grupların dişsel özelliklerini belirlemek için yerel ve bölgesel gruplara ait odontometrik farklılıklardan yararlanılmaktadır (85-90).

Diş hekimliğinde, bireylerin diş boyutlarını en doğru biçimde ölçmek için çeşitli metotlar araştırılmıştır. Diş boyutlarının gerçek değerlerini elde etmek amacıyla, doğrudan dişler üzerinde, ağız içi ortamda yapılan ölçümlerde, ortamın standardize edilememesi ve özellikle üst çenede dişlerin, mezial ve distal deyim noktalarının belirlenmesinin zor olması gibi nedenlerle, meziodistal ve bukkolingual genişlik değerleri ideal bir şekilde elde edilememektedir. Ağız içi ortamda elde edilen değerler ile aynı hastaların alçı modelleri üzerinde yapılan ölçümlerden elde edilen değerlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, ağız içi ölçümlerde önemli derecede daha düşük değerler elde edildiği rapor edilmiştir (91). Araştırmacılar çalışmanın sonucu olarak, alçı modeller üzerinde yapılan ölçümlerde daha doğru ve net değerlerin elde edildiğini bildirmiştir.

Dişlerin boyut ölçümleri genellikle alçı modeller üzerinde kumpaslar yardımıyla gerçekleştirilmektedir (92-94). Son yıllarda hızla ilerleyen

teknolojik gelişmeler sonucunda, dijital ortamda gerçekleştirilen 3 boyutlu model analiz sistemleri geliştirilmiş ve klinisyenlerin oldukça ilgisini çeken bu sistemlerle ilgili araştırmalar yapılmıştır (95-99). Ancak araştırma sonuçlarına göre, dijital analiz sistemlerinin klinik uygulamalarda kabul edilebilir sonuçlar ortaya koyduğu ve pratikte rutin olarak kullanılabilceği, bunun yanında alçı modeller üzerinde elektronik kumpaslar kullanılarak yapılan ölçümlerde, bilimsel anlamda daha doğru ve güvenilir sonuçların elde edildiği ortaya konulmuştur.

Dokuların morfometrik araştırmalarında kullanılan stereolojik metotların, hızlı gelişme göstermesi ve yeni yaklaşımların geliştirilebilmesine imkân sağlaması gibi nedenlerle, bu metotlar son yıllarda önem kazanmıştır (100). Toplam hacim, hacim oranları veya hacim yoğunluğu gibi değerler, biyolojik yapılar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda, sıklıkla gerekli nicelikler olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Makroskobik ve mikroskobik yapıların hacim ve hacimle ilişkili ölçümlerinde, stereolojik metotların rahatlıkla kullanılabilceği belirtilmektedir (101). Sayısal verilerle ilgili çalışmalarda, bir standart olarak stereolojik metotların kullanılması veya kullanılan metotların matematiksel veya teorik olarak doğrulanması istenmektedir (100,102,103). Stereolojik metotlar, hem araştırma laboratuvarları için hazırlanmış bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemlerinde uygulanabilmekte, hem de basit araç gereçler ve düşük maliyetlerle kullanılabilir (104). Bu özellikleri nedeniyle stereolojik metotların önemi, araştırma-geliştirme faaliyetlerine sınırlı miktarda kaynak ayrılabilen ülkemizde bir kat daha artmaktadır.

2-2. DİŞ PULPASI

2-2.1. Pulpanın Genel Özellikleri

Pulpa, sert ve mineralize dentin içerisinde bulunan bir müköz bağ dokudur (105). Vücuttaki diğer bağ dokularla aynı özellikleri paylaşırsa da lokalizasyonu nedeniyle pek çok farklı özelliğe sahiptir. İçerik ve yapısal özellikleri bakımından dentinden oldukça farklı olmasına rağmen, birbirine

yakın embriyolojik ve fonksiyonel ilişkileri nedeniyle bu iki doku birlikte pulpa-dentin kompleksi olarak adlandırılır (106).

Bağ doku, vücudun her yerinde bulunan bir destek dokudur. Bağ dokunun ana bileşeni, çoğunlukla fibriler proteinden ve bazal membrandan oluşan hücre dışı matrikstir. Bağ doku hücreleri, hücre dışı matriks içerisinde dağılım gösterir. Fibriler proteinler, bazal membranın amorf sıvı jeli içerisinde dizilim gösteren ince ve uzun bir ağ oluşturur. Kollajen ve elastin olmak üzere iki tip fibriler protein vardır. Kollajen, dokuya sertlik kazandıran kollajen liflerin, elastin ise dokuya esneklik kazandıran elastik liflerin ana bileşenidir. Pulpada elastik lifler yalnızca geniş kan damarlarının duvarlarında bulunur. Bazal membran, birincil olarak bağ dokunun viskoelastitesinden ve filtrasyon işlevinden sorumludur. Temel olarak, proteoglikan adı verilen ve protein çekirdekleri içeren makromoleküllerden ve çeşitli sayılarda geniş, dallanmamış polisakkarit zincirleri içeren glikozaminoglikanlardan oluşur. Hücre dışı matriks aynı zamanda fibronektin gibi hücre-matriks etkileşimini ayarlayan adeziv glikoproteinleri içerir (107).

Fibroblastlar, bağ dokunun esas hücreleridir. Hücre dışı matriks içerisinde bir ağ oluştururlar ve matriksin bileşenlerini meydana getirirler. Aynı zamanda bağ dokunun yeniden şekillenmesi için gerekli olan hücre dışı elementleri azaltma işleminden sorumludurlar. Diğer hücreler ise makrofaj gibi birincil fonksiyonu enfeksiyonu ortadan kaldırmak olan kandaki savunma hücreleridir (107).

İçeriklerindeki farklılıklar nedeniyle dokular iki kategoriye ayrılır;

- bazal maddesi fazla ve lifleri az olan gevşek (zayıf) bağ doku.
- kollajen lifleri fazla ve hücreleri daha az olan yoğun bağ doku.

Pulpa, gevşek bağ dokudur. Bağ dokunun ana görevi, hücrelerin ve organların bağlanacağı matriksi sağlamak ve vücuda destek olmaktır. Bağ doku aynı zamanda, patojenik saldırılara karşı reaksiyonları başlatmaktan ve organize etmekten sorumludur. Böylelikle organizmanın savunmasında görev alır. Ayrıca hasar görmüş dokuyu önemli ölçüde tamir etme kapasitesine sahiptir (107).

Dentini oluşturan odontoblast tabakası, pulpanın dış yüzeyini çevrelemektedir. Pulpanın dış tarafında tabaka halindedir ve hücre gövdeleri pulpa içerisinde bulunurken uzun sitoplazmik yapıları dentin kanallarının içine doğru uzanır. Odontoblastların hücre gövdelerinin şekilleri tek tip değildir, koronal pulpada bu hücreler uzun ve sütun, orta kısımda kısa ve sütun, kök kısmında ise küboidal ya da düz şekildedir. Odontoblast tabakasında kılcıl damarlar ve odontoblastlar arasından geçen ve serbest sonlanan sinir lifleri bulunur (108). Ayrıca bu tabakada, transdentinal antijenik stimulusları bulmakla sorumlu “sınıf II majör histocompatibility complex (MHC) molecule-expressing” dentritik hücreler bulunur (105). Odontoblastlar arasında kollajen lifler, proteoglikanlar ve fibronektin tanımlanmıştır (109-111). Bunlar, gümüş boyamasında görülebilen, interodontoblastik fibröz doku olan Korff liflerinin bir parçasıdır.

Odontoblast tabakasının altında hücreden yoksun bir bölge görülür. Bu bölgeye hücresiz tabaka ya da Weil tabakası adı verilir. Bu bölgede görülen ana elemanlar, çoğu miyelinsiz sinir liflerinin oluşturduğu sinir ağı, kılcıl kan damarları ve fibroblastlardır. Odontoblastlar aktif olarak dentini oluştururken bu bölge genellikle belirsiz olur (106).

Daha iç kısımda hücre yoğunluğunun fazla olduğu hücreden zengin bölge bulunur. Bu bölgenin içeriği temel olarak pulpa ile aynıdır ve fibroblastlar, farklılaşmamış mezenşimal hücreler, savunma hücreleri (makrofajlar, lenfositler), kılcıl damarlar ve sinirlerden oluşur. Bu tabaka fazla yoğunluktaki fibroblast içeriğinden dolayı pulpanın diğer bölgelerinden daha koyu renkte ve koronal pulpada kök pulpasından daha belirgin biçimde görülür. Bu tabakanın, primer odontoblastlar zarar gördüğünde, sekonder odontoblastlara farklılaşacak olan hücrelerin kaynağı olduğu düşünülmektedir (107).

Hücreden zengin bölgenin iç kısmında, pulpa çekirdeği olarak bilinen merkezi bağ doku kütleli bulunur. Bu bölge fibroblastları, geniş kan damarlarını ve sinirleri içerir. Farklılaşmamış mezenşimal hücreler ve makrofajlar gibi savunma hücreleri genellikle kan damarlarının bulunduğu

bölgenin etrafında bulunmaktadır. Kollajen lif demetleri kök pulpasında koronal pulpadan daha çok bulunur (106).

Fox ve Heeley (112), çürüksüz ve kökleri rezorbe olmamış süt dişlerinin, odontoblast tabakası, Weil tabakası, hücreden zengin tabaka, damarlanma, bağ dokusu lifleri, pulpa mineralizasyonu ve preentin tabakası gibi dokularının yapısal özelliklerini genç daimi diş pulpası ile histolojik olarak karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, süt dişi koronal pulpasında retiküler ve kollajenöz lif ağının oluşturduğu şapka benzeri yapı dışında, süt ve genç daimi diş pulpalarının histolojik ve yapısal özelliklerinin benzer olduğunu bildirmişlerdir.

2-2.2. Pulpanın Hücreleri

2-2.2.1. Odontoblastlar

2-2.2.1.1. Odontoblastların Görevi ve Yapısal Özellikleri

Pulpanın yüksek derecede farklılaşmış hücreleri olan odontoblastlar, nöral krista hücrelerinden farklılaşırlar. Preentin ve dentinin organik matriks bileşeni olan kollajeni ve proteoglikanı üretirler. Aynı zamanda, kemik sialoproteini, dentin sialoproteini, fosforin, osteokalsin, osteonektin ve osteopontin gibi çeşitli non-kollajen proteinleri sentezlerler. Dentin sialoproteininin ve fosforinin dentine özgü olduğu düşünülür (113). Bu moleküller, preentin kanallarının içindeki sitoplazmik yapılardan salgılanır. Odontoblastlar, mineralizasyon bölgesine kalsiyumun taşınmasından ve organik matriksi azaltma işleminden sorumludurlar (17). Primer dentin oluşumunun erken safhalarında daha aktiftirler. Aktif sentez yapan odontoblast hücre gövdeleri sütun şeklindedir, 5–7 µm çapında ve yaklaşık 40 µm uzunluğundadır. Primer dentin oluşumu tamamlandıktan sonra, odontoblastlar daha az aktif konuma geçerler ve daha düz görünürler.

Odontoblastların klinik önem taşıyan birincil görevi, dişte oluşan dentin yaralanmasını belirlemek ve reaksiyoner dentin salgısı ile bölgeyi onarmaktır (114).

Odontoblast hücre gövdesinin sitoplazmik özelliği, hücrenin fonksiyonel aktivitesine göre çeşitlilik gösterir (115,116). Aktif sentez yapan odontoblastlar, matriks sentezleyen hücrelerin tüm özelliklerini sergilerler. Organelleri belirgindir, geniş ve kaba yapılı endoplazmik retikülüm, iyi gelişmiş Golgi kompleksine, çok sayıda mitokondriye ve çok sayıda veziküllere sahiptir. Büyük oval çekirdeği hücre gövdesinin taban kısmında bulunur. Bu çekirdek, 4 taneye kadar çekirdekçik içerebilir ve çekirdek zarı tarafından çevrelenir. İyi gelişmiş endoplazmik retikülüm, çok sayıdaki mitokondriye yakın olacak şekilde tüm hücre boyunca görülebilir. Endoplazmik retikülüm hücre gövdesinin uzun aksına paralel olarak dizilmiş sisternalar içerir. Ribozomlar, sisternaların zarları ile ilişki halindedir. İyi gelişmiş Golgi kompleksi, çekirdeğin üst kısmında bulunan kesecik yığınlarından oluşmaktadır. Golgi kompleksinin olgunlaşmamış yüzünde taşıma vezikülleri, olgunlaşmış yüzünde ise farklı boylarda salgı granülleri bulunmaktadır. Radyoaktif kollajen öncü hücresi kullanılarak yapılan bir çalışmada, odontoblastlarda kollajen öncü hücresinin sentezinin, migrasyonunun ve salınımının, hücre dışı protein salgılanmasına benzer olduğunu göstermektedir (117). Mitokondri, hücre gövdesi boyunca dağılmıştır. ATP üretiminin yanında, odontoblastlardaki mitokondriler aynı zamanda kalsiyumun hücre içi depolanmasında ve düzenlenmesinde rol oynar (17). Pek çok ince lif ve mikrokannallar organellerin etrafında sıralanmıştır. Bu yapı, hücreye şekil ve kutuplaşma kazandırır.

Pasif odontoblastlar, aktif sentez yapan hücrelerden daha kısadır. Endoplazmik retikülüm, Golgi kompleksi ve mitokondri gibi organellerinin sayısında ve büyüklüğünde azalma görülür (115,116). Hücreler durgunluk ve aktif sentez aşamalarının arasındayken bu organeller çekirdek etrafında dağılım gösterir. Sitoplazmada, organellerin azalmasında rol oynayan otofajik vakuoller gözlemlenebilir. Hücrelerin yaşam döngülerinin son aşamasında bu organeller yalnızca çekirdeğin alt kısmındaki bölgede bulunurlar. Çekirdeğin üst kısmındaki bölgede geniş yağ dolu vakuoller haricinde organel bulunmaz (116).

2-2.2.1.2. Odontoblastik Uzantılar

Odontoblastik uzantı, hücre gövdesinin düz uzantısıdır ve dentin kanalları içindeki boşluğun çoğunu işgal eder. Çapı, pulpa-predentin sınırında 3–4 μm 'dir, dentin kanallarına girdikçe daralır. Çok sayıda mevcut olan yan dalları sayesinde diğer odontoblastların dallarıyla temas sağlayabilir. Ana hücrenin aksine uzantı, sentetik aktivite için gerekli ana organellerden yoksundur. Genellikle predentin seviyesinde olmak üzere, birkaç endoplazmik retikülüm sisternasına, nadiren mitokondriye ve ribozom benzeri granüllere rastlanabilir. Bununla birlikte uzantı, uzun ekseni boyunca paralel dizilmiş mikroliflerle ve mikrokanallarla dolu olan iyi gelişmiş bir sitoskeleton yapısındadır (118-121). Aynı zamanda, pek çok salgı vezikülü mevcuttur.

Odontoblastik uzantının uzunluğu ile ilgili çelişkili bilgiler mevcuttur. Uzun bir süre boyunca tüm dentin kanalı boyunca uzandığına inanılmıştır. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda ise odontoblastik uzantıların yalnızca dentinin iç üçlüsünde bulunduğu gösterilmiştir (118,120,122,123). Ancak bu bulgunun, dış dokusunun kesimi sırasında odontoblastik uzantının büzülmesi sonucunda meydana gelebileceği de unutulmamalıdır. Diğer yandan SEM kullanan diğer araştırmacılar, dentinin dış kısmında, hatta mine-dentin birleşiminde odontoblastik uzantı benzeri yapıların var olduğunu göstermişlerdir (124,125). Bununla birlikte alınan görüntülerin gerçek uzantıyı göstermediği, fakat peritübüler dentinin iç kısmında kanal boyunca uzanan ve lamina limitan adı verilen organik, tabaka benzeri yapıları gösterdiği bildirilmiştir (122,123). Sitoskeletal proteinlerin antikorları üzerinde yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda, dentin dokusu boyunca immunoreaktivite gözlemlendiği ve odontoblastik uzantıların tüm dentin boyunca devam ederek mine-dentin sınırına kadar ulaştığı bildirilmiş (124-127), bununla birlikte, TEM, SEM floresant karbosiyanin boya ve konfokal laser scanning mikroskop kullanılarak yapılan diğer çalışmalarda (128-130), odontoblastik uzantıların sadece derin dentinde bulunduğu, dış dentindeki kanallarda odontoblastik uzantıların bulunmadığı tespit edilmiştir.

2-2.2.1.3. Odontoblast Bağlantıları

Birbirine komşu odontoblastlar arasında pek çok tipte hücre bağlantıları görülür. Odontoblastların yan yüzeyleri boyunca, epitelyal dezmozomlarda tipik olarak bulunan, interselüler diski içermeyen dezmozom benzeri bağlantılar görülür (115,131,132). Bu tip bileşim temasları hücreler arası adezyonu artırabilir ve odontoblastların kutuplaşmasında önemli bir rol oynar. Aynı zamanda odontoblastların yan yüzeyleri arasında oluklu bağlantılar tanımlanmıştır (131,132). Bu özel tipteki bileşimler, iyonların ve küçük suda çözünebilir metabolitlerin hücre içine geçişini sağlayarak, odontoblastların hücre farklılaşmalarının kontrolünde ve dentin mineralizasyonunda önemli rol oynar ve hücre içi yanıtların koordinasyonuna yardım eder. Odontoblastlar arasında yaygın olarak, hücre gövdesiyle uzantı arasında olan ve odontoblastlar arasındaki materyal geçişini önleyen sıkı bağlantılar bulunur (131,132). Bazı küçük sinir liflerinin ve kollajen liflerin interodontoblastik boşluğa doğru geçtikleri ve preentine ulaştıkları bilinmektedir (110). Bu gözlem, odontoblastların bağlantı kompleksinin hücre gövdesini tamamen çevrelemediğini ortaya koymaktadır. Bununla beraber, bağlantıların geçirgenliği hücre içi radyoaktif izotopların perfüzyonuyla test edildiğinde, izotopların sıkı bağlantıların ötesine ulaşmadığı anlaşılmıştır (133-135). Bu durum, odontoblast tabakasının fizyolojik bir bariyer olarak davrandığını göstermektedir. Hücre içi radyoaktif izotoplarla yapılan bir çalışmada, kavite açılmasından sonra izotopların preentine ve dentine nüfuz ettiği bulunmuştur (134). Bariyerdeki bu düzensizlik dentin sıvısının dışa doğru olan hareketlerini desteklemektedir. Doku onarımından sorumlu bileşiklerin ve iyonların yara bölgesine doğru taşınmasına ve dış kaynaklı zararlı maddelerin dentin içine doğru difüzyonunun önlenmesine neden olan bu durum, dokunun onarım işlevine katkıda bulunabilmektedir.

2-2.2.1.4. Odontoblastlarda Görülen Değişimler

Pulpa-dentin kompleksi, diğer bağ dokularda görülmeyen tek tip savunma ve tamir reaksiyonuna sahiptir. Bu reaksiyon sonucunda

yaralanmaya cevap olarak yeni mineralize doku oluşmaktadır. Pulpadaki mevcut odontoblastlar (primer odontoblastlar) ya da yeni oluşan odontoblastlar (sekonder odontoblastlar veya odontoblast benzeri hücreler), mineralize dokuyu meydana getirebilirler (136).

Restoratif işlemler sırasındaki kavite hazırlığı işlemi, odontoblast tabakasını etkileyebilir. Sığ kaviteler, odontoblastlar arasındaki bağlantıların bozulmasına, derin kaviteler ise odontoblast hücre gövdesinin dentin kanallarına doğru çekilmesine ve sitoplazmik yapının bozulması neticesinde hücre ölümüne neden olmaktadır (18).

Dokuda meydana gelen yaralanmanın doğasına, büyüklüğüne ve süresine bağlı olarak primer odontoblastlar geri dönüşümlü olarak zarar görebilir veya tamamen ölebilir. İkinci durumda ölü hücreler yeni dentin matriksi oluşturmak için sekonder odontoblastlarla yer değiştirir. Pulpa hücrelerinin sekonder odontoblastlara farklılaşması olayının mekanizması tam olarak bilinemese de, hücre bölünmesi, kemotaksis, hücre göçü, hücre adezyonu ve sitodiferansiyasyon gibi sayısız olayları tetikleyen büyüme faktörü nedeniyle yeni hücreler oluşabilmektedir. Bununla birlikte, pulpada iltihabi bir durumun olmaması ve yeterli oksijen miktarının bulunması gibi etkenlerin, sekonder odontoblastların sitodiferansiyasyonunu başlattığı görülmektedir. Yeni oluşan sekonder odontoblast hücrelerinin aktivasyonu ile yara bölgesinin dentin duvarında yeni dentin meydana gelir. Yaralanmaya cevap olarak oluşturulan bu dentin tersiyer dentin olarak adlandırılır (137).

Morfolojisi değişken olsa da sekonder odontoblastlar, primer odontoblastlardan daha az sütunsu özellik ve daha seyrek dağılım gösterir. Bununla birlikte, sekonder odontoblastların primer odontoblastlarla pek çok fenotipik ve fonksiyonel özelliği paylaştığı görülür (107).

2-2.2.2. Fibroblastlar

Fibroblastlar, bağ doku matriksini sentezleme ve devam ettirme kapasitesine sahip olan ve bağ dokusunda en fazla görülen hücrelerdir. Pulpanın bağ dokusunda dağılım gösterirler ve koronal pulpanın hücreden

zengin bölgesinde yüksek yoğunlukta bulunurlar. Vücudun diğer yerlerinde olduğu gibi diş pulpasında da fibroblastların ana görevi tip I ve tip III kollajen sentezidir. Aynı zamanda, proteoglikan ve fibronektin gibi kollajen yapıda olmayan hücre dışı matriks bileşenlerinin büyük kısmının sentezinden ve salgılanmasından sorumludurlar (106).

Pulpa fibroblastlarının morfolojileri fonksiyon durumlarına göre çeşitlilik gösterir. Yoğun sentetik hücrelerde pek çok düzensiz dallanma gösteren sitoplazmik uzantılar ve hücre tabanında bulunan çekirdek mevcuttur. Endoplazmik retikülüm bakımından zengindir ve iyi gelişmiş Golgi kompleksine sahiptir (106).

Fibroblastlar hücre dışı matriks bileşenlerinin azaltılmasından sorumlu olduklarından, bağ dokuların yeniden şekillenmeleri için gereklidirler. Kollajen lifleri fagosite ederler ve lizozomal enzimleriyle hücre içinde sindirirler. Bu hücreler kollajenler ve proteoglikanlar gibi matriks makromoleküllerinin miktarını azaltan ve matriks proteinazlar olarak adlandırılan bir grup çinko enziminin kaynağıdır (107). İn vitro çalışmalar (138-140), kültüre edilmiş pulpa fibroblastlarından matriks metalloproteinaz oluşumunun, iltihabi sitokinlerle, bakteriyel elemanlarla ve fosfolipidlerle uyarılmasının ardından artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Bu bulgular, uyarılan fibroblastların, pulpa iltihabı sırasında pulpal bağ doku miktarının azalmasında ve pulpa onarım mekanizmasında rol oynadığını desteklemektedir.

2-2.2.3. Farklılaşmamış Mezenşimal Hücreler

Farklılaşmamış mezenşimal hücreler, pulpa çekirdeği ve hücreden zengin bölge boyunca, özellikle de perivasküler bölgede dağılım gösterirler. Bu hücreler yüksek çekirdek/sitoplazma oranıyla yıldız şeklinde görülürler. Bununla birlikte, ışık mikroskobu altında fibroblastlardan genellikle zor ayırt edilirler. Uygun bir uyarı etkisi altında, fibroblastlara veya odontoblastlara farklılaşabilirler. Yaşlı pulpalarda, farklılaşmamış mezenşimal hücre sayısı azalır, bunun sonucu olarak pulpanın kendini yenileme potansiyeli de azalmış olur (62).

2-2.2.4. İmmünokompetent Hücreler

İmmün yanıtı oluşturma özelliğine sahip olan bağ doku, konak savunmasında aktif bir rol oynar. Bağ dokunun bu kapasitesi dokuda bulunan immünokompetent hücrelere bağlıdır. Bu hücreler kan dolaşımıyla buldukları diğer bölgelerden gelir, yabancı bir antijen bağ dokuya girdiğinde, etkileşime girerek antijenik saldırı ile ilgili doku savunması için oluşturulan mekanizmaya yardım ederler (141). İn vitro çalışmalarda, çürük varlığında ve fizyolojik kök rezorpsiyonu sırasında süt dişi pulpasında immünokompetent hücre sayısının arttığı gösterilmiştir (142,143).

Lenfositler: Pulpadaki lenfositlerin düzenlenmesi diğer bağ dokularla benzerdir. İnsan ve sıçan pulpasında T lenfositler normal olarak tanımlanırlar. Bu hücreler, yoğun olarak kan damarlarının etrafına dağılmış şekilde görünürler. Pulpanın hücresel elemanları arasında sayıca daha azdırlar. Antikor sentezi için özel yeteneğe sahip B lenfositler ve plazma hücreleri, normal insan pulpasında nadiren bulunur (105).

Makrofajlar: Makrofajlar, klasik olarak, genellikle kan damarları etrafında bulunan histiyositler olarak tanımlanırlar. Pulpada bulunan çeşitli immünokompetent hücrelerin arasında en fazla görülen hücre tipidir. Bu hücreler, patolojik bir uyarın varlığında, fagositler veya antijen üreten hücreler gibi davranarak, pulpanın savunma reaksiyonunu başlatabilmektedirler (144). İmmünohistokimyasal çalışmalar, pulpanın bağ dokusu boyunca makrofajla ilgili antijen taşıyan pek çok sayıda hücre olduğunu göstermiştir (145,146). Bu hücrelerin yapısal görünümü, düzensiz dalgalanmalar gösteren hücre yüzeyi ve sitoplâzmlarında iyi gelişmiş lizozomal yapılara sahip olmaları ile karakterizedir. Pulpanın makrofajları pek çok fenotipte olabilir. İnsanlarda CD14, CD68, pıhtılaşma faktörü XIIIa ve HLA-DR gibi çeşitli antijen kombinasyonları görülebilmektedir (107).

