



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PRENATAL DÖNEMDEN İTİBAREN FARKLI
KONSANTRASYONLARDA KRONİK OLARAK SİSTEMİK
FLUORİD VERİLEN SIÇANLARIN DİŞ VE BEYİN
DOKULARININ HİSTOLOJİK YÖNTEMLERLE
İNCELENMESİ**

ŞİRİN GÜNER

DOKTORA TEZİ

PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

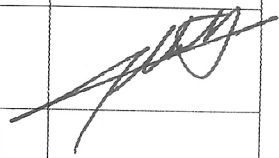

Prof. Dr. Ali MENTEŞ

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Doktora
Anabilim Dalı : Pedodonti
Tez Sahibi : Şirin GÜNER
Tez Başlığı : Prenatal dönemden itibaren farklı konsantrasyonlarda kronik olarak sistemik florid verilen sıçanların diş ve beyin dokularının histolojik yöntemlerle incelenmesi
Sınav Yeri : M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 16.05.2012

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

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Ali MENTEŞ	M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti AD	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof. Dr. İlknur TANBOĞA	M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti AD	
Prof. Dr. Işın ULUKAPI	İ.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti AD	
Prof. Dr. Feriha ERCAN	M.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	
Doç. Dr. Süheyla UYAR BOZKURT	M.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji AD	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 31.../05./2012 tarih ve 15 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-DRP-031210-0275 numaralı proje ile desteklenmiştir.

BEYAN

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

ŞİRİN GÜNER

16.05.2012

TEŞEKKÜRLER

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

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

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

Tez izleme komitemde bulunan İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın **Prof. Dr. Işın ULUKAPI** 'ya,

M.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Emriyoloji Anabilim Dalı'nda çalışmamın histolojik incelemelerinin gerçekleşmesine imkan sağlayan M.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Emriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. Feriha ERCAN**'a,

Histolojik incelemeler sırasında tüm aşamalarda bana yol gösteren değerli **Dr. Dilek Akakın BANGİR**'e ve katkılarından dolayı **Arş. Görv. Esin ÇALIŞKAN Ak**'a, elektron mikroskopi ünitesi çalışanlarından **Yücel ÖZTÜRK**'e ve ışık mikroskopi laboratuvarından **Ünal Devrim**'e,

Tez çalışmam esnasında beyin dokularının değerlendirilmesinde bilimsel ve mesleki tecrübeleriyle bana yol gösteren M.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi **Doç Dr. Süheyla UYAR BOZKURT**'a,

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

M.Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki çalışmalarım esnasında her türlü yardımını esirgemeyen **Vet. Dilek ÖZBEYLİ**'ye, katkılarından dolayı asistan

arkadaşlarım **Sarp KAYA, Fatma VAROL ÇALIŞKAN, Edibe Egil ve Serhat KARACA**'ya,

M.Ü. Dişhekimliği Fakóltesi Ar-Ge laboratuvarındaki çalışmalarım da tüm aşamalarda gösterdiği çok değerli yardımları için **Nurhan YAŐLIOĐLU**'na

Her zaman yanımda olduklarını hissettiğim değerli arkadaşlarım **Ahu DURHAN, Fatma PEKER, Ferhan ERTUĐRAL**, ve tüm asistan arkadaşlarıma ve sevgili **Bahtiően ÜRER**'e,üm hayatım boyunca olduğu gibi, tez çalıőmamda bana koőulsuz destek olan M.Ü. Tıp Fakóltesi Tıbbı Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı asistanlarında biricik kardeőim **Emel GÜNER**'e,

Hayatım boyunca attığım her adımda beni destekleyen, her zaman bana baőarma arzusu ve gücü veren koőulsuz sevgi ve ilgisini esirgemeyen canım annem **Sebahat GÜNER**'e ve babam **Ruően GÜNER**'e

En içten teőekkürlerimi sunuyorum....

İÇİNDEKİLER

BEYAN	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
RESİMLER LİSTESİ.....	xiv
TABLolar LİSTESİ	xvii
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Mine	6
4.1.1. Minenin fiziksel özellikleri	6
4.1.2. Minenin yapısı.....	7
4.1.3. Amelogenezis	8
4.1.4. Amelogenezisin safhaları	9
4.1.4.1. Presekresyon safhası	9
4.1.4.2. Sekresyon safhası	11
4.1.4.3. Maturasyon safhası.....	12
4.1.5. Amelogenezisin ışık mikroskobunda incelenmesi	17
4.1.6. Amelogenezisin elektron mikroskobunda incelenmesi.....	17
4.2. Sıçanlarda Dentisyon	18
4.2.1. Kesici dişler	19
4.2.2. Molar dişler	24
4.3. Flor ve Fluorid.....	24
4.3.1. F elementinin doğada bulunuşu.....	24

4.3.2. Endemik fluorozis bölgeleri	25
4.3.2.1. Dünyadaki endemik F bölgeleri	25
4.3.2.2. Türkiye'deki endemik F bölgeleri	26
4.3.3. F alım kaynakları.....	28
4.3.3.1. İçme suları	28
4.3.3.2. Diğer florid alım kaynakları	28
4.3.4. F metabolizması	31
4.3.4.1. Plazmada F	32
4.3.4.2. F eliminasyonu	33
4.4. F Toksisitesi	34
4.4.1. Akut F toksisitesi.....	34
4.4.2. Kronik F toksisitesi	35
4.5. Sert Dokular Üzerine F Etkisi	36
4.5.1. Dental fluorozis	36
4.5.1.1. Dental fluorozis klinik bulguları	38
4.5.1.2. Dental fluorozis sınıflaması	39
4.5.1.3. Dental fluorozis patogenezi.....	42
4.5.2. İskeletsel fluorozis.....	46
4.6. Yumuşak Dokular Üzerine F'in Etkisi	47
4.6.1. Oksidatif stres ve antioksidan sistem	48
4.6.2. Santral sistem üzerindeki etkileri	49
4.6.3. Gastrointestinal sistem üzerinde etkileri	50
4.6.4. Kardiovasküler sistem üzerinde etkileri.....	50
4.6.5. Hematolojik sistem üzerinde etkileri.....	51
4.6.6. Üreme sistemi üzerine etkileri.....	51
4.6.7. Üriner sistem üzerine etkileri	52

5. GEREÇ VE YÖNTEM	53
5.1. F Solüsyonlarının Hazırlanması	53
5.2. Sıçan Deney Gruplarının Oluşturulması	54
5.3. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmesi.....	56
5.3.1.F solüsyonlarının sıçanlara uygulanması	57
5.4. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu	57
5.5. Deney Hayvanlarından Doku Örneklerinin Alınması	58
5.5.1. Beyin örneklerinin alınması	58
5.5.2. Diş ve çene kemik örneklerinin alınması	58
5.6. Diş Dokularının Stereomikroskop İncelemeleri.....	59
5.6.1. Kesici dişlerde dental fluorozisin değerlendirilmesi	60
5.7. Kesici Diş Dokularının Işık Mikroskobu İncelemeleri.....	62
5.8. Kesici Diş Dokularının Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemeleri	63
5.9. Beyin Dokularının Işık Mikroskobu İncelemeleri	64
5.10. Beyin Dokularının İmmünohistokimyasal Yöntem İle İncelenmesi	65
5.11. İstatistiksel Analiz	66
6. BULGULAR	67
6.1. Sıçanların Ağırlık ve Tükettikleri Günlük Su Miktarlarının Değerlendirilmesi.....	67
6.2. Kesici Dişlerin Değerlendirmesi	70
6.2.1. Stereomikroskop bulguları ve dental fluorozisin değerlendirilmesi.....	70
6.2.2. Taramalı elektron mikroskopi (SEM) bulgularının değerlendirilmesi.....	83
6.2.3. Kesici dişlerin morfolojik değerlendirilmesi ve ışık mikroskopi bulguları.....	86
6.3. Beyin Dokusuna Ait Bulgular	92
6.3.1.Yeni doğan gruplarında beyin dokularında CAT ve SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi.....	92
6.3.2. Beyin dokusunda farklı F dozlarında katalaz (CAT) immünreaktivitesi bulguları.....	93

6.3.3. Beyin dokusunda takip sürelerine göre tüm gruplarda katalaz (CAT) immünreaktivitesi bulguları.....	99
6.3.4. Beyin dokusunda farklı florid dozlarında süperoksit dismutaz (SOD) immünreaktivitesi bulguları	104
6.3.5. Beyin dokusunda takip sürelerine göre tüm gruplarda süperoksit dismutaz (SOD) immünreaktivitesi bulguları	107
6.3.6. Beyin dokularının morfolojik değerlendirmesi	110
6.3.7. Beyin dokularının immünhistokimyasal değerlendirmesi.....	116
7.TARTIŞMA.....	120
8. SONUÇLAR.....	133
KAYNAKLAR.....	137
ÖZGEÇMİŞ.....	151

KISALTMALAR VE SİMGELER

F: Fluorid

Ca: Kalsiyum

ppm: part per million

NaF: Sodyum Fluorid

DF: Dental fluorozis

REF: Rodent Enamel Fluorozis İndeks

MREF: Modifiye Rodent Enamel Fluorozis İndeks

SEM: Scanning Electron Microscope

TISAB II: Total Ionic Strength Adjustment Buffer

H&E: Hematoksilen Eosin

CAT: Katalaz

SOD: Süperoksit Dismutaz

nm: Nanometre

µm: Mikrometre

H&E: Hematoksilen&Eozin

IU: Intra uterin

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Gelişmekte olan insan kesici dişi (sol) ve sürekli süren sıçan kesici dişinin (sağ) şematik karşılaştırılması

Şekil 2: İnsan dişinde ameloblastların hayat döngüleri boyunca oluşan çeşitli fonksiyonel safhalar

Şekil 3: Sıçanın sol hemimandibulasının mesial görünümü

Şekil 4: Sıçan alt kesici dişinin histolojik görüntüleri

Şekil 5: Sıçan kesici dişinde amelogenezin şematik gösterimi

Şekil 6: Az miktarda florid alımından sonra tipik plazma florid konsantrasyon eğrisi

Şekil 7: Florid metabolizmasının genel özellikleri

Şekil 8: Thylstrup-Fejerskov Dental Fluorosis indeksi

Şekil 9: Mine dokusunda fluorozisin önerilen moleküler mekanizması

Şekil 10: Kontrol ve deney gruplarının takip sürelerinin şematik gösterilmesi

Şekil 11: Grupların günlük tükettikleri su miktarları

Şekil 12: Grupların takip sürelerinde ağırlıkların ortalamaları

Şekil 13: : Maksiller dişlerde gözlemci skor değerlendirmeleri

Şekil 14: Mandibular dişlerde gözlemci skor değerlendirmeleri

Şekil 15: Maksillada MREF indeks skorları ortalamaları ve standart sapma değerleri

Şekil 16: Maksiller kesici dişlerin plot değerleri

Şekil 17: Mandibular dişlerin MREF indeks skorları ortalamaları ve standart sapma değerleri

Şekil 18: Mandibular kesici dişlerin plot değerleri

Şekil 19: Takip sürelerine göre MREF indeks skorları

Şekil 20: Takip sürelerine göre maksiller kesici dişlerin plot değerleri

Şekil 21: Mandibulada takip sürelerine göre MREF indeks skorları

Şekil 22: Mandibulada takip sürelerine göre plot değerleri

Şekil 23: Gruplarda ve takip sürelerinde maksilla ve mandibulada MREF indeks skorları ortalamaları, standart sapma değerleri

Şekil 24: 30 ppm F grubu plot değerleri

Şekil 25: 100 ppm F grubu plot değerleri

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Mine çubukları ve mine çubukları arası maddenin SEM görüntüsü

Resim 2: Dental fluorozis görüntüsü

Resim 3: F solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan gereçler

Resim 4: Postnatal 2. gün sıçan görüntüsü

Resim 5a: Laktasyon dönemi

Resim 5b: 1 aylık sıçanlar

Resim 5c: 3 aylık sıçanlar

Resim 5d: 5 aylık sıçanlar

Resim 6: Deney solüsyonlarının sıçanlara uygulanması

Resim 7: Anestezik ajanın intraperitoneal enjeksiyonu

Resim 8a: Beyin dokusu görüntüsü.

Resim 8b: Serebellum, serebrum ve hipokampus bölgelerinden koronal düzlemde çıkarılan dilimler

Resim 9: Sagittal yönde iki parçaya ayrılan kafatası görüntüsü

Resim 10: Kesici dişlerin dijital mikrometre kullanılarak işaretlenmesi

Resim 11: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte normal mine görüntüsü

Resim 12: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı mine görüntüsü

Resim 13: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı görüntünün yanında adacıkların bulunduğu (islet) mine görüntüsü

Resim 14: Örneklerin altın kaplanması ve SEM cihazı

Resim 15: 1. ay kontrol grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

Resim 16: 5. ay kontrol grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

Resim 17: 1. ay 30 ppm F grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

Resim 18: 5. ay 30 ppm F grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

Resim 19: 1. ay 100 ppm F grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

Resim 20: 5. ay 100 ppm F grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

Resim 21: 3. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş

Resim 22: 1. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş.

Resim 23: 1. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş

- Resim 24:** 5. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 25:** 3. ay 30 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 26:** 3. ay 30 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 27:** 3. ay 30 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 28:** 3. ay 30 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 29:** 1. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 30:** 5. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 31:** 3. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 32:** 3. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş
- Resim 33:** 1. ay 100 ppm F grubunda serebellumda az sayıda purkinje hücrelerinde hücre sel şişme x200 büyütme. H&E boyama
- Resim 34:** 5. ay 30 ppm F grubunda, serebellum bölgesinde purkinje hücrelerinde belirgin hücre sel şişme x200 büyütme. H&E boyama
- Resim 35:** 5. ay 30 ppm F grubunda serebrum bölgesinde ise az sayıda nöronda piknoz, nissl maddesinde azalma, hiperkromatik nükleus gibi değişiklikler A- x400 büyütme. H&E boyama, B- x400 büyütme. Krezil viyole boyama
- Resim 36:** 5. ay 100 ppm F grubunda, serebellumda purkinje hücrelerinde iskemik bulgular, hiperkromatik nükleus, nükleolus kaybı. A- x200 büyütme, B- x400 büyütme. H&E boyama
- Resim 37:** 5. ay 100 ppm F grubunda serebrum bölgesindeki nöronlarda piknotik ve hiperkromatik nükleus, nükleolus kaybı, nissl maddesinde azalma gibi hücre sel değişiklikler x400 büyütme. H&E boyama
- Resim 38:** 5. ay 100 ppm F grubunda hipokampuste küçülmüş, büzüşmüş şekli bozulmuş hiperkromatik nükleusa sahip nöronlar x200 büyütme. H&E boyama
- Resim 39:** 1. ay 100 ppm F grubunda serebellumda şiddetli CAT immünreaktivitesi x200
- Resim 40:** 1. ay 100 ppm F grubunda hipokampuste zayıf CAT immünreaktivitesi x400
- Resim 41:** 3. ay 100 ppm F grubu serebellumda şiddetli CAT immünreaktivitesi x200
- Resim 42:** 5. ay 30 ppm F grubunda hipokampuste şiddetli CAT immünreaktivitesi x400
- Resim 43:** 5. ay 30 ppm F grubunda serebrumda şiddetli CAT immünreaktivitesi x400
- Resim 44:** 3. ay 100 ppm F grubunda serebellumda şiddetli SOD immünreaktivitesi x200
- Resim 45:** 1. ay 30 ppm F grubunda hipokampuste şiddetli SOD immünreaktivitesi x400

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Albino sıçanlarda dentisyon gelişim kronolojisi

Tablo 2: Değişik yaşlardaki sıçanların maksiller ve mandibular kesici dişlerinin mine ve dentin kalınlıkları

Tablo 3: Yaygın kullanılan dental ürünlerin florid içerikleri

Tablo 4: Sıçanların bazı yumuşak dokularında doku-plazma florid oranları

Tablo 5: Rodent Enamel Fluorozis indeksine ait fluorozis skorları

Tablo 6: Modifiye Rodent Enamel Fluorozis indeksine göre fluorozis skorları

Tablo 7: Gruplara göre hazırlanan F solüsyonlarının F miktarı (ppm) minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

Tablo 8: Gruplara göre sıçanların günlük tükettikleri su miktarlarının (ml) değerlendirilmesi

Tablo 9: Takip sürelerinde grupların ağırlık ortalamalarının değerlendirilmesi

Tablo 10: Post Hoc test sonuçlar

Tablo 11: Maksiller kesici dişlerde MREF indeks ile skorlamaya göre gözlemciler arası uyumluluğun değerlendirilmesi

Tablo 12: Mandibular kesici dişlerde MREF indeksi ile skorlamaya göre gözlemciler arası uyumluluğun değerlendirilmesi

Tablo 13: Maksilla ve mandibulada takip sürelerinde ayrı ayrı gruplara göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi

Tablo 14: Post Hoc test sonuçları

Tablo 15: Maksilla ve Mandibulada gruplarda ayrı ayrı takip sürelerine göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi

Tablo 16: Post Hoc test sonuçları

Tablo 17: Gruplarda ve takip sürelerinde ayrı ayrı çenelere göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi

Tablo 18: Yeni doğanlarda farklı F dozlarında CAT ve SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 19: Farklı F dozlarında 1. ay CAT immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 20: Farklı F dozlarında 3. ay CAT immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 21: Farklı F dozlarında 5. ay CAT immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 22: CAT immünreaktivitesinin Kontrol grubunda takip sürelerine göre değerlendirilmesi

Tablo 23: CAT immünreaktivitesinin 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

Tablo 24: CAT immünreaktivitesinin 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

Tablo 25: Farklı F dozlarında 1. ay SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 26: Farklı F dozlarında 3. ay SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 27: Farklı F dozlarında 5. ay SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

Tablo 28: SOD immünreaktivitesinin Kontrol grubunda takip sürelerine göre değerlendirilmesi

Tablo 29: SOD immünreaktivitesinin 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

Tablo 30: SOD immünreaktivitesinin 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

1. ÖZET

Bu çalışmanın amacı prenatal dönemden itibaren değişik konsantrasyonlarda sistemik florid (F) verilen sıçanlarda; floridin sürmüş ve sürmekte olan diş dokuları üzerindeki toksik etkilerinin incelenmesi ve santral sinir sistemi hücrelerinde F varlığında meydana gelen nörotoksik etkilerin araştırılmasıdır. Bu amaçla 3 gruba ayrılan dişli sıçanlara gebelik öncesi dönemden itibaren içme suyu ile 0, 30 ve 100 ppm F dozları verilmiştir. Kontrol, 30 ppm ve 100 ppm F grubunda doğan toplam 21 sıçan, postnatal 2. gün beyin dokularının incelenmesi için sakrifiye edilmiştir. 63 adet erkek sıçana ise aynı protokolde içme suyu verilerek sıçanlar 1, 3 ve 5 ay takip edilmiştir. Sıçanlara ait kesici dişler stereomikroskop görüntüleri üzerinden modifiye rodent enamel fluorozis (MREF) indekse göre skorlanmıştır. Aynı zamanda kesici dişlerin ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobunda (SEM) histolojik incelemeleri yapılmıştır. Beyin dokuları ise morfolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Maksiller ve mandibular dişlerde içme suyu F değerleri arttıkça MREF indeks skorlarının anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. SEM değerlendirmesinde 100 ppm grubunda 1. ayda mine çubuklarının incelendiği görülmüştür. 5. ayda ise mine çubukları arasındaki mesafenin oldukça arttığı ve büyük demineralize alanların meydana geldiği izlenmiştir. Histolojik incelemede mine matriks dış yüzeyinde düzensizlik ve özellikle 100 ppm F grubunda ameloblastların sekresyon (veya distal) bölgelerinde kist benzeri oluşumlar görülmüştür. Beyin dokularının incelenmesinde 2 günlük sıçanlarda CAT immünreaktivitesi, glial ve nöron hücrelerinde F miktarı arttıkça istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır. 100 ppm F grubunda, hipokampus, serebellum ve serebrum bölgelerinde kontrol grubundan farklı olarak nöronlarda morfolojik değişiklikler izlenmiştir. Sonuç olarak, F varlığında hem sert ve hem de yumuşak dokularda hücresel değişiklikler görülmektedir. Çalışmamız, sistemik alınan floridin amelogenesis mekanizmasının daha iyi aydınlatılması ve aynı zamanda yumuşak dokular üzerindeki daha az bilinen olası etkilerinin araştırılması için önemli bir kaynak oluşturmaktadır.

Anahtar sözcükler: Dental fluorozis, amelogenesis, sıçan, beyin, oksidatif stres

2. SUMMARY

Histological Evaluation of Teeth and Brain Tissues of Rats Exposed to Different Chronic Fluoride Doses Prenatally and Postnatally.

The aim of this study was to evaluate histologically the incisor teeth and brain tissues of rats that received chronic fluoride (F) doses pre and postnatally. In this study female rats received 0, 30 and 100 ppm F ad libitum in drinking water, throughout the gestation and nursing periods. Twenty one male newborn pups were sacrificed on the 2nd day, 63 male offsprings received the same water regimens as mothers after weaning and followed up for 1, 3 and 5 months. Upper and lower incisors were collected from each group and all teeth were analysed by stereomicroscope. All teeth were scored by three blinded examiners using a rodent enamel fluorosis index modified from a previous study of Leite et al. The hemimandibles of the rats were collected and were submitted to light microscopy analysis. Maxillary incisors were analyzed by scanning electron microscopy (SEM). Brain samples were evaluated morphologically and immunohistochemically. All animals from the F groups presented enamel fluorosis with various degrees of defects ranged from repeated pigmented and white bands to a number of discontinuities within pigmented bands in the labial surface of maxillary and mandibular incisors. The increase in the dental fluorosis scores from the F treatment groups were statistically significant. Light microscopic analysis showed cyst like lesions under transitional secretory stage ameloblasts in 100 ppm F group. SEM images demonstrated that enamel rods in 100 F group were smaller, interrod substance was wider and disorganized comparing to control groups. Although not statistically significant, the SOD immunoreactivity was increased in all F groups. The CAT immunoreactivity in 2 day old pups were statistically significant in 100 ppm F group. This was also seen in 30 and 100 ppm F groups after 1, 3 and 5 months. In conclusion at the doses administered in this study prolonged exposure to F in drinking water affected adversely hard tissues formation on developing teeth and neurotoxic effects were seen in rat brain tissues.

Key Words: Dental fluorosis, amelogenesis, rat, brain, oxidative stress.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Fluoridin vücuttaki mineralize dokuları etkilediği eskiden beri bilinmektedir. Fluorid aktif mineralizasyon safhasında, kalsifik dokularda (dişler ve kemikler) depolanma eğilimindedir ve optimal dozun üzerinde tüketildiğinde diş ve kemik dokularının mineralizasyonunu bozmaktadır. Dişlerin gelişimi sırasında aşırı florid alımı, mine dokusunun mineralizasyon bozukluğu olarak tanımlanan dental fluorozise neden olmaktadır (5, 6, 47, 48, 109, 115). Fluorid optimal dozun üzerinde alındığı takdirde, minenin gelişimi üzerine olumsuz etki göstermektedir. İçme sularında belirli düzeyin üzerinde florid özellikle mine dokusunda gözle görülebilir değişikliklere neden olmaktadır. İçme suyunda 1,5 ppm ve üzeri florid dozlarında mine dokusunda poröziteyi temsil eden opasiteler dental fluorozisin ilk belirtileri olarak görülmektedir (51,146). Doz arttıkça bu belirtiler daha belirgin hal almaktadır. Yüksek florid dozlarında ise porözite artması sonucu sürme sonrasında dişlerin ve özellikle minenin yapısında kırılmalar görülmektedir (47, 48).

Dental fluorozisin prevalansında son yıllardaki potansiyel florid kaynaklarının çeşitliliği nedeniyle artış gözlenmektedir. Günümüzde diş dokularının çürükten korunması amacıyla floridin yaygın olarak kullanılmasına paralel besin zincirinde florid miktarında artış görülmekte ve sonucunda dental fluorozisin çocuklarda dünya çapında bir sağlık ve estetik problemi haline geldiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (87, 88, 85, 95). Topikal florid uygulamalarının diş çürüğünden korunmadaki başarıları göz önüne alındığında dental fluorozis ve floridin çürük önleyici etkisi arasında dengenin sağlanması çocuk dişhekimliğinde daha da önem kazanmaktadır. Sistemik olarak alınan floridin gelişmekte olan dental dokular üzerine etkisi üzerine pek çok araştırma yapılmaktadır (80, 79, 109). Yapılan çalışmalarla hem dental dokuların doğal mineralizasyonu esnasında gelişen biyokimyasal süreçlerin hem de dental fluorozisten sorumlu mekanizmaların daha iyi anlaşılması amaçlanmaktadır. Fluorozis mekanizması hala tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu nedenle floridin etkileri, mekanizmaları, florid alım kaynakları, alım süreleri birçok araştırmanın konusu olmaya devam etmektedir (21, 22, 33, 34, 35).

Diş çürüklerinin önlenmesinde ve kontrolünde önemli bir yeri olan floridin yan etkisine bağlı meydana gelen estetik bir problem olmasının dışında, dental fluorozis diş minesini üzerinde floridin toksik etkilerinin gözlemlendiği bir durumdur (156).

Dişlerin gelişim döneminde floridli suların tüketilmesi, florid takviyeleri, bebek mamaları, floridli diş macunu ve floridli preparatların kullanılması dental fluorozis riskini arttırmaktadır (37, 38, 87, 88). Dental fluorozisin şiddeti alınan florid dozuna ve dişin etkilendiği dönemdeki gelişim evresine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Pedodontistler ve pediatristler floridin toksik potansiyelinin farkında olmalı ve riski en az düzeyde tutarak mineralize dokuların sağlığını korumalıdır. Floridin mekanizması ve organizmadaki toksik etkileri özellikle çocuk dişhekimleri tarafından çok iyi bilinmelidir.

Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda sert dokular dışında beyin, böbrek, karaciğer, endokrin bezler (hipofiz, tiroit ve paratiroid), kas, testis ve sinir dokusunu içeren yumuşak doku ve organlarda da kronik fluorozisin neden olduğu metabolik, fonksiyonel ve yapısal hasarlar bildirilmektedir (10, 55, 73, 101, 141, 148, 149).

Literatürde, floridin yumuşak dokularda oksidatif strese neden olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (1, 13, 14, 18, 27). Oksidatif stres üzerine yapılan pek çok çalışmada fluorozis görülen insan ve hayvanlarda reaktif oksijen türleri ve lipid peroksidasyonunun oluşmasının florid varlığında indüklendiğini bildirilmekte ve reaktif oksijen türleri ve peroksidazların fluoroziste önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Serbest oksijen radikalleri enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde reaktif ve potansiyel olarak zararlı maddelerdir. Serbest radikaller hücrelerimizde DNA'ya, proteinlere ve lipidlere saldırarak zarar verir. Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir (67). Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızındaki artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır ve bu durum doku hasarına neden olabilmektedir (1, 67). Yapılan çalışmalarda floridin dokularda oksidatif

strese neden olduğu bildirilmektedir (1, 27, 53, 55, 59). Gelişim döneminde florid varlığında oluşabilecek oksidatif stresin beyin dokularında meydana getireceği etkiler hala belirsiz kalmaktadır (13, 14, 100). Literatürde bu konuyla ilgili pek çok araştırmaya ihtiyaç vardır.

Pek çok bilim dalında olduğu gibi, dişhekimliği bilimlerinin gelişiminde de deney hayvanı çalışmaları yol gösterici olmuştur. İnsan dokularına fizyolojik, anatomik ve histolojik benzerlikleri nedeniyle bilimsel araştırmalarda hayvan türlerinin kullanılması büyük avantajlar sağlamaktadır. Sıçanlar, diş dokularının gelişiminin ve yapılarının, insan diş dokusuna benzerliği nedeniyle, diş gelişimini etkileyen faktörlerin incelendiği deneysel çalışmalarda sık kullanılan hayvanlardır (7, 21, 74, 109, 115). Sıçanlarda kesici dişlerin mineralizasyonu doğumda başlar. Sıçanın yaşam süresi boyunca kesici dişler sürekli olarak büyür, kalsifiye olur ve sürerler. Kemirme fonksiyonları nedeniyle sıçanların kesici dişlerinde erüpsiyon bir ömür boyu devam eder. Dolayısıyla diş gelişiminin başlangıç safhasından olgunlaşma safhasına bütün evrelerini içeren siklus sıçan dişlerinde görülebilmektedir.