Dendritik Hücreler: Dendritik hücreler, vücudun tüm doku ve organlarında seyrek olarak dağılım gösteren hematopoetik olarak farklılaşmış lökositlerdir. Değişik dendritik morfolojileri, yüksek miktarda sınıf II MHC molekülü içermesi, yüksek hareket kabiliyeti, sınırlı fagositik aktivitesi ve T lenfositlere yüksek miktarda antijen sunma kapasitesi ile karakterizedirler

(147). Dendritik hücreler, genellikle sınıf II MHC moleküller ve çeşitli adeziv, yardımcı moleküller gibi yüzey moleküllerine sahiptir. Bu hücreler, kemik iliğindeki olgunlaşma döneminden ve kan dolaşımından sonra, antijen saldırısını denetledikleri periferel nonlenfoid dokulara yerleşirler, böylece bağışıklık sisteminin bir gözetmeni olarak rol oynarlar. İlk immün cevap sırasında saf T lenfositleri uyaran tek hücre tipidir (107).

İnsan pulpasında sınıf II MHC molekül hücreleri, sürekli olarak tüm pulpa yüzeyinin retiküler ağını oluşturur. Üç ya da daha fazla sayıda, 50 µm'den uzun dallanmalar yapan sitoplazmik uzantılara sahiptir. Özellikle pulpanın etrafında, odontoblast tabakasının içinde veya hemen komşuluğunda yoğun olarak bulunurlar, bazen de uzantıları dentin kanallarının iç kısımlarına kadar uzanır. Aynı zamanda, uzun aksları boyunca endotelial hücrelere paralel olacak şekilde, perivasküler alanda dizilim gösterirler. Pulpadaki dendritik hücrelerin birincil fonksiyonu, antijen istilasını denetlemektir. Hücreye giren antijenlere karşı iki şekilde davranırlar; (i) birincil immün cevabı başlatmak üzere, antijene duyarlı T lenfositlere bölgede antijen varlığını bildirmek için o bölgeye ait lenf nodlarına göç ederler, (ii) pulpa için tekrar tehdit oluşturduklarında antijenleri T lenfositlere tanıtır (sekonder immün cevap) (105,107,147-149).

Mast Hücreleri: Mast hücreleri, bağ doku içerisinde kan damarlarına yakın bölgelerde küçük gruplar halinde görülen ve granüller içeren immün hücrelerdir. Granülleri, antikoagülan ajan olan heparini ve iltihabi mediyatör olan histamini içermektedir (106). Son yıllarda yapılan çalışmalar, mast hücrelerinin çürük veya travma sonucu oluşan kronik hiperplastik pulpitisli dokularda bulunduğunu, sağlıklı pulpalarda bulunmadığını göstermiştir (150,151). Mast hücreleri, ağız mukozasında ve pulpada görülen iltihabi durumun, akut fazdan kronik faza geçişinde önemli role sahip hücrelerdir. Endotelial, sinir ve diğer immün hücreleriyle olan etkileşimleri, iltihap varlığında dokuda oluşacak olan immün yanıtta bu hücreleri oldukça önemli kılmaktadır (152).

Pulpa dokusunun hücresel içeriğinde, diş hekimliği uygulamaları ve kullanılan materyallerin etkisi sonucunda farklılıklar görülebilmektedir. Kavite

hazırlığı ve diş hekimliği materyallerinin pulpada ve odontoblast hücrelerinde meydana getirdiği histolojik değişimler çeşitli araştırmalarla ortaya konmaya çalışılmıştır (16,153-161). Bununla birlikte, derin kavitelere uygulanan flor içerikli materyallerin pulpada iltihabi değişikliklere ve bölgesel nekroza neden olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (162,163).

2-2.2.5. Pulpa Hücrelerini İnceleme Metotları

Pulpa hücrelerini incelemek amacıyla günümüze kadar yapılan çalışmalar, dekalsifiye olmuş veya olmamış örneklerde, dokunun incelenmek istenen belli bir bölgesinden alınan kesitlerin, ışık veya elektron mikroskobu altında incelenmesi temeline dayanmaktadır (15,16,156,160). Ancak, mikroskobik incelemelerde kullanılan kesitler, yapıların iki boyutu hakkında fikir verirken, derinlik özellikleri ile ilgili olarak araştırmacıya doğrudan bilgi sağlayamazlar. Kullanılan görüntüleme metodu ne olursa olsun söz konusu olan üç boyutlu yapılardan elde edilmiş iki boyutlu kesit görüntüleridir ve dokunun tamamı hakkında net bilgi elde edilememektedir. Mikroskobik çalışmaların başlangıcından, stereolojik metotların ortaya çıkışına kadar olan süre boyunca, kullanılan metotlarda derinlik boyutu görmezden gelinmiş veya bir takım yetersiz düzeltme unsurlarıyla, bu verinin sağlayacağı bilgilere ulaşılmaya çalışılmıştır (164).

2-2.2.5.1. Stereolojik Metot

Stereoloji, iki boyutlu doku kesitlerinden elde edilen bilgilere dayanarak, kapiller yüzey alanı, damar uzunluğu veya organdaki toplam spesifik hücre sayısı gibi üç boyutlu parametrelerin tarafsız ve kesin olarak ölçülmesi tekniğidir (165).

Mikroskobik çalışmaların başlangıcından günümüze kadar, ilgili biyolojik yapı içerisindeki hücrelerin sayısını bulmak için değişik metotlar kullanılmıştır. Yeni geliştirilen stereolojik sayım metotlarından biri olan "disektör" sayım metodu, gerçekte üç boyutlu olan yani uzunluk, genişlik ve

derinliğe sahip biyolojik yapıları, sahip oldukları boyut özelliklerini göz ardı etmeden saymaktadır (166).

Toplam hücre sayısının hesaplanması için, kullanılan disektör metodunun uygulanma biçimlerinden biri, parçalama yaklaşımı ile yapılan örnekleme uygulamalarıdır. Bu metotta, incelenen bölgede, yapının bir parçasında bulunan hücrelerin sayılması söz konusudur. Toplam hücre sayısı çalışılan parçadan elde edilen verilerin, toplam yapıya oranlanmasıyla elde edilebilir. Yapılan parçalama işleminde belirlenen örnekleme aralığı yeterli ise hesaplar doğru ve güvenilir olacaktır (167). Parçalama metodunun temel olarak iki tipi bulunmaktadır. Bunlardan ilki fiziksel parçalamadır. Daha sonra optik disektör metodunun ortaya çıkışı ile daha pratik ve etkin bir metod olan optik parçalama geliştirilmiştir (168).

2-2.2.5.1.1. Optik Parçalama

Optik parçalama, bir organda veya belirli bir yapıdaki toplam taneciklerin tarafsız ve etkin bir biçimde hesaplanmasını sağlayan metottur. Optik parçalama, incelenecek bölge hacminin sistematik rastgele örneklemeyle elde edilen belli bir bölümünde, optik disektörle hücre veya hücre topluluklarının oluşturduğu taneciklerin sayımından ibarettir. İlgilenilen bölgenin tümünden geçen kesitlerden sistematik rastgele örnekleme ile elde edilen belli bir bölümünün, tanecik içerdiği düşünülen kesit alanlarının ve kesit kalınlığının belli bir oranının sistematik örnekleme ile uygulanmaktadır (168).

Optik parçalama, histolojik işlemlerin fiksasyon, takip, gömme, kesit alma, boyama gibi herhangi bir aşaması esnasında tanecikler arası mesafede ve/veya taneciklerde oluşabilen büzüşme ya da genişlemeden etkilenmez. Bu özelliğinden dolayı, gömme ve boyama aşaması esnasında ölçümü oldukça zor olan büzüşmenin meydana geldiği frozen, selloidin, ve parafin kesitlerin incelenmesi mümkün hale gelir (169). Ayrıca optik parçalamada, organ ya da yapıdaki taneciklerin büyüklüğünden, şeklinden, yöneliminden, kesit alma yönünden etkilenmeden sayım yapılır (168).

2-2.2.5.1.1.1.Kesit Örnekleme Payı

Yapıdaki toplam tanecik sayısını hesaplamak için; (i) ilgilenilen yapı başından sonuna kadar kesilir, (ii) elde edilen tüm kesitlerden sistematik rastgele örnekleme ile en az 10 kesit elde kalacak şekilde kesit örnekleme yapılır, (iii) örneklemin sistematikliği belli bir kesit örnekleme aralığında yapılması ile sağlanır, (iv) kesitlerin sistematik rastgele örnekleme şeması ile örnekleme neticesinde, yapının her yerinin eşit kesilme şansına sahip olması sağlanır (170).

2-2.2.5.1.1.2.Alan Örnekleme Payı

Sistematik rastgele örnekleme ile seçilmiş olan kesitlerdeki ilgilenilen bölgenin izdüşüm alanı önceden belirlenmiş aralıklarla x ve y eksenleri boyunca taranır. Her hangi bir eksen boyunca gerçekleştirilen her harekete adım aralığı denir. Her adımla izdüşüm alanı üzerinde bir alan taranır ve bu alana adım alanı denmektedir. X ve y eksenleri boyunca gerçekleştirilen uzunlukların çarpımı ile adım alanı elde edilir. Tanecik sayımları bu alanın tamamında değil, tanecik büyüklüğüne göre boyutu belirlenen ve adım alanı içine yerleştirilen tarafsız sayım çerçevesi alanında yapılır. Bu alan parçalama oranına, alan örnekleme payı (AÖP) denmektedir ve

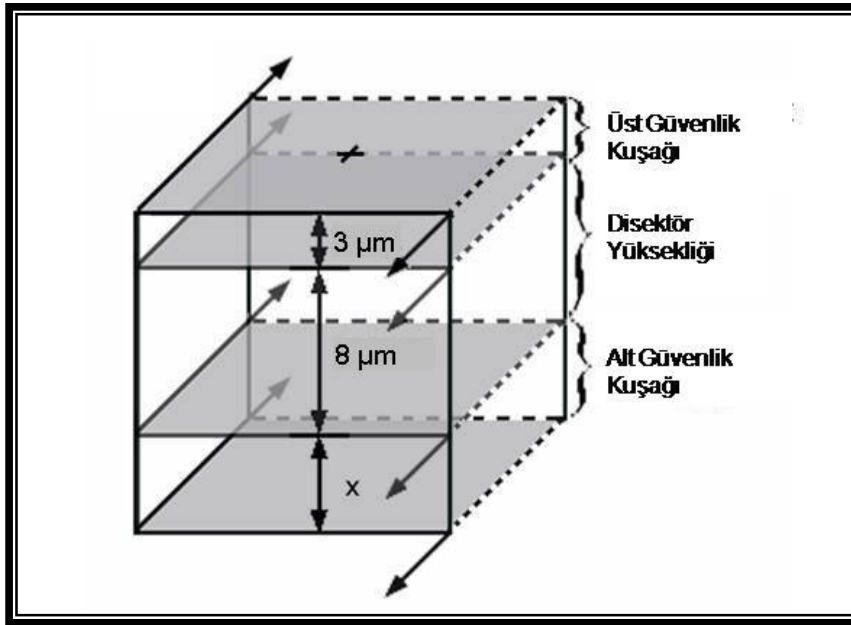
$$AÖP = \frac{a \text{ (çerçeve)}}{a \text{ (adım)}} \text{ ile ifade edilir (170).}$$

2-2.2.5.1.1.3.Kalınlık Örnekleme Payı

X ve y eksenleri boyunca gerçekleştirilen adımlama ile ilgilenilen yapının izdüşümüne isabet edilmişse, bu alanda tarafsız sayım çerçevesinin kurallarına göre tanecik sayımı gerçekleştirilir. Fakat optik disektör sayım kuralları gereği, kesit kalınlığının tamamı boyunca değil, önceden belirlenmiş belli bir oranında sayım yapılmaktadır. Bu durum, hem kesit alma esnasında

kesit yüzeylerinden tanecik dökülmesini ifade eden 'kayıp kep' problemini hem de kesit kalınlığının kesin bir biçimde bilinmesi gerekliliğini ortadan kaldırmaktadır. Çünkü optik disektör kuralları gereği, kesitin alt ve üst yüzeylerinden kesit içerisine doğru güvenlik mesafeleri bırakılmaktadır. Tanecik sayımları bu güvenlik mesafeleri arasında, miktarı önceden belirlenmiş disektör yüksekliği boyunca yapılmaktadır (Şekil 1). Bu disektör yüksekliğinin kesit kalınlığına oranına kalınlık örnekleme payı denmektedir ve

$$KaÖP = \frac{h \text{ (disektör)}}{t} \text{ ile ifade edilir (170).}$$



Şekil 1. Optik parçalamada kullanılan optik disektörün gösterimi. Optik disektör metodu ile kesit yüzeylerinde meydana gelen kayıp taneciklerden sakınmak için, kesitin her iki yüzeyinden de belirli bir mesafe uzaklaşarak kesitin merkezinde sayım yapılmaktadır. Optik disektörde sayıma başlanacak yüzeydeki güvenlik kuşağının mesafesi daima sabit kalırken, alt güvenlik kuşağı ise kesitin kalınlığına göre değişebilmektedir.

2-2.2.5.1.1.4.Tanecik sayımı

Dokunun belli bir hacmi içinde odaklama ile hareket edilirken, görüntü alanına giren yeni tanecikler ya da gözden kaybolan tanecikler disektör taneciği olarak sayılırlar. Odaklama eksenini boyunca yapılan doku içindeki ilerleme miktarı, mikroskop tablasına yerleştirilmiş bir mikroskop yardımı ile ölçülür. Kesitin kesilme yüzeylerindeki fiziksel bozukluklardan kaçınmak için, sayım yapılan hacim, kesit kalınlığının merkez bölümü ile sınırlı tutulur, yani kesitin alt ve üst yüzeyinden kesit kalınlığı merkezine doğru tanecik sayımının yapılmadığı birer mesafe bırakılır ve bu mesafelere “alt ve üst güvenlik mesafeleri” adı verilir. Bu sayım metodu literatüre “optik disektör sayım metodu” olarak geçmiştir (170,171).

Diş hekimliği alanında stereolojik metot kullanılarak yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde, implant uygulama sonrası çevre dokuların iyileşme özellikleri (172,173) ile kemik yoğunluğunun hesaplanması (174) ve diş hekimliği materyallerinin mekanik özelliklerinin incelenmesi (175,176) konularında yapılan araştırmalar tespit edilmiştir. Diş dokularının histolojik özellikleri ile ilgili olarak, son yıllarda sıçanlarda yapılan bir çalışmada (177), ortodontik kuvvet uygulanan diş pulpalarında bulunan kan damarlarının, kuvvet öncesi ve sonrası hacim yoğunluğu, stereolojik metotla hesaplanmış ve ilk 6 saat içerisinde %10 oranında yoğunluk artışı olduğu gösterilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3-1. Deney Kurgusu

Çalışmada florozis bulunan ve bulunmayan dişler;

1. Histolojik değerlendirme,
2. Morfolojik değerlendirme, olmak üzere iki bölümde incelenmiştir.

Çalışma öncesinde, çalışma grubundaki hastalar ve ebeveynleri, ölçü alınması işlemi ve çekilen dişlerin çalışmada kullanılabileceği ile ilgili olarak bilgilendirilmiş, gerekli izin ve onaylar alınmıştır (Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun, 02/16 sayılı kararı).

3-1.1. Histolojik Değerlendirme

Çalışmanın histolojik değerlendirme kısmında, çalışma grubunu oluşturmak amacıyla, ilde, içme suyunda flor seviyesi yüksek olan semtler belirlendikten sonra, bu semtlerde bulunan ilköğretim okullarına gidilerek, öğrencilerin ağız ve diş muayeneleri yapıldı ve anket formları dağıtıldı. Formdaki bilgilere göre benzer sosyoekonomik seviyeye, beslenme ve hijyen alışkanlıklarına sahip olan çocuklar tespit edilerek, klinik ortamda ayrıntılı ağız içi muayeneleri yapıldı ve Thylstrup-Fejerskov'un Florozis İndeksi (TFİ) (52)'ne göre dişlerin florozis seviyeleri belirlendi. Kontrol grubunu oluşturmak amacıyla, ağız ve diş tedavilerini yaptırmak veya rutin kontroller için, kliniğimize başvuran hastalara ait bilgi formları değerlendirildi. Formlara göre, içme sularında flor düzeyinin düşük olduğu (<0.3 ppm) bilinen çevre illerden (178) başvuran ve dişlerinde florozis bulunmayan hastalar belirlendi. Çalışma ve kontrol grubu oluşturulurken, bireylerin sistemik rahatsızlıklarının olmamasına ve doğumlarından itibaren aynı yerleşim bölgesinde oturmalarına dikkat edildi. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan, 9-11 yaşlar

arasındaki hastaların, 0-6 aylık süre boyunca belirli aralıklarla yapılan ağız içi muayeneleri sonucu çekim endikasyonu konulan dişler lokal anestezi altında çekildi. Çekilmiş dişler arasından, alt ve üst çeneye ait, kök rezorpsiyon seviyesi 1/3 kök boyunu geçmemiş olan, çürüksüz, florozis bulunan ve bulunmayan, 56 adet süt 1. ve 2. azı dişler belirlendi. Dişler çekim işleminden sonra en geç 10 dakika içerisinde %10'luk formalin solüsyonuna konarak fikse edildi ve %4'lük nitrik asit solüsyonunda ortalama 2 hafta süre ile dekalsifiye edildi.

3-1.1.1. Doku Takibi

Dekalsifikasyonları tamamlanan dişlerin doku takibi için aşağıdaki işlemler uygulandı:

Yapılan İşlemler	Süre
%4'lük Sodyum Sülfat	3 saat
Akan suda yıkama	2 saat
%50'lik Alkol	1 saat
%70'lik Alkol	1 saat
%80'lik Alkol	1 saat
%90'lık Alkol	1 saat
%96'lık Alkol	1 gece
Ksilen	20 dakika
Ksilen + Parafin (62 °C)	20 dakika
Parafin (62 °C)	4 saat
Bloklama	

3-1.1.2. Kesitlerin Alınması

Yaptığımız ön çalışmada, bloklanan örneklerden mikrotom yardımıyla 25 µm kalınlığında kesitler elde edildiğinde, lamlara alınan kesitlerin periferlerinin hiç yapışmadığı ve boyama esnasında büyük kısmının lamdan

ayrıldığı görüldü. Bu durumun, çalışmamızda kullanılan doku kesitlerinin, rutin histolojik incelemelerdeki kesitlere göre daha kalın olmasından kaynaklandığı tespit edildi. Bunun üzerine, kesitler jelatin ilave edilmiş 50–55 °C'deki suya alındıktan sonra, kabaran kenarların düzleştirilmesi amacıyla üst kısımlarına bir fırça yardımı ile su damlatıldı ve kesitlerin altındaki hava ve fazla su uzaklaştırılarak lamlara yapışmaları sağlandı. Lamlar, içinde bir miktar su bulunan cam şalelere yerleştirilip 60 °C deki etüvde parafin kısımları eriyinceye kadar bekletildi. Parafinleri eriyen lamlar, lam taşıyıcılara yerleştirilip bir gece 60 °C deki etüvde bekletildi.

3-1.1.3. Boyama

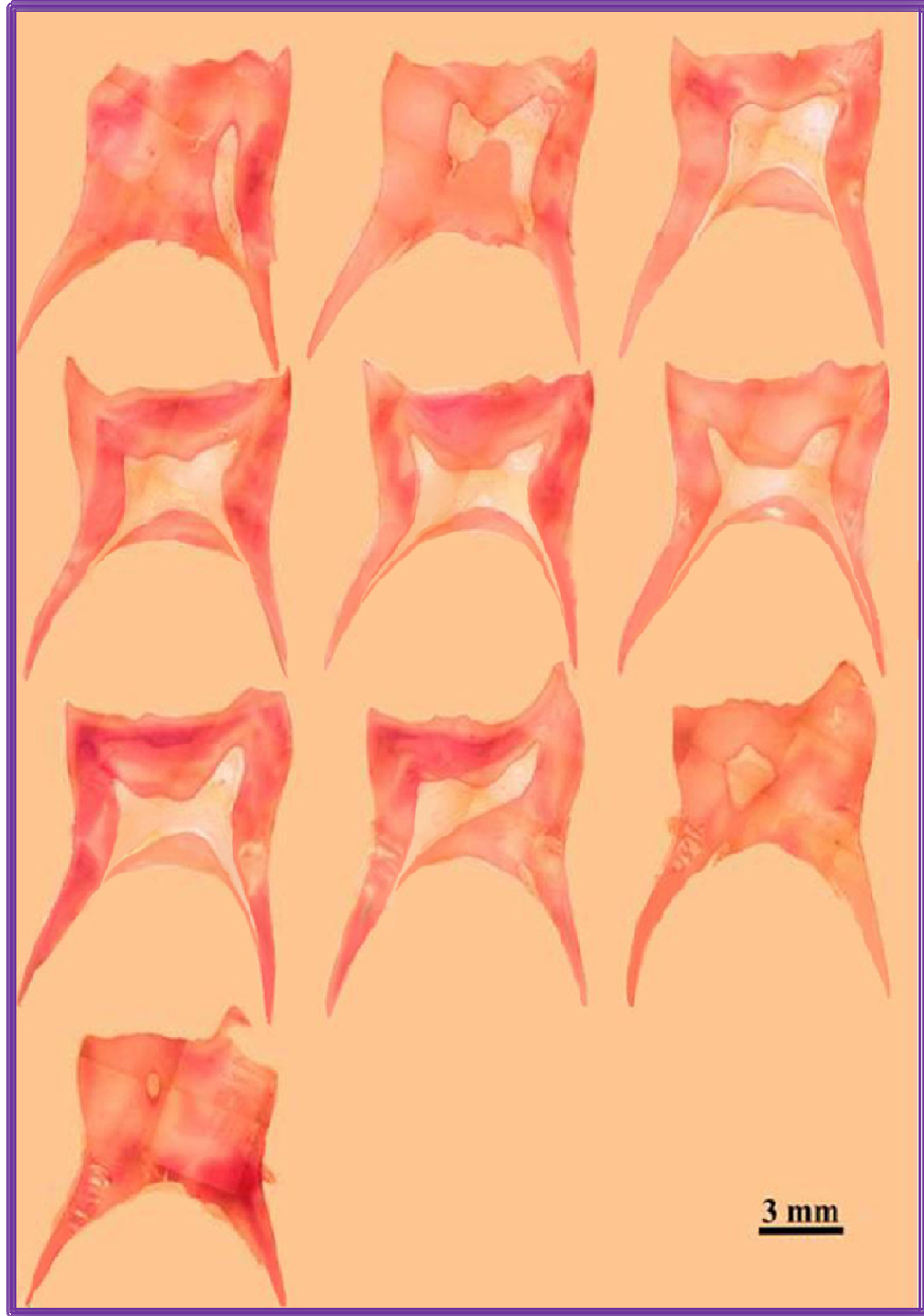
Doku kesitlerinin boyanması için Hematoksilen ve Eozin boyaları kullanılarak aşağıdaki işlemler uygulandı:

Yapılan İşlem	Süre
Ksilen	20 dakika (4 değişim)
%100'lük Alkol	10 dakika
%90'lık Alkol	10 dakika
%80'lik Alkol	10 dakika
%70'lik Alkol	10 dakika
Distile su	10 dakika
Hematoksilen	20 dakika
Akan suda yıkama	Boyanın bulanıklığı uzaklaşincaya kadar
%1'lik Asit Alkol	3 saniye
Akan suda yıkama	Boyanın bulanıklığı uzaklaşincaya kadar
Eozin	5 saniye
Akan suda yıkama	Boyanın bulanıklığı uzaklaşincaya kadar
%96'lık Alkol	5 dakika
%100'lük Alkol	10 dakika
Ksilen	10 dakika
Ksilen	1 saat
Entellan ile kapatma	

3-1.1.4. Optik Parçalamanın Uygulanması

3-1.1.4.1. Kesit Örnekleme Payı (KeÖP)

Pulpa dokusundan alınacak toplam kesit sayısının belirlenmesi için yapılan ön çalışmada, 25 µm kalınlıkta alınan pulpanın dikey kesitlerinden, süt 1. azı dişler için toplam 100–165, süt 2. azı dişler için toplam 130–250 kesit elde edildi. Optik parçalama için gerekli olan en az 10 kesiti elde edebilmek için, diş tiplerine göre farklı sayılarda örnekleme yapıldıktan sonra, kesit örnekleme payı, dişlere göre 1/10, 1/15 ve 1/20 olarak belirlendi. Sistemik rastgele örnekleme yaklaşımı ile örneklenen yapının her yerine, eşit örnekleme şansı tanıyan bu uygulama ile örneklemenin sistematik olması, alınacak ilk kesitin rastgele bir biçimde belirlenmesi ile de, örneklemenin rastgele olması sağlandı (Şekil 1).



Şekil 2. Sistemik rastgele metodu ile örneklenen diş kesitlerinin görünümü. (Mikroskopik görüntülerin Adobe Photoshop 7.0 programında yan yana getirilmesiyle elde edilmiş bir şekildir.)

3-1.1.4.2. Alan Örnekleme Payı (AÖP)

Alan örnekleme için öncelikle adım alanını belirlemek gerekmektedir. Bu amaçla bir dişten örneklenen tüm kesitlerdeki pulpa sınırları içinde, en az 200 odontoblast sayabilmek için (her adımda en az 1 odontoblast sayılacağından) 200 adımda sayım yapmak gerektiğinden, her noktası (P(a)) 1 cm^2 'yi temsil eden noktalı bir sayım cetveli kullanılarak kesitlerin toplam yüzey alanı hesaplandı. Tüm kesitlerdeki pulpa toplam yüzey alanının 200'e bölünmesi ile de bir adım alanının $22500 \mu\text{m}^2$ olması gerektiği saptandı. Buradan da her bir x ve y eksenini için uzunluğun $150 \mu\text{m}$ olması gerektiği hesaplandı.