Çalışmamızın amacı; prenatal dönemden itibaren değişik konsantrasyonlarda sistemik florid verilerek postnatal 1, 3 ve 5 ay süresince takip edilen sıçanlarda; floridin sürmüş ve sürmekte olan diş dokuları ve özellikle mine üzerindeki toksik etkilerini değişik histolojik yöntemlerle incelemektir. İkinci olarak da merkezi sinir sisteminde bulunan farklı hücrelerde florid varlığında meydana gelebilecek hücresel değişiklikleri doğumdan itibaren, aynı dönemlerde morfolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmaktır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Mine

Mine dokusu dişi korumak için gelişen, ektoderm kökenli embriyolojik tabakadan meydana gelen epitel kaynaklı bir dokudur. Mine ameloblast hücreleri tarafından oluşturulur ve diş dokusunun oral kaviteye sürmesi ile mine oluşumundan sorumlu bu hücreler kaybolurlar ve bu nedenle mine dokusu kendini yenileyemez (99). Kalıtsal olan bu kısıtlamayı dengelemek için mine, kompleks yapısal bir düzenlemeye ve olgun dönemde organik matriksin tamamen ortadan kalkması ile meydana gelen yüksek oranda mineralizasyona sahiptir. Bu özellikler hem mineyi oluşturan ameloblastların olağan dışı yaşam döngüsüne hem de oldukça uzun mine kristallerinin oluşumunu düzenleyen matriks proteinlerinin fizikokimyasal özelliklerine yansır. Bu durum minenin diğer kollajen kaynaklı kalsifik dokularda bulunan temel elementlerden yoksun olduğu için farklı olduğuna dair yaygın bir görüşe neden olmuştur. Halbuki minenin gelişimi esnasında meydana gelen selüler ve ekstraselüler matriks oluşumlarının sistematik karşılaştırması bu dokunun da, tüm mineralize dokuların oluşumu ile benzer temel değişimler ve ortak düzenlemeler gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (99, 123).

4.1.1. Minenin fiziksel özellikleri

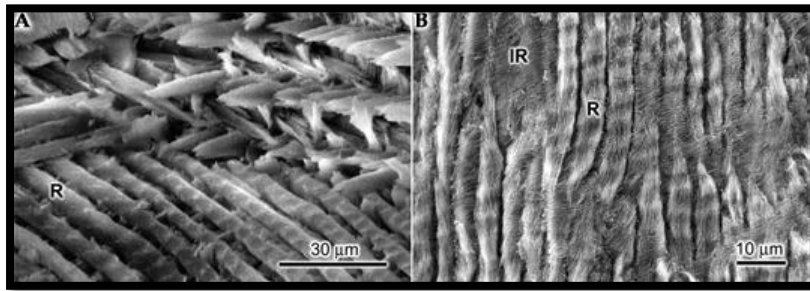
Tam sürmüş mine %96 mineral ve %4 organik madde ile sudan meydana gelen, vücutta bilinen en iyi mineralize ekstraselüler matrikstir (99, 122, 123). Minenin inorganik içeriği, yapısına karbonat iyonları katılmış kristalin kalsiyum fosfattır (hidroksiapatit). Bu yapı kemik, kalsifiye kıkırdak, dentin ve sement dokularında da bulunmaktadır. Mine oluşumu sırasında ortamda stronsiyum, magnezyum, kurşun ve flor gibi çeşitli elementler bulunuyorsa bu elementler kristallerin yapısına dahil olabilirler. Kristallerin asitte çözünürlüğünün oranı diş çürüğünün kimyasal temelini oluşturur (12, 50, 99).

Yüksek mineral içeriği mineyi oldukça sert hale getirir. Bu özellik mineyi diş fonksiyonları sırasında oluşan mekanik kuvvetlere karşı dayanıklı kılar. Aynı zamanda bu sert yapı mineyi kırılğan yapar, dolayısıyla minenin bütünlüğünü

koruması için altında yer alan daha esnek dentin dokusu gereklidir. Eğer dentinin destekleyici tabakası çürük veya düzgün hazırlanmayan kavite preperasyonu nedeniyle yıkılırsa desteksiz mine kolaylıkla kırılabilir. Mine translusenttir, ışığı geçirir ve sarıdan, gri-beyaza kadar değişen renkte olabilir. Ayrıca minenin kalınlığı da değişmektedir. Bu varyasyonlar minenin rengini etkiler çünkü alttaki dentin dokusu ince bölgelerden yansıyarak minenin görünümünü değiştirmektedir (99, 122).

4.1.2. Minenin yapısı

Oldukça mineralize bir yapıya sahip olan mine dokusunu çalışmak bir hayli güçtür. Demineralize mine doku kesitleri incelenirken mineral doku ve organik içerik çözüldüğü için daha önce olgun minenin yer aldığı alanda mine boşluğu olarak görülür. Fakat gelişen diştten alınan dekalsifiye kesitlerde yapının detaylarının görülebileceği yeterli organik matriks kalmıştır. Memelilerde minenin temel birimleri mine çubuklarından ve çubuklar arası mineden oluşur. Mine çubuklarına (rod) prizma, çubuklar arası (interrod) mineye interprizmatik madde denilmektedir (123). Mine çubukları ilk zamanlarda kesitlerde altıgen görünümünden dolayı uzun bir süre mine prizması olarak tanımlanmışlardır. Ancak mine çubuklarının düzenli bir geometrik şekli olmamasından ve prizmaya benzememesinden dolayı bu terim günümüzde doğru olarak kabul edilmez (12, 99) (Resim 1).



Resim 1: Mine çubukları ve mine çubukları arası maddenin SEM görüntüsü (99).

Mine, birbirine çok yakın konumlanmış bir şekilde bir arada duran genişlikleri 60-70 nm, kalınlıkları 25-30 nm olan karbonapatit kristallerinden oluşur. Kristaller oldukça uzundur, bazı çalışmacılara göre kristallerin boyu bütün mine kalınlığı boyunca uzanmaktadır. Kalsiyum fosfat hücre biriminin altıgen simetrisi vardır.

Kristalin altıgen dış hatlarını belirlemek üzere bu birimler kümelenirler. Bu görüntü olgunlaşan mineden alınan dikine kesitlerde de net olarak görülür. Fakat; tamamen olgun mine kristallerinin de artık düzgün bir altıgen görüntüsü yoktur. Çünkü son büyüme periyodunda birbirleri üzerine baskı yapan kristallerin dış hatlarında daha düzensiz bir görünüm vardır. Bu kristaller mine çubukları ve çubuklar arası madde olarak gruplanır (12, 99).

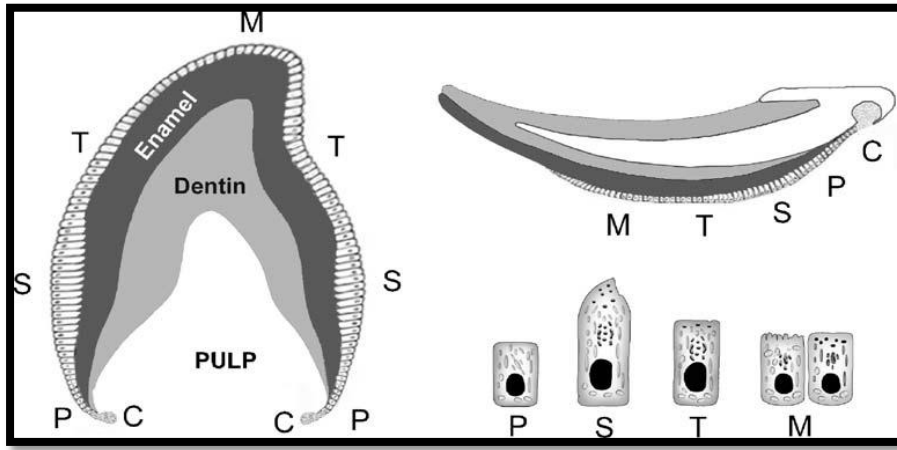
4.1.3. Amelogenezis

Amelogenezis (mine formasyonu) iki aşamalı bir süreçtir. Mine ilk oluştuğu zaman yaklaşık %30' u kadarı mineralize olur. Sonrasında organik matriksin yıkılması ve ortamdan kaldırılması ile kristaller genişler ve kalınlaşır. Organik matriksin ve suyun kaybolduğu ve yerine mineralin eklendiği bu süreç minenin son kalınlığına ulaştıktan sonra %96' dan daha fazla mineral içeriğine ulaşması ile karakterizedir (50, 68, 107, 123).

Ameloblastlar matriks proteinlerini salgırlar ve mineral depozisyonu için gerekli ortamı oluşturmak ve devamlılığını sağlamakla sorumludurlar. Bu epitelyal hücrelerin mine formasyonunun belirli dönemlerinde temel aktivitelerini yansıtan kademeli fenotip değişiklikleri ile karakterize, özgün bir yaşam döngüsü vardır. Amelogenezis 6 safhada incelenmektedir; fakat genel olarak presekresyon, sekresyon ve maturasyon olarak tanımlanan 3 temel fonksiyonel safhaya ayrılmıştır (Şekil 1). Her safhanın kendine özgü bir fonksiyonu bulunur (12,71). Öncelikle presekresyon safhasında ameloblastlar fenotiplerini kazanırlar, polariteleri değişir, protein sentezleyen kısımları gelişir ve organik mine matriksini salgılamaya hazırlanırlar. İkinci olarak sekresyon safhasında (formasyon safhası olarak adlandırılır) ameloblastlar olgunlaşır, tüm mine kalınlığını organize eder, böylece oldukça düzenli doku formasyonunu oluştururlar. Son olarak, maturasyon safhasında ameloblastlar değişirler ve minerallerin düzenli birikimi için gerekli olan spesifik iyonları taşırlar (12, 21, 123).

Son 10 yıldır her safhada meydana gelen selüler aktiviteler daha ayrıntılı olarak tanımlanmıştır ve günümüzde ameloblastların yaşam döngüleri boyunca birçok aktiviteyi bir arada taşıdıkları, arttırdıkları veya azalttıkları kabul edilmektedir (99).

Mine formasyonu diş gelişiminin kuron oluşum safhasında başlar ve iç mine epiteli hücrelerinin ilk olarak epitel içerisinde oluşan tüberkül taslağının tepe kısmında farklılaşmasını içerir. Bu süreç dişin eğimleri boyunca tüm epitel ameloblastlara dönüşünceye kadar devam eder (123). Diğer dikkati çeken nokta ise ameloblastlar farklılaşmaya ve dentin oluşmaya başlayınca dental papilla içindeki iç mine epitelinin dışında bulunan bu hücreler kan damarlarından uzaklaşırlar. Kan damarlanmasının ortamdaki uzaklaşmasını kompanse etmek için kan damarları dış mine epiteline invaze olması ile sonuçlanır ve aradaki retikulum stellatum kaybolur ve ameloblastlar kan damarları ile yaklaşır (99).



Şekil 1: Gelişmekte olan insan dişi (sol) ve sürekli süren sıçan kesici dişinin (sağ) şematik karşılaştırılması: Servikal loop bölgesi (C) proliferasyon kapasitesine sahip progenitör hücreleri içerir ve bu hücreler sırasıyla önce presekresyon (P) sonra da proteinden zengin mineralize mineyi depolayan sekresyon (S) dönemi ameloblastlarına dönüşür. Mine son kalınlığına ulaşıncaya sekresyon dönemi ameloblastları kısa süren bir geçiş fazından sonra mine matriks rezorpsiyonundan sorumlu maturasyon (M) dönemi ameloblastlarına dönüşür. Maturasyon dönemi ameloblastlarının çoğu diş oral kaviteye sürmeden ölür (80).

4.1.4. Amelogenезisin safhaları

4.1.4.1. Presekresyon safhası

Morfogenetik faz

Diş gelişiminin çan safhası esnasında kuron kısmı şekillenir. Dış mine epiteli ile dental folikül arasında ve iç mine epiteli hücreleri ile dental papilla arasında basal

lamina yer alır. İç mine epiteli hücrelerinde mitotik bölünme devam eder. Bu hücreler küboidal veya az kolumnar şekli olan merkezde yer alan büyük çekirdeğe ve proksimalde yer alan az gelişmiş golgi cisimciğine sahip (stratum intermediuma bakan) hücrelerdir. Mitokondri ve diğer sitoplazmik komponentler hücre içerisine dağılır (99).

Histolojik farklılaşma fazı

İç hücre epitelinin hücreleri ameloblastlara farklılaştıkça boyları uzar ve çekirdekleri stratum intermediuma bakan hücrenin proksimal kısmına doğru yer değiştirirler. Bu hücreleri destekleyen bazal lamina sitoplazmik uzantılar ile parçalanır ve manto predentin oluşurken dağılır. Her hücrede golgi kompleksi hacim olarak artar ve proksimal pozisyonundan supranuklear sitoplazmanın önemli bir bölümünü oluşturmak için distale doğru yer değiştirir. Endoplazmik retikulumun miktarı anlamlı derecede artar, mitokondriler proksimal bölgede kümelenir. Distal ekstremitede ikinci bağlantı noktası gelişir. Bu ameloblast hücrelerini gövde ve distal uzantı olarak iki kompartımana ayırır. Distaldeki bu uzantıya Tomes uzantıları denir ve bu bölgede mine oluşur. Bu nedenle ameloblastlar polarize hücrelerdir ve hücre organellerinin çoğu çekirdeğin distal kısmında kalır. Ameloblastlar artık bölünemez (99, 107).

Eskiden bu fazdaki ameloblastlar sekresyon yapmayan hücreler olarak bilinmekteydi fakat yapılan en son çalışmalar göstermiştir ki bazı mine proteinlerinin üretimi tahmin edilenden daha önce hatta preameloblast ve preodontoblastları ayıran bazal lamina kaybolmadan bile önce başlamaktadır. Yan yana yer alan ameloblastlar birbirlerine yakın şekilde dizilirler ve aralarındaki bulunan bağlantı kompleksi bu sıralanmayı sürdürür. Bu kompleksler hücreleri distal ve proksimal uzantılardan kuşatır. İnce aktin içeren filamanlar bağlantı kompleksinden ameloblast sitoplazması içerisine yayılırlar. Bu bağlantı kompleksleri amelogeneziste ameloblastları sıkıca bir arada tutarak ve değişik zamanlarda aralarından mine içerisine nelerin girip çıkacağını belirleyerek önemli bir rol oynarlar (99, 107, 121, 123).

4.1.4.2. Sekresyon safhası

Sekresyon dönemi ameloblastlarının ince yapısı yoğun sentetik ve sekresyon aktivitelerini yansıtmaktadır. Golgi kompleksi, kaba endoplazmik retikulumun pek çok geniş sıvı kaplı keseleri ile çevrelenmiş ve nukleusun üst kısımda geniş yer kaplayan bir organeldir. Mine proteinlerinin oluşumu için mesajcı RNA kaba endoplazmik retikulumun membranında yer alan ribozomlar tarafından kodlanır ve sentezlenen proteinler endoplazmik retikulumun içi sıvı dolu keseleri içerisine yer değiştirirler. Sentezlenen proteinlerin golgi kompleksinde sentez sonrası modifikasyonu devam eder ve membran ile çevrili sekresyon granülleri olarak paketlenirler. Bu granüller hücrenin Tomes uzantısı denilen distal uzantısına doğru göç ederler. Ameloblastlar tarafından gerçekleşen sekresyon devamlıdır ve sekresyon granülleri uzun süre saklanmazlar (7, 12, 68, 99, 121).

Mine oluşumu başladığı zaman Tomes uzantıları sadece proksimal kısmı oluşturur. Sekresyon granüllerin içeriği, mine çubuklarını içermeyen minenin ilk katmanını oluşturmak üzere, manto dentin üzerine salınır. Minenin ilk katmanının oluşmasıyla beraber ameloblastlar dentin yüzeyinden uzaklaşarak, Tomes uzantısının distal kısmını proksimal kısmın çıkıntısı şeklinde oluştururlar. Proksimal kısım distal bağlantı kompleksinden mine yüzeyine kadar uzanır ve burada distal kısım mine içerisine penetre olarak başlangıç mine tabakasının üzerinde mine ile birleşir. Mine kristallerinin prizmatik ve interprizmatik konfigürasyonu ameloblast ile Tomes uzantılarının bir özelliğidir. Prizma ve interprizmatik organizasyon tüm türlerde aynıdır fakat boyutları ve sınırları hücre geometrisini yansıtmak üzere değişmektedir. Tomes uzantısının distal çıkıntısı oluştuktan sonra mine proteinlerinin sekresyonu yavaşlar ve iki alanda sınırlı kalır. İlk alandan sekresyon (uzantının proksimal kısmında bağlantı kompleksine yakın yerden) bitişik ameloblastlar ile beraber Tomes uzantısının distal kısmının içinde yer aldığı pit ile sınırlı mine bölmesini oluşturur. Bu bölmeler farklı birimler değildir interprizmatik mine adı verilen mine katmanının içerisinde devamlılığı sağlarlar. Tomes uzantısının distal kısmının bir yüzü boyunca gerçekleşen matriks içeren ikinci sekresyon alanı daha sonra pitin içerisini dolduracak olan prizmatik mineyi salgılar. Prizmatik minenin oluşacağı kavitenin sınırlarını belirlemesi gerektiği için öncelikle prizmatik mine oluşur. Her iki kısımdan salgılanan mine benzer kompozisyona sahiptir. Prizmatik ve interprizmatik

mine sadece kristallerinin oryantasyonları ile birbirlerinden farklılık gösterir. Minenin kalınlaşması ile Tomes uzantısının distal kısmının, mine çubuğunun çapının artması sonucu interprizmatik kavite duvarına doğru itilmesi ile incelerek uzadığı düşünülmektedir. Distal Tomes uzantısının yok olana kadar sıkıştırılması sonucu prizmatik ve interprizmatik mine arasında organik madde ile dolacak dar bir alan yaratılır ve burada mine kını oluşur. Tomes uzantısının distal kısmının sekresyon yüzeyi mine kını olmayan yüzeye bakmaktadır. Minenin dış kısmı oluşurken Tomes uzantısının distal kısmı değişir ve hücre gövdesine oryantasyonu farklılaşır. Bunun sonucu minenin en dış kısmında mine çubukları daha farklı bir görünüme sahiptir. Sonuç olarak ameloblastların boyu kısalmış ve Tomes uzantısının distal kısmı yok olur. Ameloblastlar, başlangıç mine katmanını oluşturduğu zamanki görünümüne sahiptirler. Mine çubukları, Tomes uzantılarının distal kısmına bağlı olarak geliştiği için minenin son katmanları mine çubukları içermez. Böylelikle mine tabakası, aprizmatik çubuk içermeyen, başlangıç ve bitiş katmanları arasında yer alan mine çubuklarını içeren prizmatik katmandan oluşur. Başlangıç ve bitiş katmanlarının Tomes uzantısının distal kısmında yer alan aynı sekresyon yüzeyinden salgılanarak devamlılık oluşturdukları düşünülmektedir (99, 121).

4.1.4.3. Maturasyon safhası

Diş ağız içerisine sürmeden mine dokusu sertleşir. Fizikokimyasal özelliklerdeki bu değişim amelogenezin formatif fazda oluşan kristallerin enine büyümesi ve kalınlıklarının artması sonucu meydana gelir. Maturasyon dönemindeki kristal büyümesi olgun minede çoğunlukla bulunmayan matriks proteinlerinin ve mine sıvısının ortamdan uzaklaştırılması ile olur (68, 107, 121, 123).

Amelogenesis, bazı dişlerde tamamlanması 5 yıla kadar süren, yavaş ilerleyen bir gelişim sürecidir ve kuron formasyonunun üçte ikisi maturasyon safhasında gerçekleşmektedir. Maturasyon safhası tekrarlanan kısa gelişimsel süreçlerin, kümülatif etkisinin ortaya çıkardığı değişimin toplamıdır.

Maturasyon safhasındaki ameloblastlar postsekresyon safhası ameloblastları olarak tanımlanmalarına rağmen, protein sentezine devam etmektedirler. Geçici bir golgi kompleksine sahiptirler ve sekresyon aktiviteleri vardır. Bazı türlerde

ameloblastlar erken maturasyon safhasında protein sentezine devam ederler. Maturasyon dönemi ameloblastlarında amelogenin ve ameloblastin mine proteinleri için mesajcı RNA ve protein sinyalleri bulunmaktadır. Amelogenin sinyalleri sadece erken maturasyon döneminde görülürken ameloblastin için protein sinyalleri daha sonraki dönemlerde de görülmüştür. Devam eden bu mine protein sentezi matriksin uzaklaştırılması esnasında belirsizleşir (99, 121, 122).

Geçiş fazı

Olgunlaşmamış mine, olması gereken kalınlığa ulaştıktan sonra ameloblastlar morfolojik değişikliğe uğrayarak mine maturasyonu için hazırlanırlar. Kısa bir geçiş dönemi sonrasında ameloblastların boyları kısalır, hacimleri ve organel içeriği azalır. Maturasyon safhasında ameloblastlar apoptozise uğrar. Yapılan hayvan çalışmaları göstermiştir ki hücrelerin % 25' i geçiş fazında, diğer bir % 25 hücre grubu ise mine maturasyonu esnasında apoptozu uğramaktadır. Ancak insan dişlerinde bu durum tam olarak bilinmemektedir. Tüm bu bilgilerin ışığında diş maturasyonu esnasında tüm ameloblast populasyonunun azaldığı söylenebilir. Apoptoz minede morfogenetik olaylar sonucu da meydana gelebilir (99, 121, 122).

Bir organizmanın embriyonik gelişimi ve yaşamı boyunca hücre ölümü gerekli bir mekanizmadır. Embriyogenezde, gelişim esnasında belli zamanlarda hücre ölümü morfogenezin sağlanabilmesine izin vermektedir. Hücre ölümünün gerçekleştiği iki yoldan biri kaza ile hücrelerin ölümü (nekroz) diğeri ise programlı hücre ölümüdür ve apoptoz olarak adlandırılır. Ayrıca programlı hücre ölümü apoptozda görülen çarpıcı hücresel değişiklikler görülmeden de gerçekleşebilir. Bcl-2 gen ailesi proteinleri antiapoptotik ve proapoptotik proteinler içerirler. Bu proteinler apoptozu regüle etmektedirler. Kaspas adı verilen özelleşmiş proteazlar ise hücresel yaşam yollarını inaktive ederler ve hücre ölümünü gerçekleştirecek faktörleri aktive ederler (1,99).

Maturasyon

Ameloblastların temel görevlerinden biri mine yapısındaki suyun ve organik materyalin uzaklaştırılarak inorganik materyalin ilavesine ortam oluşturmasıdır. Bu hücrelerin görülebilir en çarpıcı aktiviteleri modülasyondur; yani dalgalı sonlanan yüzeylerden düz sonlanan yüzeylere geçişin görüldüğü siklusun meydana gelmesidir. Modülasyon belirli boyama yöntemleri ile tespit edilebilir. Gelişmekte olan diş kuronlarında modülasyon az mature bölgelerden daha fazla mature bölgelere doğru, dalgalar halinde oluşur. Örneğin, bu dalgalanmalar sürekli süren dişlerde apikalden insizale doğru; kısıtlı sürme potansiyeli olan dişlerde serviko-insizal (okluzal) yönde gelişir. Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre bazı türlerde ameloblastların hızlı şekilde değiştiği (8 saatte) bildirilmiştir. 1 gün içerisinde 3 kez değişime uğrayabilmektedirler (99, 121).

Ameloblastlarda görülen bu değişimin önemi henüz tam olarak bilinmemektedir. Fakat mineral birikimine ve mine organının geçirgenliğini değiştirerek organik matriks kaybına izin veren ortamı oluşturmayı kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Önerilen mekanizmalardan biri maturasyon safhasında mineral birikimine bağlı oluşan asidifikasyonun dalgalı uçlu sonlanan ameloblastların bikarbonat iyonları üretmesine neden olmasıdır. Bu durum büyüyen kristallerin demineralizasyonunu engellemek ve organik matriksi parçalayan ve nötrale yakın hafif asidik ortamı seven enzimlerin fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için gerekli pH ortamını düzenlemek için sürekli mine sıvısını bazik hale getirir ve mine sıvısını alkalileştirir.

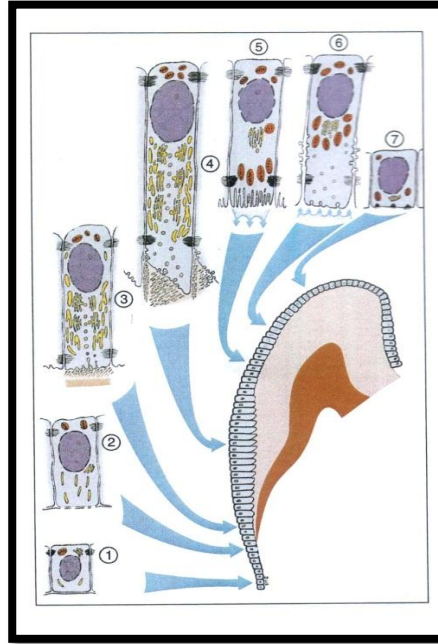
Dalgalı uçlu sonlanan ameloblastların proksimal bağlantıları daha gevşek, distal bağlantıları ise daha sıkıdır. Bu durum düz uçlu sonlanan ameloblastlarda tam tersidir. Dalgalı uçlu sonlanan ameloblastların önemli derecede endositotik aktiviteler gösterirler ve çok sayıda lizozim, kalsiyum bağlayan proteinler ve olgun minenin içerisine kalsiyum iyonlarının geçişini sağlayan membran bağlantılı Ca-ATP' azlar içerirler. Düz uçlu ameloblastlar ise küçük proteinlere ve diğer moleküllere rağmen daha az endositotik aktiviteye sahiptirler ve neredeyse hiç membran Ca-ATP' az aktivitesi göstermezler (99, 121, 122).

Düz uçlu sonlanan ameloblastların olduğu fazda olgun mine içerisine sızan dokular arası sıvıda mine sıvısının pH' sının nötrale edilmesine katkıda bulunabilir.

Kristal büyümesi için gerekli kalsiyum iyonları dalgalı uçlu sonlanan ameloblastların içerisinden geçerken düz uçlu sonlanan ameloblastlar boyunca geçerler. Kristallerin mineral içerisine birikimi dalgalı uçlu sonlanan ameloblastlar ile olan etkileşimleri sayesinde gerçekleşmektedir. Olgunlaşan minede organik matriks çekilmesi incelendiğinde, matriksin azalmasındaki ana mekanizmanın proteinlerin ameloblastlar tarafından rezorbsiyonunun olmadığını gösteren önemli bulgular vardır. Asıl mekanizmanın, matriks proteinlerinin mine tabakasından uzaklaşabilecek kadar küçük parçacıklara ayıran ekstraselüler aktivite gösteren enzimlerden kaynaklandığı gösterilmiştir. Mineden uzaklaşan polipeptit fragmanları, düz uçlu sonlanan ameloblastların gevşek bağlı distal bağlantıları arasında geçiş yaparlar ve ameloblast boyunca lateral olarak ameloblastların bazolateral yüzeyleri tarafından kaldırılmak üzere diffüze olurlar. Hücreler dalgalı uçlu olunca proksimal bağlantılar daha sızdırır hale geldiğinden, bazı lateral olarak diffüze olan proteinler papiller tabaka içerisine hatta ötesine yayılırlar. Mine tabakasındaki bazı fragmanlar membrandan endositoz aracılığıyla geçiş yaparlar (99, 107, 121).

Ameloblastlar geçiş dönemlerini tamamlayıp modülasyon siklusunun ilk dizileri başlayınca düzleşmiş olan apikal kısımlarında bazal bir lamina depolarlar ve bu aşamada Tomes çıkıntıları görülmez. Bazal lamina mine yüzeyine yapışır ve ameloblastlar bazal tabakaya hemidezmozomlar aracılığıyla tutunurlar. Bu tabaka glikokonjuktatlar açısından zengindir ancak yapısının daha detaylı araştırılması gerekir. Tipik bazal tabaka yapısında tip IV kollojen vardır fakat bu laminada tip IV kollojen varlığı henüz tespit edilmemiştir. Ancak hemidezmozomların yapısına katıldığı bilinen, laminin-5 isimli heterotriner molekülü içerdiği gösterilmiştir. Laminin-5 eksikliği olan hastalar fokal mine hipoplazileri göstermişlerdir. Bozulmuş Laminin-5 fonksiyonu oluşturulan farelerde ameloblast görünümü ve mine formasyonu etkilenmiştir. Yapılan son çalışmalarda amelotin adı verilen ve postsekresyon geçiş safhasında eksprese olmaya başlayan yeni ameloblast sekresyon ürünü basal laminada immünlokalize edilmiştir. Bazal laminanın yapısındaki glikozillenmiş moleküller hem kompozisyon ve fonksiyonuna hemde mine tabakasına seçici geçirgen özellikler kazandırarak mineral giriş çıkışının düzenlenmesine katkıda bulunurlar. Ayrıca dinamik mine kompartımanın durumu ile ilgili bilgileri ameloblastlara aynen aktaracak bir konumda bulunur (99).

Sonuç olarak iç mine epitelinin yaşam siklusu boyunca sergilediği tüm fonksiyonları özetleyecek olursak: başlangıç olarak dişin kuron kısmının oluşturulmasında yer alırlar (morfogenez). Bu dönemde daha küçüktürler, merkezde konumlanan çekirdeğe sahip kısa kolumnar bir görünümüleri vardır ve sıklıkla mitozu uğrarlar. Daha sonra bu hücrelerin morfolojik özellikleri değişir ve ameloblastları oluştururlar (histodiferansasyon). Bu değişiklikler hücreleri ve aktif mine matriks sekresyonu ve Tomes uzantıları denen hücre uzantılarını oluşturdukları bir sonraki fazlarına hazırlar. Sekresyon fazı maturasyon fazı için hücrelerin yeniden yapılandığı kısa bir geçiş fazı ile takip edilir. Maturasyon fazında ameloblastlar mine yüzeyine doğru, düz veya dalgalı sonlanan sınırlarının görüldüğü döngüsel varyasyonlar gösterirler. Dalgalı uçlu sonlanan ameloblastlar inorganik materyalin ortama katılmasına izin verirken, düz sonlanan ameloblastlar protein parçacıkları ve suyun ortamdaki çıkışına olanak sağlarlar (99, 121) (Şekil 2).



Şekil 2: İnsan dişinde ameloblastların hayat döngüleri boyunca oluşan çeşitli fonksiyonel safhalar. 1. Morfogenetik, 2. Histolojik farklılaşma, 3. Başlangıç sekresyon, 4. Sekresyon (Tomes uzantıları), 5. Maturasyon (dalgalı sonlanan), 6. Maturasyon (düz sonlanan), 7. Koruyucu safha (99).

4.1.5. Amelogenezin ışık mikroskobunda incelenmesi

Geç çan safhasında amelogenezin tüm özellikleri ışık mikroskobunda tek bir kesitte görülebilir. Periferden içe mine epiteline doğru stratum intermedium, stellate retikulum ve dental folikülde kan damarları ile bağlantılı dış mine epiteli yer alır.

İç mine epiteli olarak kuron safhasındaki dış germinde koronal olarak yer değiştirirken hücrelerin boyu uzar ve kolumnar bir hale gelirler ve çekirdekleri stratum intermediuma yakın proksimal uçta sıralanır. Dentin üretimi başladıktan kısa bir süre sonra eş zamanlı olarak mine organında da amelogenesis ile bağlantılı pek çok sayıda farklı morfolojik değişiklik meydana gelir. Ameloblast denen iç mine epitelinin hücreleri, biriken ve minenin kısmen mineralize ve mine rodlarını içermeyen başlangıç tabakasının oluşmasında rol alan proteinleri aktif bir şekilde salgılamaya başlarlar. Minenin ilk tabakası oluşuktan sonra ameloblastlar dentin yüzeyine doğru ilerler. Minenin oluşması ve organizasyonu için meydana gelen önemli bir olay ise ameloblastların Tomes uzantıları adı verilen sitoplazmik uzantılarının gelişmesidir. Tomes uzantıları oluşmakta olan minenin içerisine doğru çıkıntılar şeklinde uzanırlar. Mine oluşumu tamamlandıktan sonra ameloblastlar maturasyon safhasına girerler. Bu safha önemli değişikliklerin meydana geldiği kısa bir geçiş safhası ile başlar. Bu sekresyon sonrası geçiş ameloblastları kısalırlar ve maturasyon hücreleri olarak yeniden yapılırlar. Altta yer alan stratum intermedium, stratum retikulum ve dış mine epitelindeki hücreler yeniden organize olurlar ve tabakalar artık görülmez. Kan damarları mine organının dış tarafı ile sarmal yapıdaki papiller tabakayı oluşturmak için bağlantılı olan basal laminaya zarar vermeden bu hücrelerin üzerini kaplar.

Mine tamamen olgunlaştıktan sonra ameloblast tabaka ve papiller tabaka geri çekilerek, birlikte azalmış mine epitelini oluşturur (99).

4.1.6. Amelogenezin elektron mikroskobunda incelenmesi

Mine oluşumunun elektron mikroskobu ile incelendiği ultrastrüktürel çalışmalar bu kompleks olayın anlaşılmasına katkıda bulunmuştur (72, 119, 127). Bu çalışmalarda genellikle kesici sıçan dişi model olarak kullanılmıştır. Çünkü sürekli sürmeye devam eden sıçan kesici dişlerinde dişin tüm gelişim aşamaları tek dişte

görülebilmek ve insan dişine benzer şekilde gelişen tüm mine oluşum safhaları izlenebilir. Böyle sistemlerde pozisyon gelişim süresini temsil eder, hücre yenilenmesinin görüldüğü apikal kısımdan sürekli oluşan dişin insizal atrizyon ile dengelendiği insizal uçtan çeşitli uzaklıklarda kesitler alındığında amelogenезin çeşitli evreleri görülebilir (99, 119, 127).

4.2. Sıçanlarda Dentisyon

Diş dokularının gelişim safhaları ve yapılarındaki benzerlik nedeniyle sıçanlar, dental çalışmalarda sık tercih edilen hayvanlardır (7, 34, 35, 115, 116, 124, 126). İnsanlarda ve diğer canlılarda diş gelişimi genetik olarak kontrol edilmektedir. Fakat sistemik ve çevresel faktörlerle de etkilenebilmektedir (34, 35, 75, 115).

Sıçan dişi çiğneme fonksiyonunu gerçekleştirmesinin yanında gelişim esnasında sıçanın metabolik durumu hakkında bilgi veren biyolojik bir indikatördür. Diş dokusu üzerinde depolanan bu kayıtlar kemikteki benzer kayıtlardan farklı olarak geçici değildir. Rezorbsiyon meydana gelmediğinden dolayı mine ve dentin üzerine kalıcı olarak işlenmektedir. Dişler üzerindeki deneysel etkileri gösteren çalışmalar sıçanın genel fizyolojisi ile beraber dental fizyolojinin çeşitli fazları hakkında da bilgi vermektedir (21, 54). Tablo 1’de albino sıçanlarda dentisyon gelişim kronolojisi verilmektedir.

Sıçanlarda, kesici ve molar dişlerden oluşan tek set dişlenme mevcuttur. Alt ve üst çenede ikişer adet olmak üzere toplam 4 kesici diş ve 12 adet molar diş bulunmaktadır. Sıçanlarda küçük azı ve kanin dişler bulunmamaktadır. İnsan dişlerinde olduğu gibi sıçanlar da mine, dentin, sement ve pulpa dokularına sahiptirler (54). Hem insanlarda hem sıçanlarda pulpa kavitesini dentin üreten odontoblast hücreleri çevreler. Odontoblast hücreleri primitif mezankimal hücrelerden farklılaşan uzun sütun şeklinde hücrelerdir. Avasküler ve aselüler olan predentin odontoblastlar tarafından üretilir ve dentin dokusuna mineralize olur. Dentin üretildikçe odontoblast hücreleri pulpa kavitesinin olduğu daha iç kısma doğru yer değiştirirler. Fakat; sitoplazmik süreçte dentin ve mine dokusuyla bağlantı halinde olurlar. Dentin üretimi, mineyi meydana getiren ve epitel tabakayı kaplayan tek sıra halinde bulunan, mine dokusunu iki aşamalı bir süreçte üreten kolumnar

ameloblast hücrelerinin indüklenmesi için gerekmektedir. Önce olgunlaşmamış mine matriksi üretilir ve ardından mineral birikimi olur. Dekalsifiye kesitler hazırlanırken mineralize olgun mine kaldırılarak yerini mine boşluğuna bırakır. Büyüyen sıçan dişlerinden hazırlanan dekalsifiye kesitlerde mine matriksi sıklıkla görülebilir (54, 80).

Tablo 1 : Albino sıçanlarda dentisyon gelişim kronolojisi (54).

	Kesici dişler	Molar dişler		
		M ₁	M ₂	M ₃
Başlangıç	İU 14. gün	İU 13. gün	İU 14- 15. Gün	İU 20. gün
Histodiferansasyon	İU 18- 19.gün	İU 20. gün	İU 21- 22. Gün	8-10. gün
Dentin apoziyonu	İU 20- 21. gün	İU 20- 21. gün	1-2. gün	13-14. gün
Kronun tamamlanması	Ömür boyu	11. gün	13. gün	21. gün
Bifurkasyon başlaması	-	14-16. gün	16-18. gün	24. gün
Oral kaviteye sürme	10. gün	19. gün	22. gün	35. gün
Fonksiyonel okluzyon	16. gün	25. gün	28. gün	40. gün
Pigmentasyon	28-30. gün	-	-	-

4.2.1. Kesici dişler

Kesici dişler mine ile dentin arasına demir birikimi nedeniyle sarı-kahverengi renktedirler. Kesici dişlerin konveks bölümü olan labial yüzeyi mine ile kaplıdır. Konkav olan lingual yüzeyi ve lateral kısımları sement dokusu ile kaplıdır. Kesici

dişlerin uç kısımlarında, primer dentin veya kemirmeye bağlı primer dentinin aşındığı durumlarda sekonder dentin bulunmaktadır. Beslenme, genetik özellikler veya kesicilerde meydana gelen hasar gibi etkenler bu süreyi etkilemektedir. Kesici dişlerde görülen sürekli büyüme dişlerin keskinliğini korumak ve dişin dudak ve damağa doğru büyümesini engellemek için kemirmeyi gerektirmektedir. Kesici dişlerde aşırı uzama, malnutrisyon veya yetersiz gelişime neden olabilir. Kesici dişlerin kökleri molar dişlerin köklerinin altında uzanır ve alınan histolojik kesitlerde molar dişlerin altında yer alırlar (54, 75).

Kesici dişlerde gelişim süreci dört farklı dönemden meydana gelir:

1. Büyüme:

- Oral epitelden mine organının proliferasyonu
- Formatif hücrelerin farklılaşması
- Apozisyon

2. Matriksin mineralizasyonu

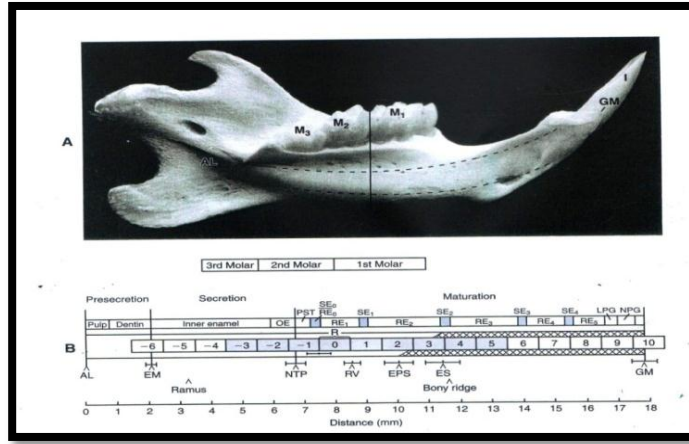
3. Dişin oral kaviteye sürmesi

4. Fonksiyonel atrizyon

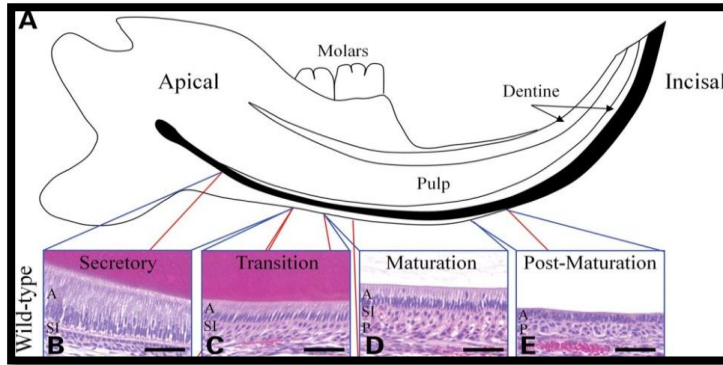
Kesici dişler primitif pulpanın bağ dokusunu çevreleyen odontojenik epitelyum adı verilen elips şeklindeki kılıftan gelişirler. Bu epitelyal döngü kesici dişin kesitsel şeklini ve ilerde oluşacak dişin ana hatlarını belirler ve hayvanın ömrü boyunca devam eder (54, 79, 80). Şekil 3'te mandibula içerisinde gelişen kesici dişin anatomik konumlanması görülmektedir. Kesici dişin apikal ucu ramustan başlamaktadır. Şekilde görüldüğü gibi diş gelişiminin değişik safhaları mandibula ve azı dişler rehber alınarak saptanabilir. Yapılacak histolojik çalışmalarda istenen safhaların böylece görüntülenebileceği araştırmacılar tarafından bildirilmektedir. Şekil 4'te ise bu safhaların ilgili anatomik noktalarda olası histolojik görüntüleri verilmektedir. Şekil 5'te ise bu bölgelerdeki ameloblastların ve çevre dokularının şematik çizimi gösterilmektedir.

Sıçanlarda kesici dişlerin mineralizasyonu doğumda başlar. Kesici dişler sıçanın yaşam süresi boyunca sürekli olarak büyür, kalsifiye olur ve sürerler. Kesici dişlerin

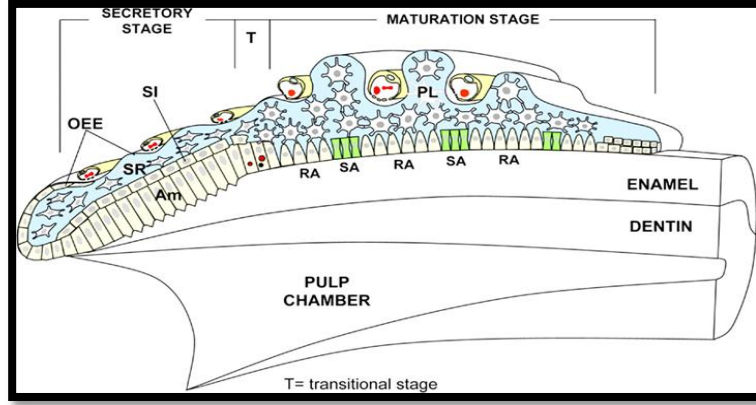
sürmesi doğumdan sonra 8. günde başlar ve 8 - 10. günlerde insizal uç oral kavitede görülür. Bir hafta süresinde üst kesiciler 2.1 mm (0.31 - 0.32 mm/gün) uzarken alt kesiciler 2.8 mm (0.4 mm/gün) uzamaktadırlar. Apikalden oluşan yeni dişin insizal uca ulaşması 4-50 gün sürmektedir. Dolayısıyla tüm diş yüzeyi 40-50 günlük kayıtları içerir (21, 54). Oldukça hızlı şekilde gelişen ve sürekli devam eden sürme sonucu diş yüzeylerinde meydana gelen kaviteler hızlı bir şekilde insizal kenara yaklaşır ve aşınırlar. Tablo 2’de değişik yaşlardaki sıçanların maksiller ve mandibular kesici dişlerinin mine ve dentin kalınlıkları görülmektedir.



Şekil 3: A: Sıçanın sol hemimandibulasının mesial görünümüdür. Noktalı çizgi dişin kemik içerisindeki yaklaşık pozisyonunu göstermektedir. Kesici dişin labial yüzeyine dik olarak 1. ve 2. molar dişler arasından geçen düz çizgi ise sekresyon ve maturasyon safhalarını ayırmaktadır. Mine oluşum safhaları apikalden insizal uca doğru ilerlemektedir. B: Apikal uçtan diş eti kenarına kadar kesici dişin labial yüzünün kavisli uzunluğunun şematik görüntüsü ve amelogenезisin safhalarına denk gelen bölgeler belirtilmektedir (99).



Şekil 4: Sıçan alt kesici dişinin histolojik görüntüleri (12).



Şekil 5: Sıçan kesici dişinde amelogenезisin şematik gösterimi: (Am) Ameloblastlar, (SI) Stratum intermedium, (SR) Stratum reticulum, (OEE) Dış mine epiteli, (RA) Ruffle-ended (dalgalı sonlanan) ameloblastlar, (SE) Smooth-ended (düz sonlanan) ameloblastlar, (PA) Papiller tabaka (68).

Tablo 2: Değişik yaşlardaki sıçanların maksiller ve mandibular kesici dişlerinin mine ve dentin kalınlıkları (54).

Yaş(gün)	Mine kalınlığı(μ)		Dentin kalınlığı (μ)			
	Maksiller	Mandibular	Maksiller		Mandibular	
			Labial	Lingual	Labial	Lingual
10	45	80	150	110	180	160
30	75	105	315	380	340	280
60	80	120	570	530	435	300
100	90	130	775	715	475	405
150	100	155	1150	775	695	570
200	100	155				

Kesici dişlerde erüpsiyon oranı lokal ve sistemik faktörlerden etkilenebilir. Eğer kesici dişler aşındırılırsa daha hızlı büyümeye başlarlar (+/- 1.0 mm/gün) (54). Eğer sıçanlar sert maddeleri kemirirse dişleri daha çabuk aşınır ve bunun konpanse edilmesi için dişler daha hızlı büyür. Kesici dişler uzunluklarına ve komşu kesici dişlere bağlı olarak da farklı hızlarda büyürler. Kesicilerden biri diğerinden daha kısa ise, kısa olan diş diğerinden daha hızlı bir şekilde büyür. Kemirme işlemi esnasında

kesici dişler birbirleri ile temas etmezler ise malokluzyona bağlı aşınamazlar ve fazla büyürler (54).

Pigmentasyon

Pigmentasyon kesici dişlerin karakteristik özelliklerinden biridir ve molar dişlerde görülmez. Sarıdan turuncuya değişen renklerde görülebilir ve yaşla renk koyulaşır. Yavru sıçanlarda kesici dişler beyaz renkte sürmeye başlarlar. 21. günde hafif sarı renkleri vardır. 25. günde üst kesici dişler farkedilebilir şekilde sarı iken alt kesici dişler daha yeni sarı görünüm kazanırlar. 38. günde artık belirgin bir şekilde üst kesici dişlerde alt kesicilerden daha fazla pigmentasyon görülmektedir. Alt ve üst kesici dişler arasındaki renk farkı sıçanın bütün hayatı boyunca görülür. Erişkin sıçanlarda üst kesici dişler koyu sarı-turuncu renge sahip iken, alt kesiciler sarı renkte görünürler. Pigment, kesici dişlerin labial yüzünün üçte ikisini; mandibular kesici dişlerin yarısını kaplar (74, 115). Dental fluorozis gibi deneysel çalışmalarda pigmentasyonda meydana gelen değişiklikler en erken belirtilerdir. Smith ve ark. yaptıkları çalışmada anemik sıçanlarda pigmentasyonun azaldığı veya tamamen yok olduğunu bildirilmektedir (54, 125).

Fonksiyonel atrizyon

Fonksiyonel aktiviteye bağlı dişin normal olarak aşınması şeklinde tanımlanabilir. Kemirme fonksiyonu esnasında kesici dişlerin uç kısımları aşınır (115). Mine, dentin ve sement dokusundan daha sert olduğu için daha hızlı aşınır ve iğne ucuna benzer sivri bir uç oluşur. Eğer dişlerde herhangi bir nedene bağlı olarak aşınma meydana gelmezse kesici diş logaritmik spiral şeklinde uzamaya devam eder. Dudak ve damağa perfore olabilir ve bazen hayvanın ölümüne yol açabilir (54).

4.2.2. Molar dişler

Sıçanların posterior bölgede her çenede 6 adet olmak üzere toplam 12 adet molar dişleri vardır. Bu dişler düz ve geniş bir yapıya sahiptir ve kesici dişler gibi pigmente değıllerdir. Molar dişlerin insan dişlerinden farklı olarak tüberkül tepeleri mine ile

kaplı değildir. Birinci molar diş doğumdan sonra 19. günde, ikinci molar ise 21. günde sürer. 2. molar diş sürdükten sonra sıçanlar süten kesilebilirler. 3. molar diş ise 35-40. günlerde sürer. 6 haftanın sonunda bütün molar dişler tamamlanmış olur. Molar dişlerde sürme yaşam boyunca çok düşük bir hız devam ettiği için kolaylıkla ayırılmaz. Molar dişler gelişimlerini 125 günde tamamlar ve çok yavaş bir şekilde aşındıkları için gelişim sürecinde üzerindeki kayıtlar yetişkin dönemde değerlendirilebilir (54, 81).

Çiğneme esnasında çeneler arkaya doğru hareket ederler ve böylelikle molar dişler birbirlerine temas ederler. Fakat kesici dişlerde çiğneme esnasında temas görülmez (54, 81).

4.3. Flor ve Fluorid

Fluor veya Flor, halojenler grubuna ait atom numarası 9, atom ağırlığı 19 olan, elektronegativitesi ve reaktivitesi yüksek bir iz elementtir (46, 47, 145).

Joseph Henry Moissan isimli Fransız kimyager tarafından 1886 yılında izole edilen flor elementi korozif, mat yeşilimsi-sarı renkte bir gazdır. Oldukça reaktif bir gaz olup doğada serbest bulunmaz. Bilinen en reaktif elementlerden olup, oksijen ve asal gazlar dışında tüm elementlerle bileşikler oluşturur. Fluorid; toprak, su, kaya, hava, bitki ve hayvanlarda bulunur (47, 48).

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

4.3.1 F elementinin doğada bulunuşu

F elementi yerkürenin her yerinde mevcuttur ve yer kabuğundaki elementlerin % 0,065' ini oluşturmaktadır (46, 47). Yeryüzü kabuğunun yaklaşık 0,3 gr/kg' ını oluşturan F, doğada genellikle hava, toprak, su, bitki ve hayvansal dokularda farklı bileşik ve miktarlarda bulunur (46, 51, 62, 91). Doğal yollarla içme sularına karışan

F iyonu, yerkabuğunun doğal yapısında genelde florspar (CaF_2), kriyolit (Na_3AlF_6) ve florapatit ($\text{Ca}_{10}\text{F}_2(\text{PO}_4)_6$) bileşikleri şeklinde bulunur. Yüzey sularındaki F düzeyi genelde 0.01-0.3 mg/l iken yer altı sularındaki F düzeyi, etrafındaki kayaların yapısına ve F bileşikleri içeren minerallerin ortamda olup olmamasına bağlı olarak 20-53 mg/l ye kadar çıkabilmektedir. Deniz suyundaki F konsantrasyonu ise 1.2 -1.5 mg/l aralığında değişmektedir (1).

Yeraltı sularında bulunan F'in doğal kaynakları çeşitli yapıdaki kayalar ve volkanik aktivitedir. Dolayısıyla yeraltı sularındaki F konsantrasyonu toprak ve kayaların porozite ve asiditesine, sıcaklığa, diğer kimyasal elementlerin hareketine bağlıdır (39, 56). Volkanik aktiviteye bağlı olarak sıcak suların F içeriği artmaktadır. Volkanik ve endüstriyel bölgelerde su kaynaklarında bulunan F miktarı oldukça yüksektir. Bu bölgelerdeki F oranı 30-50 mg/l' ye kadar yükselebilmektedir (29, 46). F, atmosferde az bir miktarda bulunur ve atmosfere çeşitli kaynaklardan gelir. Bu kaynaklar arasında volkanik gazlar, F içeren minerallerin sanayide işlenmesi, çeşitli endüstriyel işlemler sayılabilir (78). Yüksek ısıların kullanıldığı fabrika çevreleri ile F ile ilişkili endüstri bölgelerinde (alüminyum, fosforlu gübre fabrikaları) solunan havadaki F miktarı çok daha fazladır (46, 49).

F bileşiklerinin tarımda ve endüstriyel aktivitelerde kullanılması yeraltı sularında yüksek oranda F bulunmasına neden olmaktadır (46, 47, 49, 111). Günümüzde F bileşiklerinin gübre, ağır metal, cam, porselen, tuğla ve çimento gibi çeşitli endüstri kollarında kullanımının yaygınlaşması ile birlikte tarımda rodentisit ve insektisit amaçlı, hayvanlarda yem katkı maddesi ve antihelmintik olarak, kullanımının yaygınlaşması, bu bileşiklerin insan sağlığı açısından önemini arttırmıştır (4, 46, 49, 76, 78).

4.3.2. Endemik fluorozis bölgeleri

4.3.2.1. Dünyadaki endemik fluorozis bölgeleri

Dünya üzerindeki değişik bölgelerde içme sularında F konsantrasyonu ülkeden ülkeye farklılık göstermektedir (39,89, 139). Sulardaki yüksek F oranı, dünyanın çeşitli bölgelerinde fluorozise sebep olarak bir toplum sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Son tahminlere göre dünya üzerinde 25 ırktan 200 milyon insan

fluorozisten etkilenmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 1994' te içme sularında F miktarını 0.5-1 mg/l olarak önermiş, daha sonra üst sınırı 1.5 mg/l' ye yükseltmiştir. Bu sınıra göre dünya üzerinde yüksek F içeriğine sahip bölgeler olan Doğu Afrika, Mısır, Libya, Cezayir, Sudan, Kenya, Tanzanya, Türkiye, Irak, İran, Suriye, Afganistan, Hindistan, Pakistan Moğolistan, Meksika, Arjantin, Kuzey Tayland ve Çin olarak bildirilmiştir (92, 132, 146).

4.3.2.2. Türkiye' deki endemik fluorozis bölgeleri

Başta Dünya Sağlık Örgütü olmak üzere ve yapılan çalışmalara göre Türkiye' de insan ve hayvanlar açısından bazı bölgeler endemik fluorozis açısından risk taşımaktadır (9, 102, 103, 136).

Fluorozis oluşumunda toprak yapısının etkili olduğu bilinmektedir. Ülkemizde endemik fluorozis saptanan bölgeler genellikle volkanik veya F rezervleri bulunan yöreler ile sanayi kuruluşları çevresini kapsamaktadır (49). F'den zengin topraklara sahip volkanik bölgelerdeki su kaynakları yüksek düzeyde F içermekte ve bu bölgelerde endemik fluorozise sık rastlanmaktadır (4, 5, 120, 138, 140).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar sonucunda ülkemizde tespit edilen endemik fluorozis bölgeleri; Isparta, Kırşehir, Edirne-Habiller köyü, Van-Muradiye-Aşağıyanlı ve Gökcekaynak köyü, Elazığ, Eskişehir-Beylikova-Kızılcaören köyü, Nevşehir (Ürgüp, Avanos and Hacıbektaş), Kayseri (İncesu), Uşak-Eşme-Güllü köyü, Konya-Seydişehir, Aydın-Buharkent, Samsun-Vezirköprü, Muğla-Yatağan, Van-Çaldıran, Ağrı-Doğubeyazıt' tır (102, 103, 136).

Ülkemiz sularında Ergun ve ark. Van ve Ağrı' da 0.2-17 ppm, Şendil ve ark. Ağrı Doğubeyazıt' ta, 10.26-12.54ppm ve Van-Muradiye' de, 5.70-15.20 ppm, Oruç Ağrı Doğubeyazıt' ta 6.5-12.5ppm ve Van-Çaldıran' da 2.0-7.5 ppm, Fidancı ve ark. Kızılcaören' deki sulara 4.6-9.2 ppm, yine Fidancı ve ark. Beylikova/Kızılcaören' de 4.81 ± 0.14 ppm, Kanam/Bayındır' da 2.6 ± 0.74 , düzeyinde F tespit etmişlerdir (104).

Doğubeyazıt ilçe ve köyleri: Yaklaşık 30 yıl önce bu yörede yapılan çeşitli araştırmalarda kimi kaynak sularında 5.0-12.5 ppm arasında F bulunduğu belirlenmiştir. F açısından zengin suları, özellikle diş ve kemiklerin oluşumu

döneminde içen insan ve hayvanlarda kronik F zehirlenmesi olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur. Tendürek Volkanı kuzey ve güneyindeki endemik yörelerden alınan su, toprak, bitki, insan ve koyun idrarlarında normalin üzerinde F bulunduğu tespit edilmiştir (102, 103).

Van - Çaldıran: Tendürek volkanının doğu ve güneyinde kimi kaynak sularında 2.0-15.2 ppm arasında F bulunduğu ve bu suları tüketen insan ve hayvanlarda diş ve kemiklerde bozukluklar olduğu bildirilmiştir (102, 103).

Isparta kent merkezi: İçme sularındaki yüksek dozda F'e (2.0-6.2 ppm) bağlı olarak ortaya çıkan fluorozisli diş minesini ilk defa Isparta' da 1950' li yıllarda tespit edilmiş, bu konuda çok sayıda araştırmalar yapılmış ve Andık kaynaklarından kent merkezine getirilen F açısından zengin suların Eğirdir Gölü'nden pompayla kente gönderilen sularla seyreltilerek (0.7 ppm) şebekeye verilmesi önerilmiş ve 1995 yılında kent merkezine su verilmeye başlanmıştır. Andık Kaynaklarında ve Gölcük Krater Gölü sularındaki F kökeninin bölgedeki volkanik kayalarla ilişkili olduğu kabul edilmiştir (102, 103).

Eskişehir-Beylikova Kızılcaören köyü: Yaklaşık 25 yıl önce bu köyde yapılan çalışmada içme suyundaki yüksek F düzeyi (3.8-7.5 ppm) nedeniyle köy halkının %45'inde ileri düzeyde iskelet fluorozis, %74'ünde ise dental fluorozis belirlenmiştir. Ayrıca toprak, bitki ve koyun idrar örneklerinde yüksek düzeyde F saptanmıştır. Dünyanın ikinci zenginlikteki toryum madenine sahip yörede F kökeninin çevredeki kayalar içerisinde bulunan Florspar (CaF₂) minerali ile ilişkili olduğu belirlenmiş ve yaklaşık 10 yıl önce köye sağlıklı su getirilmiştir (102, 103).

Uşak-Eşme-Güllü köyü: Bu köyde de yaklaşık 20 yıl önce yapılan incelemede kullanılan içme sularında 0.7-2.2 ppm F bulunduğu ve bu köyde doğup bu suları sürekli olarak içen 10-30 yaş grubundaki insanların %80'inde dental fluorozis görülmüştür (102, 103).

4.3.3. F alım kaynakları

4.3.3.1. İçme suları

İçme suyu canlılar için önemli bir F alım kaynağıdır (39, 46, 51). Ulusal ve uluslararası standartlara göre içme suyunda bulunması gereken F miktarı 0.5-1.5 mg/l değerleri arasında olmalıdır (146). İçme sularındaki F miktarı 1,5 mg/l' nin üzerine çıktığı durumlarda ise fluorozis meydana gelebilir (146).