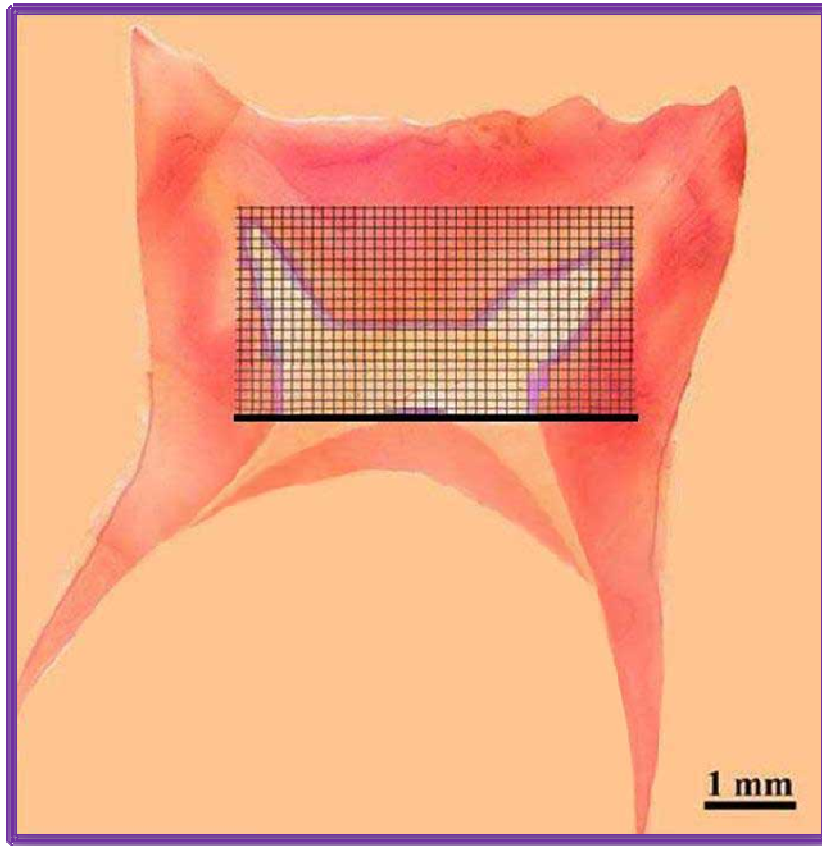
Adım Alanı = Toplam Nokta Sayısı x p(a) x Büyütme Derecesi/200,

Adım Aralığı = $\sqrt{\text{Adım Alanı}} = \sqrt{22500 \mu\text{m}^2} = 150 \mu\text{m}$

İmmersiyon objektifi ile hücreler gözlendiği zaman bir çerçeve içine bir hücre düşebilmesi için en uygun alanın $400 \mu\text{m}^2$ olduğu hesaplandı. Bu durumda alan örnekleme payı:

$$AÖP = \frac{400 \mu\text{m}^2}{22500 \mu\text{m}^2} = \frac{4}{225}$$

Hücre sayımı, diş kesitleri üzerinde taranan koronal pulpa yüzeylerinde tarafsız sayım cetvelinin denk geldiği odontoblast tabakası boyunca yapıldı (Şekil 2).



Şekil 3. Optik parçalamaya için sistematik rastgele örnekleme ile belirlenen, pulpa dokusunu içeren diş kesiti. Kesit üzerinde çizilen ve boyanan kare alanları optik parçalamada kullanılan adımları göstermektedir.

3-1.1.4.3. Kalınlık Örnekleme Payı (KaÖP)

Kalınlık ölçümleri ile disektör yüksekliğinin ve güvenlik kuşağının ölçümünde, Prior Proscan II marka mikrokator kullanıldı. Ortalama kesit kalınlıklarının (t) 20–30 μm olduğu tespit edildi. Disektör yüksekliğinin (h) 8 μm , üst güvenlik kuşağının ise 3 μm olmasına karar verildi. Bu durumda kalınlık örnekleme payı:

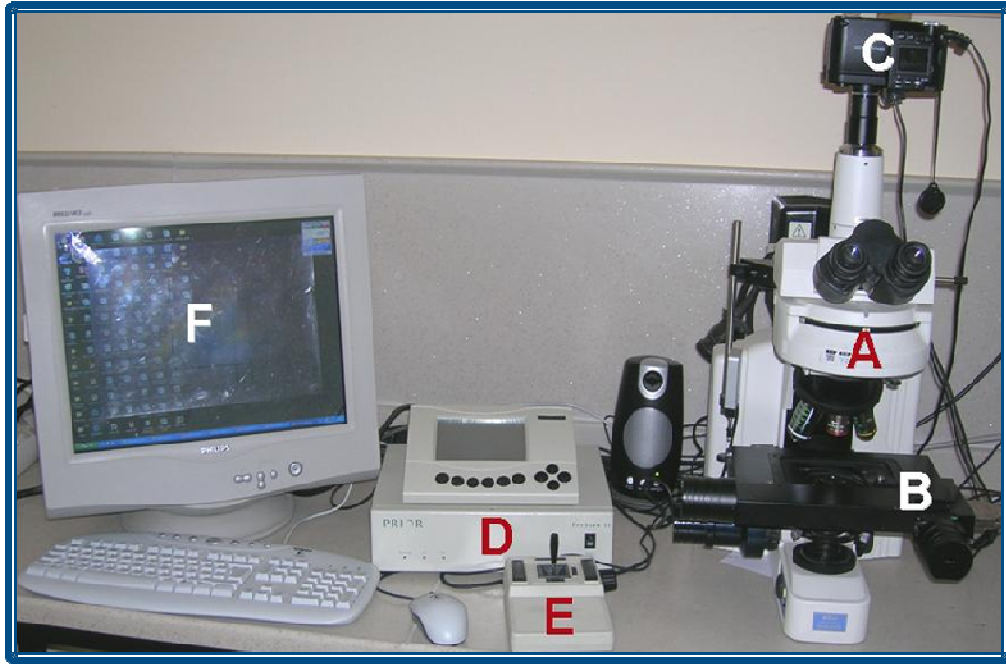
$$KaÖP = \frac{h (8 \mu\text{m})}{t}$$

3-1.1.5. Optik Disektör ile Sayım

Çalışmamızda kullanılan süt dişlerinin bir kısmında, minimum düzeyde de olsa fizyolojik kök rezorpsiyonu bulunması ve ilerlemiş kök rezorpsiyonunda odontoblast tabakasının bütünlüğünün bozulabileceğinin ve odontoblastların dejenere olabileceğinin rapor edilmesi nedeniyle (179-181), pulpa dokusunun yalnızca kuron kısmı incelenmiştir. Kesitlerin kuron pulpalarını kök pulpalarından ayırmak için dişlerin kök birleşim bölgelerindeki (furkasyon bölgelerindeki) dentin dokusunun pulpaya bakan yüzeyinin x eksenine göre en koronal noktası referans alınmıştır (182).

3-1.1.5.1. Odontoblast Sayımı

Odontoblast sayımları ışık mikroskobu (Nikon Eclipse E600, Nikon Instruments, Melville, New York, ABD) yardımı ile sayısal açıklığı 1.25 olan immersiyon objektifi kullanılarak yapıldı. Mikroskop tablasının x ve y eksenlerindeki adımlama hareketleri 0.5 µm duyarlılıkta ölçüm yapan dijital mikrokator yardımıyla gerçekleştirildi. Mikroskoptaki görüntü kamera (Nikon Coolpix 4500, Nikon Co, Tokyo, Japonya) vasıtası ile bilgisayar ekranına nakledildi. Ekranı verilen görüntünün çizgisel nihai büyütmesinin 3000 olduğu bulundu. Sayımda kullanılan ve gerçekte bir kenarı 20 µm olan, tarafsız sayım çerçevesinin ekran üzerindeki bir kenarının uzunluğunun, toplam büyütme derecesi ile çarpılarak 6 cm olması gerektiği belirlendi ($20 \mu\text{m} \times 3000 = 60\,000 \mu\text{m} = 6 \text{ cm}$) ve bir asetat üzerine çizilerek bilgisayar ekranına yapıştırıldı (Şekil 3).



Şekil 4. Optik parçalama metodu kullanılarak hücre sayımı ve hacim hesaplamalarının yapıldığı bilgisayar destekli stereolojik analiz sisteminin genel görüntüsü. A: Araştırma mikroskobu B: Bilgisayar kontrollü mikroskop tablası C: Kamera D: Mikrokator E: Tabla kontrol çubuğu F: Bilgisayar ekranı

Sayımlara kesitin bilgisayar ekranındaki görüntüsünün daima sağ alt köşesinden başlandı ve önce, x sonra da y eksenini boyunca adımlama yapıldı. X veya y eksenini boyunca hareket esnasında her adımın pulpa sınırları içine düşüp düşmediğini belirlemek için tarafsız sayım çerçevesinin ortasına “+” işareti çizildi. Eğer, “+” işareti pulpa sınırları içinde ise daima kesitin üst yüzeyinden başlayıp alt yüzeyine doğru optik disektör sayım kurallarına göre sayım yapıldı, “+” işareti pulpa sınırları içinde değilse sayım yapılmadı. Pulpa sınırları içine düşen her adım, disektör taneciği olsun veya olmasın, x ve y koordinatları ve kesit kalınlığı ile birlikte bir tabloya yazıldı. Bu adımlar noktalı alan ölçüm cetveli gibi kullanılarak, kesitlerdeki toplam pulpa izdüşüm alanı hesaplandı.

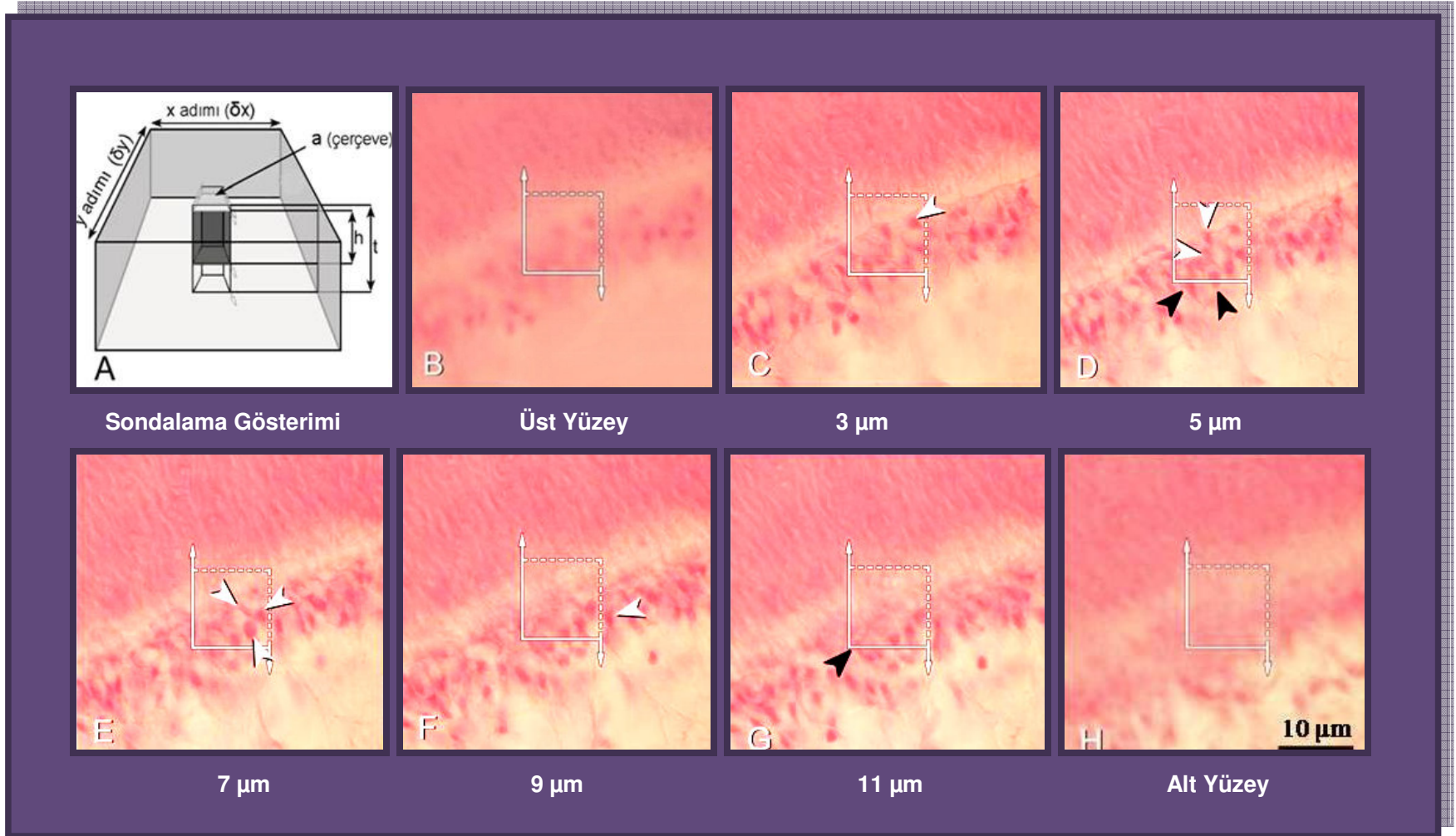
Tarafsız sayım çerçevesinin ortasına çizilen “+” işareti pulpa sınırları içine düştüğü durumda aşağıda açıklandığı gibi optik disektör sayım kurallarına göre tanecik sayımları yapıldı.

Öncelikle görüntü alanındaki tarafsız sayım çerçevesi içinde ilk netleşen hücre veya hücreler arası mesafe kriter alınarak kesitin üst yüzeyi belirlendi ve mikrokatorun göstergesi sıfırlandı.

Mikroskobun mikrovidası ile kesit içinde optik olarak ilerleyerek kesit yüzeyinin 3 μm altına inildi. Bu mesafede sayım yapılmayarak üst güvenlik kuşağı oluşturuldu (183). Böylece kayıp kep problemi çözüldü. Üçüncü μm 'de net odontoblast gözleniyorsa bu da sayım dışı bırakıldı.

Daha sonra, 8 μm boyunca kesitin alt yüzüne doğru optik kesitler alarak tarafsız sayım çerçevesinin sayım kurallarına göre, yani çerçeve içine düşen veya serbest çizgilerle kesişen fakat yasak çizgilerle ve onların uzantıları ile kesişmeyen odontoblastlar sayıldı. Sekizinci μm 'de net odontoblast görüntüsü varsa (Odontoblast sayımında çekirdek esas alındı. Eğer çekirdek en geniş çapta ve net görünüyorsa) bu kez sayıma dahil edildi.

Kesit alt yüzeyinin belirlenmesinde, son olarak gözlenen netlik kriter alındı ve kesit kalınlığı tespit edilerek not edildi. Bu şekilde her diş için örneklenen, bütün kesitlerdeki pulpa dokusuna isabet eden bütün adımlarda odontoblast sayımları ve kalınlık ölçümleri yapıldı (Şekil 4).



Şekil 5. Optik disektör metoduyla sayım. A) Sondalama gösterimi; kesitin üst yüzeyinden alt yüzeyine kadar olan mesafede üst (3 μm)

Şekil 5 (devam); ve alt ($x \mu\text{m}$) yüzeylerde güvenlik kuşakları bırakılarak “h” kadar bir derinlikte sayım yapılmaktadır (h: disektör yüksekliği, t: kesit kalınlığı). Kesit üst (B) ve alt (H) yüzü ile disektör yüksekliği boyunca $2 \mu\text{m}$ aralıkta optik kesitlerin fotoğrafı çekilmiştir. Sayımda kullanılan tarafsız sayım çerçevesinin yasak kenarları ve bu kenarların uzantıları düz çizgi ile, serbest kenarlar ise kesikli çizgi ile gösterilmiştir. Odak düzlemi kesit üstünden kesite doğru yaklaşırken, dokunun net görüldüğü ilk yer kesit üst yüzeyi (B) olarak belirlendi ve mikrokator göstergesi sıfırlandı. Bundan sonra kesit üst yüzeyinden kesit içine doğru $3 \mu\text{m}$ ilerleyerek üst güvenlik kuşağı bırakıldı. Odontoblast sayımında çekirdeklerin en geniş çaplı görünümlerinin olduğu seviyeler kriter olarak alındı. Çerçeve içine düşen, yasak kenarla kesişmeyen çekirdekler (beyaz ok ile gösterilen) sayıma dahil edildi. Çerçevenin yasak kenarıyla kesişen çekirdekler (siyah ok ile gösterilen) sayım dışı bırakıldı. G kesitinde disektör yüksekliğinin sonuna gelmiş ve buradan kesit alt yüzeyine kadar olan mesafe alt güvenlik kuşağı olarak bırakılmıştır. Net olarak en son görülen görüntü düzlemi, kesitin alt yüzeyidir. Hematoksilen eozin boyaması.

Her diş için aşağıdaki formül kullanılarak pulpadaki toplam odontoblast sayısı (N) hesaplandı:

$$N = \sum Q \times \frac{1}{K_{eÖP}} \times \frac{1}{A_{ÖP}} \times \frac{1}{K_{aÖP}}$$

$\sum Q$: Örneklenen kesitlerde pulpa sınırları içine düşen disektörlerde sayılan odontoblastların toplam sayısı.

3-1.1.6. Pulpa Hacmi

Pulpa sınırları içine düşen her adım, x ve y koordinatları ve kesit kalınlığı ile birlikte bir tabloya yazıldı. Bu adımlar noktalı alan ölçüm cetveli gibi kullanılarak, kesitlerdeki toplam pulpa izdüşüm alanı hesaplandı. Toplam izdüşüm alanı ile ortalama kesit kalınlığı (t) çarpımı sonucunda pulpa hacmi hesaplandı:

$$\sum \text{Alan} = \sum \text{Adım Sayısı} \times \text{Adım Alanı}$$

$$\sum \text{Hacim} = \sum \text{Alan} \times t$$

3-1.2. Morfolojik Değerlendirme

3-1.2.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmanın morfolojik değerlendirme kısmında, Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Kliniğine başvuran hastaların bilgi formları değerlendirildi. Formlardaki bilgilere göre, doğum yeri Isparta olan ve dişlerinde florozis bulunan hastalar çalışma grubunu ve içme sularında flor düzeyinin düşük olduğu (<0.3 ppm) bilinen çevre illerden (178) kliniğimize başvuran ve dişlerinde florozis bulunmayan hastalar da kontrol grubunu oluşturmak üzere belirlendi. Çalışma ve kontrol grubu oluşturulurken, bireylerin doğumlarından itibaren aynı yerleşim bölgesinde oturmalarına dikkat edildi.

Hastaların ağız içi muayenelerinde dişlerdeki florozis seviyeleri her hasta için standardize edilmiş koşullar altında, Thylstrup-Fejerskov'un Florozis İndeksi (52) kullanılarak belirlendi ve ilgili bilgi formları dolduruldu. Eksik veya şüpheli bilgiler içeren formları bulunan, dişlerde boyut değişikliğine neden olabilen; konjenital diş eksikliği, mikrodonti, makrodonti gibi gelişimsel veya yapısal anomalisi bulunan, sınıf I kapanışı bulunmayan ve düzgün diş dizisine sahip olmayan hastalar çalışma dışında bırakıldı. Çalışma kriterlerine uyan 8-16 yaşları arasındaki 180 hastadan alçı modeller elde edildi. Modeller hastaların yaşlarına göre; süt dişlerin ölçüleceği, 8-11 yaşları arasındaki hastalara ait modeller ve daimi dişlerin ölçüleceği, 12-16 yaşları arasındaki hastalara ait modeller olmak üzere, iki gruba ayrıldı. Dişler florozis seviyelerine göre; 1.grup; hafif (TFİ 1–2–3), 2.grup; orta (TFİ 4–5), 3.grup; şiddetli (TFİ 6–7), 4.grup; çok şiddetli (TFİ 8–9) ve kontrol grubu olmak üzere 5 gruba ayrıldı.

3-1.2.2. Diş Boyutlarının Ölçülmesi

Diş boyutlarının gerçek değerlerini elde etmek amacıyla, hastalardan geri dönüşümsüz hidrokolloid ölçü maddesi (aljinat) ile ölçü alındı. Ölçü

maddesinde sıvı kaybından doğabilecek boyutsal deformasyon riskini en aza indirmek için ölçülere en geç 10 dakika içerisinde sert alçı dökülerek alçı modeller elde edildi. Kırık veya hava kabarcığı bulunan alçı modeller yenilenerek modellerin uygun kalitede olmalarına özen gösterildi. Modeller üzerinde sürmesi tamamlanmamış dişler ile ara yüz bölgesinde çürük, konservatif tedavi veya protetik restorasyonlar bulunan dişler çalışma dışında bırakıldı.

Çalışma kriterlerine uyan tüm süt ve daimi dişlerin boyutları, 0.01 mm hassasiyette ölçüm yapabilen elektronik kumpas yardımıyla ölçüldü. Dişlerin meziodistal ve bukkolingual yöndeki boyutları, Moorrees ve ark. (77)'nin belirttiği şekilde ölçüldü. Ölçümlerde, kumpasın uçları her bir dişin uzun aksına paralel, oklüzal veya insizal yüzeyine dik olacak şekilde yerleştirildi. Dişlerin meziodistal ölçümlerinde, her bir dişin mezial ve distal değim noktaları arasında tespit edilen en geniş mesafe esas alındı. Bukkolingual genişlik ölçümlerinde de her bir dişin bukkolingual yönde tespit edilen en geniş mesafe esas alındı. Her dişin ölçümünden sonra dijital gösterge sıfırlanarak kumpas kalibre edildi. Kumpasın uygun olarak konumlandırılmadığı dişler çalışma dışında bırakıldı.

İstatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) bilgisayar paket programının 13.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde, ortalama ve standart sapma gibi tanımlayıcı istatistiksel analizlerin yanı sıra, ikili grupların değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi, gruplar arası karşılaştırmalarda Anova varyans analizi, değerlerin homojen dağılımlarını belirlemek amacıyla Tukey HSD analizi yapıldı ve anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4-1. Histolojik Değerlendirme Bulguları

Çalışmanın histolojik değerlendirme kısmına dâhil edilen dişlerin gruplara göre dağılımı Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Süt dişlerinin gruplara göre dağılımı

ÇENE	DIŞ TİPİ	FLOROZİS (+)	FLOROZİS (-)	Toplam
ÜST	1. Süt Azı	7	7	14
	2. Süt Azı	7	7	14
ALT	1. Süt Azı	7	7	14
	2. Süt Azı	7	7	14
Toplam		28	28	56

Çekilmiş süt dişi kesitleri kullanılarak hazırlanan preparatlar, optik parçalama metodu ile değerlendirilmiş, dişlere ait odontoblast sayısı, odontoblast yoğunluğu ve pulpa hacim değerleri bilgisayar destekli stereolojik analiz sistemi yardımıyla hesaplanmıştır.

4-1.1. Odontoblast Sayısı

Florozisli ve sağlıklı süt dişlerine ait odontoblast sayılarının ortalama değerleri arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Florozisli üst 2. süt azı dişlere ait ortalama odontoblast sayısı 630775.00 ± 28955.40 olarak bulunurken, kontrol grubuna ait üst 2. süt azı dişlerin ortalama odontoblast sayısı 665200.90 ± 16859.55 olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.025$). Florozisli alt 2. süt azı dişlerin ortalama odontoblast sayısı 630758.90 ± 41973.14 olarak bulunurken, kontrol grubuna ait alt 2. süt azı dişlerin ortalama odontoblast

sayısı 679726.40 ± 25613.34 olarak bulunmuştur ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p=0.048$).

Florozisli ve kontrol grubuna ait üst ve alt 1. azı dişlerin ortalama odontoblast sayıları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Odontoblast sayılarının gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	ÜST ÇENE		ALT ÇENE			
	1. Süt Azı	2. Süt Azı	1. Süt Azı	2. Süt Azı		
Odontoblast Sayısı	Ort.	370203.90	630775.00	522077.70	630758.90	
		S.S.	39615.38	28955.40	64491.77	41973.14
	Ort.		399594.90	665200,90	534534.40	679726.40
		S.S.	79757.87	16859.55	83079.17	25613.34
	<i>p</i> -değeri		0.482	0.025*	0.565	0.048*

4-1.2. Pulpa Hacmi

Florozisli ve sağlıklı süt dişlerinin ortalama pulpa hacim değerleri arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Üst ve alt çeneye ait florozisli 2. azı dişlerin ortalama pulpa hacim değerleri ile üst çeneye ait 1. azı dişlerin ortalama hacim değerleri, kontrol grubuna göre daha düşük bulunurken, alt 1. azı dişlerin pulpa hacim değerlerinin ortalamaları her iki grupta da eşit olarak bulunmuştur. Ancak gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$) (Tablo 3).

Tablo 3. Pulpa hacim değerlerinin gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	ÜST ÇENE		ALT ÇENE			
		1. Süt Azı	2. Süt Azı	1. Süt Azı	2. Süt Azı	
Pulpa Hacmi (mm ³)	Florozis (+)	Ort.	9.78	13.33	12.80	13.51
		S.S.	0.55	0.72	0.60	1.28
	Florozis (-)	Ort.	9.86	13.51	12.80	13.55
		S.S.	1.31	0.52	0.73	1.65
	<i>p</i> -değeri		0.798	0.406	0.949	0.848

4-1.3. Odontoblast Yoğunluğu

Pulpa dokusunun hacmi ve dolayısıyla pulpanın hücresel içeriği florozisli ve sağlıklı dişlerde farklılık gösterebileceğinden, odontoblast yoğunluğu, yani birim hacim (mm³) başına düşen odontoblast sayısı (N_{ob}) hesaplanmıştır. Odontoblast yoğunluğu, odontoblast hücrelerinin yalnızca pulpanın en dış yüzeyinde bulunan odontoblast tabakasında bulunması nedeniyle, odontoblast tabakası ve tüm pulpa dokusu esas alınmak üzere iki farklı şekilde hesaplanmıştır.