F hem yüzey hem de yeraltı sularında mevcuttur. Yeraltı sularındaki F konsantrasyonu suyun kaynaklandığı bölgenin jeolojik, kimyasal ve fiziksel özellikleri, toprağın içeriği, pH'sı gibi faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (40, 62, 84, 89). Su kaynaklarındaki F konsantrasyonu, 0.7 ppm ve daha yüksek olan bölgelerde, içme suyu, başlıca F kaynağı olmaktadır. Sulardaki F iyonunun kaynağı doğal formasyonlardan olabileceği gibi yüksek konsantrasyonda F içeren elektronik, cam, alüminyum ve demir çelik gibi endüstrilerin atık su deşarjlarından da kaynaklanabilmektedir (4, 46, 51, 111).

Toplum bazlı bir uygulama olarak suların 1 ppm seviyesinde F katılmasının çürük prevalansının azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiş, ancak daha sonra WHO F'in kümülatif etkisini önlemek için içme suyu F konsantrasyonunun 0,5 ppm de tutulmasını önermiştir (20, 146). İçme suyu F konsantrasyonu ile dental fluorozis arasında pozitif bir ilişkinin varlığı kabul edilmektedir (51, 84, 89, 91, 120, 140). İçme sularına F eklenen bölgelerde, içme suyu yoluyla F'in besin zincirine katılması nedeniyle de dental fluorozis oluşma olasılığı artmaktadır. Çürük oranının azalmasıyla birlikte dental fluorozis görülme sıklığının artması, içme sularına F katılmasının yeniden gözden geçirilmesini sağlamıştır (58).

4.3.3.2. Diğer F alım kaynakları

Yaşayan bütün canlılar doğal ya da yapay kaynaklar yoluyla F'e maruz kalırlar (46, 47, 146). F, organizmaya temel olarak sindirim ve solunum yolu ile alınır. Organizma için diyetle alınan F'in temel kaynağı su ve içeceklerdir (46, 51). Yiyeceklerdeki F konsantrasyonları pek çok araştırmada bildirildiği gibi genelde düşük miktardadır. Normal koşullarda beslenme ile, 1-4 mg/gün düzeyinde alınmaktadır (15, 46). F içme sularında doğal olarak veya sonradan eklenerek,

yiyeceklerde ve dental materyallerde çeşitli konsantrasyonlarda bulunur. Meyve sularının ve bazı katı besinlerin tüketimi, F'li diş macunları ve diğer F'li diş bakım ürünlerinin kullanımı bireyin günlük F alımına katkıda bulunmaktadır (36). F pek çok diş macunu ve diğer diş hekimliğinde kullanılan preparatlar içinde mevcuttur (75, 85, 86, 151).

Deniz suyu 1,2-1,5 mg/l arası F içermektedir (1). Bundan dolayı balık ve diğer deniz ürünleri F açısından zengin kaynaklardır. Gıdalar arasında en fazla F iyonu balıkta bulunur (46).

F, bitkilerde organik ve inorganik bileşikler halinde olup, en fazla çay yapraklarındadır (1, 147, 153). Çay ağaçları, toprak ve havadan absorbe ettikleri F'i yapılarında biriktirirler. Yapılan çalışmalara göre siyah çay yapraklarındaki F miktarı 23.6-385 mg/kg (Çin), 322-423 mg/kg (Hong Kong), 340 mg/kg (Polonya), 87.6-289.2 mg/kg (Türkiye) ve 20 mg/kg (İran)' dır. Yeşil çay yapraklarındaki F miktarı ise 550.0 mg/kg (Çin), 217-336 mg/kg (Hong Kong) ve 71.11-180.16 mg/kg (Japonya)' dır (153).

Diğer F kaynakları olarak, F'li diş macunları, ağız gargaraları, F tabletleri, F damlaları, F'li sularla sulanan sebze, meyveler ve bu sularla hazırlanmış yiyecek, içecek, meyve suları olarak sıralanabilir (85, 143). Ayrıca süte, tuza ve bebek mamalarına katılması gibi yollarla da F alınmaktadır (16, 46, 75).

Üretim sırasında, F'li suların kullanılması, meyve, sebze ve çorba türü gıdaların F konsantrasyonunu yükseltmektedir. Mamaların mineral içerikleri de, günlük F alım miktarını etkilemektedir. F konsantrasyonu, protein bazlı mamalarda, süt bazlı mamalara oranla daha yüksektir. Mama ile beslenen bebeklerin F alımı, sadece süt ile beslenen bebeklerden fazladır. Bebeklerde doz aşımının önlenmesi için, mamaların F konsantrasyonu düşük sular ile hazırlanması önerilmektedir (31).

3 yaş altı dönemde yapılan F takviyeleri sonrasında dental fluorozis görülebilmektedir (38). 6 yaş altı çocuklarda günlük F alım kaynakları içme suyu, meşrubatlar, katı gıdalar ve yutulan diş macunlarıdır (51).

Tablo 3: Yaygın kullanılan dental ürünlerin F içerikleri (23).

Ürünün tipi	F miktarı (ppm)	Kullanılan miktar	Toplam F dozu (mg)		
Profesyonel topikal uygulama	%2	NaF sol	9100	2-3 ml	18-27
	%10	SnF sol	24250	2-3 ml	49-73
	%5	NaF vernik	22600	0.5-1g	11-23
	%1,23	APF jel	12300	3-4 g	37-49
	%9	SnF jel	22500	2 g	45
Evde uygulama	%0.05	NaF sol	226	10ml/gün	2.3
	%0.2	NaF sol	910	10 ml/hafta	9.1
	%0.5	APF jel	5000	3-4g/kaşık	15-20
	%0.4	SnF	970	2 g/fırça	2
Diş macunu	%0.22	NaF	1000	2g	2
	%0.76	MFP	1000	2g	2
	%0.145	NaF+MF P	1450	2g	2.9

4.3.4. F metabolizması

F, biyokimyasal döngüde yer alması nedeniyle organizma için önemli bir elementtir (46, 144).

F'in vücuda girişi genellikle sindirim sistemi yoluyla bağırsaklardan gerçekleşir. F bileşikleri insan ve hayvanlarda gastrointestinal sistemden hızlı ve etkili bir şekilde emilir. F'in bağırsaklardan emilimi basit difüzyonla gerçekleşir. F alımından kısa bir süre sonra kan F düzeyi hızlı bir şekilde yükselmeye başlar ve 30-60 dakika içinde pik plazma seviyesine ulaşır. F'in doğada bileşikler halinde bulunması nedeni ile serbest radikal formunda sindirimi söz konusu değildir. Yiyeceklerle birlikte sodyum F formunda alınan F'in emilimi gecikir ancak vücuda alınan toplam F miktarını değiştirmez. F'in kanda izlenmesi ile birlikte, F'in emilim hızı ile ilgili fikir yürütülebilir. Çözünebilen oral NaF alımını takiben, F'in %90'dan fazlası duodenum ve üst jejunumdan basit diffüzyon ile absorbe edilir. İnce barsak çok daha fazla absorpsiyon kapasitesine sahiptir. İntestinal absorpsiyon mekanizması ve absorpsiyon oranı gastrik asiditeye ve kısmen de F'in çözünübilirliğine bağlı olarak artar. Mide lümeninin asidik ortamına giren F çoğunlukla iyonik forma dönüşerek gastrik mukozadan geçer (23, 47, 144).

Magnezyum, kalsiyum ve alüminyum ile birlikte F alımı intestinal absorpsiyon miktarını azaltmaktadır. Oral yoldan alınan F'in, biyoyararlanım düzeyi beraber alındığı gıdalar ile yakından alakalıdır. F bileşiği aç karnına alındığında plazma pik konsantrasyonuna 30 dakika içinde, yemekten 15 dakika sonra alındığında 1 saat sonra ulaşır. Gıdalar ile alındığında plazma pik süresi ile birlikte plazma pik konsantrasyonu da azalarak etkilenir (47, 22, 144).

F metabolizması absorpsiyon, dağılım ve eliminasyon aşamalarını içerir. F bileşikleri, oral yolla alındıktan sonra gastrointestinal sistemden hızla absorbe olarak tüm organizmaya dağılmak üzere plazmaya taşınır. Plazmada bulunan F hem sert hem de yumuşak dokulara dağılırken, bu dokulardan da plazmaya F geçişi de söz konusudur. F'in plazmadan eliminasyonu ise temel olarak böbrekler yolu ile olmaktadır (22, 23, 36, 47).

Zamana göre F eğrisi incelendiğinde ise F farmakokinetiğine ait 3 ayrı faz tanımlanmaktadır.

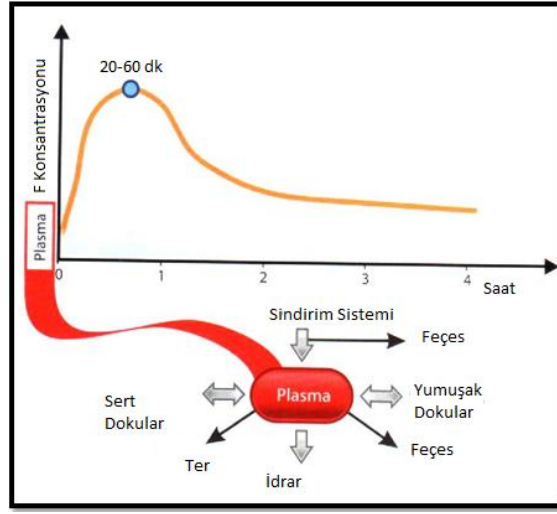
1. Ani yükseliş
2. Yaklaşık bir saat civarından meydana gelen düşüş
3. Sonrasından F düzeyinde yavaşlayan azalma

Bu 3 faz aynı zamanda F'in oral yol ile alındıktan sonraki absorpsiyon, dağılım ve eliminasyonunu ifade eder ve farmakokinetik modeli oluşturur. F metabolizmasının absorpsiyon ve dağılım aşaması oldukça hızlıdır fakat eliminasyonu oldukça yavaştır (23, 47, 144).

4.3.4.1. Plazmada F

F bileşiğinin, fiziksel, kimyasal özellikleri ve çözünürlüğüne göre organizmaya alınan F, farklı miktarlarda absorbe edilir ve sistemik dolaşıma katılarak vücuda dağılır. F, plazmada iyonik ve non-iyonik olmak üzere iki temel formda bulunur (2). İyonik ve noniyonik formlardaki F'in tamamına total plazma F denir. Kanda, organik ya da inorganik formdaki F iyonu, plazma ve kan hücreleri arasında dağılım göstermektedir. Sağlıklı bireylerde, içme suyu F konsantrasyonları ile plazma konsantrasyonları arasında korelasyon bulunmaktadır. F plazmada $\mu\text{M/l}$ olarak bulunurken içme suyunda mg/l olarak tespit edilir. Oral yoldan F alımından sonraki birkaç dakika içerisinde, plazma F değerleri artmakta ve 20-60 dakika içerisinde en yüksek değerine ulaşmaktadır. Plazma F düzeyleri çok çeşitli faktörlerden de etkilenmektedir. Bunlar arasında alınan F miktarı, F absorpsiyonu ve plazmada dağılım hacmi, kemik gelişiminin aşaması, kemik çözünürlüğü, iyonun böbrekler ve iskelet sisteminden eliminasyonu sayılabilir. Oral yol ile alınan F, plazmadan dağılarak kemik ve diş gibi kalsifiye dokulara geçer ve hızla birikir. Plazma F konsantrasyonu, kemik havuzundan gelen F miktarı ile de etkilenebilmektedir. Plazmada tespit edilen F değerleri vücuda alınan toplam F'in miktarıyla ilgilidir. F'in dokularda mevcut olan miktarı homeostaz ile belirlenmemektedir. İçme sularında $< 0,1$ ppm gibi düşük değerlerde F içeren bölgelerde ortalama plazma F düzeyinin $0.4 \mu\text{mol/l}$ ($7.5 \mu\text{g/l}$) olduğu tespit edilmiştir. İçme sularındaki oran $0.9-1.0$ ppm olduğu zaman plazma düzeyinin yaklaşık $1 \mu\text{mol/l}$ ($19 \mu\text{g/l}$) olduğu gözlenmiştir. F'in

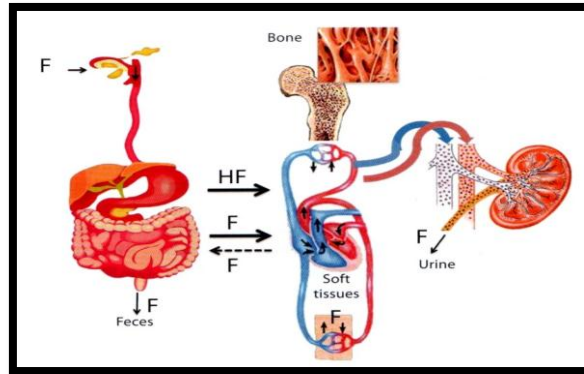
plazmadaki yarılanma ömrü farklı bireylerde farklı süreler göstermesine rağmen bu süre 2-9 saat olarak kabul edilmektedir (23, 47).



Şekil 6: Az miktarda F alımından sonra tipik plazma F konsantrasyon eğrisi (23).

4.3.4.2. F eliminasyonu

Sindirim ve solunum yolu ile vücuda alınan F vücuttan ter, feçes, saç, cilt, tükürük, anne sütü ve idrar yolu ile atılır. En önemli atılım yolu idrardır. Alınan günlük F dozunun %40-60' ı ortalama 5 saat içinde idrarla atılmaktadır. Renal tübüllere girdikten sonra F değişik konsantrasyonlarda tekrar emilerek sistemik dolaşıma katılır, renal tübüllerden tekrar absorbe edilen F miktarı, pH ve renal akışa bağlı olarak %10-90 oranları arasında değişiklik göstermektedir. Dolaşım sistemine katılmayan bölümü ise idrar yolu ile atılır. F atılımı diyetin içeriği ile belirlenen üriner pH ile ilişkilidir (23, 47, 144).



Şekil 7: F metabolizmasının genel özellikleri (23).

4.4. F Toksisitesi

Tek seferde yüksek dozda F alımı akut F toksisitesine, optimal dozun üzerinde uzun süre fluroid alımı ise kronik F toksisitesine neden olmaktadır (23,47, 97, 145).

4.4.1. Akut F toksisitesi

Akut F toksisitesi tek seferde yüksek doz F alımı sonucu oluşmaktadır (23, 36, 47). F elementi için akut toksik doz 1-5 mg/kg arasındadır ve 15-30 mg/kg dozları ile meydana gelen F zehirlenmeleri ölümlle sonuçlanabilir (66, 69).

Akut F zehirlenmesinde aşırı miktardaki F alımı sonucu ortaya çıkan bu belirtiler, bulantı, kusma, ishal, baş dönmesi, hipersalivasyon, karın ağrısı şeklinde ortaya çıkmaya başlar. Hafif seyreden zehirlenme tablolarında bu semptomlar genellikle 24 saat içerisinde kaybolur. Aşırı seyreden olgularda ise, bu semptomlara kardiyak aritmi ve koma tablosu eşlik eder. F'in sinir dokularına olan etkileri, konvülziyonlar, görme bozukluğu, parestezi, optik nörit, bilinç değişikliği olarak tanımlanabilmektedir (23, 47, 69).

Akut F zehirlenmesinde ortaya çıkan en ciddi bulgular, solunum sistemi ile ilgili olarak meydana gelmektedir. Solunum başlangıçta uyarılırken daha sonra depresyon gelişir. Laringeal ya da pulmoner ödem meydana gelebilir. Alınan F dozuna bağlı olarak solunum sistemi ile ilişkili bulgular 30 dakika içerisinde bile ortaya çıkabilir (47, 69). Akut F zehirlenmesi esnasında bireylerde meydana gelen patofizyolojik değişimler şu şekilde sıralanır:

- Ani hipokalsemiye bağlı kalp ve adale fonksiyonları ile pıhtılaşma mekanizmalarında bozukluklar.
- F'in mide içerisinde oluşturduğu hidrojen Fe bağlı gastrointestinal sistem yan etkileri.
- Kas ve sinir doku üzerine direkt etkileri ile nörolojik semptomlar.
- Anaerobik glikoliz enzimlerini, kolinesteraz fonksiyonunu, magnezyum ve çinko içeren enzimleri etkileyerek doku solunumunda bozulmalar.
- Damarlardaki düz kasların etkilenmesi sonucu ortaya çıkan vasomotor bozukluklar (23, 47).

4.4.2. Kronik F toksisitesi

Kronik fluroid toksisitesi optimal dozun üzerinde uzun süre F alınmasıyla ortaya çıkmaktadır. Kronik fluorozis uzun dönemde aşırı miktarda F tüketimine bağlı dünya üzerinde pek çok bölgede yaygın olarak görülür ve insan sağlığı için tehlike yaratmaktadır (5, 8, 16, 17, 22, 23, 33, 143). Yüksek miktarda F'e maruz kalmak endemik bölgelerde tüketilen doğal olarak içme suları ve bu bölgede yetişen meyve ve sebzelerin tüketimi ile endüstriyel bölgelerde F içeren ilaç ve dental ürünlerin hatalı kullanılması sonucu oluşabilmektedir (4, 46, 47, 49). WHO sulardaki F değerini 1,5 ppm olarak belirlemiştir. Bu değer üzerindeki F miktarlarında sert ve yumuşak dokularda fluorozisin etkileri görülebilmektedir (48, 143, 146).

F diş ve kemik dokularında birikir aynı zamanda beyin, böbrek, karaciğer ve diğer dokulara dağılarak metabolik bozukluklara neden olmaktadır (14, 55, 56, 57, 65, 71, 77, 141, 142, 149).

Kronik olarak sistemik F alımının vücuttaki en önemli etkileri, hücreler için gerekli olan temel enzimlerin inhibisyonu ile mineralize dokular üzerinde meydana gelmektedir (7,46). F'in kronik toksik etkileri sert dokularda dental fluorozis ve iskeletsel fluorozis olarak görülmektedir (5, 32, 33, 37, 86, 89).

Kronik olarak optimal dozun üzerine F alımı neticesinde ortaya çıkan fluorozis tablosunun primer bulgular dişlerde görülen lekeler ve iskelet sisteminde izlenen osteosklerozisdir (32, 33, 87, 89, 143). Dental fluorozis tablosunda ortaya çıkan dişlerdeki lekeli mine görüntüsü, kronik F intoksikasyonunun en erken belirtilerinden birisidir (6, 8, 47).

Kronik olarak uzun süreli F alımında iskelet sistemi etkilenir ve metabolik bir kemik ve eklem hastalığı olan iskeletsel fluorozis tablosu ortaya çıkar (6, 8, 86, 49, 96).

İskeletsel ve dental fluorozis tablosu temel olarak F'li içme suyu kullanımı ya da mesleki nedenlerle yüksek dozlarda F'e kronik olarak maruz kalma ile meydana gelen, büyüme gelişim dönemine göre tüm vücudu değişik derecelerde etkileyen patolojik değişikliklerdir (33, 91, 47, 49, 46).

Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda sert dokular dışında beyin, böbrek, karaciğer, endokrin bezler (hipofiz, tiroid ve paratiroid), testis ve sinir dokusunu

içeren yumuşak doku ve organlarda da kronik fluorozisin neden olduğu metabolik, fonksiyonel ve yapısal hasarlar bildirilmektedir (2, 3, 11, 13, 14, 26, 41, 53, 55,59, 101, 131).

4.5. Sert Dokular Üzerine F'in Etkisi

4.5.1. Dental fluorozis

Dental fluorozis, dişlerin gelişimi aşamasında, optimal dozun üzerinde F alımına bağlı olarak, ameloblastlarda mine formasyonunun zarar görmesi sonucu ortaya çıkan bir tür mine hipoplazisidir (6, 84, 88, 89, 110, 137).

Aşırı miktarda F alımına bağlı olarak gelişen, dişlerde tebeşirimsi beyaz veya kahverengi lekelenmeler ve diş dokusu üzerinde farklı genişlikte çukur alanlar şeklinde kendini gösteren dental fluorozis, önemli estetik sorunlara yol açmaktadır (30, 32, 33, 84, 86).

F'e bağlı minede meydana gelen değişiklikler ilk defa Black ve Mackay tarafından 1916 yılında tanımlanmıştır. Mine yüzeyinde görülen lekelenmelerin bireylerin eser elementlere maruz kalması sonucu meydana gelebileceğini öne sürmüşlerdir. 1931 yılında yapılan birbirinden bağımsız birçok laboratuvar çalışmasında diş yüzeylerinde lekelenmelerin görüldüğü bireylerin yaşadığı bölgelerdeki içme sularında bulunan eser elementlerin miktarları karşılaştırılmıştır ve içme sularında yüksek oranda F tespit edilmiştir (47).

Yapılan bu çalışmaları takiben Dean 1934 yılında bir fluorozis indeksi geliştirmiştir. Dean ve arkadaşları 1941 ve 1942 yıllarında yaptıkları epidemiyolojik çalışmalarda içme suyundaki optimal F miktarı ile ilgili önerilen doz ile sonuçlanan dental fluorozis derecesi ve içme suyundaki F miktarı arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir (31).

Dental fluorozisin, daha sıcak iklim bölgelerinde yaşayan bireylerde tüketilen su miktarının fazla olmasına bağlı yüksek oranda F'e maruz kalınması sonucu meydana geldiğini öne sürmüştür (47).

1980 yıllarında içme sularında değişik seviyelerde F varlığında dental fluorozis prevalansını tespit etmek amacıyla pek çok epidemiyolojik çalışma yapılmıştır. Bu

çalışmalar ile 1940 yıllarında Dean ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar karşılaştırıldığında hafif ve çok hafif dental fluorozis görülme sıklığı artmıştır. (31). Endemik olmayan bölgelerdeki toplumlardaki bu artış merak uyandırmıştır. Yapılan araştırmalarda F tüketiminin 1940 yılından bu yana içme suyundaki F'in dışında diğer F alım kaynaklarıyla nedeniyle de arttığı bildirilmiştir. Diğer F kaynakları olarak çok erken diş macunu kullanımı, F tabletlerin kullanımı, uzun süreli bebek maması kullanımı tanımlanmıştır (24, 33, 47, 66, 69, 75, 97).

Dental fluorozis, dünyanın çeşitli bölgelerinde endemik olarak rastlanan ve dişlerde estetik problemlere yol açan bir olgudur. Son zamanlarda, F içerikli çeşitli yiyecek ve içeceklerin ve diş hekimliğinde kullanılan F içerikli preparatların kullanımındaki artışın da, pek çok ülkede dental fluorozis olgusunun daha sık görülmesine yol açtığı bildirilmektedir (33, 47,48).

Dental fluorozis, esas olarak mineyi etkilemekte ve dış mine ve iç mine tabakasında hipomineralizasyon şeklinde bir mineralizasyon bozukluğu sonucu meydana gelmektedir. Aşırı miktarda F alımı sonucu, mine yüzeyinde normal mineye göre daha fazla porozite ile karakterize mine hipomineralizasyonudur. Hafif fluorozis olgularında minede beyaz opak bantlar söz konusuysen, daha şiddetli olgularda, mine çukurcuklu ve kırılğan bir yapı gösterir (30, 32, 33, 47, 48,). 2 yaşından küçük çocuklarda F'li diş macunu ile fırçalama fluorosis prevelansı ve şiddetinde arttırdığı bildirilmiştir (88). Levy ve ark. (75) çocuklarda doğumdan 8 yaşına kadar olan zamanın dental fluorozis oluşumu açısından en hassas dönem olduğunu bildirmişlerdir.



Resim 2: Dental fluorozis görüntüsü.

Dental fluorozisin şiddeti alınan F dozuna ve dişin etkilendiği dönemdeki gelişim evresine bağlı olarak değişkenlik gösterir (88, 89). Fluorozisli dişlerde dış mine tabakasının yüksek miktarda F minenin en dışta yer alan 200 µm'lik bölümünde mevcut olduğu belirtilmiştir (47, 48).

Ekstrand ve ark. F yoğunluğunun dişlerin tüm alanlarında aynı olmadığını ve en fazla F yoğunluğunun minenin dış mine tabakasında yer aldığını, minenin altındaki tabakalarında ve mine dentin sınırında F yoğunluğunun daha az olduğunu göstermişlerdir (47).

4.5.1.1. Dental fluorozis klinik bulguları

Fluorozisin klinik şiddeti, alınan konsantrasyonu ile ilişkili olarak değişir. Fluorozisin en hafif tipinde, diş yüzeyi kurutulduğunda mine yüzeyinde horizontal beyaz çizgiler görülür. Daha fazla etkilenen dişlerde ise, çizgiler daha belirgin ve geniş bir yapıya dönüşür. Bu çizgiler nadiren birleşerek grimsi veya opak beyaz, yamalı ve düzensiz alanlar oluşur. Fluorozis şiddeti arttıkça, düzensiz opak alanlar birleşerek, diş yüzeyi tebeşirimsi beyaz bir görünüm alır. Ağır vakalarda, mine yüzeyi korozyona uğramış gibi görünmektedir (23, 42) Fluorozisli dişlerde morfolojik yapı anomalisinin bulunmamasına karşın, dişlerin abrazyona karşı direnci azaldığından, bazen aşınarak morfolojik yapıları değişebilmektedir. Fluorozisli dişlerde, organik yapı fazla olduğundan, sürme sonrasında, dişler renklenerek değişik şiddette sarı-kahverengi renk değişikliği gözlenir (47, 48, 133).

4.5.1.2. Dental fluorozis sınıflaması

Günümüzde, Thylstrup-Fejerskov İndeksi (TFI), yüksek oranda güvenilirliği ve Dean İndeksi' ne göre çok daha yüksek olan duyarlılığı sebebiyle çok sık kullanılan bir fluorozis indeksidir (23, 47).

Dean Sınıflaması

Dean' in 1934 yılında, bireyleri 0' (normal) dan 4' (şiddetli) e kadar farklı derecelerle farklı kategorilerde sınıflandırdığı fluorozis indeksidir. Bu indeks daha

sonraları modifiye edilmiş olup, Dean' in ılımlı dental fluorozis formlarında tüm diş yüzeyinin etkilendiğini gözardı ettiği, ' çok hafif ' ve ' orta ' fluorozis derecelerini etkilenen diş yüzeylerine dayanarak yaptığı ve Dean' in ' şüpheli ' fluorozis derecesinin karışıklığa yol açabileceği şeklinde eleştiriler almıştır. Bu nedenle indeks ' açık ve net değil ', ' yeterince hassas değil ' şeklinde nitelendirilmiştir.

Dental fluorozisin Dean İndeks' ine göre sınıflandırılması:

- Normal (0) mine normal translusent tipik yapısındadır. Yüzey düz, parlak, soluk kremi beyaz renkte.

- Şüpheli (0.5) Mine normal translusent görüntüsünden biraz değişmiştir, yer yer birkaç beyaz leke görülebilir. Bu skor mineye normal görüntüsünden şüphe edilirse verilir.

- Çok hafif (1) Diş boyunca yayılmış küçük opak kar beyazı bölgeler ve dişin % 25' inden az alan kaplıyor. Bu genellikle premolarların ve ikinci azıların tüperkül tepelerinde görülen beyaz opasiteler şeklindedir.

- Hafif (2) Beyaz mine opasiteleri çok yoğun değildir fakat dişin %50' sine yakın alanını kaplar.

- Orta (3) Tüm diş yüzeyi etkilenmiştir. Aşınma sonucu yüzeyde atrizyonlar vardır. Az miktarda kahverengi lekelenmeler görülür.

- Şiddetli (4) Eskiden az şiddetli ve şiddetli diye ayrılırdı tüm mine yüzeyi etkilenmiştir. En belirgin diagnostik işareti mine yüzeyinde çukurcuklar olmasıdır. Kahverengi lekelenme yaygındır ve dişte korozyona uğramış izlenimi vardır (23, 47).

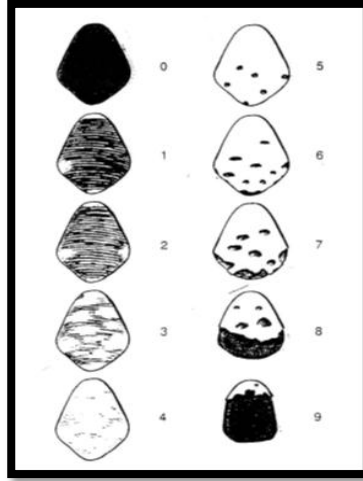
Dean indeksi dental fluorozisin estetik görünümü üzerinde durmaktadır. Dean indeksinin, sularında yüksek F içeren (3 ppm ve üzeri) bölgelerdeki dental fluorozis şiddetinin farklı görünümünü ayırmada başarılı olmadığı ve yetersiz kaldığı bildirilmektedir. F konsantrasyonunun yüksek olduğu bölgelerde geniş bir aralıkta yer alan fluorozis formları, Dean indeksinde sadece iki kategoride, orta ve şiddetli olarak değerlendirilmektedir (23, 47).

Thylstrup Fejerskop (TF) Sınıflaması

Thylstrup ve Fejerskov tarafından, Dean'in Dental Fluorozis İndeksi'ni modifiye etmek ve genişletmek amacıyla 1978 yılında geliştirilmiştir. Yüksek F oranlarına sahip bölgeler için daha hassas bir sınıflama sistemi oluşturmak amaçlanmıştır. Dental fluorozisin biyolojik etkilerine dayanmaktadır. Bu indekste bireyler fluorozisin gözle inceleme derecesine göre histolojik görünümüleriyle ilişkili olarak on kategoride sınıflandırılmaktadır. Orijinal sınıflamada bukkal, okluzal ve lingual yüzeyler incelenmektedir. TF indeksi Dean indeksiyle karşılaştırıldığında, çok daha hassas ve tekrar edilebilir olduğu rapor edilmiştir. Dean' in ' şiddetli ' kategorisi bu indekste 5 kategoriye ayrılmaktadır (23, 47).

Dental fluorozisin, Thylstrup-Fejerskov indeksine göre sınıflandırılması (Şekil 8).

- TF indeks 0: Kurutulduktan sonra parlak, şeffaf, normal mine görünüm.
- TF indeks 1: Diş yüzeyi boyunca devam eden ince beyaz opak çizgiler.
- TF indeks 2: Belirgin opak çizgiler, kesici kenarlar ve tüberküllerde karlı tepe görüntüsü.
- TF indeks 3: diş yüzeyinde yaygın opak bulut formunda sahalar.
- TF indeks 4: Tüm diş yüzeyi belirgin opaziteler.
- TF indeks 5: Tüm yüzeyde opak, minenin lokal kaybına bağlı 2mm' den küçük çukurcuklar.
- TF indeks 6: Çukurcukların yüksekliği 2 mm' den az olan bantlar şeklinde birleşmesi.
- TF indeks 7: En dıştaki minenin kaybı ve yüzeyin yarıya yakının etkilenmesi.
- TF indeks 8: Yüzeyin yarısından fazlasının mine kaybı. Kalan sağlam mine opaktır.
- TF indeks 9: Dıştaki minenin büyük oranı kaybı ve dişin bozuk anatomik şekli. Kalan diş koyu kahverengi renklenmeler gösterir.



Şekil 8 : Thylstrup-Fejerskov Dental Fluorosis indeksi (47).

Diş Yüzey Fluorosis İndeksi (Tooth Surface Fluorosis Index)

1984’ de Horowitz tarafından ortaya konulan bu sistemde, restore edilmemiş her diş yüzeyi için bölümlü bir değer verilmektedir. Muayene öncesinde diş yüzeyleri kurutulmamaktadır. Bunun nedeni de dişlerin doğal hallerinin değerlendirilmesidir. Ön dişler için iki değer (labial ve lingual yüzeyler için), arka dişler için de üç değer (bukkal, lingual ve okluzal yüzeyler için) belirlenmiştir. TSIF, yüzeye özel bir fluorosis belirleme yöntemi olduğu için, toplumsal sağlık etkilerini belirlemede daha uygun olduğu düşünülmektedir. F seviyesinin çok yüksek olduğu bölgelerde, Dean indeksinin eksikliğini gidermek amacıyla TSIF kullanılmaktadır. Bu nedenle TSIF’ in, olguyu tanımlamak için estetiğin temel alındığı çalışmalarda ve risk faktörlerinin tanımlandığı durumlar ile dişlerin temizlenemeyip kurutulamadığı durumlarda kullanılmasının uygun olacağı bildirilmiştir (23, 47, 48).

Fluorosis Riski İndeksi

Pendrys tarafından analitik epidemiyolojik çalışmalarda kullanılmak üzere geliştirilmiş bir indekstir. Yaş ile ilişkili F kaynaklarından etkilenme ile dental fluorosis gelişimi arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu indekste daimi dentisyonda mine yüzeyleri iki gelişimle ilişkili yüzey bölgesi grubuna bölünmüştür.

Sınıf I' e yaşamın 1. yılında oluşuma başlama, Sınıflama II' ye ise yaşamın 3-6. yılları arasında oluşuma başlama dahil edilmiştir. Yaşamın 2. yılında oluşuma başlayan mine yüzeyleri iki sınıflamaya da dahil edilmemiştir. Bu, iki sınıflama grubuna dahil olan mine yüzeylerini birbirinden tamamen ayırabilmek için yapılmıştır. FRI mine fluorozisi için risk faktörlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır (47).

4.5.1.3. Dental fluorozis patogenezi

Uzun zamandan beri F'in mine matriksinin kompozisyonunu değiştirdiği ve bunun sonucunda değişmiş kristal büyümesi olduğu düşünülmektedir. Ultrastrüktürel çalışmalar göstermiştir ki F enjeksiyonlarının arkasından salgılanan matriks daha amorf ve çizgilidir, ve normal mine matriksiyle kıyaslandığında dağınık yerleşmiş kristaller ve artmış kristaller arası boşlukları vardır. Daha şiddetli vakalarda prizmatik iç mine dokusunda prizmasız mine bulunmaktadır. Bu bölgelerde F yükseldiği prizmatik mine yoğun olarak kesintiye uğramıştır ve prizmasız mine oluşmuştur. F etkisi geçtikten sonra prizmatik mine oluşmaya devam eder (21, 22, 152, 154).

Fluorozisli salgısal matriksin biyokimyasal analizleri matriks proteinlerinin içeriğinde veya kalitesinde değişiklikler tanımlamamıştır. Bundan başka organ kültürlerindeki işleve yönelik çalışmalar göstermiştir ki fluorozisli matriks de mineral oluşturma kapasitesine sahiptir. Bunu F'in uzaklaştırılmasını takiben iyileşme ile oluşan mine de in vivo görmekteyiz. Plazmadan F kleransına benzer şekilde kültür ortamındaki F uzaklaşması ameloblast yapısını restore eder ve fluorozisli matriks içinde kristal oluşumunun başlamasına izin verir.

Çalışmalar göstermiştir ki F amelogenin proteinlerine direkt olarak bağlanmaz fakat muhtemelen protein matriks içinde bulunan kalsiyuma bağlanır. Reversibil olsa dahi bu bağlantı matriksin yönlendirdiği kristal büyümesini değiştirebilir. F düzeyi düşünce Fide matriksteki kalsiyuma bağlanmaz ve normal kristal büyümesi oluşur.

Birçok çalışma F'in matriks proteinlerinin çözülmesini engellediğini ve kristal büyümesini inhibe ettiğini ileri sürmektedir ve aşağıdaki mekanizmalar öne sürülmüştür:

1- F, matriks proteinlerinin degradasyonunu ameloblastlar tarafından açığa çıkarılan proteaz enzimlerini azaltarak düşürmektedir.

2- F direkt olarak ekstraselüler matriks içindeki proteaz aktivitesini etkilemekte ve matriks degradasyonunu önlemektedir. Bazı çalışmalar ise bu etkinin olmadığını göstermiştir.

3- F matriks proteinlerine bağlanan mine kristallerinin adsorbsiyon karakteristiklerini, yüzey alanını veya yüzey özelliklerini değiştirmektedir. Bu onların proteolitik degradasyonunu etkileyerek matriks retansiyonuna neden olabilmektedir.

4- F proteaz aktivitesi için gerekli olan ve mine sıvısında bulunan kalsiyum miktarını düşürmektedir.

5- F ameloblastlar tarafından yönlendirilen matriksin endositozunu ve hücre içi degradasyonunu bozmaktadır.

6- F apoptozisi arttırmakta veya ameloblastik tabakadan göç eden olgun ameloblastların bazılarını stimüle etmektedir.

Bu mekanizmalar, maturasyon safhasındaki ameloblastların sayısını düşürür ve bu nedenle matriksin degrade olması, ortadan kalkması ve mineralizasyonun tamamlanma kapasitesini azaltır. Bu faktörlerin her biri fluorozisin oluşumu için kanıt olarak gösterilmiştir ancak mine gelişiminin bu bozukluğunun altında yatan temel moleküler mekanizmanın hangisi olduğu belirsizliğini korumaktadır (21, 47, 79, 80, 81, 113).

Amelogenezde kalsiyum F'in etkisinin yönlendirilmesi

Birçok çalışma, F ile kalsiyum arasındaki dinamik ilişkiye işaret eder ve kalsiyum biyo-varlığı ile fluorozis arasında bir ilişki olduğunu iddia etmektedir.

Kalsiyumun sekresyon fazındaki ameloblastlar üzerine etkisinin iki türlü olduğunu ileri sürmektedir.

1- Ameloblastlar tarafından amelogeninlerin sentezlenmesi ve salgılanmasını yüksek amelogenin sentezinin yüksek kalsiyum miktarı ile bağlantılı olmasıyla düzenlemektedir.

2- Kalsiyum varlığı ayrıca depolanan mine tabakasındaki kristal büyüme için mineral iyonlarını sağlamada hücre içi kalsiyum geçişini artırır. Bu verilerin ışığında

amelogeninlerin mineralize olmamış fluorozisli matriks oluşmasına karşı korunduğu ve F varlığında bile matriksin mineralize olmasını sağladığı ileri sürülmüştür. Bu gözlemler ile denilebilir ki kalsiyum ve onun matriks sekresyonu dahil ameloblastlar üzerine etkisi F'in temel mekanizması olabilir ve ayrıca fluorozisli mine oluşumunu kalsiyum, F'e ve amelogenin arasındaki ilişkilere bağlı olabilir (130).

Kalsiyum ve amelogeninin F üzerine etkileri asıl şu şekilde açıklanabilir. Fluorozisli matriksteki yeni kristaller oluşmamasının bir hipotezi başlangıçtaki mineralizasyonda hızla kalsiyum tüketimine bağlı olarak ortamda kalsiyum eksilmesidir. Sekresyon fazındaki ameloblastların yapısı ortamdaki kalsiyum miktarının düşmesinden nispeten düşük F'li ortama göre daha az etkilenmektedir. Bu bulgu sekresyon safhasında F'in etkisine bağlı lokal hipokalseminin daha etkin olduğunu göstermektedir.

Diğer bir hipotez ise amelogeninlerin koruyucu etkisini dikkate almaktadır. Burada amelogeninler F bağlanır ve böylece kristallerdeki F'in etkisini tamponlar. Aslında amelogeninler direk olarak bağlanmazlar. Bu etki sadece amelogenin tarafından yönlendirilmiş kalsiyum bağlanması ile olabilir.

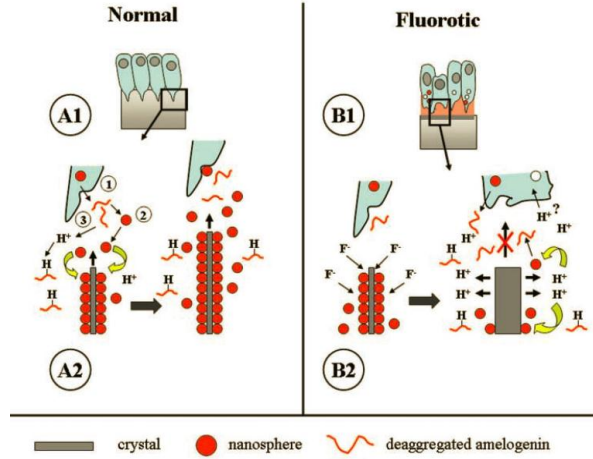
Üçüncü bir hipotez de F'e bağlı değişikliklerin önlenmesinde amelogeninin koruyucu etkileridir. Burada da amelogeninler F'in mine formasyonunu arttırdığı bölgedeki pH'ı düzenler. Bu hipotezdeki temel nokta F'in mineral birikimini direk etkileyerek ve yüksek kalsiyum fosfat oranı ile hidroksiapatit içindeki okta kalsiyum fosfat hidrolizini çoğaltarak ortamdaki mine kristallerinin büyüme oranını arttırmasıdır. Bu proses sonucunda fazla miktarda proton üretilir ve mine matriksinin tamponlama kapasitesinin üzerine çıkılarak asidik bir matriks ortamı oluşturur ki bu da mine oluşumunda matriks hücre etkileşim dinamiklerini tamamen değiştirebilir (22) (Şekil 10).

F' nin etkilerini düzenlemede amelogeninin tamponlama etkisinin rolü

Apatit kristal oluşumu sırasında yoğun miktarda protonlar oluşur ve bu protonların nötralle edilmesi gerektir. Eğer amelogenin tamponlama sistemi ($10 \text{Ca}^{2+} + 6 \text{HPO}_4^{2-} + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 8 \text{H}^+$) ortamda yoksa veya satüre ise F'e bağlı pH düşmesi amelogeninin üçüncül yapısını değiştireceği ve fonksiyonunu

etkileyeceği düşünülmektedir. Nötral pH' da amelogeninler nano büyüklüğünde küreler oluşturur. Bunlar sekresyon fazında özellikle kristal yüzeyleri kaplarlar ve kristaller arasını oluşturan moleküller şeklinde davranırlar. Amelogeninler tarafından kaplanan bu seçilmiş bölgeler kristallerin uzunlamasına büyümesini (C- aksı boyunca) sağlarlar ve lateral olarak kristallerin birleşmesini önlerler. Bu nano kürecikler pH 6 ile 8 arasındaki değişimlere aşırı derecede hassastır. Nötral pH' da büyük çökelti oluştururlarken pH 6' ya düşüncü küçük parçalara ayrılırlar bu da matriks sıvısını oluşturur (Şekil 9). Bu nedenle hipermineralizasyon ve takip eden pH düşmesinden sonra amelogeninin üçüncül yapısı etkilenir ve hipomineralizasyon oluşur. Bu da sekresyon safhasındaki minenin F'e bağı çift cevaplı yapısının ikinci parçasıdır (21, 118).

Düşük düzeyde plazma F olduğu durumlarda sekresyon safhasındaki minenin matriks dokusunda bu etkiler küçük olur çünkü mineralizasyon bölgesinde hipo ve hiper mineralize çizgileri oluşturan günlük döngü azdır. Bu anlatılan model ameloblastların neden erken ve geç sekresyon döneminde F'e daha hassas olduğunu açıklayabilir. Erken sekresyon döneminde amelogenin sentezi minimaldir. Aprizmatik mine oluşur. Burada birçok olgunlaşmamış küçük boyutta kristal mevcuttur. F varlığında bu nispeten büyük mineralize alan daha fazla mineralize olur ve sonuçta pH daha hızlı düşer. Aynı şekilde geç sekresyon döneminde amelogeninler hidrolize olurken F ve kalsiyum hızla poröz mineye diffüze olur. Kalsiyum ve F'e infüzyonu geç dönem sekresyon safhasındaki kristal oluşumunu aynı şekilde hipermineralize olmasına neden olabilir. Her iki safhada da düşük amelogenin miktarı aşırı protonların tamponlanması için uygun bir ortam değildir.



Şekil 9: Mine dokusunda fluorozisin önerilen moleküler mekanizması:

(A) F olmayan şartlarda erken sekresyon amelogenezis safhası. (A1) Işık mikroskobu seviyesi: Kutuya alınan bölge A2' de büyütülmüştür ve moleküler seviyedeki kristal oluşumunu göstermektedir. (A2) Tomes uzantıları (1) amelogeninleri içeren salgı veziküllerini salgılar. Nötral pH' da burada basitçe iplik şeklinde çizilen amelogeninler nanoküreler (2) oluştururlar ve gelişmekte olan kristallerin yüzeylerine yapışırlar. Böylece kristallerin tercihen genişlemesine değil uzunlamasına büyümesini teşvik ederler. Amelogeninler protonlarsa bağlanıp onları nötralize ederler (3).

(B) F varlığında sekresyon safhasında amelogenezisin bozulması. (B1) Işık mikroskobu seviyesi: Kutuya alınan bölge B2' de büyütülmüştür. (B2) F birincil olarak kristalleri kalınlamasına büyütür. Bu çift cevabın ilki olan hipermineralize tabakayı oluşturur. Hızlanmış mineral birikimi hızla proton üretimini artırır ve bu ortamda yeterince bulunmayan amelogeninler tarafından tamponlanamaz. Asidik pH' daki amelogenin nanoküreleri çözülürler ve kristal yüzeyden uzaklaşırlar, ayrıca düşük pH' da yeni salgılanan matriks nanoküreler üretmez ve monomerik şekilde sıvı halde kalırlar. Böylece asidik pH' da istenen uzunlamasına kristal büyümesi kaybolur ve yeni salgılanan matriks nötralize olana kadar kristal büyümesini teşvik edemez. Bu çift cevabın ikincisi olan hipomineralize bir tabakanın oluşmasına neden olur. Ayrıca matriksteki F'e bağlı değişiklikler ameloblast hücre fonksiyonunu da değiştirir (21).

4.5.2. İskeletsel fluorozis

Kronik olarak uzun bir dönem yüksek dozda F'e maruz kaldığı zaman ortaya çıkan şiddetli kemik deformiteleri ile karakterize bir hastalıktır (47, 135). F'in uzun zaman dilimleri boyunca özellikle büyüme gelişim dönemlerinde oral yol ile kronik olarak alımı, iskeletsel dokularda F tutulumuna ve patolojik kemik formasyonlarına yol açar (23, 47, 48). Gelişmekte olan mineralize dokulardaki F tutulumu intra uterin

hayatta başlar. Kemik yapı meydana gelirken doku oldukça vaskülarizedir ve F, doku sıvısı ile oldukça kolay taşınır. Fluorozisten en çok etkilenen kemikler, hızlı büyüyen, metabolik olarak daha aktif olan kemiklerdir. Aktif kemik formasyon aşaması sırasında kemik kristalleri gelişmektedir ve toplam F alım oranı oldukça yüksektir (129).

İskeletsel fluorozis tablosu, genellikle içme suları ya da nadiren endemik bölgelerde yetişen yiyecekler ile organizmaya alınan büyük miktarlardaki F'in neden olduğu kronik metabolik bir kemik hastalığıdır (23, 47).

İskeletsel fluorozis tablosu, osteopeni, osteoporoz, osteoskleroz gibi geniş iskeletsel bulgular ile sakatlayıcı deformiteler, spinal kord kompresyonları ve eklemlerde hipertrofi ve artrite benzer kemik olayları ile karakterizedir (47).

4.6. Yumuşak Dokular Üzerine F'in Etkisi

Akut olarak ya da kronik olarak uzun dönemlerde F bileşiklerine maruz kalınmasının organizmada pek çok sistem üzerine etkileri olduğu bildirilmektedir (13, 14, 18, 53, 73, 104, 105, 131, 142, 150).

Tablo 4: Sıçanların bazı yumuşak dokularında doku-plazma F oranları (47).

Doku	Doku-plazma oranı
Karaciğer	0.98
Akciğer	0.83
Böbrek	4.16
Dil	0.69
Diyafram	0.61
Kalp	0.46
Beyin	0.08
Yağ	0.11
Deri	0.43
Tükürük bezi	0.63

4.6.1. Oksidatif stres ve antioksidan sistem

Oksijen canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılır. Serbest oksijen radikalleri enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup yüksek düzeyde reaktif ve zararlı maddelerdir. Oksijen molekülleri yaşam için vazgeçilmez olmakla birlikte, metabolizma sırasında serbest radikal kaynağı olarak bilinen ve son derece reaktif olan ara ürünler oluşur (14, 67, 87, 93). Reaktif oksijen türleri/metabolitleri olarak da bilinen bu moleküller lipid, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir.

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları nötralize eden antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması beklenir. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralize edilirlerse, hücrede serbest radikaller artar (27). Serbest radikallerin hücrede artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye (oksidatif hasara) ‘ oksidatif stres ’ denir. Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüşümü sırasında meydana gelen reaktif moleküllerdir (67, 117).

UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immünolojik reaksiyonlar, radyasyon, stres, sigara, alkol ve biyokimyasal redoks reaksiyonları gibi pek çok yolla serbest radikal oluşumu gerçekleşebilir. Oluşan serbest radikaller aralarında ateroskleroz, kalp hastalıkları, kanser, serebrovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, akut renal yetmezlik, akciğer hastalıkları, anfizem, bronşit ve alkolik karaciğer hastalıkları gibi yaşlanmaya bağlı dejeneratif bozuklukların da yer aldığı patolojik durumların oluşumuna katkıda bulunurlar (67, 93, 94).

Serbest oksijen radikallerinin eksojen ve endojen olmak üzere iki önemli kaynağı vardır. Eksojen kaynaklar olarak; ultraviyole ışınları, radyasyon, uyuşturucu ve alkol gibi bağımlılık yapan maddeler, ksenobiyotikler gibi bazı yiyeceklerde bulunan çeşitli toksik maddeler, hava kirliliği, hiperoksit, pestisitler, solventler, anestetik maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara dumanı, MTX, cisplatin ve bleomisin gibi antineoplastik ajanlar, katekolamin seviyesini artıran stres durumları; ve elektromanyetik alanlar sayılabilir (67, 117).

Endojen kaynaklar olarak ise; mitokondrial elektron transport sistemi, peroksizomlarda bulunan enzimler, küçük moleküllerin otooksidasyonu; tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidro proteinler, antibiotikler, endoplazmik retikulum ve nükleus membran elektron transport sistemleri (sitokrom p-450), makrofaj gibi fagositik hücrelerin aktivasyonu ile meydana gelen solunumsal patlama, plazma membranı enzimleri (NADPH oksidaz, lipo oksijenaz, prostaglandin sentetaz, lipid peroksidasyonu sayılabilir (67).

Enzimatik antioksidan sistemler

Başlıca antioksidan enzimler; GSH-Px, katalaz ve SOD' dur (56). Katalaz enzimi, glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Özellikle hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ortamlarda etkilidir (70). Okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksiti direkt olarak suya dönüştürür. Bu enzimin aktivitesi, ortamdaki hidrojen peroksit konsantrasyonunun çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki H₂O₂ konsantrasyonunun düşük olduğu hallerde ise hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (GSH-Px gibi) devreye girerek hidrojen peroksiti ortamdan uzaklaştırırlar (67, 117). Katalaz ve GSH-Px enzimleri, benzer etkisi olmasına rağmen hücre içindeki yerleşim yerleri ve etki yerleri bakımından farklılık göstermektedirler. Katalaz enzimi peroksizomlarda daha etkili iken, GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride daha etkilidir.

Süperoksit dismutaz tek bir enzim değil, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksite dönüşmesini katalizleyen enzim grubudur. Süperoksit dismutaz enzimi metal ihtiva ettiği için metaloenzim grubundandır. Hücreyi radikallerin etkisinden koruyan savunma mekanizması arasında SOD enzimi ilk rolü oynar. SOD ile katalizlenen tepkime sonunda oluşan ürünün birikimi CAT enzimi tarafından önlenmektedir (67).

4.6.2. Santral sistem üzerindeki etkileri

Bileşik formundaki F'in kan beyin bariyerini geçerek yüksek dozda kronik F'e maruz kalan sıçanların beyin dokularında biriktiği bildirilmiştir (13, 14).

F'in beyin dokusunda DNA hasarı, oksidatif stres, nikotirik asetilkolin reseptörlerinde azalma gibi nörotoksik etkileri vardır (14, 56, 57, 71, 77).

İçme sularında yüksek F düzeylerine maruz kalan sıçanların spontan motor hareketlerinde azalma olduğu ve kan kolinesteraz düzeylerinin azaldığı dikkat çekmiştir (41). Varner ve ark yaptıkları bir çalışmada NaF ve AlF₃ bileşikleri uygulanan 27 sıçanı 52 hafta boyunca takip etmişler. Beyin dokularında yapılan histolojik ve immünohistolojik değerlendirmeler sonrasında nöronal ve serebral bütünlüğün bozulduğunu bildirmişlerdir. Kantitatif ve kalitatif görülen değişiklikler AlF₃ grubunda NaF grubundan daha fazla, NaF grubunda ise kontrol grubundan daha fazla tespit edilmiştir (134).

4.6.3. Gastrointestinal sistem üzerinde etkileri

NaF olarak organizmaya alınan F, sindirim sistemi üzerindeki temel etkilerini mide asidik ortamında hidroflorik asit formuna dönüşüp gastrik mukoza üzerinde irritasyona neden olarak gösterir. Temelde, F'in etkisinden sonra bulantı, kusma ve karın ağrısı irritasyon nedeniyle ortaya çıkmaktadır (23).

F içme sularında serbest halde bulunur. Organizmaya alındıktan sonra F mide içeriğinin pH' sına bağlı olarak hidrojen iyonları ile bileşik oluşturularak HF şekline dönüşür. HF kolaylıkla gastrik epitele geçebilir, F'in mideden en çok absorbe olduğu formudur. Mukozadan bağırsak sıvısına girerken pH nötrale yaklaşır ve HF, F ve hidrojen iyonlarına ayrılır bu durum mukozada hasara neden olabilir. Meydana gelebilecek hasar dokudaki iyonların konsantrasyonuna bağlıdır. 1.0 ve 5.00 mmol/l (20 and 100 mg/l) arasındaki HF konsantrasyonlarının en az 15 dakika boyunca mide mukozasına uygulanmasının mide dokusunun yapısı ve fonksiyonu üzerinde görülebilecek etkilerin eşik değeri olduğu bildirilmiştir (23,47, 48).

4.6.4. Kardiyovasküler sistem üzerinde etkileri

Kardiyovasküler sistem üzerinde F'in etkisi temelde, dolaşım sistemi içerisinde serum kalsiyumuna bağlanarak hipokalsemi tablosuna yol açması nedeni ile olur.

F'in akut kardiyovasküler etkileri yüksek F düzeylerinin neden olduğu hipokalsemi ve hiperkalsemiden dolayı meydana gelmektedir. F, serum kalsiyumuna bağlanarak hipokalsemiye neden olur. Hipokalsemi ise tetani, baskılanmış miyokard kontraktilesi ve olası kardiyovasküler kollaps ile ilişkilidir (23, 47).

Çiçek ve ark. ikinci jenerasyon erkek sıçanlarda içme suyunda 6 ay süresince 50 ve 100 mg/L F'in miyokard dokusundaki olası morfolojik ve biyokimyasal etkilerini araştırmışlar. 10, 50 ve 100 mg/l deney gruplarında histopatolojik değişikliklere rastlamışlardır. 10 ve 50 mg/l deney gruplarında SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivilerinin artarken 100 mg/l deney grubunda bu enzimlerinin aktivitelerinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu bulguların sonucunda içme suyunda yüksek F konsantrasyonlarının miyokard dokusunda histopatolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olabileceğini bildirmişlerdir (28).

4.6.5. Hematolojik sistem üzerinde etkileri

Şireli ve ark. kobaylarda akut F zehirlenmesinin nitrik oksit ve methemoglobin oluşumu üzerine etkisini araştırmışlar ve F'in uygulanması sonucunda kan nitrik oksit ve methemoglobin düzeyindeki yükselme ile rölatif ilişkili olarak kalsiyum, hemoglobin, hematokrit ve alyuvar değerlerinde azalma belirlemişler (128).

Emre ve arkadaşları akut F zehirlenmesi oluşturdukları kobaylarda lenfosit oranında, eritrosit sayısı ile hemoglobin ve hematokrit değerlerinde azalma, buna karşılık nötrofil ve eozinofil oranlarında artma gözlemlemişlerdir (41).

4.6.6. Üreme sistemi üzerine etkileri

İnsanlarda oral yolla maruz kalınan F'in reproduktif sistem üzerine olan muhtemel etkilerine ait bilgiler sınırlıdır (53, 101). Tao ve ark. Yüksek dozda F'in sperm kalitesi üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve sperm dayanıklılığındaki değişim yüzdesinin ve yoğunluk yüzdesinin azaldığını, spermlerdeki anormallik yüzdesinin ise arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada dişi farelerin yanına erkek farelerin konulmasından itibaren takip edilen doğum süresinin 40 ppm grubunda en geç

şekillenmesinin sebebinin de yüksek dozda F'in sperm kalitesi üzerine olan bu olumsuz etkilerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (131).

4.6.7. Üriner sistem üzerine etkileri

Akdoğan ve ark. F toksikasyonu oluşturulmuş tavşanlarda böbrek dokusunda yapısal ve biyokimyasal değişiklikleri araştırmış ve içme sularındaki F arttıkça plazma BUN, CRE düzeyi, doku MDA aktivitesinde önemli bir artış olduğunu, böbrek dokusundaki antioksidan enzimlerden SOD, GDH-Px, GSH-Rd, CAT aktivite düzeylerinin doza bağımlı olarak değişkenlik gösterdiğini ve bu enzim aktivitelerinde kontrole göre; 10 ppm' lik grupta anlamlı bir yükselme, 40 ppm F grubunda ise anlamlı bir düşüş bildirilmiştir (3).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda, hayvan deney gruplarının oluşturulması, bakım ve beslenmeleri, F solüsyonlarının uygulanması ve deney hayvanlarının sakrifiye edilmesi M.Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde, F solüsyonlarının hazırlanması ve iyon spesifik F elektrodu ile doğrulanması M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda, diş dokularının stereomikroskop ile fotoğraflanması ve taramalı elektron mikroskop (scanning electron microscope - SEM-) incelemesi için diş örneklerinin hazırlanması M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ar-Ge Laboratuvarı'nda, sıçanlardan alınan yarım alt çene (hemimandibula) örneklerinin ışık mikroskobu değerlendirmesi için hazırlanması ve ışık mikroskobunda incelenmesi, kesici diş örneklerinin SEM incelemesi için takibi ve hazırlanması M.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, beyin dokularının immünohistokimyasal ve morfolojik değerlendirme için hazırlanması ve ışık mikroskobunda incelenmesi M.Ü. Nörolojik Bilimler Enstitüsü Patoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

5. 1. F Solüsyonlarının Hazırlanması

Kontrol gruplarına içme suyu olarak M.Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki (DEHAMER) musluk suyu verildi. Deney grupları için ise 30 ppm ve 100 ppm F içeren içme suları hazırlandı. Suların hazırlanması esnasında, cam malzeme bünyesindeki silisyum ile F iyonunun reaksiyona girebileceği göz önünde bulundurularak, kullanılan tüm laboratuvar malzemeleri plastik malzemelerden seçildi.