Florozisli ve sağlıklı dişlerin tüm pulpa dokusuna göre ve odontoblast tabakasına göre odontoblast yoğunluk değerleri arasındaki ilişki Mann-Whitney U testi ile incelenmiştir. Tüm pulpa dokusu esas alınarak hesaplanan ortalama odontoblast yoğunluk değerleri, üst ve alt çeneye ait florozisli 1. ve 2. azı dişlerde, kontrol grubuna göre daha düşük bulunurken, gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$).

Odontoblast tabakası esas alınarak hesaplanan ortalama odontoblast yoğunluk değerleri, üst ve alt çeneye ait florozisli 1. ve 2. azı dişlerde, kontrol grubuna göre daha düşük bulunurken, gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Odontoblast yoğunluklarının gruplara göre dağılımı

GRUPLAR	ÜST ÇENE		ALT ÇENE			
	1. Süt Azı	2. Süt Azı	1. Süt Azı	2. Süt Azı		
Odontoblast Sayısal Yoğunluğu (Pulpa) (N_{ob}/mm^3)	Florozis (+)	Ort.	37869.29	43455.86	38996.00	49102.86
		S.S.	3929.65	10176.63	2593.56	4092.27
	Florozis (-)	Ort.	40126.00	48717.71	41535.71	50543.14
		S.S.	6010.46	1362.25	4196.30	4638.68
	<i>p</i> -değeri		0.655	0.406	0.180	0.406
	Odontoblast Sayısal Yoğunluğu (Odontoblast Tb.) (N_{ob}/mm^3)	Florozis (+)	Ort.	982982.30	954883.70	1049606.00
S.S.			156541.48	72144.18	92088.34	81406.32
Florozis (-)		Ort.	987045.90	963926.70	1014428.00	1006727.00
		S.S.	161081.01	64165.08	72073.01	162874.10
<i>p</i> -değeri		0.848	0.482	0.406	0.848	

Florozisli ve sağlıklı dişlere ait odontoblast sayısı, odontoblast yoğunluğu ve pulpa hacim değerleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde, kız ve erkek bireylere ait dişlerden elde edilen veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$).

4-2. Morfolojik Değerlendirme Bulguları

Çalışmanın morfolojik değerlendirme kısmına dâhil edilen alçı modellerin elde edildiği bireylerin gruplara göre dağılımı Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan bireylerin dağılımı

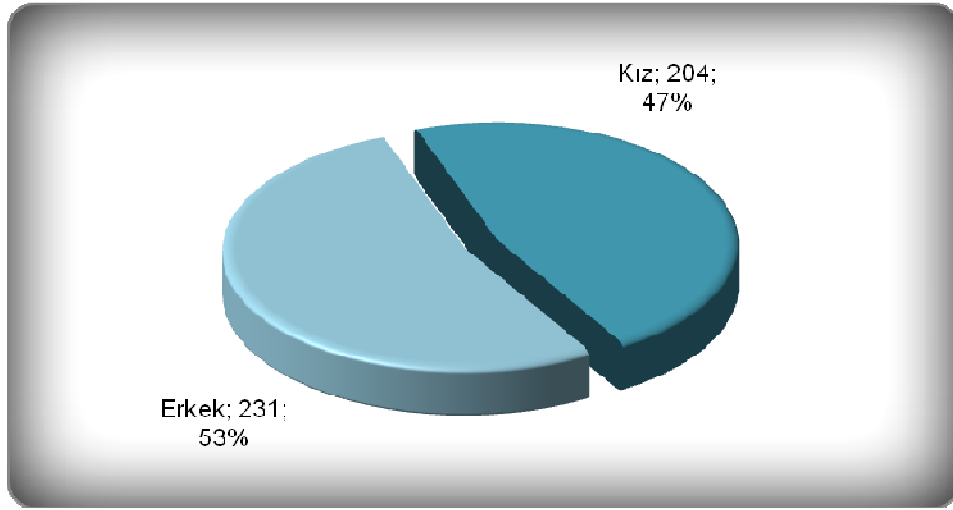
GRUPLAR	Süt Dişleri (8-11 yaş)		Daimi Dişler (12-16 yaş)		Toplam
	Kız	Erkek	Kız	Erkek	
Florozis (-)	20	20	20	20	80
Florozis (+)	25	25	25	25	100
Toplam	45	45	45	45	180

4-2.1. Süt Dişi Boyutları

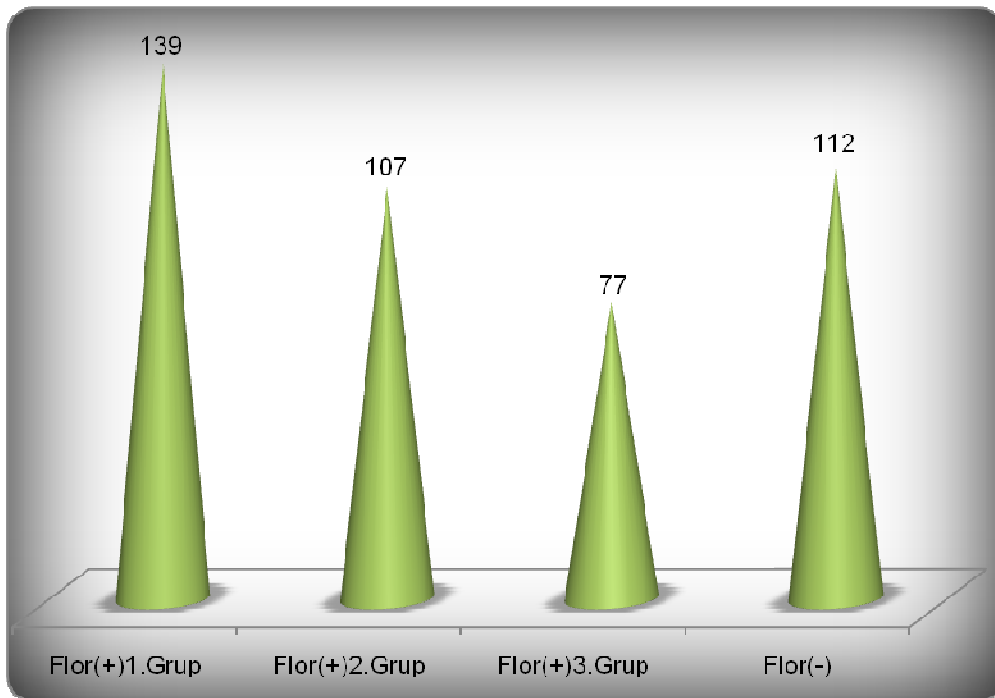
Alçı modeller üzerinde meziodistal ve bukkolingual boyutlarının ölçüldüğü süt dişi gruplarının, diş tiplerine, cinsiyete ve florozis gruplarına göre dağılımları Tablo 6, Şekil 6 ve Şekil 7'de gösterilmektedir.

Tablo 6. Süt azı dişlerin gruplara göre dağılımı

DİŞ TİPİ	ÜST ÇENE		ALT ÇENE		Toplam
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	
1. Süt Azı	42	46	44	47	179
2. Süt Azı	67	64	59	66	256
Toplam	109	110	103	113	435



Şekil 6. Süt azı dişlerin cinsiyete göre dağılımları



Şekil 7. Süt azı dişlerin florozis gruplarına göre dağılımı

Florozis gruplarına göre süt azı dişlerinin meziodistal ve bukkolingual yöndeki ölçümlerinden elde edilen değerlerin ortalama ve standart sapma değerleri belirlenmiştir (Tablo 7). Tüm florozis gruplarından ve kontrol grubundan elde edilen diş boyutlarının istatistiksel değerlendirme varyans analizi ile yapılmış, değerlendirme sonucunda meziodistal ve bukkolingual diş boyutlarının tüm florozis gruplarında ve kontrol grubunda önemli düzeyde farklılık göstermediği bulunmuştur ($p>0.05$). Her bir florozis grubu ile kontrol grubuna ait değerler Mann Whitney U testiyle ikili olarak karşılaştırıldığında da ikili gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$).

Süt azı dişlerinin meziodistal ve bukkolingual genişlik değerleri cinsiyete göre incelendiğinde, kızlar ve erkeklerden elde edilen veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$).

Tablo 7. Süt azı dişlerin gruplara göre boyut değerleri

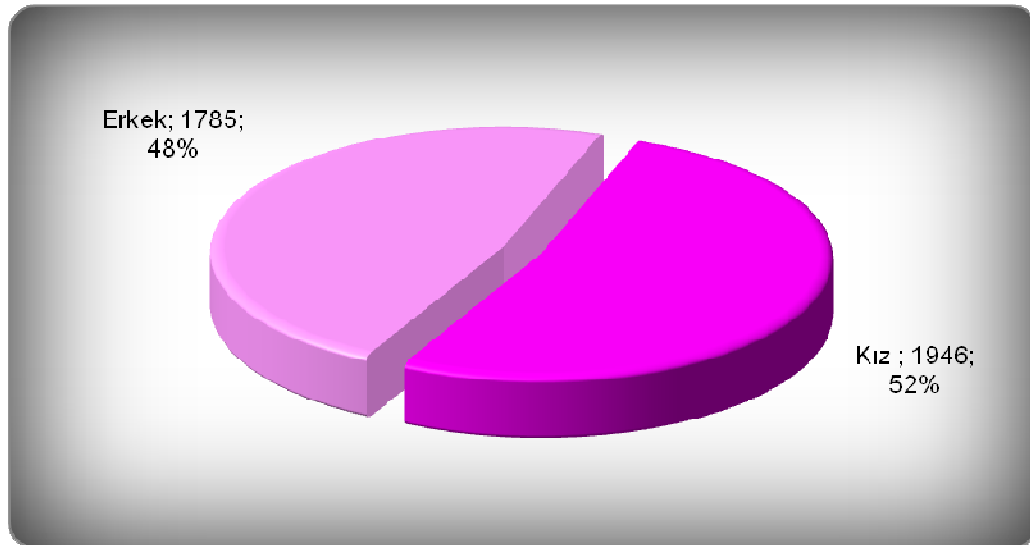
				FLOR(+) 1.GRUP		FLOR(+) 2.GRUP		FLOR(+) 3.GRUP		FLOROZİS (-)		p-değeri
				Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	
ÜST	M1	Sağ	M-D	7.05	0.40	7.31	0.69	6.79	0.65	6.832	0.47	0.355
			B-L	8.54	0.40	8.56	0.51	8.57	0.37	8.92	0.37	0.416
		Sol	M-D	7.19	0.37	6.87	0.59	6.38	0.14	7.11	0.48	0.101
			B-L	8.60	0.46	8.52	0.28	8.02	0.11	9.05	0.60	0.061
	M2	Sağ	M-D	8.90	0.40	9.12	0.55	8.76	0.27	8.74	0.53	0.258
			B-L	9.83	0.39	10.03	0.51	9.82	0.39	9.74	0.39	0.422
		Sol	M-D	8.80	0.41	8.97	0.62	8.98	0.69	8.76	0.49	0.676
			B-L	9.81	0.42	9.87	0.43	9.97	0.47	9.84	0.57	0.908
ALT	M1	Sağ	M-D	7.67	0.58	7.55	0.52	7.55	0.13	7.71	0.62	0.952
			B-L	7.49	0.37	7.30	0.23	7.58	0.07	7.52	0.35	0.562
		Sol	M-D	7.82	0.41	7.49	0.47	8.08	0.88	7.61	0.46	0.226
			B-L	7.74	0.35	7.51	0.31	7.89	0.96	7.52	0.51	0.392
	M2	Sağ	M-D	9.85	0.42	9.79	0.48	10.06	0.76	9.67	0.53	0.597
			B-L	9.09	0.36	8.79	0.46	9.04	0.80	8.71	0.51	0.133
		Sol	M-D	9.72	0.47	9.96	0.65	9.86	0.58	9.84	0.38	0.642
			B-L	9.07	0.34	9.01	0.45	9.03	0.76	8.86	0.33	0.763

4-2.2. Daimi Diş Boyutları

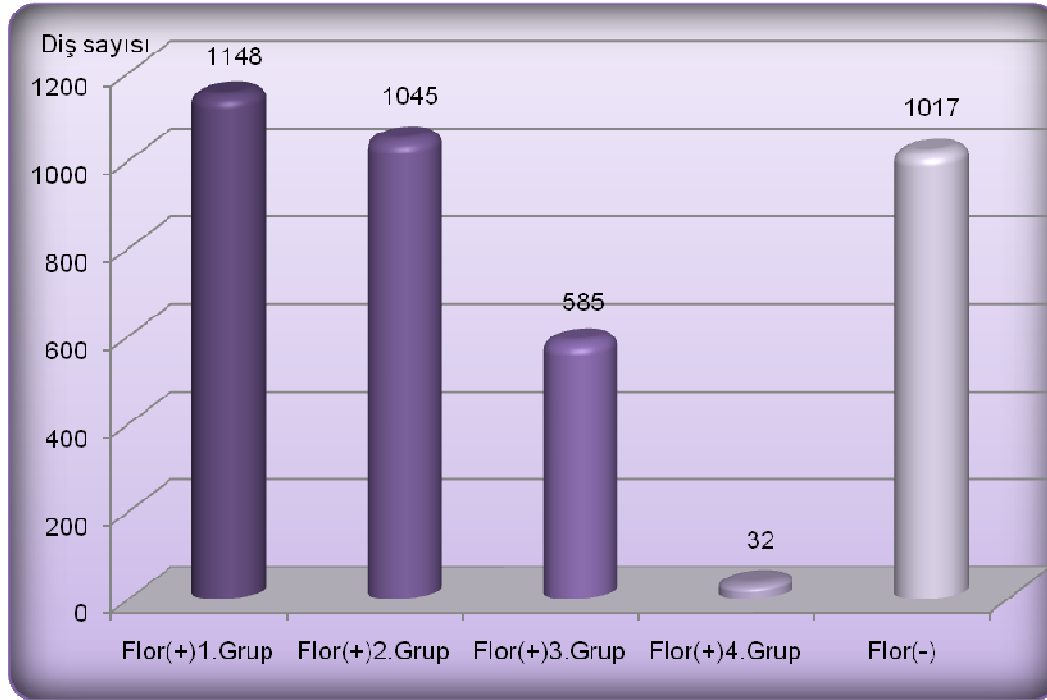
Alçı modeller üzerinde mesiobukkal ve bukkolingual boyutlarının ölçüldüğü daimi diş grupları, diş türlerine, cinsiyete ve florozis gruplarına göre dağılımları Tablo 8, Şekil 8 ve Şekil 9'da gösterilmektedir.

Tablo 8. Daimi dişlerin gruplara göre dağılımı

	ÜST		ALT		Toplam
	Sağ	Sol	Sağ	Sol	
Orta Keser	164	162	165	164	655
Yan Keser	141	143	154	152	590
Kanin	99	98	132	130	459
1. Küçük Azı	132	130	127	131	520
2. Küçük Azı	116	114	110	113	453
1. Büyük Azı	171	173	170	156	670
2. Büyük Azı	94	96	96	98	384
Toplam	917	916	954	944	3731



Şekil 8. Daimi dişlerin cinsiyete göre dağılımları



Şekil 9. Daimi dişlerin florozis gruplarına göre dağılımı

Daimi dişler florozis derecesine göre gruplandırıldığında şiddetli seviyede florozisli dişlerin (Flor(+).4.grup), sayılarının diğer gruplara göre daha az olması nedeniyle bu grup istatistiksel analizlerde değerlendirme dışı bırakılmıştır.

Florozis gruplarına göre üst ve alt çene daimi dişlerin meziodistal ve bukkolingual yöndeki ölçümlerinden elde edilen değerlerin ortalamaları ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır (Tablo 9 ve 10). Tüm florozis gruplarından ve kontrol grubundan elde edilen diş boyutlarının istatistiksel değerlendirmesi varyans analizi ile yapılmış, çoklu gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığın hangi alt grup/gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Tukey HSD analizi yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda üst çene sağ ve sol orta keser dişlerin meziodistal boyutlarının gruplara göre anlamlı derecede farklılık gösterdiği bulunmuştur (sırasıyla; $p=0.010$ ve $p=0.012$). Bu farklılığın hangi alt gruptan kaynaklandığı araştırıldığında, üst sağ orta keser diş için farklılığın flor(+).2.grup, flor(+).3.grup ve flor(-) gruplarına ait değerlerden

($p=0.038$) ve üst sol keser diş için farklılığın ise flor(+)1.grup, flor(+)3.grup ve flor(-) gruplarına ait değerlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Üst çeneye ait sol 2. küçük azı dişinin meziodistal boyutlarının gruplara göre anlamlı derecede farklılık gösterdiği ($p=0.035$), farklılığın ise flor(+)2.grup ile flor(-) gruplarından kaynaklandığı bulunmuştur ($p=0.040$). Benzer olarak üst çenede bulunan sol 1. büyük azı dişinin meziodistal boyutlarının gruplara göre anlamlı derecede farklılık gösterdiği ($p=0.043$), farklılığın ise flor(+)3.grup ile flor(-) gruplarından kaynaklandığı bulunmuştur ($p=0.023$).

Alt çenede bulunan dişlerin boyutları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise, sol orta keser dişine ait meziodistal boyut değerlerinin gruplara göre anlamlı derecede farklılık gösterdiği ($p=0.002$), farklılığın flor(+)2.grup ile flor(-) gruplarından kaynaklandığı bulunmuştur ($p=0.007$). Alt çeneye ait 1. büyük azı dişinin meziodistal boyutları değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık bulunduğu ($p=0.018$), bu farklılığın hangi alt gruptan kaynaklandığı araştırıldığında ise flor(+)2.grup ile flor(+)3.grup arasından ($p=0.014$) ve flor(+)3.grup ile flor(-) grubu arasından kaynaklandığı bulunmuştur ($p=0.034$).

Dişlerden elde edilen meziodistal ve bukkolingual boyut değerleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde, kızlara ait tüm dişlerin boyut değerlerinin erkeklerden daha düşük olduğu bulunmuştur. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda üst çeneye ait sağ taraftaki orta keser, kanin, 1. küçük azı, 2. küçük azı, 1. büyük azı, sol taraftaki kanin, 1. küçük azı, 1. büyük azı ve alt çeneye ait sağ taraftaki kanin, 1. küçük azı, 1. büyük azı, 2. büyük azı, sol taraftaki kanin, 1. küçük azı, 2. küçük azı ve 1. büyük azı dişlerinin meziodistal ve bukkolingual boyutlarının cinsiyete göre anlamlı düzeyde farklı olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla; $p=0.047$, $p=0.015$, $p=0.006$, $p=0.036$, $p=0.019$, $p=0.010$, $p=0.022$, $p=0.006$, $p=0.024$, $p=0.002$, $p=0.027$, $p=0.003$, $p=0.006$, $p=0.025$, $p=0.044$, $p=0.003$, $p=0.019$, $p=0.018$, $p=0.025$, $p=0.001$).

Tablo 9. Üst çene daimi dişlerin gruplara göre boyut değerleri

Diş			FLOR(+) 1.GRUP		FLOR(+) 2.GRUP		FLOR(+) 3.GRUP		FLOROZİS (-)		p- değeri
			Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	
Orta Keser	Sağ	M-D	8.51	0.50	8.31	0.54	8.02	0.52	8.65	0.53	0.010*
		B-L	7.24	0.58	7.19	0.56	7.14	0.39	7.29	0.45	0.855
	Sol	M-D	8.46	0.52	8.36	0.57	7.81	0.54	8.57	0.45	0.012*
		B-L	7.17	0.52	7.18	0.51	7.62	1.06	7.25	0.40	0.267
Yan Keser	Sağ	M-D	6.57	0.51	6.42	0.48	6.49	0.50	6.60	0.59	0.548
		B-L	6.76	0.52	6.50	0.49	6.44	0.47	6.55	0.37	0.107
	Sol	M-D	6.64	0.50	6.42	0.52	6.61	0.53	6.58	0.62	0.392
		B-L	6.74	0.53	6.49	0.55	6.32	0.53	6.58	0.51	0.199
Kanin	Sağ	M-D	7.77	0.39	7.52	0.48			7.66	0.37	0.188
		B-L	8.40	0.58	8.19	0.58			8.07	0.47	0.188
	Sol	M-D	7.71	0.38	7.49	0.41			7.54	0.46	0.236
		B-L	8.38	0.57	8.24	0.66			8.09	0.56	0.367
1. Küçük Azı	Sağ	M-D	7.10	0.37	6.93	0.49			70.6	0.38	0.249
		B-L	9.39	0.62	9.27	0.50			9.33	0.53	0.668
	Sol	M-D	7.12	0.45	6.96	0.42			7.02	0.37	0.337
		B-L	9.31	0.61	9.24	0.49			9.33	0.54	0.810
2. Küçük Azı	Sağ	M-D	6.77	0.40	6.57	0.51			6.68	0.35	0.279
		B-L	9.48	0.66	9.32	0.59			9.41	0.60	0.657
	Sol	M-D	6.72	0.39	6.49	0.42			6.79	0.42	0.035*
		B-L	9.50	0.65	9.40	0.62			9.45	0.69	0.851
1. Büyük Azı	Sağ	M-D	10.33	0.61	10.36	0.55	10.10	0.49	10.15	0.63	0.369
		B-L	11.38	0.66	11.51	0.52	11.66	0.61	11.39	0.53	0.491
	Sol	M-D	10.22	0.42	10.21	0.49	9.70	0.54	10.30	0.58	0.043*
		B-L	11.35	0.61	11.48	0.47	11.31	0.31	11.29	0.51	0.447
2. Büyük Azı	Sağ	M-D	9.78	0.87	9.69	0.55			9.51	0.73	0.546
		B-L	11.52	0.89	11.22	0.61			11.40	0.82	0.510
	Sol	M-D	9.76	0.63	9.69	0.60			9.61	0.59	0.796
		B-L	11.46	0.99	11.11	0.60			11.34	0.69	0.339

Tablo 10. Alt çene daimi dişlerin gruplara göre boyut değerleri

Diş		FLOR(+) 1.GRUP		FLOR(+) 2.GRUP		FLOR(+) 3.GRUP		FLOROZİS (-)		p-değeri	
		Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.	Ortalama (mm)	S.S.		
Orta Keser	Sağ	M-D	5.44	0.36	5.43	0.83	5.04	0.07	5.60	0.35	0.321
		B-L	5.91	0.50	5.96	0.42	6.07	0.06	6.00	0.37	0.823
	Sol	M-D	5.45	0.33	5.27	0.42	4.87	0.01	5.58	0.40	0.002*
		B-L	5.96	0.48	5.94	0.44	6.03	0.07	6.08	0.41	0.584
Yan Keser	Sağ	M-D	5.91	0.37	5.79	0.50	5.52	0.26	5.98	0.41	0.172
		B-L	6.22	0.57	6.25	0.37	6.05	0.06	6.23	0.37	0.951
	Sol	M-D	5.95	0.41	5.79	0.49	5.42	0.25	6.01	0.45	0.095
		B-L	6.25	0.60	6.21	0.38	6.20	0.24	6.23	0.37	0.987
Kanin	Sağ	M-D	6.66	0.38	6.55	0.33			6.65	0.43	0.545
		B-L	7.45	0.63	7.38	0.56			7.23	0.41	0.421
	Sol	M-D	6.64	0.43	6.51	0.32			6.67	0.43	0.391
		B-L	7.42	0.73	7.23	0.52			7.19	0.34	0.358
1. Küçük Azı	Sağ	M-D	7.13	0.52	6.92	0.48			7.12	0.39	0.148
		B-L	7.87	0.52	7.93	0.53			7.86	0.46	0.838
	Sol	M-D	7.00	0.61	6.95	0.39			7.04	0.38	0.759
		B-L	7.90	0.63	7.87	0.53			7.79	0.47	0.754
2. Küçük Azı	Sağ	M-D	7.15	0.58	6.99	0.42			7.25	0.79	0.341
		B-L	8.57	0.48	8.52	0.45			8.62	0.64	0.822
	Sol	M-D	7.11	0.56	7.11	0.50			7.01	0.50	0.722
		B-L	8.74	0.41	8.53	0.52			8.50	0.58	0.266
1. Büyük Azı	Sağ	M-D	10.80	0.72	10.92	0.72	10.39	1.04	10.95	0.79	0.239
		B-L	10.73	0.55	10.77	0.51	10.42	0.77	10.62	0.51	0.291
	Sol	M-D	10.88	0.70	11.13	0.75	10.15	0.68	11.03	0.73	0.018*
		B-L	10.73	0.57	10.79	0.49	10.20	0.39	10.77	0.57	0.103
2. Büyük Azı	Sağ	M-D	10.10	0.51	10.06	0.61			10.19	0.90	0.838
		B-L	10.42	0.54	10.35	0.54			10.13	0.63	0.355
	Sol	M-D	10.18	0.84	10.10	0.73			10.14	0.67	0.947
		B-L	10.32	0.83	10.43	0.58			10.34	0.62	0.859

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5-1. Histolojik Değerlendirme

Diş hekimliğinde restoratif tedavilerin başarısında odontoblastların, onarım mekanizmalarının rolü büyüktür. Bu hücreler, dentinin düzenli olarak yapımından ve onarımından sorumludurlar (14). Pulpada bulunan fonksiyonel hücrelerin, özellikle de odontoblastların sayılarının, pulpa ve dentinin yapısal onarım cevabını oluşturmada önemli bir faktör olduğu belirtilmektedir (15,16).