Deney gruplarına içme suyu olarak verilen 30 ppm ve 100 ppm F içeren solüsyonlar kontrol grubunun da tükettiği M.Ü. DEHAMER'deki musluk suyuna F stok solüsyonunun hesaplanan miktarlarda katılması ile hazırlandı. F içeren solüsyonların hazırlanması için gereken stok solüsyon miktarları $M_1.V_1=M_2.V_2$ denkleminde yararlanılarak hesaplandı. Stok solüsyonu olarak sıvı 1900 ppm F içeren 0,1 M F standart solüsyonu (Orion ionplus-Application solution- 940906) kullanıldı.

Kontrol grubuna içme suyu olarak verilen ve deney gruplarının içme sularının hazırlanmasında kullanılan musluk suyundaki F miktarı M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda iyon spesifik F elektrodu (Orion 960900 Fluoride Combination Electrode, Thermo Scientific) ile yapılan ölçüm sonucu ~0.0545 ppm F olarak tespit edildi ve sıfır olarak kabul edildi. Musluk suyundan hazırlanan tüm solüsyonlardaki F miktarı 19-190 ppm aralığında kalibre edilmiş iyon spesifik F elektrodu kullanılarak doğrulandı. Ölçüm için santrifüj tüpü içerisine otomatik pipet (Gison Pipetman) kullanılarak, hazırlanan F solüsyondan 2 ml ve 2 ml TİSAB II (Total Ionic Strength Adjustment Buffer, Orion Ionplus Application Solution) solüsyonu eklendi ve iyice çalkalanarak ölçüm yapıldı (Resim 2). Çalışma süresince deney hayvanlarının tükettiği F solüsyonları deney hayvanlarına uygulanmadan önce her zaman iyon spesifik F elektrodu ile doğrulandı. Her solüsyonda ölçüm işlemi 5 dakika ara ile 3 kez tekrarlandı ve tüm ölçümler kayıt edildi.



Resim 3: F solüsyonlarının hazırlanmasında kullanılan gereçler

5.2. Sıçan Deney Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmada, M. Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üretilen toplam 84 adet Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Çalışma grupları; Kontrol (0 ppm F), 30 ppm F, 100 ppm F olarak belirlendi. Grupların prenatal dönemden itibaren oluşturulabilmesi için rastgele seçilen 18 dişi (~250 gr) ve 6 erkek (~300-350 gr) Wistar albino sıçan her kafeste 3 dişi ve 1 erkek sıçan olacak şekilde

belirlenen gruplara ayrıldı. Kontrol grubunda yer alan sıçanlara kafese kondukları günden itibaren içme suyu olarak musluk suyu verildi. 30 ppm F deney grubunda yer alan sıçanlara kafese kondukları günden itibaren 30 ppm F içeren içme suyu verildi. 100 ppm F deney grubunda yer alan sıçanlara ise kafese kondukları günden itibaren 100 ppm F içeren içme suyu verildi. Dolayısıyla üretime konan tüm dişi ve erkek sıçanlara çiftleşme öncesinden itibaren F solüsyonları uygulanmaya başlandı. Dişi sıçanlarda gebeliğin başlaması vajinal tıkacın oluşması ile tespit edildi. Gebeliğin başlaması ile gebe sıçanlar ayrı kafeslere yerleştirildi ve gebe sıçanlara aynı protokolde içme suyu verilmeye devam edildi.

Doğumundan itibaren postnatal ikinci gün her gruptan yedişer adet rastgele seçilen toplam 21 adet yeni doğan sıçan beyin dokularının incelenmesi için dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edildi (Resim 3).



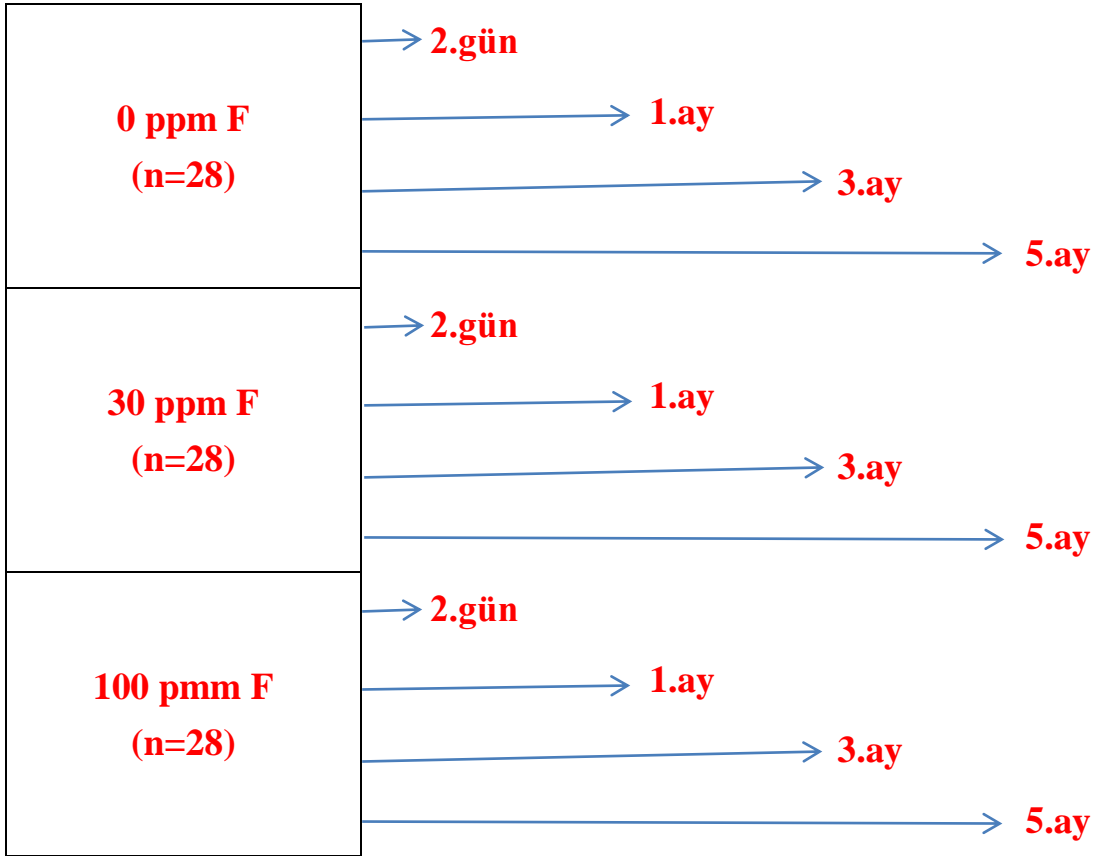
Resim 4: Postnatal 2. gün sıçan görüntüsü

Diğer yavru sıçanların bakım ve beslenmeleri laktasyon döneminin bittiği yaklaşık 21. güne kadar anne sıçanlar ile aynı kafeste gerçekleştirildi. Laktasyon döneminin sona erdiği 21. gün her gruptan rastgele seçilen toplam 63 erkek sıçan, her grupta 21 sıçan olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Daha sonra takip sürelerine göre yedişer adet sıçandan oluşan üç alt gruba ayrılarak doğumdan itibaren 1 ay, 3 ay ve 5 ay süresince takip edildi (Resim 5b,c,d).

Laktasyon dönemi süresince sıçanlar anne sütünden ve içme suyu tüketmeye başladıkları zamandan itibaren de hazırlanan deney solüsyonlarından F aldılar (Resim 5a).



Resim 5: a) Laktasyon dönemi, b) 1 aylık sıçanlar, c) 3 aylık sıçanlar, d) 5 aylık sıçanlar



Şekil 10 : Kontrol ve deney grupların takip sürelerinin şematik gösterilmesi

5.3. Deney Hayvanlarının Bakımı ve Beslenmesi

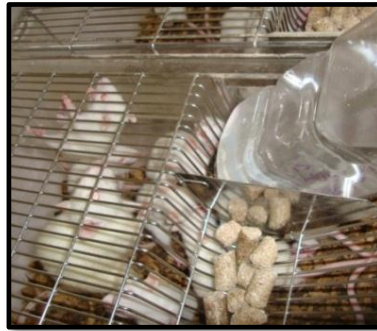
Çalışma süresince deney hayvanlarının bakımı ve beslenmesi M. Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Deney hayvanları deney süresince 22 ± 2^0 C, 12 saat aydınlık, havalandırılmalı bir odada içme suyu ve günlük yemleri verilerek, günlük düzenli kafes bakımları yapılarak barındırıldı. Kafeslerin içerisinde yataklık olarak talaş kullanıldı. Her kafese 4-5 deney hayvanı

yerleştirildi. Deney hayvanlarına içme suyu *ad libidum* verildi ve deney hayvanları pellet formdaki, standart sıçan yemi ile beslendi. Deney hayvanlarının ağırlıkları haftada 2 kez düzenli olarak ölçüldü ve kaydedildi. Ayrıca genel sağlık durumları kontrol edildi.

Standart yemin içeriği şu şekildedir: Kuru madde % 87,7, ham protein % 20, ham selüloz % 4,5, ham kül % 5,4, ham Yağ % 2,4, Kalsiyum % 1,1 Fosfor % 0,8, Sodyum % 1, Sodyum Klorür % 1, Lizin % 1, Metionin % 1, Sodyum % 0,15, Linoleik Asit % 0,92 ve içerisinde F bulunmamaktadır.

5.3.1 F solüsyonlarının sıçanlara uygulanması

Doğumdan itibaren 1, 3 ve 5 ay boyunca takip edilen kontrol grubundaki sıçanlara içme suyu olarak M.Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki musluk suyu *ad libidum* verildi. Aynı şekilde 1, 3 ve 5 ay süresince takip edilen deney gruplarına ise 30 ppm ve 100 ppm F içeren içme suları *ad libidum* olarak verildi. F solüsyonlar haftalık hazırlandı ve tüm gruplarda plastik şişelerde verilen içme suları 2 günde bir yenilendi. Sıçanların tükettiği su miktarları düzenli olarak haftada iki kez ölçüldü ve kaydedildi (Resim 6).



Resim 6: Deney solüsyonlarının sıçanlara uygulanması

5.4. Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu

1, 3 ve 5 aylık sıçanlara sakrifikasyondan önce 100 mg/kg ketamin (Ketalar) ve 5mg/kg klorpromazin (Largaktil) intraperitoneal olarak enjekte edildi (Resim 6). Anestezi derinliği kontrolü yapıldıktan sonra sıçanlardan kardiyak ponksiyon ile kan

alınarak sakrifikasyon gerçekleştirildi. Postnatal 2. gün sakrifiye edilen sıçanlarda ise dekapitasyon yöntemi kullanıldı.

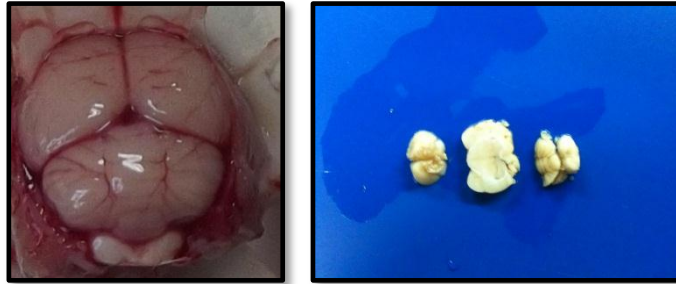


Resim 7: Anestezik ajanın intraperitoneal enjeksiyonu

5.5. Deney Hayvanlarından Doku Örneklerinin Alınması

5.5.1. Beyin örneklerini alınması

Sakrifiye edilen sıçanların (n=7) ilk olarak beyin dokuları çıkarıldı ve önceden numaralandırılmış plastik kaplardaki % 10 nötral tamponlu formol çözeltisine alındı (Resim 8a).



Resim 8: a) Beyin dokusu görüntüsü. b) Serebellum, serebrum ve hipokampus bölgelerinden koronal düzlemde çıkarılan dilimler

5.5.2. Diş ve çene kemik örneklerinin alınması

Beyin dokuları çıkarıldıktan sonra sıçanların kafatası sagittal yönde iki kısma ayrıldı. Her grup için yedişer adet hemimaksilla ve hemimandibuladan stereomikroskop incelemesi için maksiller ve mandibular kesici dişler çekildi ve dişler % 10 nötral tamponlu formol çözeltisine alındı. Daha sonra SEM incelemesi için ikişer adet hemimaksilladan maksiller dişler çekildi ve % 10 nötral tamponlu formol çözeltisine alındı. Amelogenезis safhalarının ışık mikroskobu incelemesi için ise her gruptan beşer adet mandibular kesici dişin sürekli süren kısmının bulunduğu

hemimandibula örneği, üzerindeki yumuşak dokular temizlendikten sonra % 10 nötral tamponlu formol çözeltilisine alındı (Resim 9).



Resim 9: Sagittal yönde iki parçaya ayrılan kafatası görüntüsü

5.6. Diş Dokularının Stereomikroskop İncelemeleri

Diş dokularının stereomikroskopik incelemesi M.Ü. Diş Hekimliği Fakóltesi Ar-Ge Laboratuvarı'nda gerçekteşirildi. Sakrifiye edilen sıçanlardan çekilen 63 adet maksiller ve 63 adet mandibular sürmüş kesici dişlerin morfolojik olarak incelenmesi Leica trinokuler stereomikroskop (Leica Imaging Systems Ltd, Cambrid, England) kullanılarak yapıldı. Dental fluorozis tayini için kesici dişler Leite ve ark.'nın (74) çalışmasında kullandıkları yöntemle göre hazırlandı. Buna göre dental fluorozis tayini yapılacak tüm kesici dişler dijital mikrometre cihazı kullanılarak 2-3 bölgeye ayrılarak işaretlendi (Resim 10). Leite ve ark.'dan (74) farklı olarak çalışmamızda dişler 3,5 mm uzunluğunda bölgelere ayrılarak incelendi. 1 aylık dişler 2 bölgede; 3 ve 5 aylık dişler ise 3 bölgede incelendi. Öncelikle her dişin tüm yüzeyi Leica trinokuler stereomikroskop ile x25 büyütmede daha sonra ise işaretlenen her bir bölge ayrı ayrı x64 büyütmede fotoğraflandı. Tüm dişlerde koleye yakın bölgelerde minede görölen düzensizlikler değerlendirme sırasında dikkate alınmadı.



Resim 10: Kesici dişlerin dijital mikrometre kullanılarak işaretlenmesi

5.6.1. Kesici dişlerde dental fluorozisin değerlendirilmesi

Sıçan kesici dişlerinde dental fluorozis değerlendirmesi sırasında, sürmüş dişte insizal uçtan gingival kenara kadar olan alanda görülen defektlerin tiplerine ve sayılarına dayanan Leite ve ark.'nın (74) oluşturduğu Rodent Enamel Fluorosis Index (REFI) temel alındı. Ancak çalışma gruplarımızdaki fluorozisli dişlerde görülen defektlerin özellikleri ve sayıları dikkate alınarak indeks modifiye edildi.

REFI'ne göre; A (Area) labial yüzeyde dişin uzun eksenini boyunca uzanan ve incelemek için işaretlenen bölge sayısını, B (Band) kesici dişler üzerinde görülen beyaz ve kahverengi bantların varlığı, I (Islet) kesici dişler üzerinde görülen pigment bantların arasında yer alan beyaz yuvarlak adacık görüntülerinin sayısı, C (Cavity) kesici dişlerde görülen kavitelelerin sayısını temsil etmektedir. Leite ve ark. (74) tarafından formüle edilen REF indeks Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5: Rodent Enamel Fluorosis İndeksine ait fluorozis skorları

Skor	Tanım	Defekt
Skor 1	$B/A < 1, I/A < 1, C/A < 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar
Skor 2	$B/A=1, I/A \geq 1, C/A < 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve birkaç adacık
Skor 3	$B/A=1, I/A > 1, C/A < 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve pek çok adacık
Skor 4	$B/A=1, I/A > 1, C/A=1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve pek çok adacık ve nadir kaviteleler
Skor 5	$B/A=1, C/A > 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve pek çok kaviteleler

B= band I= islet C= cavity A= Analyzed area

Çalışmamızda ise, REF indekste oluşturulan skorlama sistemi, F deney gruplarımızdaki kesici dişlerde görülen yüzey özelliklerini göz önünde bulundurarak modifiye edilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6 : Modifiye Rodent Enamel Fluorosis (MREF) indeksine göre fluorozis skorları

Skor	Tanım	Defekt
Skor 1	$B/A < 1, I/A < 1, C/A < 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar
Skor 2	$B/A = 1, I/A \leq 1, C/A < 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve birkaç adacık
Skor 3	$B/A = 1, 1 < I/A < 5, C/A < 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve pek çok adacık (1 ile 5 arası)
Skor 4	$B/A = 1, I/A \geq 5, C/A < 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve pek çok adacık (5 ve 5den fazla)
Skor 5	$B/A = 1, I/A > 5, C/A \geq 1$	Beyaz ve kahverengi bantlar ve pek çok adacık ve kaviteler

B= band I=islet C=cavity A = Analyzed area

MREF indeksine göre normal mine skor 1 olarak skorlandı. Dental fluorozis görülen dişler ise yüzeyde görülen lezyonların sayısı ve tipini göre skor 2-5 arasında skorlandı. Resim 11’de sıçan kesici dişinin normal mine görüntüsü, Resim 12’de sıçan kesici dişinin bant şeklinde görüntüsü örnek olarak sunulmuştur. Resim 13’ te ise bant şeklinde görüntülerin yanında adacık şeklinde oluşumlara örnek verilmiştir.

Çalışmamızda maksiller ve mandibular tüm kesici dişlerin dental fluorozis değerlendirilmesi önceden kalibre edilmiş ve çalışma gruplarını bilmeyen 3 gözlemci tarafından yapıldı.



Resim 11: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte normal mine görüntüsü



Resim 12: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı mine görüntüsü



Resim 13: 3 aylık sıçana ait mandibular kesici dişte beyaz-sarı bantlı görüntünün yanında adacıkların bulunduğu (islet) mine görüntüsü. Adacıklar okla işaretlenmiştir.

5.7. Kesici Diş Dokularının Işık Mikroskobu İncelemeleri

Diş dokularının histolojik incelemesi M.Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Mandibular kesici dişlerde amelogenesis safhalarının histolojik değerlendirmesi ameloblastların sekresyon ve maturasyon safhaları dikkate alınarak yapıldı.

Işık mikroskobu değerlendirmesinde dokuların preperasyonu için sakrifiye edilen hayvanlardan alınan hemimandibula örnekleri oda ısısında %10'luk nötral tamponlu formaldehit içinde tespit edildi. Doku örnekleri dekalsifiyer (Shandon TBD-1 Rapid Decalcifier) içerisinde dekalsifiye edildikten sonra küçültüldü. Dokular yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi ve toluende şeffaflaştırıldı. Bir gece boyunca 60 °C'lik etüvde bekletilen dokular oda ısısında parafin içerisinde gömülerek bloklandı. Genel doku morfolojisini görmek için parafin dokulardan döner mikrotom (LEICE RM2125RT Rotocut) ile lamlara alınan 5 mikrometre (µm) kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen & Eozin (H&E) boyası uygulandı. H&E boyaması işleminde lamlara alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler toluende 2 saat bekletilerek parafinden arındırıldı, daha sonra inen alkol serilerinden geçirilerek (%100, %90, %70) rehidrate edildi. Distile sudan geçirilen kesitlere 20 saniye Hematoksilen boyası uygulandıktan sonra 10 dakika akar çeşme suyunda yıkanarak mordanlandırıldı. Kesitler 20 saniye Eozin boyaması uygulandıktan sonra yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Dehidrate edilen kesitler toluenden geçirildikten sonra entellan ile kapatıldı. Boyalı kesitler Olympus BX51 fotomikroskop ile incelenerek fotoğraflandırıldı.

5.8. Kesici Diş Dokularının Taramalı Elektron Mikroskobu İncelemeleri

SEM için diş örneklerini hazırlama safhası M.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Ar-Ge Laboratuvarında yapıldı. SEM incelenmesi için her gruptan ikişer örnek olmak üzere toplam 18 maksiller kesici diş kullanıldı. Dişlerin mine yüzeyleri en az 15 saniye boyunca %35'lik fosforik asit uygulanarak yıkandı.

SEM incelemesi, M. Ü. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elektron Mikroskopi Ünitesi'nde JEOL JSM-5200 Scanning Microscope cihazı ile yapıldı. Hazırlanan kesici diş örnekleri fosfat tampon solüsyonu (PBS, pH: 7,4) ile hazırlanmış %2,5'luk glutaraldehit içerisinde, 4⁰ C' de, 4 saat süresince tespit edildi. PBS ile yıkandı. 1 saat süreyle PBS ile hazırlanmış %1'lik osmiyum tetroksit ile postfiksasyon uygulandı. PBS ile yıkanan dokular yükselen alkol serilerinden (%70,

%90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Daha sonra 2:1 alkol:amil asetat, 1:2 alkol:amil asetat ve saf amil asetat serilerinden geçirilerek pelür kağıda sarılıp kritik nokta kurutucusu (BIO-RAD E3000) ile kurutuldu. Kurutulan örnekler pirinç taşıyıcılar üzerine yapıştırılıp altın kaplama cihazında (BIO-RAD – SC502) kaplandı. Son olarak kesici diş örnekleri SEM (JEOL JSM-5200) cihazı ile incelendi. Mine yüzey incelemeleri x1000 büyütmede fotoğraflandı (Resim 14).



Resim 14: Örneklerin altın kaplanması ve SEM cihazı

5.9. Beyin Dokularının Işık Mikroskobu İncelemeleri

Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan beyin örnekleri %10'luk nötral tamponlu formaldehit içinde ve oda ısısında tespit edildi. Fikse edilen beyin dokularından serebrum, serebellum ve hipokampus bölgelerinden geçen koronal düzlemde 0,5 cm kalınlığında dilimler çıkarıldı. Sonrasında çıkarılan dilimler otomatik doku takip cihazında (Mikrom) işlem den geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan 3µm kalınlığında kesitler H&E, Krezil Viyole ve immünhistokimyasal değerlendirme için pozitif şarjlı lamlar üzerine alındı. H&E boyama işlemi için lamlara alınan 3µm kalınlığındaki kesitler 65°C etüvde 1 saat bekletildi. Ardından ksilen içine alınarak 3x5 dakika bekletildi. Daha sonra 3 ayrı % 96'lık alkol serisi içine alınan kesitler birer dakika bekletildi. Musluk suyu ile iyice yıkanan kesitler 2 dakika H&E boyası uygulandıktan sonra 1 dakika akar çeşme suyunda yıkanarak morartıldı. Kesitler alkol içine alındı. Daha sonra kesitler 2 dakika Alkolik Eosin ile boyandı ve 3 defa % 96'lık alkol serisi ve 2 defa aseton serisinden geçirildi.

Kuruması için etüve alınan kesitler daha sonra ksilen içine alınarak entellan ve lamel ile kapatıldı.

Krezil Viyole boyama için ise kesitler deparafinize edildi ve mutlak alkol içinde 2 saat bekletildi. Daha sonra taze hazırlanmış Krezil Viyole çalışma solüsyonu içinde oda sıcaklığında 1 saat bekletilen kesitler hızlı bir şekilde % 95 alkol ile diferansiye edildi. Etüvde kurutulan kesitler son olarak entellan ve lamel ile kapatıldı.

5.10. Beyin Dokularının İmmünohistokimyasal Yöntem ile İncelenmesi

Postnatal ikinci gün ve sonrasında 1, 3 ve 5 ay sonunda sıçanlardan alınan beyin doku örnekleri immünohistokimyasal olarak incelendi. Serebellum, serebrum, hipokampus ve perihipokampal alan hücrelerindeki katalaz ve superoksit dismutaz enzim immünreaktiviteyi değerlendirildi. İmmünreaktivitenin değerlendirilmesi, Bozkurt ve ark. (19) tarafından kullanılan skorlama yöntemi ile, nöronal ve glial hücrelerde boyanma şiddeti ve boyanma yaygınlığına göre yapıldı. Boyanmanın şiddeti; zayıf (+) (skor 1), orta (++) (skor 2), şiddetli (+++) (skor 3) olarak, boyanmanın yaygınlığı ise; <%10 (skor 1), %10-50 (skor 2), >%50 (skor 3) olarak skorlandı. Daha sonra şiddet ve yaygınlık skorları toplanarak toplam bir skor değeri elde edildi. Buna göre hücrelerdeki immünreaktivite düşük skor (0-3) ve yüksek skor (4-6) olarak sınıflandırıldı.

Pozitif şarjlı lam üzerine alınan 3 µm kalınlığında kesitler 1 gece bekletildi. Kesitler 60°C' lik etüvde 1 saat deparafinize edildi. Kesitler ksilen içerisinde 2 kez 5'er dakika süreyle bekletildi. Kesitler mutlak alkol içine 10'ar kez batırılıp çıkarıldı ve distile su ile yıkandı. % 10'luk sitrat tampon solüsyonu hazırlandı. Lamalar mikrodalga fırına dayanıklı plastik şale içine dizildi. Üzerine % 10'luk sitrat tampon solüsyonu konuldu. Yine mikrodalgaya dayanıklı bir kap içine su konuldu ve bu kap içine "antigen retrieval" yapılacak şale yerleştirildi. Mikrodalga 5 dakika maksimum güçte (yaklaşık 800 watt) çalıştırıldı. Süre bitiminde fırının gücü % 50 azaltılarak (yaklaşık 400 watt) 15 dakika daha çalıştırıldı. Şale mikrodalga fırından dışarı çıkarıldı ve dışarda 20 dakika bekletildi. Distile su ile yıkandı. % 3'lük H₂O₂ (Hidrojen Peroksit) ile peroksidaz blokajı yapıldı (20 dakika). Distile su ile kesitler

yıkandı. Kesitler 3 kez 5'er dakika PBS'te bekletildi. Protein blokajı yapıldı. Kesitlerin üzerindeki blokaj akıtılarak yıkanmadan, kesit üzerlerine Anti-Superoxide Dismutase (MnSOD) (DD-17) (Sigma, 200 ul) 33/1000 mikrolitre konsantrasyonunda, Anti-Catalase (Sigma, 2 ml) ise 5/1000 mikrolitre konsantrasyonunda antikor sulandırıcı ile dilue edilerek 1 saat bekletildi. Kesitler PBS te 3x5 dakika bekletildi. Sekonder antibody ile 20 dakika bekletildi. Kesitler PBS te 3x5 dakika bekletildi. Streptavidin HRP ile 20 dak bekletildi. Kesitler PBS te 3x5 dakika bekletildi. DAB (Golden Bridge Life Science) ile 5 dak bekletildi. Musluk suyu ile kesitler iyice yıkandı. Kesitlere Hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı (1 dakika). Musluk suyu ile kesitler yıkandı. Lityum karbonat içinde 10 dip yapılan kesitler tekrar musluk suyu ile yıkandı. Kesitler önce alkolden geçirilip, etüvde kurutuldu ve sonrasında entellan ile kapatıldı. Boyalı kesitler ışık mikroskopunda (Olympus BX50) incelenerek skorlandı ve x200 ve x400 büyütmede fotoğraflandı (Olympus SC 100).

5.11. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U test kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Student t test, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Gruplar arası anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi. Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testinde anlamlılık düzeyi 0.017 olarak alındı (%5 anlamlılık düzeyi 3 karşılaştırma sayısına bölündü). Gözlemciler arasındaki uyumluluğun belirlenmesinde kappa değerleri hesaplandı.

6. BULGULAR

6.1. Sıçanların Ağırlık ve Tükettikleri Günlük Su Miktarlarının Değerlendirilmesi

Tüm çalışma süresince hazırlanan solüsyonlarındaki F miktarlarının iyon spesifik F elektrodu ile ölçülmesinden sonra kaydedilen F miktarlarının minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 7’de verilmektedir. 30 ppm F grubunda hazırlanan solüsyonların F miktarları 25 ppm ile 35 ppm arasında değişmekte olup, ortalaması 29.31 ± 2.66 ppm’dir. 100 ppm F grubunda hazırlanan solüsyonların F miktarları 95 ppm ile 107 ppm arasında değişmekte olup, ortalaması $100,96 \pm 3.40$ ppm’dir.

Tablo 7: Gruplara göre hazırlanan F solüsyonlarının F miktarı (ppm) minimum, maksimum, ortalama ve standart sapma değerleri

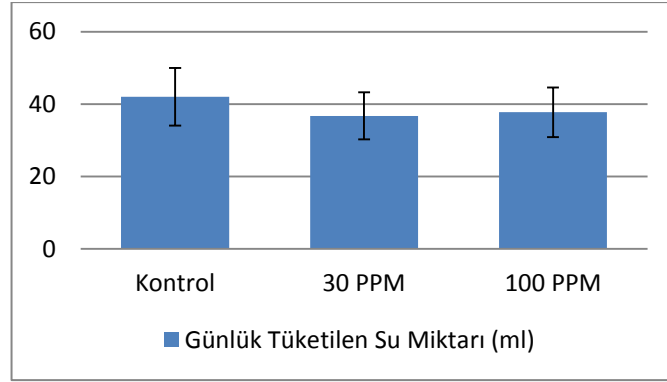
	Hazırlanan Solüsyonların F Miktarı (ppm)	
	Min-Max	Ort±SS
30 ppm	25-35	29,31±2,66
100 ppm	95-107	100,96±3,40

Student t test ** $p < 0.01$

Tablo 8’de ve Şekil 11’da sıçanların günlük tükettikleri su miktarlarının ortalama ve standart sapma değerleri verilmektedir. Sıçanların günlük tükettikleri su miktarlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Tablo 8: Gruplara göre sıçanların günlük tükettikleri su miktarlarının (ml) değerlendirilmesi

	Günlük Tüketilen Su Miktarı (ml)	⁺ <i>p</i>
	Ort±SS	
Kontrol	42,00±7,97	
30 ppm	36,74±6,50	0,073
100 ppm	37,74±6,85	



Şekil 11: Grupların günlük tükettikleri su miktarları

Tablo 9’da ve Şekil 12’de sıçanların ağırlıklarının ortalamaları, standart sapmaları, medyan değerleri ve istatistiksel analizleri verilmektedir. Tablo 10’da ise anlamlığı bulunan grupların Post Hoc test sonuçları görülmektedir.