Diş hekimliği uygulamalarının, pulpa dokusu üzerine olan etkilerinin, insan dişlerinin pulpalarında bulunan odontoblast sayılarının değerlendirilerek araştırıldığı çalışmalarda, histolojik kesitler üzerinde belli bir pulpa bölgesinin 1 mm²'lik alanındaki hücrelerin, oküler mikrometre kullanılarak sayımlarının yapıldığı bildirilmektedir (15,16,156,160). Pulpanın belirli bir bölgesinde bulunan odontoblast sayılarının, pulpanın diğer bölgelerinden farklı olabileceği bildirildiğinden (114,156,184), bu araştırmalar, pulpa dokusunun tamamının hücresel içeriği ile ilgili olarak net bilgiler ortaya koyamamaktadır ve uygulamaların pulpanın bir bölgesinde oluşturdukları etkiler hakkında fikir vermekle sınırlı kalmaktadır. Yalnızca bölgesel verilerin elde edilmesi amaçlansa da, söz konusu üç boyutlu yapılardan elde edilmiş iki boyutlu kesit görüntüleri olduğundan, o bölgenin üçüncü boyutuna ait özellikleri hakkında detaylı bilgi elde edilememektedir (164). Çalışmamızda, odontoblast hücre sayısının ve pulpa hacminin hesaplanmasında, yapıların üç boyutlu özelliklerinin anlaşılmasını sağlayan, stereolojik metotlardan disektör metodu kullanılmıştır.

Diş hekimliği alanında stereolojik metot kullanılarak yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır (172-177). Yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde, implant uygulama sonrası çevre dokuların iyileşme özellikleri (172,173) ile kemik yoğunluğunun hesaplanması (174) ve diş hekimliği materyallerinin mekanik özelliklerinin incelenmesi (175,176) konularında stereolojik metotların kullanıldığı bulunmuş, çalışmamıza benzer olarak son yıllarda pulpa

dokusunda yapılan bir çalışmada (177), ortodontik kuvvet uygulanan sıçan dişi pulpasında bulunan kan damarlarının, kuvvet öncesi ve sonrası hacim yoğunluğunun, stereolojik metotla hesaplandığı görülmüştür.

Süt ve genç daimi diş pulpalarının histolojik ve yapısal özelliklerinin birbirine benzer olduğu bildirildiğinden (112) ve ayrıca son yıllardaki ortodontik tedavi prensiplerinde daha az diş çekimi yapılan tedavilere doğru bir yönelme olması nedeniyle (185-187), etik kurallar çerçevesinde, çürüksüz ve sağlıklı, çekilmiş daimi dişlerin temin edilmesinin zor olmasından dolayı, çalışmamızda florozis bulunan ve bulunmayan süt dişi pulpaları incelenmiştir.

Florun, gelişim döneminde diş dokularına olan etkisi kesin olarak bilinmemektedir. Günümüze kadar, florun mine ve dentine olan etkileri ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen (9,43,46,52,188-202), pulpa dokusu ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır (10,11,63,68,163,203,204). Pulpanın kalsiyum ve mineral içeriği, diğer yumuşak dokulara göre daha yüksek olduğundan ve flor elementinin kalsiyum ve mineral yapıya olan ilgisi nedeniyle, pulpada bulunan flor miktarının diğer yumuşak dokulardan daha fazla olduğu, in vitro çalışmalarda, gösterilmiştir (63,67). Bu nedenle, daha kolay temin edilebilen bir yumuşak doku olan süt azı dişi pulpalarının incelenmesi ile diğer dokuların flor içerikleri hakkında fikir sahibi olunabilir. Ayrıca florun, pulpa gibi kan dolaşımı ile yakın ilişkide olan dokularda daha yüksek miktarlarda bulunduğu bilindiğinden (42,43), pulpanın dış yüzeyini çevreleyen odontoblast tabakasında bulunan odontoblast hücrelerinin flordan etkilenmesi kaçınılmazdır. Pulpa dokusunun ve odontoblastların özellikleri ve florun diş dokularına olan etkisi ile ilgili çok sayıda araştırma bulunmasına karşın, florozisli dişlerin pulpa dokusunun ve odontoblast hücrelerinin incelendiği çalışmalar bulunmamaktadır. Pulpada bulunan odontoblastların stereolojik metotla diğer metotlara göre daha doğru bir şekilde incelenmesi, pulpa dokusu ve odontoblastlarla ilgili çalışmalara yeni bilgiler sağlayacaktır.

Diş dokusu, çürük, atrizyon, abrazyon ve restoratif işlemlerden kavite hazırlığı gibi, pulpa yaralanmasına neden olabilecek durumlarla sıklıkla karşılaşır. Kavite hazırlığı sırasında, işlem gören bölgede bulunan odontoblastlarda, akut iltihabi reaksiyonlar gibi yıkıcı değişiklikler görülür.

Yaralanma sonrasında odontoblastlar yaşamlarını sürdürdüklerinde reaksiyoner dentini oluşturdukları, yaşamlarını sürdüremediklerinde pulpadaki mezenşimal hücrelerin, yeni odontoblastlara farklılaşarak dejenere olmuş odontoblastların yerini aldıkları bildirilmiştir (205,206).

Odontoblastik aktiviteyi ve reaksiyoner dentin oluşumunu kontrol ettiği düşünülen ve dentin matriksi ile pulpa hücrelerinden salgılanan iki büyüme faktörünün (TGF β -1 ve NGF), odontoblastlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmada, dişe uygulanan diş hekimliği aletlerinin meydana getirdiği ısı, vibrasyon ve derin kaviteler sonucunda meydana gelen yaralanma varlığında oluşturulan tamir olaylarının, dentin ve pulpa dokusundan salgılanan çeşitli biyoaktif moleküller arasındaki denge ile kontrol edildiği ve bu dengenin bozulması durumunda, onarım işleminin meydana gelmeyeceği sonucuna varılmıştır (207).

Restoratif işlemlerden sonra, pulpanın canlılığı ve dentinin onarım kapasitesi, odontoblastların yaşamlarını devam ettirmelerine bağlı olduğu belirtilmektedir. Operatif işlemler sırasında odontoblastlarda meydana gelen yaralanmanın şiddetindeki ve süresindeki değişimlerin, restoratif tedavilerin başarısında veya başarısızlığında ana etken olabileceği bildirilmiştir (16).

Odontoblastların yaşamlarını devam ettirmeleri, birden fazla etkene bağlı bir durumdur. Kavite tabanında kalan dentin kalınlığı (15,184), bakteri varlığı (16), restoratif materyallerin yerleştirilme tekniği (208), pulpal iltihap (209) ve restoratif materyalin toksisitesi (210) gibi etkenlerin, odontoblast sayısını tek başlarına veya birlikte etkileyebileceği belirtilmektedir.

Işıklı ve kimyasal olarak polimerize olan, farklı içeriklere sahip rezin modifiye cam iyonmer simanların, odontoblast hücre kültürü üzerinde oluşturduğu sitotoksik etkiler, hücrelerin metabolik aktivitelerindeki ve morfolojilerindeki değişikliklerle in vitro olarak araştırılmıştır. Çalışmada, kimyasal olarak polimerize olan kaide materyallerinin, odontoblast hücrelerinin mitokondriyel solunumlarında ve hücre morfolojilerinde daha fazla değişime neden olarak, odontoblastlar üzerinde daha fazla sitotoksikite gösterdiği bulunmuştur (154).

Ohshima ve ark (158), sıçan azı dişlerinde yaptıkları immünohistokimyasal çalışmada, kavite açılma işleminden sonra pulpada oluşan iyileşme mekanizmasında, odontoblastlarla immünokompetent hücreler arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Çalışmada, sınıf II MHC pozitif hücrelerin odontoblast tabakasındaki yıkım veya yeniden oluşum durumlarına bağlı olarak, pulpadaki pozisyonlarını değiştirdikleri, dolayısıyla odontoblastlarla immünokompetent hücrelerin, pulpa yaralanması veya iyileşmesi sırasında, yakın ilişkide oldukları rapor edilmiştir.

Sıçan azı dişlerinde yapılan başka bir immünohistokimyasal çalışmada, lazer kullanılarak hazırlanan kavitelerin pulpalarındaki odontoblastlar ve immünokompetent hücreler incelenmiştir. Lazerle kavite açılması işleminin, pulpal iyileşmeyi geciktirebileceği ve kavite altındaki odontoblast hücrelerinin yıkıma uğradığı rapor edilmiştir (157).

Maymun dişlerinde, pulpa dokusu açılarak hazırlanan kavitelere, kalsiyum hidroksit ve çeşitli bağlayıcı ajanlar kullanılarak pulpa örtülenmesi gerçekleştirildiğinde, dentin köprüsü oluşumunun pulpa açıldıktan sonraki 7. ve 14. günler arasında başladığı görüldüğünden, 3. ve 7. günler arasında odontoblast benzeri öncül hücrelerin çoğaldığı ve yaralanma bölgesine doğru göç etmiş olabileceği bildirilmiştir. Uygulama bölgesinde 7. günden sonra gözlenebilen odontoblast benzeri hücrelerin, orijinal odontoblast hücrelerinden sayıca çok az olduğu ve oluşan dentin köprüsünün odontoblast benzeri hücre sayısı ile doğru orantılı olarak değiştiği gösterilmiştir (160).

Çekim endikasyonu konulmuş dişlere, sınıf V kavite hazırlanarak, değişik restoratif materyallerin uygulandığı bir çalışmada, farklı derinliklerde oluşturulan kavite ve uygulanan restoratif materyallerin pulpada oluşturdukları değişiklikler, histomorfometrik analizlerle incelenmiştir. Kavitenin altında kalan dentin dokusunun kalınlığı ile doğru orantılı olarak, mm²'ye düşen odontoblast sayısının değişim gösterdiği, kavite derinliği arttıkça, odontoblast yoğunluğunun azaldığı ve buna bağlı olarak da tersiyer dentin miktarının azaldığı bulunmuştur. Ayrıca, derin kaviteye uygulanan tüm materyallerin, odontoblast yoğunluğunda azalmaya neden olduğu, en düşük odontoblast yoğunluğunun rezin modifiye cam iyonomer siman ve kompozit

rezin uygulanan örneklerden elde edildiği bildirilmiştir. Kullanılan restoratif materyalin veya kaidenin kimyasal aktivitesi ve sitotoksitesi sonucunda odontoblast yoğunluğunda azalma meydana gelebileceği sonucuna varılmıştır (156).

Çeşitli restoratif materyaller ve bağlayıcı ajanlar kullanılarak restorasyon yapılmış kaviteilerin bulunduğu dişlerdeki, odontoblast sayısı ve reaksiyoner dentin oluşumu araştırıldığında, kullanılan materyale oranla, kavitede kalan dentin miktarının daha önemli olduğu, 0.25 mm'den daha az dentin dokusu bulunan örneklerde, odontoblast sayısının %23 oranında azaldığı ve minimum düzeyde reaksiyoner dentin meydana geldiği bulunmuştur. Bu durumun, kaviteye uygulanan materyallerin zararlı sitotoksinlerinin, aradaki dentin miktarının azalmasıyla pulpaya daha kolay bir şekilde ulaşması nedeniyle olabileceği belirtilmiştir (16).

Benzer olarak, kavite tabanındaki dentin kalınlığının pulpa iyileşmesine olan etkisinin, odontoblast sayılarının hesaplanarak araştırıldığı başka bir çalışmada, 2.5-0.5 mm, 0.5-0.01 mm dentin bulunan ve pulpanın açıldığı kavitelereki odontoblast sayılarının, kavite açılmayan bölgede bulunan odontoblast sayılarına göre sırasıyla, %13.6, %33.7 ve %99.0 oranında azaldığı rapor edilmiştir (184).

Bununla birlikte, kavite tabanında en az 0.5 mm dentin bırakılarak hazırlanan kavitelere, odontoblastlarda görülen yaralanmanın geri dönüşümlü olduğu, reaksiyoner dentin oluşumunun gerçekleştiği rapor edilmiştir. Reaksiyoner dentin oluşum miktarının, 9 yaşındaki hastalardan 17 yaşındaki hastalara doğru gidildikçe artış gösterdiği bulunmuş, yaşa bağlı değişim gösteren dentin oluşum aktivitesinin, pulpa ve çevresindeki dokularda görülen maturasyonla ilgili değişikliklere bağlı olabileceği bildirilmiştir (15).

Pulpal yaralanma sonrasında, süt dişlerinde görülen pulpa yanıtı, genellikle iltihabi tipte veya mineralizasyon tipinde oluşmaktadır. Daimi dişlere benzer olarak, tersiyer dentin oluşumunun da görüldüğü, ancak, hızlı gelişen iltihabi değişiklikler nedeniyle, tersiyer dentin oluşumunun kesintiye uğradığı gösterilmiştir (211). Yaralanmaya cevap olarak süt dişi pulpasında,

rezorpsiyon lakünlerinin veya mineralizasyon odaklarının bulunabileceği, bu nedenle süt dişi pulpasında, daimi diş pulpasına göre daha az ve düzensiz yapıda bir tersiyer dentin birikimi görüldüğü rapor edilmiştir (211,212).

Diş hekimliği uygulamaları sonrasında, pulpanın yaralanma bölgesinde bulunan odontoblastların morfolojisi, pulpanın iyileşme potansiyelinin göstergesi olabilir. Kavitelelerin altında oluşacak olan reaksiyoner dentin miktarı, bölgede bulunan odontoblastların sitoplazma/çekirdek oranına bağlıdır. Yaralanma bölgesinde bulunan odontoblastların sitoplazma/çekirdek oranının diğer bölgedeki odontoblastlara göre artış göstermesi, bu hücrelerin sekretuar özellik kazandıklarını göstermektedir. Odontoblast morfolojisini araştıran Murray ve ark (114), çekim endikasyonu konmuş küçük azı dişlere açtıkları kaviteleleri, farklı kaide maddeleri ile restore ettikten sonra, dişlerin pulpalarını reaksiyoner dentin miktarı ve odontoblast morfolojisi ile ilgili olarak incelemişlerdir. Kaviteleler etrafında bulunan kesilmiş dentin kanalları ile ilişkide olan ve reaksiyoner dentin yapımını gerçekleştiren odontoblastların, sitoplazma/çekirdek oranlarının, pulpanın diğer kısımlarındaki aktif olmayan odontoblastlara göre yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Çalışmada, kaide materyali olarak kullanılan kalsiyum hidroksit ve çinko oksit ojenol içerikli materyaller arasında bir farklılık tespit edilememiştir.

Odontoblastların sitoplazma/çekirdek oranının incelenmesi amacıyla, histomorfometrik analiz sistemi ile yapılan bir araştırmada, odontoblast hücresi/dentin kanalı oranı, yaklaşık 1/1 olarak bulunmuştur. Dişlerden alınan kesitlerin yönüne göre ve dişlerin sürme durumlarına göre elde edilen odontoblastların, sitoplazma/çekirdek oranının değiştiği ve uzunlamasına alınan kesitlerden elde edilen sitoplazma/çekirdek oranı değerlerinin enine alınan kesitlere göre daha az farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (213). Bu bulgular ışığında çalışmamızda, dişlerden elde edilen kesitler dişin uzun aksına paralel olacak şekilde elde edilmiştir.

Dişlerde yaşla birlikte görülen odontometrik değişimlerin, 10-30 (1.grup), 31-50 (2.grup) ve 51-59 (3.grup) yaşları arasında bulunan bireylerin dişlerinin 3 ayrı grup olarak incelendiği bir çalışmada, 1. gruptan 3. gruba doğru gidildikçe, kuron ve kök bölgesinde dentin kalınlığının arttığı, bunun

yanı sıra, odontoblast, subodontoblast ve fibroblast hücrelerinin sayıca azaldığı gösterilmiştir. Bu durumun, yaşla birlikte pulpa odasında meydana gelen daralma nedeniyle, pulpa dokusunun daralan pulpa odasına uyum sağlamak için yeniden düzenlenme göstermesiyle açıklanabileceği belirtilmiştir (214).

Derin çürük veya ilerlemiş kök rezorpsiyonuna rağmen, süt dişi pulpalarının, immünokompetent hücre içeriğini koruyarak, iyileşme kapasitesini ve savunma mekanizmasını devam ettirebildikleri gösterilmiştir (143).

Süt dişlerinin kök rezorpsiyon mekanizmasının net olarak anlaşılabilmesi ve rol oynayan hücrelerin etkinliği ile ilgili olarak çeşitli araştırmalar yapılmıştır (143,179,215-223). Süt dişlerinin kök rezorpsiyon mekanizmasından sorumlu hücreler olan odontoklastların, kemik rezorpsiyonunda rol oynayan osteoklastlara benzer enzimatik ve metabolik özellikler gösterdiği ve rezorpsiyon sırasında, odontoklastlar ve osteoklastlar tarafından oluşturulan mekanizmaların benzer olduğu bildirilmiştir (215-217).

Odontoklastların, kan damarlarında bulunan tek çekirdekli öncül hücrelerden kaynaklandığı, daha sonra farklılaşarak çok çekirdekli hücreler haline geldiklerinde rezoptif özellik kazandıkları, pulpada tek çekirdekli ve çok çekirdekli yapıda bulunabilecekleri, ışık ve elektron mikroskop kullanarak yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (218-221).

Fizyolojik ve patolojik kök rezorpsiyonu görülen süt dişlerinin pulpalarını histopatolojik olarak inceleyen Bolan ve Rocha (180), fizyolojik rezorpsiyonda, kökler tamamen rezorbe olduğunda bile, koronal pulpada odontoblast tabakasının korunduğunu, bazı pulpa bölgelerinde rezorpsiyon alanlarına ve odontoklastlara rastlanıldığını, patolojik rezorpsiyonda ise, pulpa dokusunda iltihabi değişikliklere bağlı olarak odontoblast tabakasının çoğu yerde kesintiye uğradığını rapor etmişlerdir.

Benzer olarak, süt dişlerinde görülen fizyolojik kök rezorpsiyonu olayını, histolojik özelliklerine göre 4 ayrı aşamada inceleyen Sahara ve ark (181), kök rezorpsiyonunun en ileri aşamasında (kök uzunluğu<1 mm), koronal pulpa yüzeylerinde odontoklast hücrelerinin görüldüğünü ve

odontoblastların bu aşamadan sonra dejenere olmaya başladığını bildirmişlerdir.

Süt dişlerinin fizyolojik kök rezorpsiyonları sırasında, odontoblastlarda görülen değişimlerin incelendiği bu araştırmaların sonuçlarına göre, çalışmamızda, odontoblast sayılarının değerlendirileceği florozisli ve florozissiz diş gruplarının kök rezorpsiyon seviyesinin 1/3 kök boyundan daha fazla olmamasına dikkat edilmiştir. Bununla birlikte, flor varlığında odontoklast hücre sayısının, kök rezorpsiyon miktarının ve osteoklastların rezorbe etme potansiyellerinin önemli derecede azaldığı bulunmuş ve florun yüksek konsantrasyonlarda, sement çözünürlüğünü azalttığı, hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (224-226).

Florozise neden olabileceği bilinmesine rağmen flor, dünyanın her yerinde çürükten korunma amacıyla kullanılmaktadır (139). Florun sistemik kullanımı sonucunda, vücudun diğer dokularına olan etkileri ile ilgili olarak pek çok araştırma yapılmıştır (5-8,226-233).

Florun, özellikle mineralize dokuların oluşumunda önemli yapısal ve metabolik görevleri olan, dentin-pulpa kompleksindeki proteoglikanların miktarını azalttığı ve sonuçta dişin mineralizasyonu sırasında oluşan patolojik değişimlerden sorumlu olabileceği rapor edilmiştir (65).

Mine florozisi oluşturulan sıçanlar üzerinde, elektron mikroskop kullanılarak, florun sekretuar hücrelerde, hücre içi taşıma olaylarına olan etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, flor varlığında, pankreas hücrelerinin endoplazmik retikülumlarında, intrasisternal granüllerin ve otofagozomların olduğu ve bunun sonucunda, florun organeller arası taşıma olaylarını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (229).

Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan, cam iyonomer simanlardan ortama salınan florun insan pulpa hücreleri üzerine olan etkileri incelendiğinde, florun pulpal toksisiteye neden olduğu, düşük dozda bile, pulpa hücrelerinin büyümesini, proliferasyonunu, mitokondriyel aktivitesini ve protein sentezini engellediği rapor edilmiştir (10). Benzer olarak çalışmamızda, yapısında sağlıklı dişlere oranla daha fazla miktarda flor bulunduğu bildirilen, florozisli süt azı dişi pulpalarındaki odontoblast hücrelerinin sayısal yoğunluğunun tüm

diş gruplarında, sağlıklı süt dişi pulpalarındakine göre daha düşük olduğu bulunmuştur.

Brännström ve Nyborg (163), klinik ve histolojik gözleme dayalı yaptıkları çalışmada, derin dentin kavitelerine uygulanan %8'lik kalay florid ve %4'lük sodyum florid solüsyonlarının, pulpada oluşturduğu değişimleri incelemişler ve 5 dakika uygulanan %8'lik kalay floridin, pulpada lokal nekroza ve orta şiddette iltihabi değişikliklere neden olduğunu bulmuşlardır.

Farklı konsantrasyonlarda sodyum florid içerikli dolgu maddelerinin, sıçan azı dişlerinin pulpalarında oluşturduğu histolojik değişiklikler incelendiğinde, %4 oranında NaF'in önemli bir değişikliğe yol açmadığı, fakat %30 oranındaki NaF'in pulpa iyileşmesini geciktirdiği tespit edilmiştir (204).

Diğer çalışmalardan farklı olarak, Nakade ve ark (68), düşük konsantrasyondaki florun, pulpa hücrelerinin proliferasyonunu ve alkalin fosfataz aktivitelerini arttırabileceğini, bunun yanında tip I kollajen sentezini etkilemediğini, in vitro olarak göstermişlerdir.

Hücre kültürü ortamında florun, odontoblastlardan, hücre dışı matriksin ve dentinin mineralizasyonu için gerekli olan sülfat salınımına olan etkisinin araştırıldığı in vitro bir çalışmanın sonuçları, ortamda flor varlığında, doza bağlı olmaksızın, odontoblast hücre membranından klorit kanalları ile sülfat geçişinin kısmen inhibe olduğunu göstermektedir (203).

Moseley ve ark (11) tarafından yapılan, sodyum floridin hücre morfolojisine, odontoblastların ve fibroblastların hücre dışı matriksi sentezleme yeteneğine olan etkilerinin, in vitro olarak sıçan dişlerinde araştırıldığı çalışmada, odontoblast ve fibroblast sayısında, odontoblastların morfolojisinde ve sitoplazma/çekirdek oranlarında bir değişiklik bulunamamıştır. Odontoblast hücrelerinin sekretuar aktivitelerinde ve kollajen sentez miktarında önemli derecede düşüş tespit edilmiştir. Olgun pulpa-dentin yapısının, gelişmekte olan dokulara göre florun etkilerine daha az hassas olduğu, bu nedenle gelişmekte olan dokuların yüksek konsantrasyonlardaki florun olumsuz etkilerinden korunması gerektiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda, florozisli süt 1. ve 2. azı dişlerinde bulunan odontoblast hücrelerinin sağlıklı dişlere oranla daha düşük olduğu, hücre sayısındaki bu değişimin süt 2. azı dişlerinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Süt dişi florozisi oluşumunda, doğumdan sonraki dönemde alınan fazla miktardaki florun daha etkili olduğu ve süt 2. azı dişi kuronunun büyük kısmının doğumdan sonraki dönemde kireçlenmesinden dolayı, henüz gelişmekte olan süt 2. azı dişinin florun olumsuz etkilerinden daha fazla etkilendiği düşünülmektedir.

Otuz ve 60 gün boyunca 1000 ppm gibi çok yüksek doz flor verilen domuzların diş dokularında görülen değişimler incelendiğinde, pulpa odasının damarlanmasının arttığı, boyanan bazal madde miktarının azaldığı, odontoblast ve sementoblast hücre sayısının ilk 30 gün arttığı, 60. günde ise azaldığı tespit edilmiştir (234).

Flor metabolizmasını ve florun dişler üzerine olan etkilerini araştıran çalışmalar, arka grup dişlerde daha şiddetli derecelerde florozis görüldüğünü bildirmektedir (59,235,236). Hem süt hem de daimi dişler arasında, daha erken dönemde gelişen dişlerde daha az oranda florozis bulunduğu belirtilmiştir (53). Bununla beraber mineralizasyon ve olgunlaşma süresi uzun olan dişlere, florun daha uzun süre boyunca etki etmesi nedeniyle, bu dişlerde florozis gibi olumsuz etkilerin daha şiddetli görüleceği rapor edilmiştir (59,235,237). Ruan ve ark (236), arka grup süt dişlerinde, ön grup dişlere oranla daha şiddetli derecelerde florozis görüldüğünü, arka grup dişler arasındaki florozis oranının da, süt 2. azı dişlerinde süt 1. azı dişlerinden daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Benzer olarak, Warren ve ark (235), yaşları 4.5-5 arasında değişen 637 çocuğun süt dişlerini florozis açısından incelediklerinde, en fazla etkilenen dişlerin süt 2. azı dişler olduğunu, bunu sırasıyla süt 1. azı, süt kanin ve süt keser dişlerin izlediğini bildirmişlerdir. Süt ikinci azı dişler arasında ise flordan en fazla etkilenen bölgenin %75-91'lik oranla, bukkal yüzün diş etine yakın kısımlarının olduğu gösterilmiştir. Bu durumun, süt ikinci azı dişlerin, diğer süt dişleri arasında en geç dönemde oluşan dişler olmasına ve diş etine yakın bölgelerin de kuron oluşumunun son aşamasında meydana gelmesine, ayrıca bu bölgelerin doğum sonrası

dönemdeki flor alımına bağlı olarak diğer bölgelere göre flordan daha fazla etkilenmesi nedeniyle oluşabileceğini bildirmişlerdir. Süt dişlerinin arasında en şiddetli florozis görülen dişler süt ikinci azı dişler olduğundan ve bu dişler de diğer süt dişlerine oranla daha geç dönemde meydana geldiğinden, süt dişlerinde görülen florozisin, daha çok doğum sonrası dönemde alınan flor nedeniyle meydana geldiği rapor edilmiştir (236).

Süt dişleri, mineralizasyon dönemlerine göre sıralanacak olursa, ilk olarak orta keser dişler, son olarak da ikinci azı dişler mineralize olur. Süt ikinci azı dişlerin kuronlarının büyük kısmının mineralizasyonu ve olgunlaşması doğum sonrası dönemde meydana geldiğinden, florun olumsuz etkilerinden, kuron boyunun yarısından fazlası (0.5-0.75) doğum öncesi dönemde meydana gelen süt birinci azı dişlerine göre daha fazla etkilenmesi muhtemeldir.

Çalışmamızda, pulpa hücrelerinin büyümesini ve proliferasyonunu engellediği bildirilen (10,65,68) floru, yapısında yüksek miktarlarda barındıran florozisli dişlerin pulpalarındaki odontoblast sayıları incelenmiş, üst ve alt süt 2. azı dişlerin odontoblast sayıları, florozisli dişlerde anlamlı düzeyde daha düşük bulunmuştur. Diğer diş gruplarının da odontoblast sayıları, florozisli grupta sağlıklı gruba göre daha düşüktür ancak, gruplar arasında anlamlı düzeyde farklılık bulunamamıştır. Florozisli ve sağlıklı diş pulpalarında bulunan odontoblast sayılarının yalnızca süt 2. azı dişlerinde farklılık göstermesi, bu dişlerin daha geç mineralize olması ve kuronlarının büyük kısmının doğum sonrası dönemde meydana gelmesi ile doğum sonrası dönemde alınan flordan daha fazla etkilenmesi ve oluşum süresinin 1. azı dişlerinden daha uzun olması, dolayısı ile gelişim süresi boyunca flordan daha fazla etkilenmeleri nedeniyle olabilir.

Daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen bulgulara paralel olarak (15,214), çalışmamızda yapılan istatistiksel analiz sonucunda, florozisli ve sağlıklı süt dişi pulpalarında bulunan odontoblast sayılarının cinsiyete göre değişim göstermediği bulunmuştur.

Milsom ve ark (238), süt dişlerinde mineralizasyon defektleri bulunan çocukların daimi dişlerinde de defektlerin bulunma ihtimalinin yüksek

olduğunu bildirmiştir. Böylelikle süt dişlerinin, flor alımının bir belirleyicisi olarak rol oynayabileceği ve daha sonraki dönemde sürecek daimi dişler hakkında fikir verebileceği düşünülebilir.

Doğum öncesi dönemdeki diş gelişimi sırasında, beslenme şekilleri ve hastalıklar gibi çevresel etkenlerin, dişsel özellikleri etkilediği rapor edilmiştir (73,74,239). Bireyin beslenme şekli ile diş oluşum zamanı arasında yakın ilişki olduğu ve organizmanın kalori miktarının veya protein alımının daimi diş boyutlarında değişime neden olabileceği belirtilmektedir (73). Sosyoekonomik faktörlerin diş boyutlarını etkileyebileceği düşünüldüğünden, çalışmamıza dahil edilen bireylerin benzer sosyoekonomik seviyeye ve beslenme alışkanlıklarına sahip olmalarına özen gösterilmiştir.

Amano ve ark (240), pulpa odasının morfolojik özelliklerini ve pulpa boynuzlarının topografik ilişkilerini, mikro-bilgisayarlı tomografi cihazı kullanarak süt azı dişlerinde araştırmışlar ve süt azı dişlerin pulpa odalarının hacminin, süt dişlenmeden karma dişlenmeye geçişte küçüldüğünü ve pulpa odasının meziale doğru kayma gösterdiğini bulmuşlardır.

Pulpa dokusunun morfolojik özellikleri hakkında daha geniş bilgiye sahip olmak için, stereomikroskop ve bilgisayarlı tomografi gibi cihazlarla ayrıntılı olarak incelemeler yapılmış (240-244), ayrıca dişlerden alınan histolojik kesitlerinden yararlanarak, diş dokularının 3 boyutlu analizlerinin yapılabileceği gösterilmiştir (245-247).

Çalışmamızda, bireylerin çürüksüz dişlerinin boyutları incelendiğinden radyografik olarak pulpa boyutlarının tespit edilmesi için gerekli radyografların alınması, hastaların radyasyon almalarına sebep olacağından etik kurallar çerçevesinde ve stereolojik metot ile pulpa hacmi doğrudan hesaplandığından, süt ve daimi dişlerin radyografik pulpa boyutları incelenmemiştir.

Adli tıp ve antropoloji alanında yapılan çalışmalarda, bireylerin kronolojik yaşlarını belirlemek için, dişlerin pulpa/diş alan oranlarından ve sekonder dentin birikim miktarından sıklıkla yararlanılmaktadır (248,249). Hayat boyunca devam eden sekonder dentin oluşumu nedeniyle, pulpa odasında yaşa bağlı olarak görülen boyut azalması temeline dayanan

çalışmalarda, koronal pulpa boyutları ile bireylerin kronolojik yaşları arasında anlamlı bir ilişki olduğu rapor edilmiştir (248-254). Uygulama kolaylığı, özel teknik donanım gerektirmemesi ve güvenilir sonuçlar vermesi nedeniyle, bireylerin yaşlarının belirlenmesinde pulpa boyutlarının hesaplanmasının geçerli bir metot olduğu kabul edilmektedir.

Oklüzal ve ara yüz restorasyonların, pulpa boyutlarına olan etkisinin, radyograflar üzerinde araştırıldığı bir çalışmada, sığ kavitelerde yapılan restorasyonlarda bile, restorasyon tipine bağlı olmaksızın, pulpa boyutlarında önemli derecede azalma görüldüğü rapor edilmiştir (182).

Günümüze kadar yapılan, pulpa boyutunu araştıran çalışmalar gözden geçirildiğinde, florozisli dişler ile sağlıklı dişlerin pulpa boyutları arasındaki farklılığın incelenmediği görülmüştür. Çalışmamızda, florozisli ve sağlıklı süt dişlerinin pulpa boyutları, stereolojik metotla hesaplandığında, iki grup değerleri arasında istatistiksel düzeyde bir farklılık tespit edilememiştir. Bu durum, süt dişlerinde bulunan flor miktarının daimi dişlere göre daha az olması, süt dişlerinin büyük kısmının doğum öncesi dönemde mineralize olması ve süt dişlerinin daimi dişlere göre flordan daha az oranda etkilenmeleri nedeniyle meydana gelmiş olabilir.

Odontoblast farklılaşmasının kuron morfolojisi üzerine olan etkisini fare dişlerinde araştıran Lisi ve ark (255), odontoblast farklılaşması sırasında azı dişlerin uzunluklarının arttığını ve farklılaşmış odontoblast tabakasının diş morfolojisi üzerine etkisinin olduğunu bildirdiğinden, çalışmamızda florun süt ve daimi dişi kuronlarının meziodistal ve bukkolingual boyutları üzerine olan etkisi de araştırılmıştır.

5-2. Morfolojik Değerlendirme

Antropolojistler ve diş hekimleri için önem taşıyan diş boyutlarının en doğru biçimde ölçülmesi amacıyla çeşitli metotlar araştırılmıştır (91,95-97). Diş boyutlarının gerçek değerlerini elde etmek için ağız içi ortamda dişler üzerinde yapılan ölçümlerde, ortamın standardize edilememesi ve özellikle

üst çenede dişlerin, mezial ve distal değim noktalarının belirlenmesinin zor olması gibi nedenlerle, meziodistal ve bukkolingual genişlik değerleri ideal bir şekilde elde edilememektedir. Daimi dişlerin ağız içi ortamda elde edilen değerleri ile alçı modelleri üzerinde yapılan ölçümlerden elde edilen değerlerinin karşılaştırıldığı çalışmada, ağız içi değerlerin önemli derecede daha düşük olduğu bulunmuştur (91). Süt dişi boyutlarının ölçüleceği, küçük yaş grubundaki bireylerin ağız açıklığının az olması, uygulamalara karşı uyum düzeylerinin az olması ve ağız ortamında dişlerin değim noktalarının doğru olarak belirlenebilmesi için gerekli çalışma zamanının uzun olması gibi nedenlerle süt dişlerinin ağız içi ölçümleri oldukça zordur. Bununla birlikte araştırmacılar, alçı modeller üzerinde yapılan ölçümlerde daha kesin ve net değerlerin elde edildiğini bildirmiştir (91).

Son yıllarda hızla ilerleyen teknolojik gelişmeler nedeniyle, dişlerin boyutlarını ölçmek amacıyla, dijital olarak 3 boyutlu model analiz sistemleri geliştirilmiş ve klinisyenlerin oldukça ilgisini çeken bu sistemlerle ilgili araştırmalar yapılmıştır (95-99). Dijital analiz sistemlerinin klinik pratikte rutin olarak kullanılabilme ve yer darlığı analizlerinde hızlı olmaları gibi avantajlarının yanında, pahalı olmaları ve bilimsel anlamda doğru ve güvenilir sonuçlar elde edilemeyeceğinin gösterilmesi nedeniyle (95-99), çalışmamızda en doğru diş boyutlarını elde etmek amacıyla, boyut ölçümleri alçı modeller üzerinde dijital kumpas kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Günümüze kadar, etnik gruplar arasındaki farklılıkları araştırmak, ortodontik yer darlığı ve diş-ark boyut uyumsuzluğunu ortaya koymak, adli tıpta cinsiyet tayini yapmak gibi çeşitli nedenlerle süt ve daimi diş boyutlarını inceleyen çeşitli çalışmalar yapılmıştır (256-272). Yapılan çalışmaların çoğunda diş boyutları cinsiyet farklılığına göre değerlendirildiğinde erkek bireylerden elde edilen meziodistal ve bukkolingual diş boyutlarının kız bireylere oranla daha fazla olduğu bulunmuştur (256-268).

Çalışmamızda, daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak, kızlara ait tüm dişlerin boyut değerlerinin erkeklerden daha düşük olduğu ve cinsiyetler arasındaki bu farklılığın, üst çeneye ait sağ taraftaki orta keser, kanin, 1. küçük azı, 2. küçük azı, 1. büyük azı, sol taraftaki kanin, 1. küçük

azı, 1. büyük azı ve alt çeneye ait sağ taraftaki kanin, 1. küçük azı, 1. büyük azı, 2. büyük azı, sol taraftaki kanin, 1. küçük azı, 2. küçük azı ve 1. büyük azı dişlerinin istatistiksel düzeyde anlamlı olduğu bulunmuştur.

Süt ve daimi dişlerin meziodistal boyutlarını incelemek amacıyla, 112 Çinli çocuğun diş boyutlarının alçı modeller üzerinde kumpas yardımıyla ölçüldüğü bir çalışmada, hem süt hem de daimi diş grubunda erkek çocukların diş boyutlarının kız çocuklarından daha büyük olduğu, bu farklılığın daimi diş grubunda süt dişi grubuna göre daha belirgin olduğu bulunmuştur (70). Benzer olarak çalışmamızda, daimi dişlerden elde edilen meziodistal ve bukkolingual diş boyutlarının cinsiyete göre farklılık gösterdiği bulunmasına rağmen, süt dişlerinden elde edilen meziodistal ve bukkolingual diş boyutlarının kız ve erkek bireylerde anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

Eser elementlerin dişlerin meziodistal ve bukkolingual boyutlarına olan etkilerini incelemek amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmıştır (78-83,273). Florun diş boyutlarına ve morfolojisine olan etkisini sığırcılar üzerinde araştıran bir çalışmada, hamilelik döneminde flor ve molibden verildikten sonra doğan yavruların dişlerinin meziodistal genişlikleri ölçülmüş, florun dişlerin meziodistal genişliklerini azalttığı, molibdenin florla etkileşime girmesi sonucunda, molibdenin florun diş boyutlarında azaltıcı etkisinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı bulunmuştur (78).

Sığırcılar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise, yavru sığırcılara günde yaklaşık 108 µg flor verildikten sonra oluşan dişlerin morfolojik ve boyutsal özellikleri karşılaştırıldığında, flor verilen sığırcı dişlerinin tüberkül yüksekliğinde ve meziodistal boyutlarında önemli derecede azalma olduğu bildirilmiştir (273).

İçme suyunda bulunan 1 ppm florun, 10-11 yaşındaki 258 erkek çocuğun diş morfolojisine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, çocukların sol taraftaki üst ve alt çeneye ait daimi orta keser ve daimi 1. azı dişlerinin boyutları ölçülmüş, 1. azı dişlerin meziodistal ve bukkolingual boyutlarının florlu grupta önemli derecede daha küçük olduğu, bununla birlikte, florlu ve

florsuz grupta keser dişlerin meziodistal genişliklerinde bir fark bulunmadığı görülmüştür (79).

Benzer olarak, içme suları florlanmaya başladıktan sonraki dönemde doğan çocukların ve flordan etkilenmemiş dişlere sahip ebeveynlerinin dişlerinin bukkolingual boyutlarını inceleyen Goose ve Roberts (80), çocukların daimi dişlerinin çoğunun bukkolingual boyutlarının, ebeveynlerinin dişlerinden daha az olduğunu ve florlanmış içme suyunun diş boyutlarını azaltabileceğini bildirmişlerdir.

İçme sularında optimum ve yüksek seviyede flor bulunan iki ayrı bölgede yaşayan toplam 122 çocuğun daimi dişlerinin meziodistal ve bukkolingual boyutlarını inceleyen Omar (84) ise, içme suyunun flor konsantrasyonu arttıkça, özellikle daimi üst orta keser ve ikinci küçük azı dişlerinin meziodistal boyutlarının ve üst ikinci büyük azı dişlerinin bukkolingual boyutlarının önemli derecede küçüldüğünü rapor etmiştir.

Diyet ve içme suyu ile alınan florun diş morfolojisi üzerine olan etkileri çeşitli çalışmalar ile araştırılmış olsa da florozisli dişlere sahip hastaların dişlerinin morfolojik özellikleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (82,83). Florun, içme suyunda değişik seviyelerde (≤ 0.5 mg/l, 0.6-0.9 mg/l, 1.0-1.2 mg/l, 1.3-2.0 mg/l) flor bulunan bölgede yaşayan 151 çocuk ile içme suyunda 0.1 mg/l'den az flor bulunan bölgede yaşayan 213 çocuk (kontrol) olmak üzere, toplam 364 çocuğun süt ve daimi dişleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, dişlerde bulunan mineralizasyon defektleri, florozis ve meziodistal boyut değişimleri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda, içme suyunda 0.5 mg/l'den daha az flor bulunan bölgede yaşayan çocuklar ile kontrol grubundaki çocukların dişlerinde bulunan florozis ve mine defekti oranı benzer olduğu, içme suyunda 1.0 mg/l'den daha fazla oranda bulunan flor varlığında görülen florozis oranının önemli ölçüde arttığı, içme suyunda flor oranı 0.9 mg/l'den az olan çocukların %3'ünün, 1.0 mg/l'den fazla olan çocukların ise %34'ünün dişlerinde florozis olduğu tespit edilmiştir. İçme suyunda yüksek seviyede flor bulunan çocuklarla kontrol grubundaki çocukların dişlerinin meziodistal genişlikleri karşılaştırıldığında ise her iki grup

arasında ve dişlerinde florozis bulunan ve bulunmayan çocukların diş boyutlarında önemli bir fark bulunamamıştır (82).

Bununla birlikte, florozisli ve sağlıklı dişlere sahip toplam 50 bireyin daimi diş boyutlarının incelendiği bir çalışmada, florozisli dişlerin meziodistal boyutlarının sağlıklı dişlerden daha küçük olduğu, ancak yalnızca alt çenede bulunan 1. küçük azı dişlerinin meziodistal boyutlarının, florozis ve kontrol grubunda önemli derecede farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (83).

Süt dişlerinin bir kısmının, doğumdan önceki dönemde mineralize olması ve süt dişi minesinin daimi diş minesinden daha ince ve daha beyaz olması gibi nedenlerle, süt dişi florozisinin, daimi diş florozisinden daha hafif seyrettiği bildirilmiştir (274). Ayrıca, süt ve daimi dişlerin diş dokularında bulunan flor miktarları karşılaştırıldığında, süt dişlerinde daimi dişlere göre daha az miktarda flor bulunduğu rapor edildiğinden (275), çalışmamızda Grahnen ve ark (82)'na benzer olarak, florozisli süt dişi boyutlarının sağlıklı dişlerden önemli derecede farklılık göstermemesi, süt dişlerinin florun olumsuz özelliklerinden, daimi dişlere göre daha az oranda etkilenmesi sonucunda meydana gelmiş olabilir.

Florun daimi diş boyutlarına olan etkisini inceleyen çalışmaların büyük kısmında flor varlığında daimi diş boyutlarının küçüldüğü rapor edilse de (78,79,83,84), bazılarında diş boyutlarında önemli derecede farklılık bulunmadığı belirtilmiştir (80,82). Çalışmamızda elde edilen, üst çeneye ait orta keser, 2. küçük azı ve 1. büyük azı dişlerinin ve alt çeneye ait orta keser ve 1. büyük azı dişlerinin boyutlarının florozisli diş grubunda önemli derecede küçük bulunması gibi florozisli daimi diş boyutlarına ilişkin bulgular, önceki çalışmalarla uyum göstermektedir.

Sonuç olarak, florozisli ve sağlıklı dişlerin histolojik ve morfolojik özelliklerini incelediğimiz bu çalışmada, (i) florozisli süt dişlerinin pulpalarında bulunan odontoblast hücrelerinin sayılarının ve sayısal yoğunluklarının, florun olumsuz özelliklerinden etkilenecek sağlıklı diş grubuna göre azaldığı, (ii) florozisli süt dişlerinin pulpa boyutlarının sağlıklı dişlere oranla anlamlı bir farklılık göstermediği ve (iii) florozisli dişlerin boyutlarının sağlıklı gruba göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Florun diş çürüklerinden koruyucu etkisi, içme sularında doğal olarak flor bulunan çocukların, daha az diş çürüğüne sahip olduğunu gösteren epidemiyolojik çalışmalarla ortaya konmaktadır. Bununla birlikte, ailelerin eğitim düzeyinin artması ile ebeveynlerin, çocuklarının dişlerini erken dönemde çürükten korumak istemeleri sonucunda, sistemik flor tedavisi ile yüksek flor içerikli preparatlar kullanılarak evde veya hekim tarafından yapılan lokal tedaviler uygulanabilmektedir. Dişin gelişimi sırasında flor alımı neticesinde özellikle, mine dokusunun yapısında görülen değişiklikler sonucunda dişler çürük oluşumuna karşı daha dayanıklı hale gelmektedir. Ancak diş dokularının gelişmeleri sırasında yüksek dozlarda flor alınmasıyla, mine haricindeki dokularda görülen değişimlere, yeteri kadar önem verilmemiştir. Florozisli dişlere sahip çocukların diş yapılarının histolojik ve morfolojik özelliklerinin iyi şekilde bilinmesi, hem endemik florozis bölgelerindeki hem de diğer bölgelerdeki diş hekimlerinin hastalarını tanımaları ve tedavilerini pulpa dokusunun özelliklerini göz önünde bulundurarak gerçekleştirmeleri açısından önemlidir.

Daha önce stereolojik metot kullanılarak tüm pulpa dokusunun hücresel içeriğini inceleyen bir araştırma bulunmadığından, bu alanda ilk kez yapılan çalışmamızın diğer araştırmalara yol gösterici olacağını ve bulgularımızın florozisli dişlerin özellikleri hakkında daha detaylı bilgiler sağladığını düşünmekteyiz. Elde ettiğimiz bulgular, florun hücreler üzerine olumsuz etkilerini bir kez daha göstermekte ve florozisli dişlerin, bir dişin iyileşme potansiyelini oluşturan, odontoblast hücreleri yönünden sayıca daha fakir olduğunu göstermektedir. Yapılan restoratif işlemler ardından beklenen pulpal iyileşme, odontoblast sayısı ile doğru orantılı olduğu için florozisli dişlerin tedavilerinde bu durum göz önünde bulundurulmalıdır.

Bireyin pulpa ve diş boyutlarına ait özellikleri, hekimlerin dişsel farklılıkları göz önünde bulundurarak tedavilerini yönlendirmeleri, dişlerin arklardaki sıralanmaları ve süt dişlenmeden daimi dişlenmeye geçiş sırasındaki oklüzyonun gelişimi açısından, klinik diş hekimliğinde önemli bir yer tutmaktadır. Çalışmamızda, florozis bulunan ve bulunmayan dişlerin pulpa ve diş boyutları incelendiğinde, geç karma dişlenme dönemindeki süt

dişlerine ait dokuların boyutsal özelliklerinin floridan önemli düzeyde etkilenmediği, bunun yanında bazı daimi dişlerin boyutlarının küçüldüğü tespit edilmiştir. Florozis bulunan ve bulunmayan süt dişleri farklı derecelerde aşınma gösterebileceğinden, süt dişlerinde henüz aşınmanın bulunmadığı erken dönemlerde yapılacak daha fazla araştırmayla, geç dönemlerde meydana gelebilen aşınmadan bağımsız bulgulara ulaşılabileceği düşüncesindeyiz. Florun, daimi diş boyutlarına etkisini inceleyen çalışmaların artırılması, dişlerde görülen boyutsal değişikliğin nedenlerini açıklamaya yardımcı olacaktır. Ayrıca pulpayı etkileyebilecek restoratif tedavilerin, dişler üzerine etkilerinin stereolojik metotlarla incelenmesi, konu ile ilgili bilgileri arttıracaktır.

ÖZET

Florozisli ve Sağlıklı Süt Dişlerinin Stereolojik Metotla İncelenmesi ve Dişlerin Boyutsal Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Restoratif tedavilerin başarısında pulpa hücrelerinin onarım mekanizmalarının rolü büyüktür. Odontoblastlar, dentinin düzenli olarak yapımından ve onarımından sorumlu hücrelerdir. Pulpa dokusu ile ilgili günümüze kadar yapılan çalışmalarda, sağlıklı dişlerde bulunan pulpanın hücresel özellikleri, dokunun belli bir bölgesinden alınan kesitlerin iki boyutlu incelenmesi ile ortaya konmuştur. Ancak, pulpanın tamamını stereolojik metotla üç boyutlu olarak inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte, odontoblast tabakasında görülen değişikliklerin, dişlerin boyutlarını etkilediği belirtilmektedir.

Bu çalışmadaki amacımız, florozisli süt dişlerin pulpalarında bulunan odontoblast hücrelerinin ve pulpa boyutlarının stereolojik metotla incelenmesi, süt ve daimi dişlerin boyutsal özelliklerinin flordan nasıl etkilendiğinin ortaya konulması ve elde edilen verilerin sağlıklı dişlerle karşılaştırılmasıdır.

Çalışmanın histolojik değerlendirme kısmında, 9-11 yaşlar arasındaki hastalardan elde edilen, florozis bulunan ve bulunmayan, 56 adet çekilmiş süt 1. ve 2. azı dişler kullanıldı. Sistemik rastgele örnekleme metoduyla belirlenen diş kesitleri ışık mikroskobu altında stereolojik metotla incelendi. Çalışmanın morfolojik değerlendirme kısmında ise, kliniğimize başvuran ve dişlerinde florozis bulunan ve bulunmayan, 8-16 yaşları arasındaki 180 hastadan alçı modeller elde edildi. Modeller üzerindeki dişlerin meziodistal ve bukkolingual boyutları elektronik kumpas yardımıyla ölçüldü. Verilerin istatistiksel analizleri SPSS bilgisayar paket programının 13.0 versiyonu kullanılarak yapıldı.

Sonuç olarak, florozisli süt dişlerin pulpalarında bulunan odontoblast hücrelerinin sayılarının ve sayısal yoğunluklarının sağlıklı diş grubuna göre azaldığı, florozisli süt dişlerinin pulpa boyutlarının sağlıklı dişlere oranla anlamlı bir farklılık göstermediği ve florozisli daimi üst orta keser, 2. küçük azı ve 1. büyük azı dişlerinin ve alt orta keser ve 1. büyük azı dişlerinin boyutlarının sağlıklı gruba göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğu bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Diş boyutları, Flor, Florozis, Odontoblast sayısı, Pulpa hacmi.

SUMMARY

Investigation of Fluorotic and Non-fluorotic Primary Teeth With Stereological Methods and Evaluation of Dimensional Features of Teeth

The successful resolutions of restorative treatments are dependent upon harnessing and utilising the natural repair responses of the pulpal cells. Odontoblasts are responsible for the regulation of dentine synthesis, secretion and mineralization. Until recently, the properties of pulp cells in healthy teeth have been studied in two dimensions with the sections obtained from distinct tooth areas. However, there are no studies that evaluated whole pulp tissue with stereological methods in three dimensions in the literature.

The aims of this study were to investigate the odontoblast cells and pulp dimensions of fluorotic primary teeth with stereological methods, to determine the effects of fluoride on dimensional features of primary and permanent teeth and to compare the data with healthy teeth.

In histological part of the study, a total of 56 fluorotic and healthy extracted first and second primary molar teeth that were obtained from children aged between 9-11 years were used. Systematically and randomly sampled tooth sections were investigated under light microscope. In morphological part of the study, a total of 180 dental casts that were obtained from children aged between 8-16 years, with fluorotic and healthy teeth were evaluated. Mesiodistal and buccolingual tooth dimensions were measured with digital caliper. Mean values were considered significantly different when $p < 0.05$. Statistical analyses were performed using the SPSS statistical software program.

In conclusion, it was found that the total number and the numerical density of odontoblast cells in fluorotic primary teeth were lower than healthy teeth, the pulp volumes of fluorotic primary teeth were not significantly different from healthy teeth and the dimensions of fluorotic permanent maxillary central incisor, the second premolar, the first molar and mandibular central incisor and the first molar teeth were significantly lower than non-fluorotic teeth group.