Gruplara göre yeni doğan sıçanların ağırlık ortalamaları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$).

Kontrol grubundaki yeni doğanların ağırlık ortalamaları, 30 ppm ve 100 ppm F gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p < 0.01$).

30 ppm ve 100 ppm F gruplarındaki yeni doğanların ağırlık ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Sıçanların 1. ay ağırlık ortalamalarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Sıçanların 3. ay ağırlık ortalamalarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$) (Tablo 9).

100 ppm F grubundaki sıçanların ağırlık ortalamaları, 30 ppm F ve kontrol gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.017$; $p < 0.01$). 30 ppm F ve kontrol gruplarındaki sıçanların ağırlık ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Sıçanların 5. ay ağırlık ortalamalarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Tablo 9: Takip sürelerinde grupların ağırlık ortalamalarının değerlendirilmesi

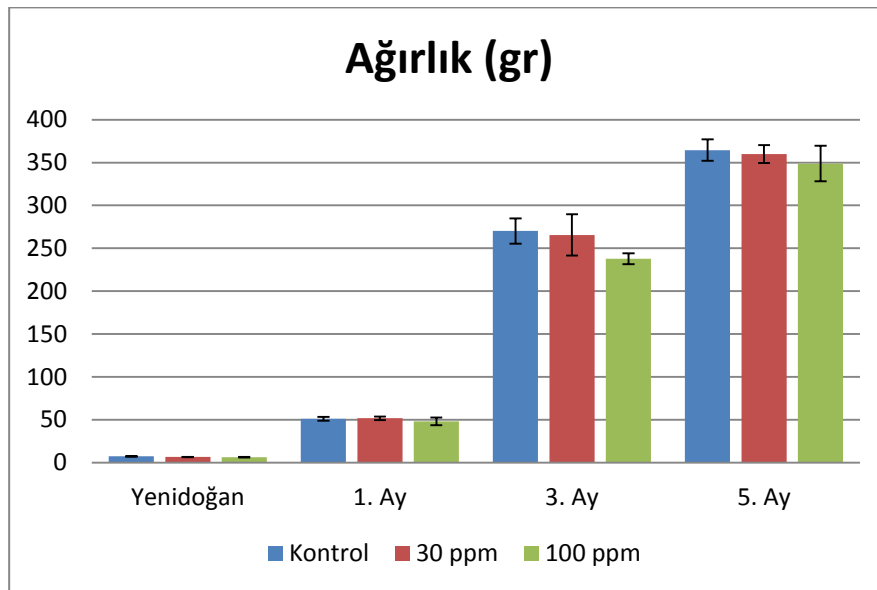
Ağırlık (gr)	Kontrol	30 ppm	100 ppm	⁺ p
	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
Yenidoğan	7,24±0,23 (7,2)	6,50±0,28 (6,5)	6,28±0,26 (6,5)	0,001**
1. Ay	51,14±2,34 (50)	51,71±1,97 (52)	48,14±4,52 (50)	0,250
3. Ay	270,14±14,62 (270)	265,57±24,16 (270)	237,85±6,36 (235)	0,008**
5. Ay	364,57±12,36 (370)	360,00±10,40 (360)	348,85±20,74 (355)	0,378

⁺Kruskal Wallis test ⁺⁺ Mann Whitney U Test ** p<0.01

Tablo 10: Post Hoc test sonuçları

Takip Süresi	Kontrol-30ppm	Kontrol-100ppm	30ppm-100ppm
	P	p	P
Yenidoğan	0,002**	0,001**	0,174
1. Ay	0,603	0,238	0,121
3. Ay	0,847	0,002**	0,014*
5. Ay	0,358	0,221	0,440

Mann Whitney U test * p<0.017 ** p<0.01



Şekil 12: Grupların takip sürelerinde ağırlıkların ortalamaları

6.2. Kesici Dişlerin Değerlendirmesi

6.2.1. Stereomikroskop bulguları ve dental fluorozisin değerlendirilmesi

MREF indeks değerlendirmesini yapan üç gözlemci arasında kapa değerlerine göre uyum olup olmadığı aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir:

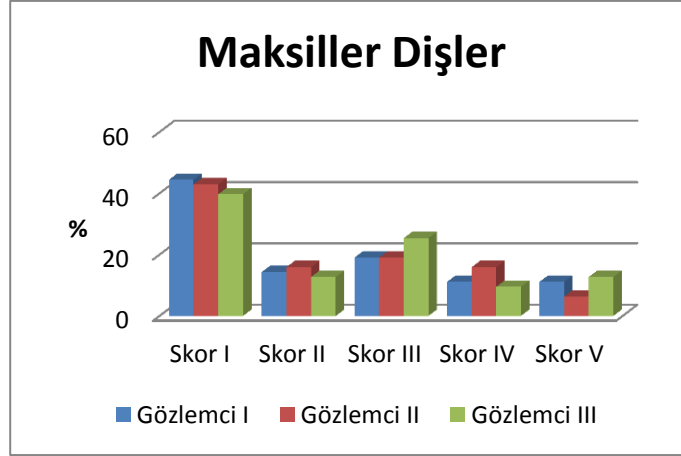
Kappa	Yorum
<0	Hiç uyum yok
0.00-0.20	Önemsiz uyum
0.21-0.40	Orta derecede uyum
0.41-0.60	Ekseriyetle uyum
0.61-0.80	Önemli derecede uyum
0.81-1.00	Neredeyse mükemmel uyum olması

Maksiller kesici dişlerde;

Tablo 11 ve Şekil 13’de Maksiller kesici dişlerde MREF indeks ile skorlamaya göre gözlemciler arası uyumluluğun değerlendirilmesi görülmektedir. Gözlemci I ile Gözlemci II’ nin skor değerlendirmeleri arasında mükemmel yakın bir uyum (Kappa uyum düzeyi 0.869) olduğu görülmektedir. Gözlemci I ile Gözlemci III’ün skor değerlendirmeleri arasında ekseriyetle uyum (Kappa uyum düzeyi 0.588) olduğu görülmektedir. Gözlemci II ile Gözlemci III’ün skor değerlendirmeleri arasında önemli derecede bir uyum (Kappa uyum düzeyi 0.634) olduğu görülmektedir.

Tablo 11: Maksiller kesici dişlerde MREF indeks ile skorlamaya göre gözlemciler arası uyumluluğun değerlendirilmesi

Maksiller Dişler	Skor I	Skor II	Skor III	Skor IV	Skor V
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Gözlemci I	28 (%44,4)	9 (%14,3)	12 (%19,0)	7 (%11,1)	7 (%11,1)
Gözlemci II	27 (%42,9)	10 (%15,9)	12 (%19,0)	10 (%15,9)	4 (%6,3)
Gözlemci III	25 (%39,7)	8 (%12,7)	16 (%25,4)	6 (%9,5)	8 (%12,7)
Kappa I-II	0,869				
Kappa I-III	0,588				
Kappa II-III	0,634				



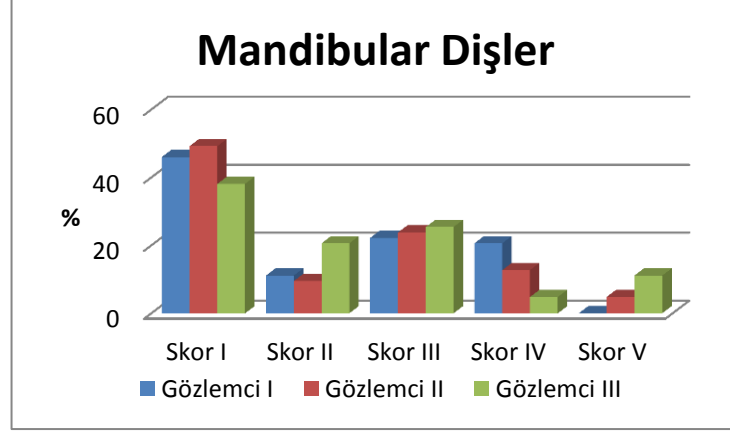
Şekil 13: Maksiller dişlerde gözlemci skor değerlendirmeleri

Mandibular kesici dişlerde;

Tablo 12 ve Şekil 14’de Mandibular kesici dişlerde MREF indeksi ile skorlamaya göre gözlemciler arası uyumluluğun değerlendirilmesi görülmektedir. Gözlemci I ile Gözlemci II’nin skor değerlendirmeleri arasında önemli derecede bir uyum (Kappa uyum düzeyi 0.722) olduğu görülmektedir. Gözlemci I ile Gözlemci III’ün skor değerlendirmeleri arasında ekseriyetle uyum (Kappa uyum düzeyi 0.525) olduğu görülmektedir. Gözlemci II ile Gözlemci III’ün skor değerlendirmeleri arasında ekseriyetle uyum (Kappa uyum düzeyi 0.560) olduğu görülmektedir.

Tablo 12: Mandibular kesici dişlerde MREF indeksi ile skorlamaya göre gözlemciler arası uyumluluğun değerlendirilmesi

Mandibular Dişler	Skor I	Skor II	Skor III	Skor IV	Skor V
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Gözlemci I	29 (%46,0)	7 (%11,1)	14 (%22,2)	13 (%20,6)	0 (%0)
Gözlemci II	31 (%49,2)	6 (%9,5)	15 (%23,8)	8 (%12,7)	3 (%4,8)
Gözlemci III	24 (%38,1)	13 (%20,6)	16 (%25,4)	3 (%4,8)	7 (%11,1)
Kappa I-II	0,722				
Kappa I-III	0,525				
Kappa II-III	0,560				



Şekil 14: Mandibular dişlerde gözlemci skorlar

Tablo 13’de Maksilla ve mandibulada takip sürelerinde ayrı ayrı gruplara göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi gösterilmektedir. Bu değerler üç gözlemcinin ortalamaları üzerinden yapılmıştır. Tablo 14’da ise anlamlı olan gruplarda Post Hoc test sonuçları görülmektedir.

Maksillada; grupların 1. aydaki modifiye rodent enamel fluorozis indeks skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.05$) (Tablo 13). Kontrol grubunun 1. ay skorları, 30 ppm ve 100 ppm F gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.017$). 30 ppm ve 100 ppm F gruplarının 1. ay skorları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$) (Tablo 14).

Maksillada; grupların 3. aydaki modifiye rodent enamel fluorozis indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$) (Tablo 13). Kontrol grubunun 3. ay skorları, 30 ppm ve 100 ppm F gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.01$). 30 ppm grubunun 3. ay skorları, 100 ppm F grubundan anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.01$) (Tablo 14).

Maksillada; grupların 5. aydaki MREF indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$) (Tablo 13). Kontrol grubunun 5. ay skorları, 30 ppm ve 100 ppm F gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.01$). 30 ppm F grubunun 5. ay skorları, 100 ppm F grubundan anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.01$) (Tablo 14).

Tablo 13: Maksilla ve mandibulada takip sürelerinde ayrı ayrı gruplara göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi

Çene	Takip Süresi	MREF İndeks			P
		Kontrol Ort±SS (Medyan)	30 ppm Ort±SS (Medyan)	100 ppm Ort±SS (Medyan)	
Maksilla	1.Ay	1,09±0,16 (1)	1,52±0,46 (1,66)	1,57±0,31 (1,66)	0,028*
	3.Ay	1,00±0,00 (1)	2,80±0,32 (3)	4,23±0,37 (4)	0,001**
	5.Ay	1,09±0,16 (1)	3,00±0,00 (3)	4,66±0,38 (4,66)	0,001**
Mandibula	1.Ay	1,00±0,00 (1)	1,47±0,26 (1,33)	1,80±0,63 (1,66)	0,001**
	3.Ay	1,00±0,00 (1)	2,71±0,35 (2,66)	3,66±0,43 (3,66)	0,001**
	5.Ay	1,00±0,00 (1)	2,76±0,41 (3)	4,42±0,25 (4,33)	0,001**

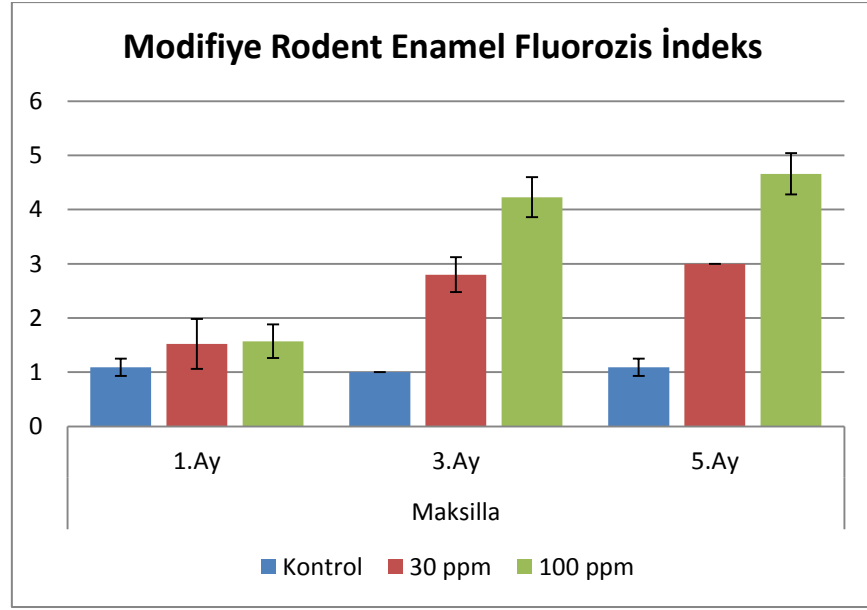
Kruskal Wallis Test * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

Tablo 14: Post Hoc test sonuçları

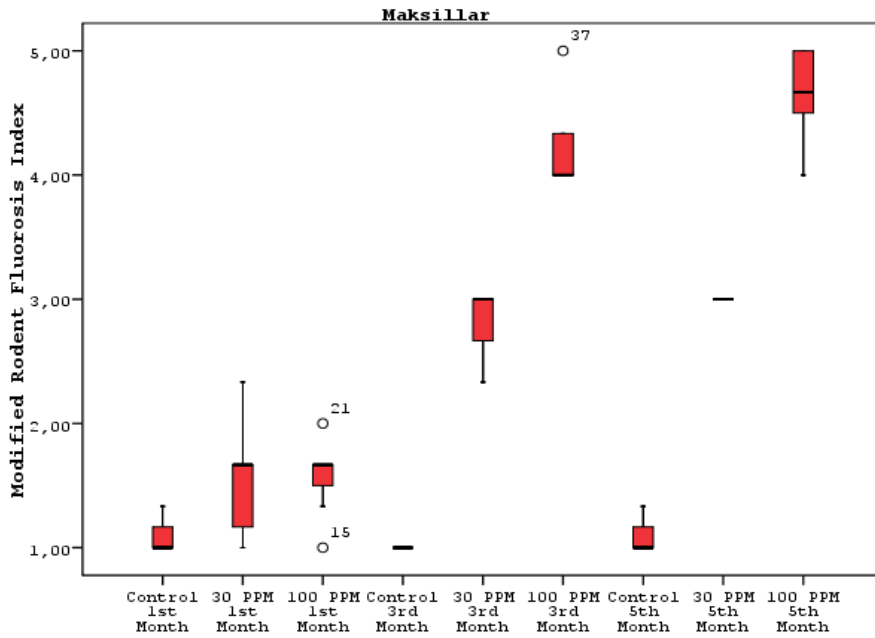
Takip Süresi	Maksilla	Mandibula	
	p	P	
Kontrol-30 ppm	1.Ay	0,015*	0,001**
	3.Ay	0,001**	0,001**
	5.Ay	0,001**	0,001**
Kontrol-100 ppm	1.Ay	0,011*	0,001**
	3.Ay	0,001**	0,001**
	5.Ay	0,001**	0,001**
30 ppm -100 ppm	1.Ay	0,680	0,255
	3.Ay	0,001**	0,003**
	5.Ay	0,001**	0,001**

Mann Whitney U test * $p < 0.017$ ** $p < 0.01$

Şekil 15’de maksillada MREF indeks skorlarının ortalamaları ve standart sapma değerleri gösterilmektedir. Şekil 16’da maksiler dişlerde MREF indeks değerlerinin üç grupta plot dağılımları görülmektedir. Burada her üç takip döneminde gruplardaki F miktarındaki artışa paralel MREF indeks skorlarında artışın yayılımı açıkça görülmektedir.



Şekil 15: Maksillada MREF indeks skorları ortalamaları ve standart sapma değerleri



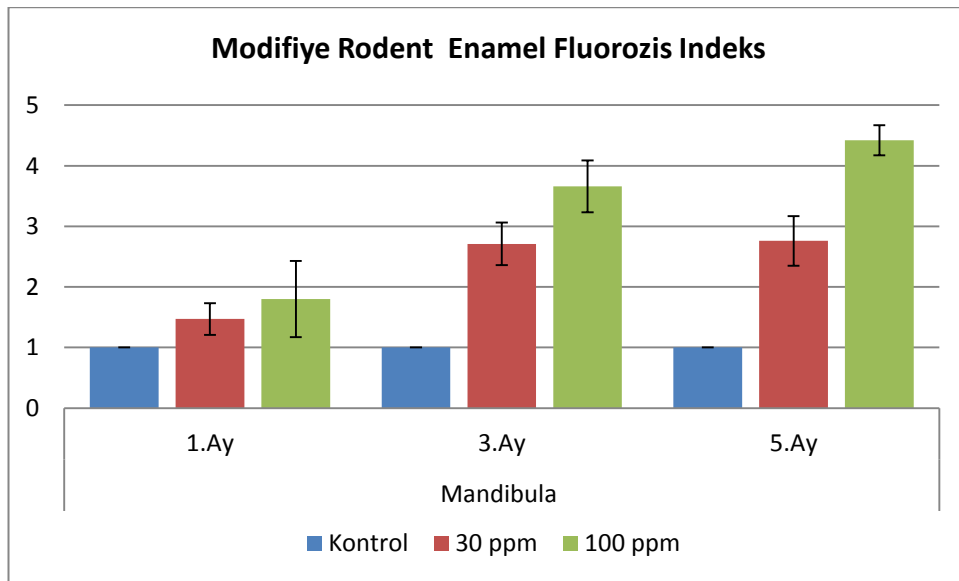
Şekil 16: Maksiler kesici dişlerin plot değerleri

Mandibulada; grupların 1. aydaki MREF indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$) (Tablo 13). Kontrol grubunun 1. ay skorları, 30 ppm ve 100 ppm F gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm ve 100 ppm F gruplarının 1. ay skorları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 14).

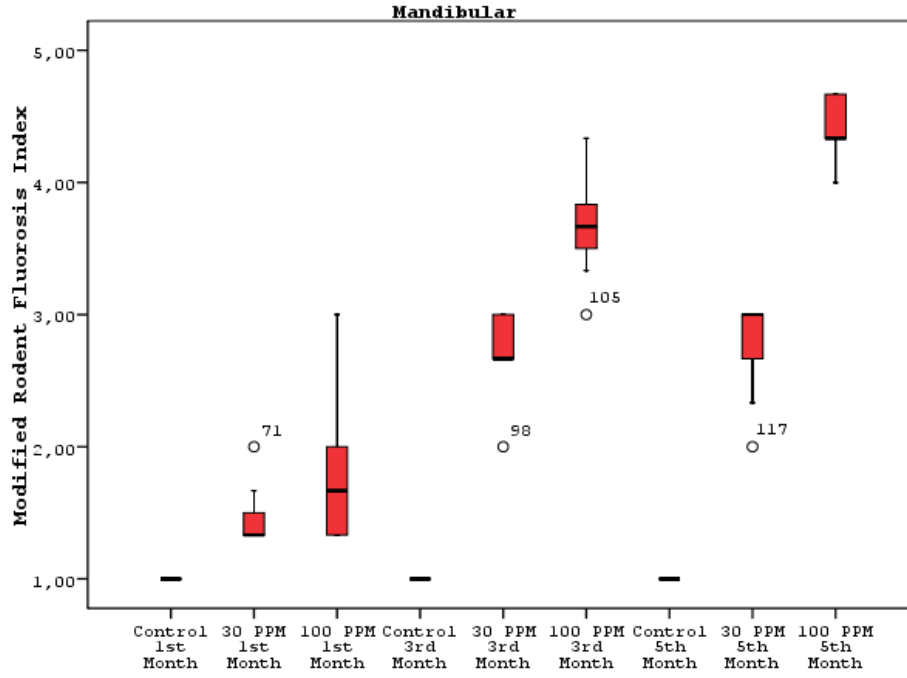
Mandibulada; grupların 3. aydaki MREF indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$) (Tablo 13). Kontrol grubunun 3. ay skorları, 30 ppm ve 100 ppm F gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm F grubunun 3. ay skorları, 100 ppm F grubundan anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$) (Tablo 14).

Mandibulada; grupların 5. aydaki MREF indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$) (Tablo 13). Kontrol grubunun 5. ay skorları, 30 ppm ve 100 ppm F gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm F grubunun 5. ay skorları, 100 ppm F grubundan anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$) (Tablo 14).

Şekil 17’de mandibulada MREF indeks skorlarının ortalamaları ve standart sapma değerleri gösterilmektedir. Şekil 18’de mandibular dişlerde MREF indeks değerlerinin üç grupta plot dağılımları görülmektedir.



Şekil 17: Mandibular dişlerin MREF indeks skorları ortalamaları ve standart sapma değerleri



Şekil 18: Mandibular kesici dişlerin plot değerleri

Tablo 15’de Maksilla ve Mandibulada gruplarda ayrı ayrı takip sürelerine göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi görülmektedir. Tablo 16’da ise anlamlı olan gruplarda Post Hoc test sonuçları görülmektedir.

Maksillada; takip sürelerine göre Kontrol grubundaki sıçanların modifiye rodent enamel fluorosis indeks skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 15).

Maksillada; takip sürelerine göre 30 ppm grubundaki sıçanların modifiye rodent enamel fluorosis indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$) (Tablo 16). 30 ppm grubundaki sıçanların 1. ay skorları, 3. ay ve 5. ay skorlarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm grubundaki sıçanların 3. ve 5. ay skorları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 16).

Maksillada; takip sürelerine göre 100 ppm grubundaki sıçanların modifiye rodent enamel fluorosis indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$) (Tablo 15). 100 ppm grubundaki sıçanların

1. ay skorları, 3. ve 5. ay skorlarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 100 ppm grubundaki sıçanların 3. ve 5. ay skorları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 16).

Mandibulada; takip sürelerine göre Kontrol grubundaki sıçanların modifiye rodent enamel fluorozis indeks skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 15).

Mandibulada; takip sürelerine göre 30 ppm grubundaki sıçanların modifiye rodent enamel fluorozis indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$) (Tablo 16). 30 ppm grubundaki sıçanların 1. ay skorları, 3. ve 5. ay skorlarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm grubundaki sıçanların 3. ay ve 5. ay skorları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 16).

Mandibulada; takip sürelerine göre 100 ppm grubundaki sıçanların modifiye rodent enamel fluorozis indeks skorları arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$) (Tablo 15). 100 PPM grubundaki sıçanların 1. ay skorları, 3. ay ve 5. ay skorlarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 100 ppm grubundaki sıçanların 3. ay skorları, 5. ay skorlarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$) (Tablo 16).

Tablo 15: Maksilla ve Mandibulada gruplarda ayrı ayrı takip sürelerine göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi

Çene	Grup	MREF İndeks			p
		1. Ay Ort±SS (Medyan)	3. Ay Ort±SS (Medyan)	5. Ay Ort±SS (Medyan)	
Maksilla	Kontrol	1,09±0,16 (1)	1,00±0,00 (1)	1,09±0,16 (1)	0,141
	30 ppm	1,52±0,46 (1,66)	2,80±0,32 (3)	3,00±0,00 (3)	0,002**
	100 ppm	1,57±0,31 (1,66)	4,23±0,37 (4)	4,66±0,38 (4,66)	0,001**
Mandibula	Kontrol	1,00±0,00 (1)	1,00±0,00 (1)	1,00±0,00 (1)	1,000
	30 ppm	1,47±0,26 (1,33)	2,71±0,35 (2,66)	2,76±0,41 (3)	0,002**
	100 ppm	1,80±0,63 (1,66)	3,66±0,43 (3,66)	4,42±0,25 (4,33)	0,002**

Kruskal Wallis Test

** $p<0.01$

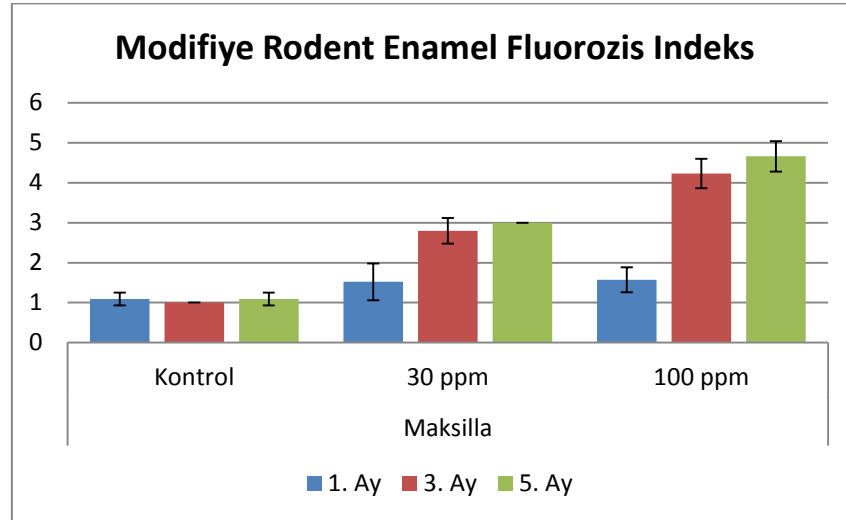
Tablo 16 : Post Hoc test sonuçları

Çene		Maksilla	Mandibula
		P	P
1.Ay-3.Ay	30 ppm	0,002**	0,002**
	100 ppm	0,001**	0,002**
	Kontrol	0,141	1,000
1.Ay-5.Ay	30 ppm	0,001**	0,001**
	100 ppm	0,001**	0,001**
	Kontrol	1,000	1,000
3.Ay-5.Ay	30 ppm	0,141	0,521
	100 ppm	0,063	0,005**
	Kontrol	0,141	1,000

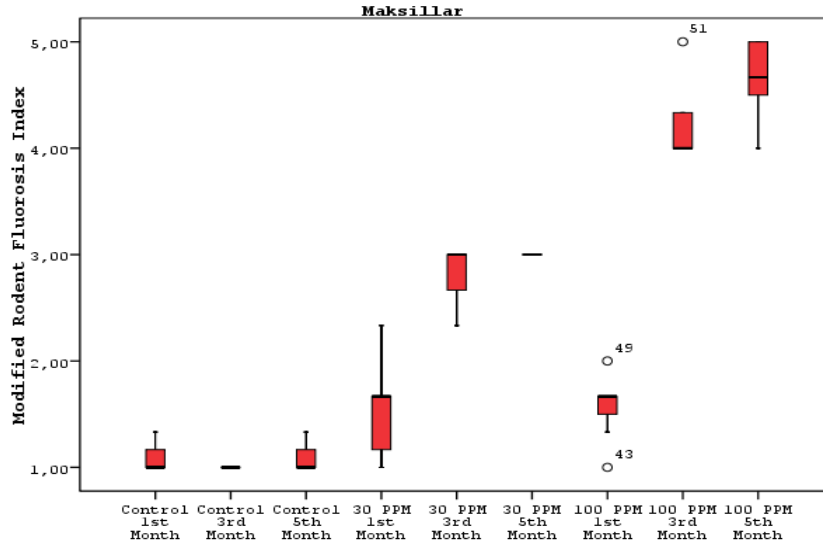
Mann Whitney U test

* $p < 0.01$

Şekil 19’da maksillada MREF indeks skorlarının takip sürelerine göre ortalamaları ve standart sapma değerleri gösterilmektedir. Şekil 20’de maksiller dişlerde MREF indeks değerlerinin üç grupta takip sürelerine göre plot dağılımları görülmektedir.