Key words: *Tooth dimensions, Fluoride, Fluorosis, Odontoblast number, Pulp volume.*

KAYNAKLAR

1. Do LG, Spencer AJ. Risk-benefit balance in the use of fluoride among young children. *J Dent Res* 2007; 86(8):723-8.
2. Meyer-Lueckel H, Paris S, Shirkhani B, Hopfenmuller W, Kielbassa AM. Caries and fluorosis in 6 and 9-year-old children residing in three communities in Iran. *Community Dent Oral Epidemiol* 2006; 34(1):63-70.
3. Ruan JP, Yang ZQ, Wang ZL, Astrom AN, Bardsen A, Bjorvatn K. Dental fluorosis and dental caries in permanent teeth: rural schoolchildren in high-fluoride areas in the Shaanxi province, China. *Acta Odontol Scand* 2005; 63(5):258-65.
4. Whelton H, Crowley E, O'Mullane D, Donaldson M, Kelleher V, Cronin M. Dental caries and enamel fluorosis among the fluoridated and non-fluoridated populations in the Republic of Ireland in 2002. *Community Dent Health* 2004; 21(1):37-44.
5. Heybeli N, Eroğlu E, Sari A, Çetin M, Mumcu EF. Effects of fluoride on growth plate and bone histopathology in young rats. *J Musculoskeletal Res* 2001; 5(2):123-30.
6. Khandare AL, Harikumar R, Sivakumar B. Severe bone deformities in young children from vitamin D deficiency and fluorosis in Bihar-India. *Calcif Tissue Int* 2005; 76(6):412-8.
7. Warren JJ, Levy SM. Systemic fluoride. Sources, amounts and effects of ingestion. *Dent Clin North Am* 1999; 43(4):695-711.
8. Ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 1999; 57(6):325-9.
9. Den Besten PK. Mechanism and timing of fluoride effects on developing enamel. *J Public Health Dent* 1999; 59(4):247-51.
10. Chang YC, Chou MY. Cytotoxicity of fluoride on human pulp cell cultures in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 91(2):230-4.
11. Moseley R, Sloan AJ, Waddington RJ, Smith AJ, Hall RC, Embery G. The influence of fluoride on the cellular morphology and synthetic activity of the rat dentine-pulp complex in vitro. *Arch Oral Biol* 2003; 48(1):39-46.
12. Rwenyonyi CM, Birkeland JM, Haugejorden O, Bjorvatn K. Dental variables associated with differences of fluorosis within the permanent dentition. *Clin Oral Invest* 2000; 4(1):57-63.
13. Vieira APGF, Hancock R, Eggertsson H, Everett ET, Grynepas MD. Tooth quality in dental fluorosis: genetic and environmental factors. *Calcif Tissue Int* 2005; 76(1):17-25.
14. Murray PE, Lumley PJ, Ross HF, Smith AJ. Tooth slice organ culture for cytotoxicity assessment of dental materials. *Biomaterials* 2000; 21(16):1711-21.
15. Murray PE, About I, Lumley PJ, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. Human odontoblast cell numbers after dental injury. *J Dent* 2000; 28(4):277-85.
16. About I, Murray PE, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. The effect of cavity restoration variables on odontoblast cell numbers and dental repair. *J Dent* 2001; 29(2):109-17.
17. Linde A, Lundgren T. From serum to the mineral phase. The role of the odontoblast in calcium transport and mineral formation. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):213-22.

18. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):273-80.
19. Smith FA, Ekstrand J. The occurrence and the chemistry of fluoride. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. 2 nd Ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996; 17-26.
20. Kargül B, Caglar E, Tanboğa I. History of water fluoridation. *J Clin Pediatr Dent* 2003; 27(3):213-8.
21. Pendrys DG, Katz RV, Morse DE. Risk factors for enamel fluorosis in a fluoridated population. *Am J Epidemiol* 1994; 140(5):461-71.
22. Maguire A, Zohouri FV, Mathers JC, Sten IN, Hindmarch PN, Moynihan PJ. Bioavailability of fluoride in drinking water: a human experimental study. *J Dent Res* 2005; 84(11):989-93.
23. Pizzo G, Piscopo MR, Pizzo I, Giuliana G. Community water fluoridation and caries prevention: a critical review. *Clin Oral Invest* 2007; 11(3):189-93.
24. Ahiropoulos V. Fluoride content of bottled waters available in Northern Greece. *Int J Paediatr Dent* 2006; 16(2):111-6.
25. O'Connell JM, Brunson D, Anselmo T, Sullivan PW. Costs and savings associated with community water fluoridation programs in Colorado. *Prev Chronic Dis* 2005; 2(Spec Issue):1-13.
26. Petersen PE, Lennon MA. Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004; 32(5):319-21.
27. Paiva SM, Lima YBO, Cury JA. Fluoride intake by Brazilian children from two communities with fluoridated water. *Community Dent Oral Epidemiol* 2003; 31(3):184-91.
28. Pendrys DG, Katz RV. Risk factors for enamel fluorosis in optimally fluoridated children born after the US manufacturers' decision to reduce the fluoride concentration of infant formula. *Am J Epidemiol* 1998; 148(10):967-74.
29. Osuji OO, Leake JL, Chipman ML, Nikiforuk G, Locker D, Levine N. Risk factors for dental fluorosis in a fluoridated community. *J Dent Res* 1988; 67(12):1488-92.
30. Villa AE, Guerrero S, Icaza G, Villalobos J, Anabalon M. Dental fluorosis in Chilean children: evaluation of risk factors. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26(5):310-5.
31. Burt BA, Fejerskov O. Water fluoridation. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. 2 nd Ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996; 275-90.
32. Ekstrand J. Fluoride metabolism. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. 2 nd Ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996; 55-68.
33. Tabari ED, Ellwood R, Rugg-Gunn AJ, Evans DJ, Davies RM. Dental fluorosis in permanent incisor teeth in relation to water fluoridation, social deprivation and toothpaste use in infancy. *Br Dent J* 2000; 189(4):216-20.
34. Mascarenhas AK, Burt BA. Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26(4):241-8.
35. Warren JJ, Levy SM. A review of fluoride dentifrice related to dental fluorosis. *Pediatr Dent* 1999; 21(4):266-72.
36. Pendrys DG, Katz RV. Risk of enamel fluorosis associated with fluoride supplementation, infant formula, and fluoride dentifrice use. *Am J Epidemiol* 1989; 130(6):1199-1208.
37. Mascarenhas AK. Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. *Pediatr Dent* 2000; 22(4):269-77.

38. Riordan PJ. Fluoride supplements for young children: an analysis of the literature focusing on benefits and risks. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; 27(1):72-83.
39. Ismail AI, Bandekar RR. Fluoride supplements and fluorosis: a meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; 27(1):48-56.
40. Whitford GM. Fluoride toxicology and health effects. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. 2 nd Ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996; 167-184.
41. Smith FA, Gardner DE, Hodge HC. Investigations on the metabolism of fluoride. II. Fluoride content of blood and urine as a function of the fluorine in drinking water. *J Dent Res* 1950; 29(5):596-600.
42. Wallace-Durbin P. The metabolism of fluorine in the rat using F-18 as a tracer. *J Dent Res* 1954; 33(6):789-800.
43. Robinson C, Kirkham J, Weatherell JA. Fluoride in teeth and bone. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. 2 nd Ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996; 69-87.
44. McCann HG, Bullock FA. The effect of F-ingestion on the composition and solubility of mineralized tissues of the rat. *J Dent Res* 1957; 36(3):391-8.
45. Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC, Smith AM. The effect of fluoride on the developing tooth. *Caries Res* 2004; 38(3):268-76.
46. Nelson DGA, Jongbloed WL, Arends J. Morphology of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: SEM considerations. *J Dent Res* 1983; 62(12):1201-8.
47. Den Besten PK, Thariani H. Biological mechanisms of fluorosis and level and timing of systemic exposure to fluoride with respect to fluorosis. *J Dent Res* 1992; 71(5):1238-43.
48. Burt BA. The changing patterns of systemic fluoride intake. *J Dent Res* 1992; 71(5):1228-37.
49. Richards A, Kragstrup J, Josephsen K, Fejerskov O. Dental fluorosis developed in post-secretory enamel. *J Dent Res* 1986; 65(12):1406-9.
50. Ishii T, Suckling G. The appearance of tooth enamel in children ingesting water with a high fluoride content for a limited period during early tooth development. *J Dent Res* 1986; 65(7):974-7.
51. Den Besten PK, Crenshaw MA, Wilson MH. Changes in the fluoride-induced modulation of maturation-stage ameloblasts in rats. *J Dent Res* 1985; 64(12):1365-70.
52. Thylstrup A, Fejerskov O. A scanning electron microscopic and microradiographic study of pits in fluorosed human enamel. *Scand J Dent Res* 1979; 87(2):105-14.
53. Fejerskov O, Richards A, DenBesten P. The effect of fluoride on tooth mineralization. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. Fluoride in dentistry. 2 nd Ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996; 112-52.
54. Yanagisawa T, Takuma S, Tohda H, Fejerskov O, Fearnhead RW. High resolution electron microscopy of enamel crystals in caries of human dental fluorosis. *J Electron Microsc* 1989; 38(6):441-8.
55. Richards A, Fejerskov O, Baelum V. Enamel fluoride in relation to severity of human dental fluorosis. *Adv Dent Res* 1989; 3(2):147-53.
56. Aoba T, Fejerskov O. Dental fluorosis: chemistry and biology. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2):155-70.
57. Waidyasekera PGK, Nikaido T, Weerasinghe DDS, Wettasinghe KA, Tagami J. Caries susceptibility of human fluorosed enamel and dentine. *J Dent* 2007; 35(4):343-9.

58. Milan AM, Waddington RJ, Embery G. Altered phosphorylation of rat dentine phosphoproteins by fluoride in vivo. *Calcif Tissue Int* 1999; 64(3):234-8.
59. Kumar J, Swango P, Haley V, Gren E. Intra-oral distribution of dental fluorosis in Newburgh and Kingston, New York. *J Dent Res* 2000; 79(7):1508-13.
60. Elliott CG, Smith MD. Dietary fluoride related to the fluoride content of teeth. *J Dent Res* 1960; 39(1):93-8.
61. Singer L, Armstrong WD. Relation between the fluoride contents of rat calcified tissues. *J Dent Res* 1969; 48(5):947-50.
62. Ten Cate AR. Oral Histology Development, Structure and Function. 4th edition, St. Louis: Mosby Year Book, 1994;169-217.
63. Ericsson Y, Angmar-Mansson B. Fluoride concentrations in rat and human pulps and their possible interference with phosphatase activities. *J Dent Res* 1983; 62(12):1196-1200.
64. Vieira APGF, Hancock R, Dumitriu M, Limeback H, Grynpas MD. Fluoride's effect on human dentin ultrasound velocity (elastic modulus) and tubule size. *Eur J Oral Sci* 2006; 114(1):83-8.
65. Waddington RJ, Moseley R, Smith AJ, Sloan AJ, Embery G. Fluoride-induced changes to proteoglycan structure synthesized within the dentine-pulp complex in vitro. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1689(2):142-51.
66. Haldi J, Law ML, John K. Comparative concentration of various constituents of blood plasma and dental-pulp fluid. *J Dent Res* 1965; 44(2):427-30.
67. Yoon SH, Brudevold F, Smith FA, Gardner DE. Fluoride, calcium, phosphate, ash, and water content of human dental pulps. *J Dent Res* 1965; 44(4):696-700.
68. Nakade O, Koyama H, Arai J, Aiji H, Takada J, Kaku T. Stimulation by low concentrations of fluoride of the proliferation and alkaline phosphatase activity of human dental pulp cells in vitro. *Arch Oral Biol* 1999; 44(1):89-92.
69. Iscan MY. The emergence of dental anthropology. *Am J Phys Anthropol* 1989; 78(1):1.
70. Yuen KKW, So LLY, Tang ELK. Mesiodistal crown diameters of the primary and permanent teeth in Southern Chinese – a longitudinal study. *Eur J Orthod* 1997; 19(6):721-31.
71. Hanihara T, Ishida H. Metric dental variation of major human populations. *Am J Phys Anthropol* 2005; 128(2):287-98.
72. Irish JD. Characteristic high-and low-frequency dental traits in sub-Saharan African populations. *Am J Phys Anthropol* 1997; 102(4):455-67.
73. Garn SM, Lewis AB, Kerewsky RS. Genetic, nutritional, and motivational correlates of dental development. *J Dent Res* 1965; 44(Suppl):228-42.
74. Zilberman U, Patricia S, Kupietzky A, Mass E. The effect of hereditary disorders on tooth components: a radiographic morphometric study of two syndromes. *Arch Oral Biol* 2004; 49(8):621-9.
75. Bell E, Townsend G, Wilson D, Kieser J, Hughes T. Effect of down syndrome on the dimensions of dental crowns and tissues. *Am J Hum Biol* 2001; 13(5):690-8.
76. Harila V, Heikkinen T, Alvesalo L. Deciduous tooth crown size in prematurely born children. *Early Hum Dev* 2003; 75(1-2):9-20.
77. Moorrees CFA, Thomsen SØ, Jensen E, Yen PKJ. Mesiodistal crown diameters of the deciduous and permanent teeth in individuals. *J Dent Res* 1957; 36(1):39-47.
78. Kruger BJ. Interaction of fluoride and molybdenum on dental morphology in the rat. *J Dent Res* 1966; 45(3):714-25.

79. Lovius BBJ, Goose DH. The effect of fluoridation of water on tooth morphology. *Br Dent J* 1969; 127(7):322-4.
80. Goose DH, Roberts EE. Possible influence of fluoridation on tooth crown size. *J Dent Res* 1979; 58(6):1562-3.
81. Castillo MR, Bibby BG. Trace elements effects on enamel pigmentation, incisor growth and molar morphology in rats. *Arch Oral Biol* 1973; 18(5):629-35.
82. Grahnen H, Lysell L, Myrberg N, Ollinen P. Fluoride, mineralization defects of the enamel, and tooth width. *Acta Paediatr Scand* 1974; 63(2):188-92.
83. Şahin Sağlam AM, Özbaran HM, Sağlam AA. A comparison of mesio-distal crown dimensions of the permanent teeth in subjects with and without fluorosis. *Eur J Orthod* 2004; 26(3):279-81.
84. Omar R. Comparison of the crown size of teeth in children from a high and an optimum fluoride area in South Africa. *Community Dent Oral Epidemiol* 1987; 15(6):329-31.
85. Hanihara T, Ishida H. Metric dental variation of major human populations. *Am J Phys Anthropol* 2005; 128(2):287-98.
86. Bermudez de Castro JM, Martinon-Torres M, Carbonell E, Sarmiento S, Rosas A, Van der Made J, Lozano M. The Atapuerca sites and their contribution to the knowledge of human evolution in Europe. *Evol Anthropol* 2004; 13:25-41.
87. Irish JD. Characteristic high-and low-frequency dental traits in sub-Saharan African populations. *Am J Phys Anthropol* 1997; 102(4):455-67.
88. Irish JD. Ancestral dental traits in recent sub-Saharan Africans and the origins of modern humans. *J Hum Evol* 1998; 34(1):81-98.
89. Irish JD, Guatelli-Steinberg D. Ancient teeth and modern human origins: an expanded comparison of African Plio-Pleistocene and recent world dental samples. *J Hum Evol* 2003; 45(2):113-44.
90. Tyrrell AJ, Chamberlain H. Non-metric trait evidence for modern human affinities and the distinctiveness of Neanderthals. *J Hum Evol* 1998; 34(5):549-54.
91. Hunter WS, Priest WR. Errors and discrepancies in measurement of tooth size. *J Dent Res* 1960; 39(2):405-14.
92. Fattahi HR, Pakshir HR, Hedayati Z. Comparison of tooth size discrepancies among different malocclusion groups. *Eur J Orthodont* 2006; 28(5):491-5.
93. Akyalçın S, Doğan S, Dinçer B, Ertan Erdiñç AM, Öncağ G. Bolton tooth size discrepancies in skeletal class I individuals presenting with different dental angle classifications. *Angle Orthod* 2006; 76(4):637-43.
94. Zlatarić DK, Krinsek E, Celebić A. Analysis of width/length ratios of normal clinical crowns of the maxillary anterior dentition: correlation between dental proportions and facial measurements. *Int J Prosthodont* 2007; 20(3):313-5.
95. Zilberman O, Huggare JAV, Parikakis KA. Evaluation of the validity of tooth size and arch width measurements using conventional and three dimensional virtual orthodontic models. *Angle Orthod* 2003; 73(3):301-6.
96. Santoro M, Galkin S, Teredesai M, Nicolay OF, Cangialosi TJ. Comparison of measurements made on digital and plaster models. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003; 124(1):101-5.
97. Al-Dashti AA, Cook Pa, Curzon ME. A comparative study on methods of measuring mesiodistal tooth diameters for interceptive orthodontic space analysis. *Eur J Paediatr Dent* 2005; 6(2):97-104.
98. Stevens DR, Flores-Mir C, Nebbe B, Raboud DW, Heo G, Major PW. Validity, reliability, and reproducibility of plaster vs digital study models: comparison of

- peer assessment rating and Bolton analysis and their constituent measurements. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006; 129(6):794-803.
99. Tomassetti JJ, Taloumis LJ, Denny JM, Fischer JR, Jr. A comparison of 3 computerized Bolton tooth-size analyses with a commonly used method. *Angle Orthod* 2001; 71(5):351-7.
 100. Roberts N, Puddephat MJ, McNulty V. The benefit of stereology for quantitative radiology. *Br J Radiol* 2000; 73(871):679-97.
 101. Canan S, Şahin B, Odacı E, Ünal B, Aslan H, Bilgiç S, Kaplan S. Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: cavalieri prensibi. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002; 22(S):7-14.
 102. Saper CB. Any way you cut it: a new journal policy for the use of unbiased counting methods. *J Comp Neurol* 1996; 364(1):5.
 103. Saper CB. Counting on our reviewers to set the standarts. *J Comp Neurol* 1997; 386(1):1.
 104. Canan S, Bahadır A, Yıldırım Ş, Odacı E, Şahin B, Baş O, Çolakoğlu S, Bilgiç S, Kaplan S. Stereolojik uygulamalarda kullanılan pratik gereçler ve bilgisayar destekli stereolojik analiz cihazları. *T Klin Tıp Bilimleri* 2004, 24:672-80.
 105. Jontell M, Okiji T, Dahlgren U, Bergenholtz G. Immune defense mechanisms of the dental pulp. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9(2):179-200.
 106. Trowbridge HO, Kim S. Pulp development, structure and function. Chapter 11 In: Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. Sixth edition, St Louis, Mosby Inc; 2002; 296-336.
 107. Hargreaves KM, Goodis HE. Seltzer and Bender's Dental Pulp. China: Quintessence Publishing Co, Inc; 2002; 63-93.
 108. Byers MR. Dynamic plasticity of dental sensory nerve structure and cytochemistry. *Arch Oral Biol* 1994; 39 Suppl:13S-21S.
 109. Sogaard-Pedersen B, Boye H, Matthiessen ME. Scanning electron microscope observations on collagen fibers in human dentin and pulp. *Scand J Dent Res* 1990; 98(2):89-95.
 110. Takagi M, Hishikawa H, Hosokawa Y, Kagami A, Rahemtulla F. Immunohistochemical localization of glycosaminoglycans and proteoglycans in predentin and dentin of rat incisors. *J Histochem Cytochem* 1990; 38(3):319-24.
 111. Yoshida N, Yoshida K, Iwaku M, Nakamura H, Ozawa H. A confocal laser scanning microscopic study of the immunofluorescent localization of fibronectin in the odontoblast layer of human teeth. *Arch Oral Biol* 1994; 39(5):395-400.
 112. Fox AG, Heeley JD. Histological study of human primary teeth. *Arch Oral Biol* 1980; 25(2):103.
 113. Butler WT, Ritchie H. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. *Int J Dev Biol* 1995;39(1):169-79.
 114. Murray PE, About I, Lumley PJ, Franquin JC, Windsor LJ, Smith AJ. Odontoblast morphology and dental repair. *J Dent* 2003; 31(1):75-82.
 115. Takuma S, Nagai N. Ultrastructure of rat odontoblasts in various stages of their development and maturation. *Arch Oral Biol* 1971; 16(9):993-1011.
 116. Couve E. Ultrastructural changes during the life cycle of human odontoblasts. *Arch Oral Biol* 1986; 31(10):643-51.
 117. Weinstock M, Leblond CP. Synthesis, migration and release of precursor collagen by odontoblasts as visualized by autoradiography after ³H-proline administration. *J Cell Biol* 1974; 60(1):92-127.

118. Garant PR. The organization of microtubules within rat odontoblast processes revealed by perfusion fixation with glutaraldehyde. *Arch Oral Biol* 1972; 17(7):1047-58.
119. Holland GR. The dentinal tubule and odontoblast process in the cat. *J Anat* 1975; 120(Pt 1):169-77.
120. Holland GR. The extent of the odontoblast process in the cat. *J Anat* 1976; 121(Pt 1):133-49.
121. Frank RM, Steuer P. Transmission electron microscopy of the human odontoblast process in peripheral root dentine. *Arch Oral Biol* 1988; 33(2):91-8.
122. Thomas HF, Carella P. Correlation of scanning and transmission electron microscopy of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1984; 29(8):641-6.
123. Thomas HF. The lamina limitans of human dentinal tubules. *J Dent Res* 1984; 63(8):1064-6.
124. 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(7):798-802.
125. Sigal MJ, Pitaru S, Aubin JE, Ten Cate AR. A combined scanning electron microscopy and immunofluorescence study demonstrating that the odontoblast process extends to the dentinoenamel junction in human teeth. *Anat Rec* 1984; 210(3):453-62.
126. Sigal MJ, Aubin JE, Ten Cate AR. An immunocytochemical study of the human odontoblast process using antibodies against tubulin, actin, and vimentin. *J Dent Res* 1985; 64(12):1348-55.
127. Sigal MJ, Aubin JE, Ten Cate AR, Pitaru S. The odontoblast process extends to the dentinoenamel junction: an immunocytochemical study of rat dentine. *J Histochem Cytochem* 1984; 32(8):872-7.
128. Weber DF, Zaki AE. Scanning and transmission electron microscopy of tubular structures presumed to be human odontoblast processes. *J Dent Res* 1986; 65(7):982-6.
129. Yoshida K, Yoshida N, Ejiri S, Iwaku M, Ozawa H. Odontoblast processes in human dentin revealed by fluorescence labeling and transmission electron microscopy. *Histochem Cell Biol* 2002; 118(3):205-12.
130. Byers MR, Sugaya A. Odontoblast processes in dentin revealed by fluorescent Di-I. *J Histochem Cytochem* 1995; 43(2):159-68.
131. Sasaki T, Nakagawa K, Higashi S. Ultrastructure of odontoblasts in kitten tooth germs as revealed by freeze-fracture. *Arch Oral Biol* 1982; 27(10):897-904.
132. Calle A. Intercellular junctions between human odontoblasts: a freeze-fracture study after demineralization. *Acta Anat* 1985; 122(3):138-44.
133. Bishop MA. Evidence for tight junctions between odontoblasts in the rat incisor. *Cell Tissue Res* 1985; 239(1):137-40.
134. Turner DF, Marfurt CF, Sattelberg C. Demonstration of physiological barrier between pulpal odontoblasts and its perturbation following routine restorative procedures: a horseradish peroxidase tracing study in the rat. *J Dent Res* 1989; 68(8):1262-8.
135. Bishop MA, Yoshida S. A permeability barrier to lanthanum and the presence of collagen between odontoblasts in pig molars. *J Anat* 1992; 181(Pt 1):29-38.
136. Arana-Chavez VE, Massa LF. Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36(8):1367-73.
137. Tziafas D. Basic mechanisms of cytodifferentiation and dentinogenesis during dental pulp repair. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1):281-90.

138. Panagakos FS, O'Boskey JF Jr, Rodriguez E. Regulation of pulp cell matrix metalloproteinase production by cytokines and lipopolysaccharides. *J Endod* 1996; 22(7):358-61.
139. Sawa Y, Horie Y, Yamaoka Y, Ebata N, Kim T, Yoshida S. Production of colony-stimulating factor in human dental pulp fibroblasts. *J Dent Res* 2003; 82(2):96-100.
140. Gruber R, Kandler B, Jindra C, Watzak G, Watzek G. Dental pulp fibroblasts contain target cells for lysophosphatidic acid. *J Dent Res* 2004; 83(6):491-5.
141. Jontell M, Gunraj MN, Bergenholtz G. Immunocompetent cells in the normal pulp. *J Dent Res* 1987; 66(6):1149-53.
142. Angelova A, Takagi Y, Okiji T, Kaneko T, Yamashita Y. Immunocompetent cells in the pulp of human deciduous teeth. *Arch Oral Biol* 2004; 49(1):29-36.
143. Şimşek Ş, Durutürk L. A flow cytometric analysis of the biodefensive response of deciduous tooth pulp to carious stimuli during physiological root resorption. *Arch Oral Biol* 2005; 50(5):461-8.
144. Okiji T, Kawashima N, Kosaka T, Matsumoto A, Kobayashi C, Suda H. An immunohistochemical study of the distribution of immunocompetent cells, especially macrophages and Ia antigen-expressing cells of heterogeneous populations, in normal rat molar pulp. *J Dent Res* 1992; 71(5):1196-202.
145. Okiji T, Kosaka T, Kamal AMM, Kawashima N, Suda H. Age-related changes in the immunoreactivity of the monocyte/macrophage system in rat molar pulp. *Arch Oral Biol* 1996; 41(5):453-68.
146. Okiji T, Jontell M, Belichenko P, Bergenholtz G, Dahlström A. Perivascular dendritic cells of the human dental pulp. *Acta Physiol Scand* 1997; 159(2):163-9.
147. Hart DN. Dendritic cells: Unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood* 1997; 90(9):3245-87.
148. Jontell M, Bergenholtz G, Scheynius A, Ambrose W. Dendritic cells and macrophages expressing class II antigens in the normal rat incisor pulp. *J Dent Res* 1988; 67(10):1263-6.
149. Jontell M, Eklöf C, Dahlgren U, Bergenholtz G. Difference in capacity between macrophages and dendritic cells from rat incisor pulp to provide signals to concanavalin-A-stimulated T-lymphocytes. *J Dent Res* 1994; 73(5):1056-60.
150. Raslan N, Wetzell WE. Exposed human pulp caused by trauma and/or caries in primary dentition: a histological evaluation. *Dent Traumatol* 2006; 22(3):145-53.
151. Freitas P, Novaretti CP, Rodini CO, Batista AC, Lara VS. Mast cells and lymphocyte subsets in pulps from healthy and carious human teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103(5):95-102.
152. Walsh LJ. Mast cells and oral inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14(3):188-98.
153. Bristo ALF, Rahal V, Mestreneur SR, Junior ED. Biological response of pulps submitted to different capping materials. *Braz Oral Res* 2006; 20(3):219-25.
154. Aranha AMF, Giro EMA, Souza PPC, Hebling J, Costa CAS. Effect of curing regime on the cytotoxicity of resin-modified glass-ionomer lining cements applied to an odontoblast-cell line. *Dent Material* 2006; 22(9):864-9.
155. Caicedo R, Abbott PV, Alongi DJ, Alarcon MY. Clinical, radiographic and histological analysis of the effects of mineral trioxide aggregate used in direct pulp capping and pulpotomies of primary teeth. *Aust Dent J* 2006; 51(4):297-305.

156. Murray PE, About I, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. Restorative pulpal and repair responses. *J Am Dent Assoc* 2001; 132(4):482-91.
157. Suzuki T, Nomura S, Maeda T, Ohshima H. An immunocytochemical study of pulpal responses to cavity preparation by laser ablation in rat molars by using antibodies to heat shock protein (Hsp) 25 and class II MHC antigen. *Cell Tissue Res* 2004; 315(3):311-9.
158. Ohshima H, Ohshima KN, Takeuchi K, Hoshino M, Takano Y, Maeda T. Pulpal regeneration after cavity preparation, with special reference to close spatio-relationships between odontoblasts and immunocompetent cells. *Microsc Res Tech* 2003; 60(5):483-90.
159. Accorinte MLR, Loguercio AD, Reis A, Muench A, Araújo VC. Adverse effects of human pulps after direct pulp capping with the different components from a total-etch, three-step adhesive system. *Dent Mater* 2005; 21(7):599-607.
160. Murray PE, Kitasako Y, Tagami J, Windsor LJ, Smith AJ. Hierarchy of variables correlated to odontoblast-like cell numbers following pulp capping. *J Dent* 2002; 30(7-8):297-304.
161. Keklikoğlu N, Asci SK. Histological evaluation of a replanted tooth retained for 49 years. *Dent Traumatol* 2006; 22(3):157-9.
162. Myers CL, Stanley HR, Heyde JB. Response of the primate dental pulp to a concentrated stannous fluoride solution. *J Dent Res* 1971; 50(2): 517.
163. Brännström M, Nyborg H. Pulp reaction to fluoride solution applied to deep cavities: an experimental histological study. *J Dent Res* 1971; 50(6):1548-52.
164. Ünal B, Aslan H, Canan S, Şahin B, Kaplan S. Biyolojik ortamlardaki objelerin sayımı yapılırken kullanılan eski (tarafalı) metodların önemli hata kaynakları ve çözüm önerileri. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002; 22(S):1-6.
165. Howell K, Hopkins N, Mcloughlin P. Combined confocal microscopy and stereology: a highly efficient and unbiased approach to quantitative structural measurement in tissues. *Exp Physiol* 2002; 87(6):747-56.
166. Sterio DC. The unbiased estimation of number and size of arbitrary particles using the disector. *J Microsc* 1984; 134(Pt 2):127-36.
167. West MJ. New stereological methods for counting neurons. *Neurobiol Aging* 1993; 14(4):275-85.
168. West MJ, Slomianka L, Gundersen HJG. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 1991; 231(4):482-97.
169. Hopwood D. Fixation and fixatives. In: Bancroft JD, Stevens A (ed.) *Theory and Practice of Histological Techniques*. 1st Published, Churchill Livingstone, Pearson Professional Ltd, 1996; 23-47.
170. Gundersen HJ. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc* 1986; 143(Pt 1):3-45.
171. Mayhew TM, Gundersen HJG. If you assume, you can make an ass out of you and me: a decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *J Anat* 1996; 188(Pt 1):1-15.
172. Schou S, Holmstrup P, Jørgensen T, Skovgaard LT, Stolze K, Hjorting-Hansen E, Wenzel A. Anorganic porous bovine-derived bone mineral (Bio-Oss®) and EPTFE membrane in the treatment of peri-implantitis in cynomolgus monkeys. *Clin Oral Impl Res* 2003; 14(5):535-47.
173. Stefflik DE, Corpe RS, Lake FT, Young TR, Sisk AL, Parr GR, Hanes PJ, Berkery DJ. Ultrastructural analyses of the attachment (bonding) zone between bone and implanted biomaterials. *J Biomed Mater Res* 1998; 39(4):611-20.

174. Kingsmill VJ, Boyde A. Mineralisation density of human mandibular bone: quantitative backscattered electron image analysis. *J Anat* 1998; 192(Pt 2):245-56.
175. Mackert JR, Williams AL. Microcracks in dental porcelain and their behavior during multiple firing. *J Dent Res* 1996; 75(7):1484-90.
176. Mackert JR, Twiggs SW, Russell CM, Williams AL. Evidence of a critical leucite particle size for microcracking in dental porcelains. *J Dent Res* 2001; 80(6):1574-9.
177. Santamaria M, Milagres D, Stuani AS, Stuani MBS, Ruellas ACO. Initial changes in pulpal microvasculature during orthodontic tooth movement: a stereological study. *Eur J Orthod* 2006; 28(3):217-20.
178. Ulusu T, Ölmez S, Köse MR, Üstündağ M, Aycan E. T.C. Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü Türkiye'nin Su Fluor Haritası. Ankara: Bakanlık Basımevi, 2003.
179. Eronat C, Eronat N, Aktuğ M. Histological investigation of physiologically resorbing primary teeth using Ag-NOR staining method. *Int J Paediatr Dent* 2002; 12(3):207-14.
180. Bolan M, Rocha MJ. Histopathological study of physiological and pathological resorptions in human primary teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104(5):680-5.
181. Sahara N, Okafuji N, Toyoki A, Suzuki I, Deguchi T, Suzuki K. Odontoclastic resorption at the pulpal surface of coronal dentin prior to the shedding of human deciduous teeth. *Arch Histol Cytol* 1992; 55(3):273-85.
182. Chandler NP, Pitt Ford TR, Monteith BD. Coronal pulp size in molars: a study of bitewing radiographs. *Int Endod J* 2003; 36(11):757-63.
183. Ünal B, Canan S, Aslan H, Şahin B, Çataloluk O, Kaplan S. Doku örneklerindeki objelerin sayılarının hesaplanmasında tarafsız stereolojik metodlar: fiziksel disektör. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002; 22(S):15-24.
184. Murray PE, Smith AJ, Windsor LJ, Mjör IA. Remaining dentine thickness and human pulp responses. *Int Endod J* 2003; 36(1):33-43.
185. Janson G, Maria FR, Barros SE, Freitas MR, Henriques JF. Orthodontic treatment time in 2- and 4-premolar-extraction protocols. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006; 129 (5):666-71.
186. Janson G, Busato MC, Henriques JF, de Freitas MR, de Freitas LM. Alignment stability in Class II malocclusion treated with 2- and 4-premolar extraction protocols. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2006; 130(2):189-95.
187. Janson G, Carvalho PE, Cañado RH, de Freitas MR, Henriques JF. Cephalometric evaluation of symmetric and asymmetric extraction treatment for patients with Class II subdivision malocclusions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 132(1):28-35.
188. Vieira APGF, Hancock R, Limeback H, Grynypas MD. How does fluoride concentration in the tooth affect crystal size? *J Dent Res* 2003; 82(11):909-13.
189. Sano H, Nakashima S, Songpaisan Y, Phantumvanit P. Effect of a xylitol and fluoride containing toothpaste on the remineralization of human enamel in vitro. *J Oral Sci* 2007; 49(1):67-73.
190. Arnold WH, Forer S, Heesen J, Yudovich K, Steinberg D, Gaengler P. The in vitro effect of fluoridated milk in a bacterial biofilm enamel model. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2006; 150(1): 63-9.
191. Holler BE, Friedl KH, Jung H, Hiller KA, Schmalz G. Fluoride uptake and distribution in enamel and dentin after application of different fluoride solutions. *Clin Oral Investig* 2002; 6(3):137-44.

192. Zaura-Arite E, Exterkate RAM, Ten Cate JM. Effect of high fluoride concentration on bovine dentin demineralization in narrow grooves in vitro. *Eur J Oral Sci* 1999; 107(6):455-60.
193. Costa CC, Almeida ICS, Costa Filho LC. Erosive effect of an antihistamine-containing syrup on primary enamel and its reduction by fluoride dentifrice. *Int J Paediatr Dent* 2006; 16(3):174-80.
194. Itota T, Torii Y, Nakabo S, Tashiro Y, Konishi N, Nagamine M, Yoshiyama M. Effect of fluoride-releasing adhesive system on decalcified dentin. *J Oral Rehabil* 2003; 30(2):178-83.
195. Gerlach RF, Souza AP, Cury JA, Line SRP. Fluoride effect on the activity of enamel matrix proteinases in vitro. *Eur J Oral Sci* 2000; 108(1):48-53.
196. Zaura-Arite E, Ten Cate JM. Effects of fluoride and chlorhexidine-containing varnishes on plaque composition and on demineralization of dentinal grooves in situ. *Eur J Oral Sci* 2000; 108(2):154-61.
197. Maia LC, de Souza IPR, Cury JA. Effect of a combination of fluoride dentifrice and varnish on enamel surface rehardening and fluoride uptake in vitro. *Eur J Oral Sci* 2003; 111(1):68-72.
198. Robinson C, Yamamoto K, Connell SD, Kirkham J, Nakagaki H, Smith AD. The effects of fluoride on the nanostructure and surface pK of enamel crystals. An atomic force microscopy study of human and rat enamel. *Eur J Oral Sci* 2006; 114(Suppl 1):99-104.
199. Exterkate RAM, Ten Cate JM. Effects of a new titanium fluoride derivative on enamel de and remineralization. *Eur J Oral Sci* 2007; 115(2):143-7.
200. Demito CF, Vivaldi-Rodrigues G, Ramos AL, Bowman SJ. The efficacy of a fluoride varnish in reducing enamel demineralization adjacent to orthodontic brackets: an in vitro study. *Orthod Craniofacial Res* 2004; 7(4):205-10.
201. Attin T, Lennon AM, Yakin M, Becker K, Buchalla W, Attin R, Wiegand A. Deposition of fluoride on enamel surfaces released from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site. *Clin Oral Invest* 2007; 11(11):83-8.
202. Arnold WH, Dorow A, Langenhorst S, Gintner Z, Bánóczy J, Gaengler P. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. *BMC Oral Health* 2006; 15:6:8.
203. Milan AM, Waddington RJ, Smith PM, Embery G. Odontoblast transport of sulphate-the in vitro influence of fluoride. *Arch Oral Biol* 2003; 48(5):377-87.
204. Maurice CG, Schour I. Effects of sodium fluoride upon the pulp of the rat molar. *J Dent Res* 1956; 35(1):69-82.
205. Ten Cate AR. Oral Histology Development, Structure and Function. 4th edition, St. Louis: Mosby Year Book, 1994; 169-217.
206. Hirvonen TJ, Närhi MV. The effect of dentinal stimulation on pulp nerve function and pulp morphology in the dog. *J Dent Res* 1986; 65(11):1290-3.
207. Magloire H, Romeas A, Melin M, Couble ML, Bleicher F, Farges JC. Molecular regulation of odontoblast activity under dentin injury. *Adv Dent Res* 2001; 15(1):46-50.
208. Kahn FH, Rosenberg PA, Schertzer L, Korthals G, Nguyen PN. An in vitro evaluation of sealer placement methods. *Int Endod J* 1997; 30(3):102-14.
209. Sazak S, Günday M, Alatli C. Effects of calcium hydroxide and combinations of ledermix and calcium hydroxide on inflamed pulp in dogs teeth. *J Endod* 1996; 22(9):447-9.
210. Kirk EEJ, Meyer MJ. Morphology of the mineralizing front and observations of reparative dentine following induction and inhibition of dentinogenesis in the rat incisor. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8(5):195-201.

211. Klinge RF. Further observations on tertiary dentin in human deciduous teeth. *Adv Dent Res* 2001; 15(1):76-9.
212. Sahara N, Ozawa H. Cementum-like tissue deposition on the resorbed enamel surface of human deciduous teeth prior to shedding. *Anat Rec Part A* 2004; 279(2):779-91.
213. Bjørndal L, Darvann T, Bro-Nielsen M, Larsen R, Thylstrup A. Automated image analysis applied to the odontoblast-predentine region in undemineralized sections of human permanent third molars. *Arch Oral Biol* 1997; 42(4):329-32.
214. Murray PE, Stanley HR, Matthews JB, Sloan AJ, Smith AJ. Age-related odontometric changes of human teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93(4):474-82.
215. Oshiro T, Shibasaki Y, Martin TJ, Sasaki T. Immunolocalization of vacuolar type H⁺-ATPase, cathepsin K, matrix metalloproteinase-9, and receptor activator of NFκB ligand in odontoclasts during physiological root resorption of human deciduous teeth. *Anat Rec* 2001; 264(3):305-11.
216. Sasaki T. Differentiation and functions of osteoclasts and odontoclasts in mineralized tissue resorption. *Microsc Res Tech* 2003; 61(6):483-95.
217. Hajishengallis EH. Physiologic root resorption in primary teeth: molecular and histological events. *J Oral Sci* 2007; 49(1):1-12.
218. Sahara N, Toyoki A, Ashizawa Y, Deguchi T, Suzuki K. Cytodifferentiation of the odontoclasts prior to the shedding of human deciduous teeth: an ultrastructural and cytochemical study. *Anat Rec* 1996; 244(1):33-49.
219. Kimura R, Anan H, Matsumoto A, Noda D, Maeda K. Dental root resorption and repair: histology and histometry during physiological drift of rat molars. *J Periodontal Res* 2003; 38(5):525-32.
220. Domon T, Osanai M, Yasuda M, Seki M, Takahashi S, Yamamoto T, Wakita M. Mononuclear odontoclast participation in tooth resorption: the distribution of nuclei in human odontoclasts. *Anat Rec* 1997; 249(4):449-57.
221. Domon T, Yasuda M, Osanai M, Suzuki R, Takahashi S, Yamamoto T, Wakita M. Increase in odontoclast nuclei number by cell fusion: a three-dimensional reconstruction of cell fusion of human odontoclasts. *Anat Rec* 1998; 252(3):462-71.
222. Sahara N, Okafuji N, Toyoki A, Ashizawa Y, Yagasaki H, Deguchi T, Suzuki K. A histological study of the exfoliation of human deciduous teeth. *J Dent Res* 1993; 72(3):634-40.
223. Watanabe J, Amizuka N, Noda T, Ozawa H. Cytochemical and ultrastructural examination of apoptotic odontoclasts induced by bisphosphonate administration. *Cell Tissue Res* 2000; 301(3):375-87.
224. Foo M, Jones A, Darendeliler MA. Physical properties of root cementum: Part 9. Effect of systemic fluoride intake on root resorption in rats. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 131(1):34-43.
225. Chen HS, Huang ST, Chen HR. Dose response effects of fluoride on resorption of deciduous teeth in young rabbits. *Bull Environ Contam Toxicol* 1995; 55(5):709-15.
226. Lindskog S, Flores ME, Lilja E, Hammarström L. Effect of a high dose of fluoride on resorbing osteoclasts in vivo. *Scand J Dent Res* 1989; 97(6):483-7.
227. Tamer MN, Köroğlu BK, Arslan Ç, Akdoğan M, Köroğlu M, Çam H, Yıldız M. Osteosclerosis due to endemic fluorosis. *Sci Total Environ* 2007; 373(1):43-8.

228. Waddington RJ, Langley MS. Altered expression of matrix metalloproteinases within mineralizing bone cells in vitro in the presence of fluoride. *Connect Tissue Res* 2003; 44(2):88–95.
229. Matsuo S, Nakagawa H, Kiyomiya K, Kurebe M. Fluoride-induced ultrastructural changes in exocrine pancreas cells of rats: fluoride disrupts the export of zymogens from the rough endoplasmic reticulum (rER). *Arch Toxicol* 2000; 73(12):611-7.
230. Akdoğan M, Bülgülü A, Kaya S, Yarsan E, Üstüner E. Total testosterone, cortisol, growth hormone and fluorine levels in fluorine intoxicated rabbits. *Turk J Vet Anim Sci* 2001; 25(4):489-94.
231. Steiner DM, Steiner GG. Fluoride as an essential element prevention of disease. *Med Hypotheses* 2004; 62(5):710-7.
232. Ng AHM, Hercz G, Kandel R, Grynpasa MD. Association between fluoride, magnesium, aluminum and bone quality in renal osteodystrophy. *Bone* 2004; 34(1):216-24.
233. Palmer C, Wolfe SH. Position of the American dietetic association: the impact of fluoride on health. *J Am Diet Assoc* 2005; 105(10):1620–8.
234. Bélanger LF, Visek WJ, Lotz WE, Comar CL. The effects of fluoride ingestion on the organic matrix of the teeth of growing pigs. *J Dent Res* 1958; 37(2):264-75.
235. Warren JJ, Levy SM, Kanellis MJ. Prevalence of dental fluorosis in the primary dentition. *J Public Health Dent* 2001; 61(2):87-91.
236. Ruan JP, Wang ZL, Yang ZQ, Bårdsen A, Astrøm AN, Bjorvatn K. Dental fluorosis in primary teeth: a study in rural schoolchildren in Shaanxi Province, China. *Int J Paediatr Dent* 2005; 15(6):412-9.
237. Larsen MJ, Kirkegaard E, Poulsen S. Patterns of dental fluorosis in a European country in relation to the fluoride concentration of drinking water. *J Dent Res* 1987; 66(1):10-2.
238. Milsom KM, Woodward M, Haran D, Lennon MA. Enamel defects in the deciduous dentition as a potential predictor of defects in the permanent dentition of 8 and 9-year-old children in fluoridated Cheshire, England. *J Dent Res* 1996; 75(4):1015-18.
239. Kirzioglu Z, Cevikel M. The effect of socio-economic factors and fluoride on the eruption time of permanent first molar teeth. 7th Congress of the Balkan Stomatological Society, Poster Presentation. March 28-30, 2002; Kuşadası/Turkey.
240. Amano M, Agematsu H, Abe S, Usami A, Matsunaga S, Suto K, Ide Y. Three-dimensional analysis of pulp chambers in maxillary second deciduous molars. *J Dent* 2006; 34(7):503-8.
241. Lyroudia K, Mikrogeorgis G, Bakaloudi P, Kechagias E, Nikolaidis N, Pitas I. Virtual endodontics: three-dimensional tooth volume representations and their pulp cavity access. *J Endod* 2002; 28(8):599-602.
242. Deutsch AS, Musikant BL. Morphological measurements of anatomic landmarks in human maxillary and mandibular molar pulp chambers. *J Endod* 2004; 30(6):388-90.
243. Hannig C, Krieger E, Dullin C, Merten HA, Attin T, Grabbe E, Heidrich G. Volumetry of human molars with flat panel-based volume CT in vitro. *Clin Oral Invest* 2006; 10(3):253-7.
244. Oi T, Saka H, Ide Y. Three-dimensional observation of pulp cavities in the maxillary first premolar tooth using micro-CT. *Int Endod J* 2004; 37(1):46-51.
245. Hegedűs C, Flóra-Nagy E, Martos R, Juhász A, Fülöp I, Pomaházi S, Nagy IP, Tóth Z, Márton I, Keszthelyi G. 3D reconstruction based on hard tissue

- microtome cross-section pictures in dentistry. *Comput Methods Programs Biomed* 2000; 63(2):77–84.
246. Rahimi A, Keilig L, Bendels G, Klein R, Buzug TM, Abdelgader I, Abboud M, Bourauel C. 3D reconstruction of dental specimens from 2D histological images and μ CT-Scans. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 2005; 8(3):167-76.
247. Chang KH, Magdum S, Khera SC, Goel VK. An advanced approach for computer modeling and prototyping of the human tooth. *Ann Biomed Eng* 2003; 31(5):621-31.
248. Cameriere R, Ferrante L, Belcastro GM, Bonfiglioli B, Rastelli E, Cingolani M. Age estimation by pulp/tooth ratio in canines by peri-apical x-rays. *J Forensic Sci* 2007; 52(1):166-70.
249. Cameriere R, Brogi G, Ferrante L, Mirtella D, Vultaggio C, Cingolani M, Fornaciari G. Reliability in age determination by pulp/tooth ratio in upper canines in skeletal remains. *J Forensic Sci* 2006; 51(4):861-4.
250. Philippas GG. Influence of occlusal wear and age on formation of dentin and size of pulp chamber. *J Dent Res* 1961; 40(6):1186-98.
251. Yang F, Jacobs R, Willems G. Dental age estimation through volume matching of teeth imaged by cone-beam CT. *Forensic Sci Int* 2006; 159(Suppl 1):S78-83.
252. Drusini AG, Toso O, Ranzato C. The coronal pulp cavity index: a biomarker for age determination in human adults. *Am J Phys Anthropol* 1997; 103(3):353-63.
253. Paewinsky E, Pfeiffer H, Brinkmann B. Quantification of secondary dentine formation from orthopantomograms-a contribution to forensic age estimation methods in adults. *Int J Legal Med* 2005; 119(1):27-30.
254. Amariti ML, Restori M, Ferrari FD, Paganelli C, Faglia R, Legnani G. Age determination by teeth examination: a comparison between different morphologic and quantitative analyses. *J Clin Forensic Med* 1999; 6(2):85-9.
255. Lisi S, Peterková R, Kristenová P, Vonesch JL, Peterka M, Lesot H. Crown morphology and pattern of odontoblast differentiation in lower molars of tabby mice. *J Dent Res* 2001; 80(11):1980-3.
256. Hattab FN, al-Khateeb S, Sultan I. Mesiodistal crown diameters of permanent teeth in Jordanians. *Arch Oral Biol* 1996; 41(7):641-5.
257. Kuswandari S, Nishino M. The mesiodistal crown diameters of primary dentition in Indonesian Javanese children. *Arch Oral Biol* 2004; 49(3):217-22.
258. Garn SM, Lewis AB, Kerewsky RS. Sex difference in tooth size. *J Dent Res* 1964; 43(2):306.
259. Bishara SE, Jakobsen JR, Abdallah EM, Fernandez Garcia A. Comparisons of mesiodistal and buccolingual crown dimensions of the permanent teeth in three populations from Egypt, Mexico, and the United States. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1989; 96(5):416-22.
260. Işcan MY, Kedici PS. Sexual variation in bucco-lingual dimensions in Turkish dentition. *Forensic Sci Int* 2003; 137(2-3):160-4.
261. Karaman F. Use of diagonal teeth measurements in predicting gender in a Turkish population. *J Forensic Sci* 2006; 51(3):630-5.
262. Kondo S, Townsend GC, Yamada H. Sexual dimorphism of cusp dimensions in human maxillary molars. *Am J Phys Anthropol* 2005; 128(4):870-7.
263. Hashim HA, Al-Ghamdi S. Tooth width and arch dimensions in normal and malocclusion samples: an odontometric study. *J Contemp Dent Pract* 2005; 6(2):36-51.

264. Anderson AA. Dentition and occlusion development in African American children: mesiodistal crown diameters and tooth-size ratios of primary teeth. *Pediatr Dent* 2005; 27(2):121-8.
265. Harris EF, Hicks JD, Barcroft BD. Tissue contributions to sex and race: differences in tooth crown size of deciduous molars. *Am J Phys Anthropol* 2001; 115(3):223-37.
266. Buschang PH, Demirjian A, Cadotte L. Permanent mesiodistal tooth size of French-Canadians. *J Can Dent Assoc* 1988; 54(6):441-4.
267. Abu Alhaja ES, Qudeimat MA. Occlusion and tooth/arch dimensions in the primary dentition of preschool Jordanian children. *Int J Paediatr Dent* 2003; 13(4):230-9.
268. Santoro M, Ayoub ME, Pardi VA, Cangialosi TJ. Mesiodistal crown dimensions and tooth size discrepancy of the permanent dentition of Dominican Americans. *Angle Orthod* 2000; 70(4):303-7.
269. Stern SP, Curzon MEJ. Variations in tooth dimension and geographic caries prevalence. *J Dent Res* 1975; 54(4):910.
270. Kabban M, Fearne J, Jovanovski V, Zou L. Tooth size and morphology in twins. *Int J Paediatr Dent* 2001; 11(5):333-9.
271. Peretz B, Nevis N, Smith P. Morphometric analysis of developing crowns of maxillary primary second molars and permanent first molars in humans. *Arch Oral Biol* 1998; 43(7):525-33.
272. Harris EF, Lease LR. Mesiodistal tooth crown dimensions of the primary dentition: a worldwide survey. *Am J Phys Anthropol* 2005; 128(3):593-607.
273. Kruger BJ. Influence of boron, fluorine, and molybdenum on the morphology of the rat molar. *J Dent Res* 1962; 41(1):215.
274. Warren JJ, Kanellis MJ, Levy SM. Fluorosis of the primary dentition: what does it mean for permanent teeth? *J Am Dent Assoc* 1999; 130(3):347-56.
275. Mellberg JR, Nicholson CR, Miller BG, Englander HR. Acquisition of fluoride in vivo by enamel from repeated topical sodium fluoride applications in a fluoridated area: final report. *J Dent Res* 1970; 49(6):1473-7.