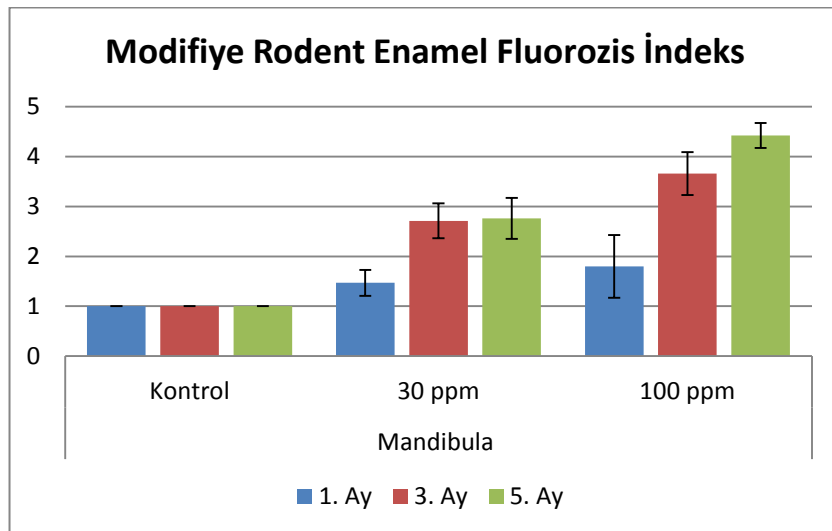


Şekil 19: Takip sürelerine göre MREF indeks skorları

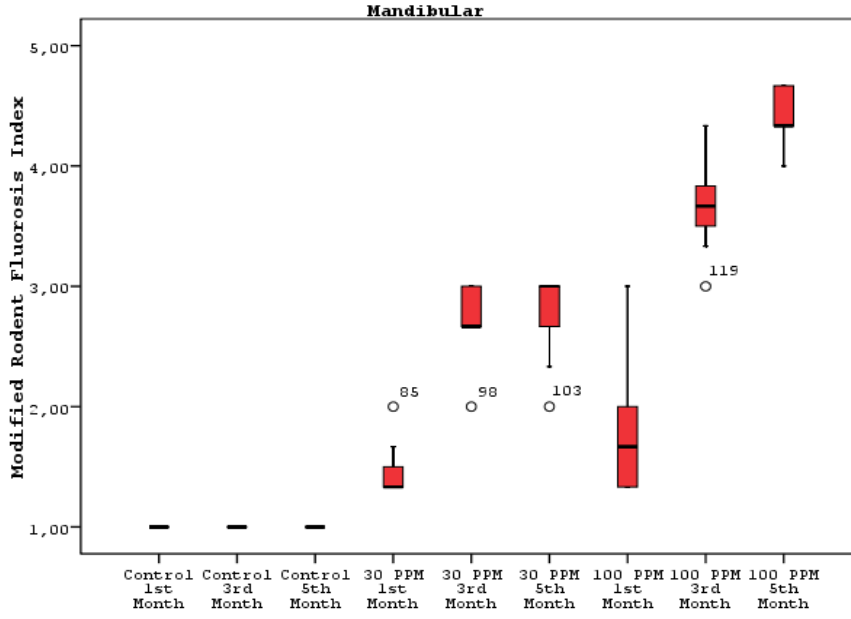


Şekil 20: Takip sürelerine göre maksiller kesici dişlerin plot değerleri

Şekil 21’de mandibulada MREF indeks skorlarının takip sürelerine göre ortalamaları ve standart sapma değerleri gösterilmektedir. Şekil 22’de mandibular dişlerde MREF indeks değerlerinin üç grupta takip sürelerine göre plot dağılımları görülmektedir.



Şekil 21: Mandibulada takip sürelerine göre MREF indeks skorları



Şekil 22: Mandibulada takip sürelerine göre plot değerleri

Şekil 23’de gruplarda ve takip sürelerinde maksilla ve mandibulada MREF indeks skorları ortalamaları standart sapma değerleri verilmiştir. Tablo 17’de ise gruplarda ve takip sürelerinde MREF indeks skorlarının çeneler arasında istatistiksel kıyaslanması gösterilmiştir.

Kontrol grubundaki sıçanların, çenelere göre 1. ay, 3. ay ve 5. ay MREF indeks skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 17).

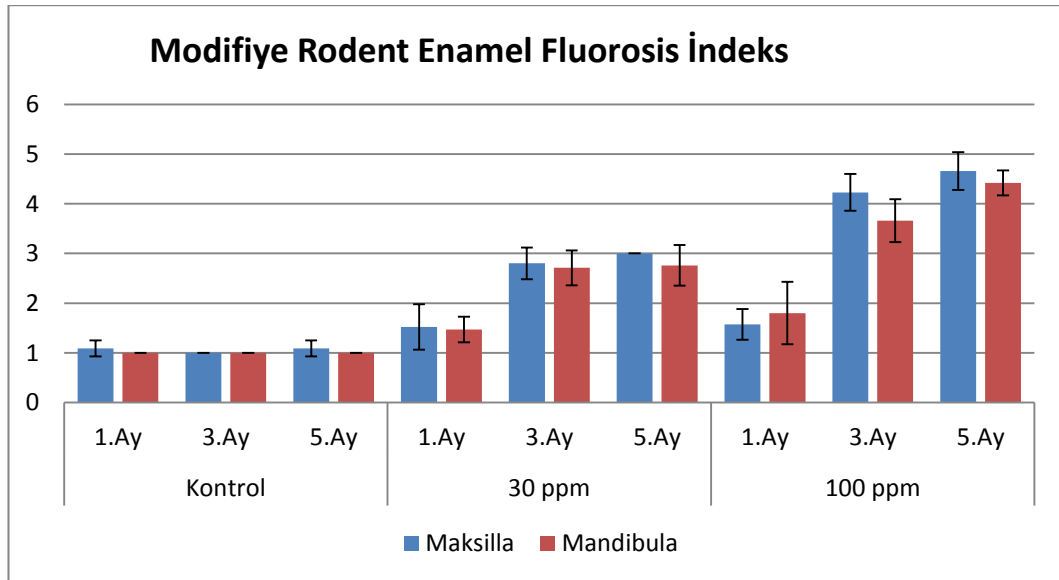
30 ppm F grubundaki sıçanların, çenelere göre 1. ay, 3. ay ve 5. ay MREF indeks skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 17).

100 ppm F grubundaki sıçanların, çenelere göre 1. ay ve 5. ay MREF indeks skorları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). Maksiller çenenin 3. ay skorları, mandibular çeneden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p<0.05$) (Tablo 17).

Tablo 17: Gruplarda ve takip sürelerinde ayrı ayrı çenelere göre MREF indeks skorlarının değerlendirilmesi

Grup	Takip Süresi	MREF İndeks		p
		Maksiller	Mandibular	
		Ort±SS (Medyan)	Ort±SS (Medyan)	
Kontrol	1.Ay	1,09±0,16 (1)	1,00±0,00 (1)	0,141
	3.Ay	1,00±0,00 (1)	1,00±0,00 (1)	1,000
	5.Ay	1,09±0,16 (1)	1,00±0,00 (1)	0,141
30 ppm	1.Ay	1,52±0,46 (1,66)	1,47±0,26 (1,33)	0,840
	3.Ay	2,80±0,32 (3)	2,71±0,35 (2,66)	0,476
	5.Ay	3,00±0,00 (3)	2,76±0,41 (3)	0,142
100 ppm	1.Ay	1,57±0,31 (1,66)	1,80±0,63 (1,66)	0,788
	3.Ay	4,23±0,37 (4)	3,66±0,43 (3,66)	0,021*
	5.Ay	4,66±0,38 (4,66)	4,42±0,25 (4,33)	0,163

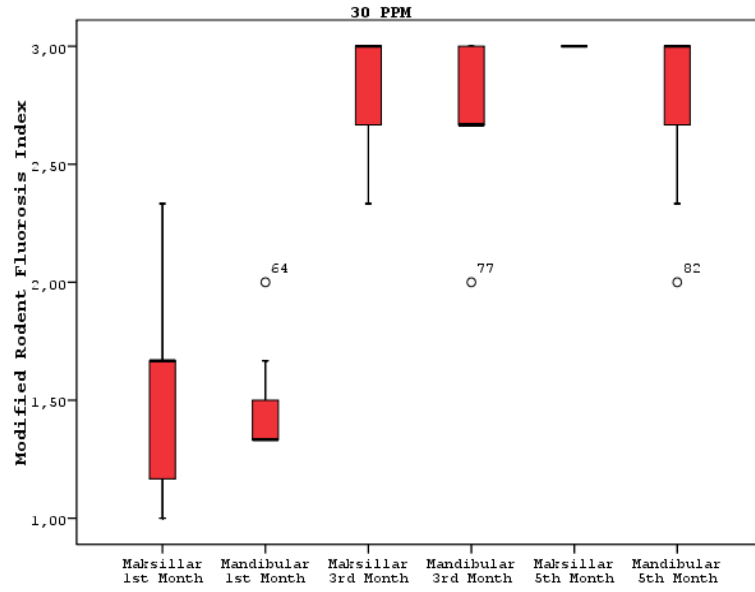
Mann Whitney U test * $p < 0.05$



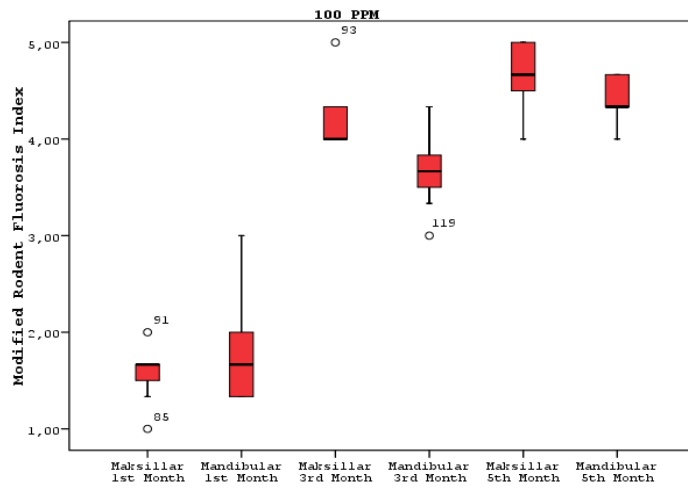
Şekil 23: Gruplarda ve takip sürelerinde maksilla ve mandibulada MREF indeks skorları ortalamaları, standart sapma değerleri

Şekil 24’de 30 ppm F grubunda maksiller ve mandibuler dişlerdeki MREF indeksi skorlarının karşılaştırılması görülmektedir. Bu grupta 3.ay ve 5. ay değerleri her iki çeneye ait kesici dişlerde aynı skorları içermektedir.

Şekil 25’de 100 ppm F grubunda maksiller ve mandibular dişlerdeki MREF indeksi skorlarının karşılaştırılması görülmektedir. Bu grupta takip süresi arttıkça skor artmakta ve ayrıca mandibular dişlerin maksillere göre daha düşük skorlara sahip oldukları görülmektedir.



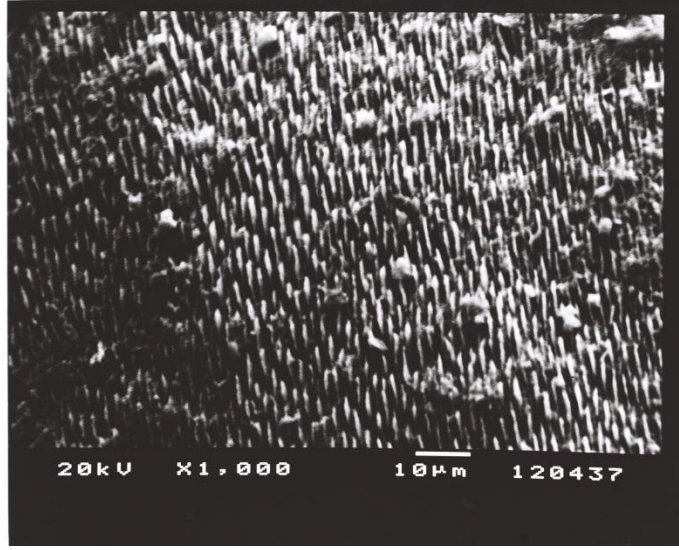
Şekil 24: 30 ppm F grubu plot değerleri



Şekil 25: 100 ppm F grubu plot değerler

6.2.2. Taramalı elektron mikroskopi (SEM) bulgularının değerlendirilmesi

Kontrol gruplarının mine üst yüzeylerini incelediğimizde mine çubuklarının düzgün dağılımı görülmektedir. Mine çubukları arası ise asit uygulamasına bağlı demineralize boşluklar şeklinde açığa çıkmaktadır. Mine çubuklarının düzgün, oldukça kalın ve 1. aydan 3 ve 5 aya doğru sıklığının arttığı görülmektedir (Resim 15 ve 16).

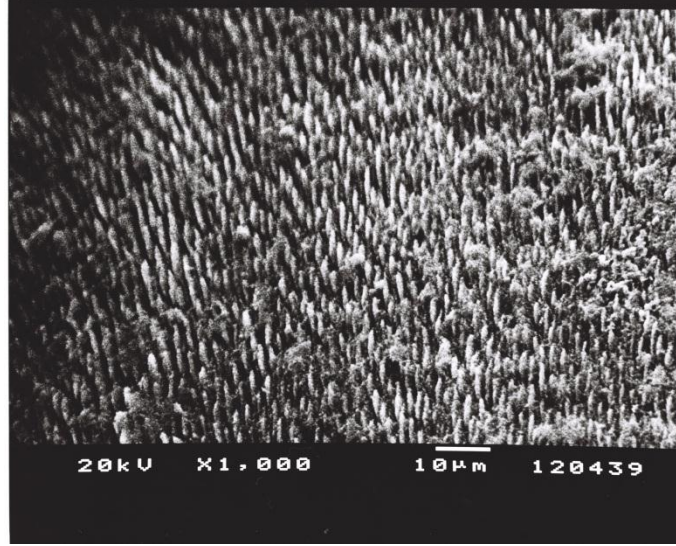


Resim 15: 1. ay kontrol grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

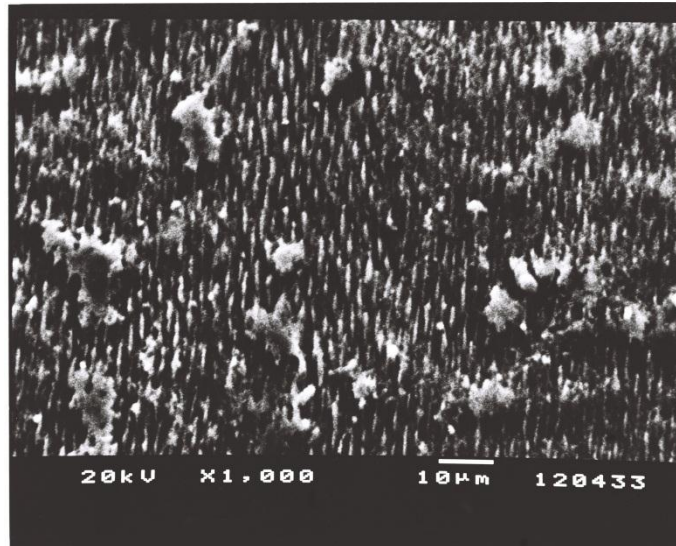


Resim 16: 5. ay kontrol grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

30 ppm F grubunda 1. aydaki mine diş yüzeyi görüntüsünde kontrol grubuna göre herhangi bir fark görülmemektedir. Mine çubukları arası demineralize alan düzgündür. Ancak 5. aya doğru mine çubukları arasındaki mesafenin arttığını, demineralize alanların daha fazla olduğu görülmektedir. Dolayısıyla mine çubukları daha ince görünümündedir (Resim 17 ve 18).

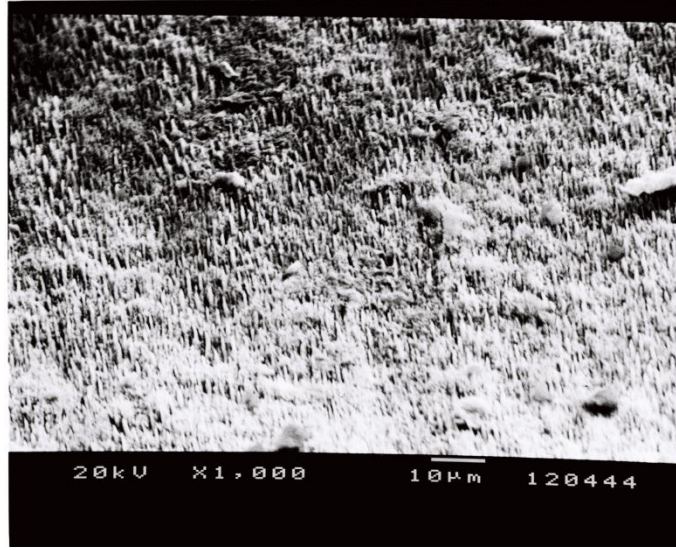


Resim 17: 1. ay 30 ppm deney grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

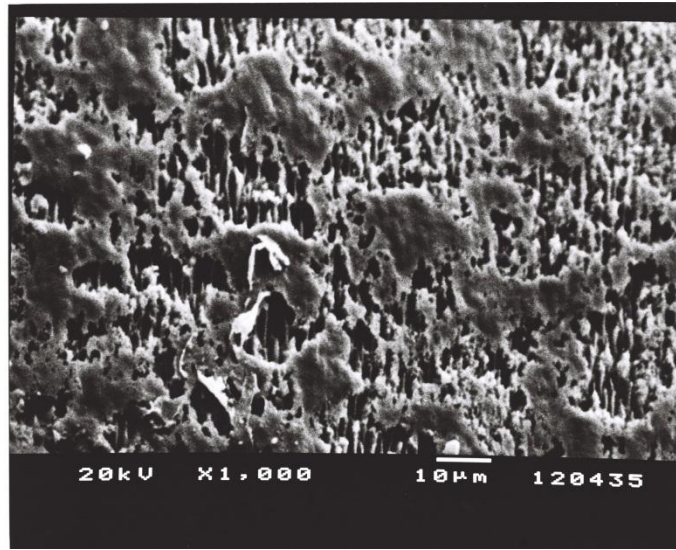


Resim 18: 5. ay 30 ppm deney grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

100 ppm F grubunda 1. ayda mine çubuklarının kontrol ve 30 ppm F gruplarına göre daha ince olduğunu görülmektedir. Mine çubukları arası mesafe benzer görüntüdedir. Ancak yer yer ufak aralanmalar tespit edilmektedir. 3 ve 5. ay örneklerinde ise mine çubukları çok incelmış hatta yer yer kaybolarak büyük demineralize alanlar oluşturmuştur. Mine çubukları arası tamamen açılmıştır (Resim 19 ve 20).



Resim 19: 1. ay 100 ppm F deney grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)



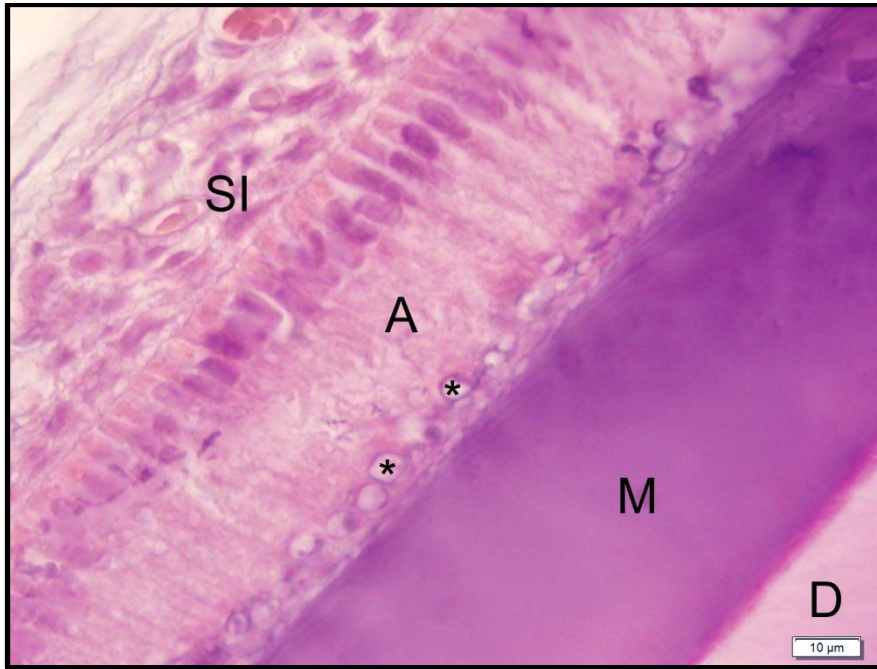
Resim 20: 5. ay 100 ppm F deney grubuna ait SEM görüntüsü (x1000)

6.2.3. Kesici dişlerin morfolojik değerlendirmesi ve ışık mikroskopi bulguları

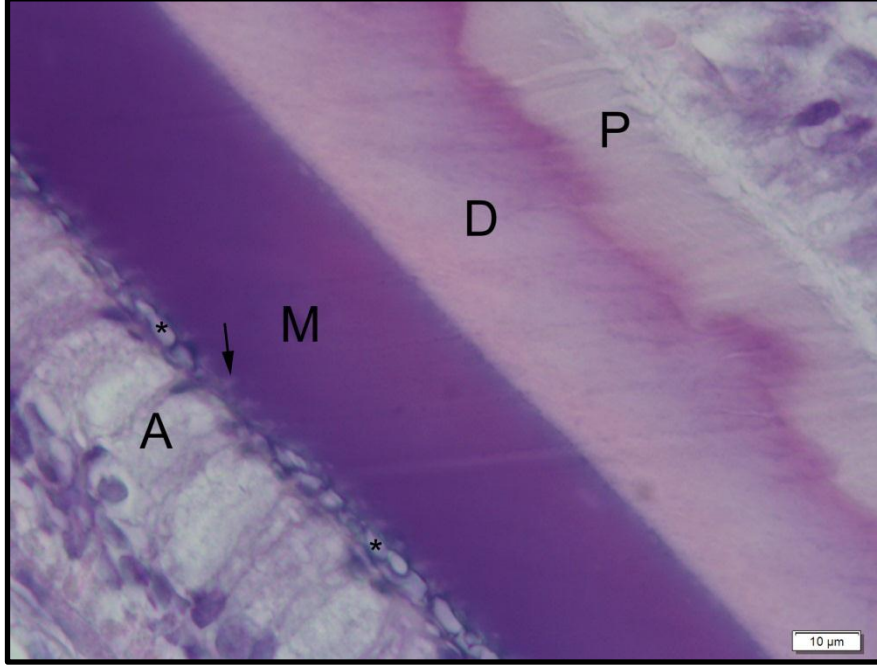
Kontrol grubunda tüm takip sürelerinde normal hücre yapısı izlenmiş ve amelogenezin tüm safhalarında morfolojik değişiklikler gözlenmemiştir (Resim 30, 31, 32). 30 ppm F grubu ve kontrol grubu ameloblastlarında benzer hücresel morfoloji izlenmiştir (Resim 26, 27). Kontrol grubunda ve 30 ppm F grubunda sekresyon safhasında ameloblastların mine matriksine yakın kısımlarında Tomes uzantıları izlenmektedir (Resim 25, 29).

100 ppm F deney grubunda 1 ve 5 aylık sıçanlara ait kesitlerde sekresyon ve postsekresyon safhasında ameloblastların mine matriksine yakın apikal kısımlarında kist benzeri oluşumlara rastlanmıştır (Resim 21, 22). 100 ppm F deney grubunda tüm takip sürelerinde sekresyon safhasında kontrol ve 30 ppm F deney grubunda ameloblastların distal kısımlarında izlenen Tomes uzantılarına nadir olarak rastlanmıştır (Resim 23).

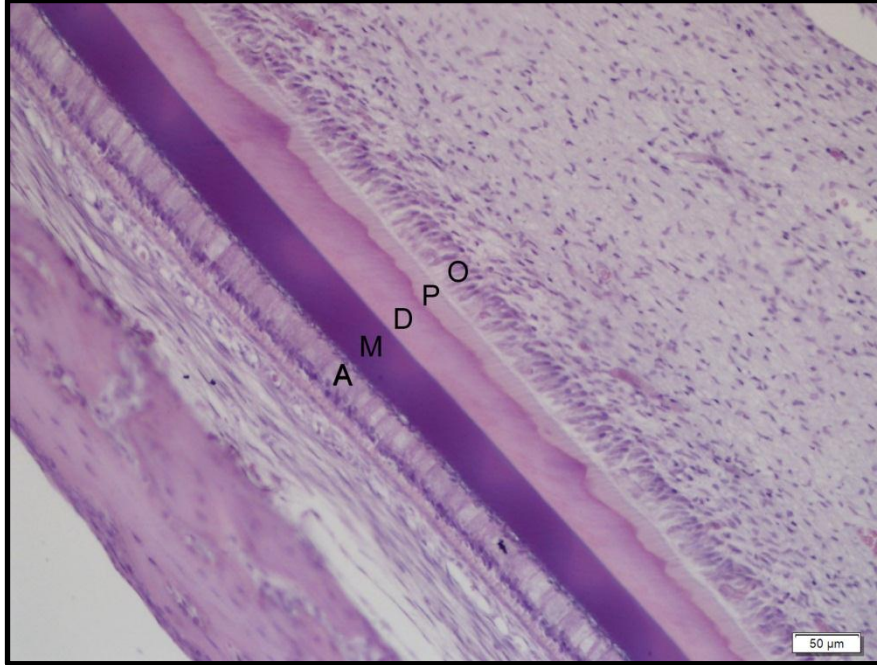
100 ppm F ve 30 ppm F gruplarında mine matriksinin dış yüzeyinde düzensiz alanlar görülmüştür (Resim 24, 28).



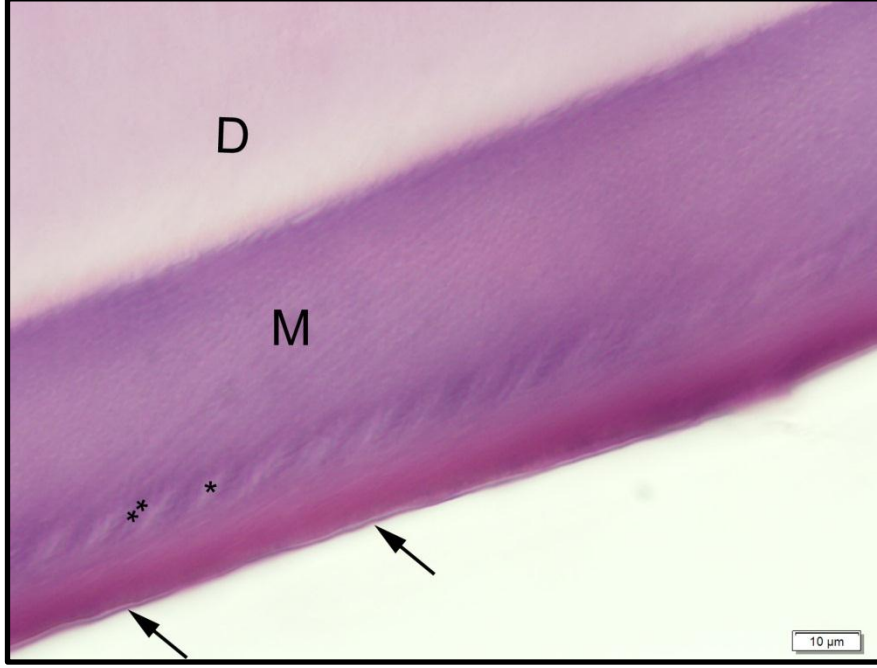
Resim 21: 3. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenezis sekresyon dönemi ameloblastları ile mine matriksi arasında kist benzeri oluşumlar (*) A: ameloblast, M: matriks, D:dentin H&E boyası



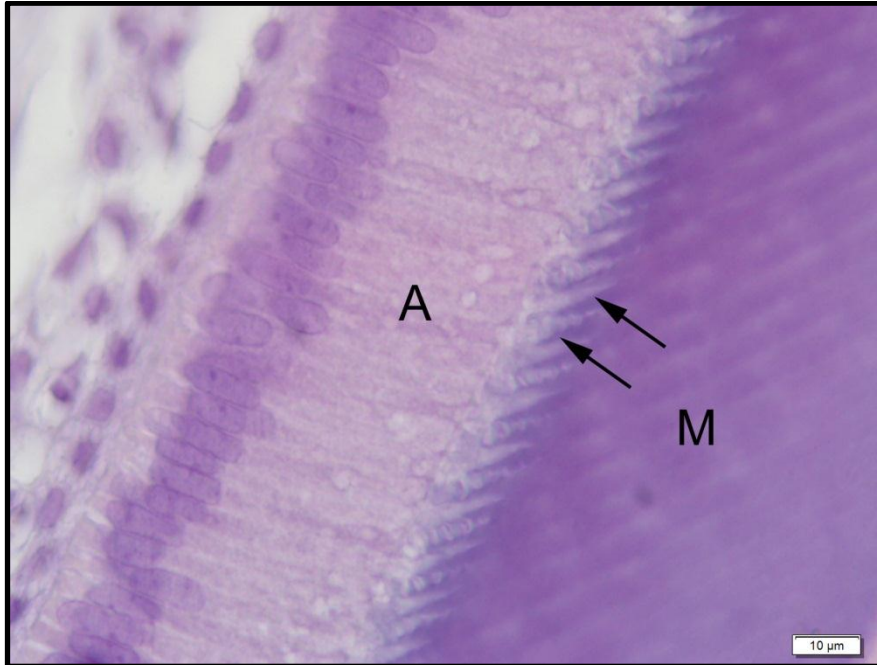
Resim 22: 1. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenesis postsekresyon safhası ameloblastları ile mine matriksi arasında kist benzeri oluşumlar (*) A: ameloblast, M: matriks, D:dentin, Tomes uzantıları (ok). H&E boyası



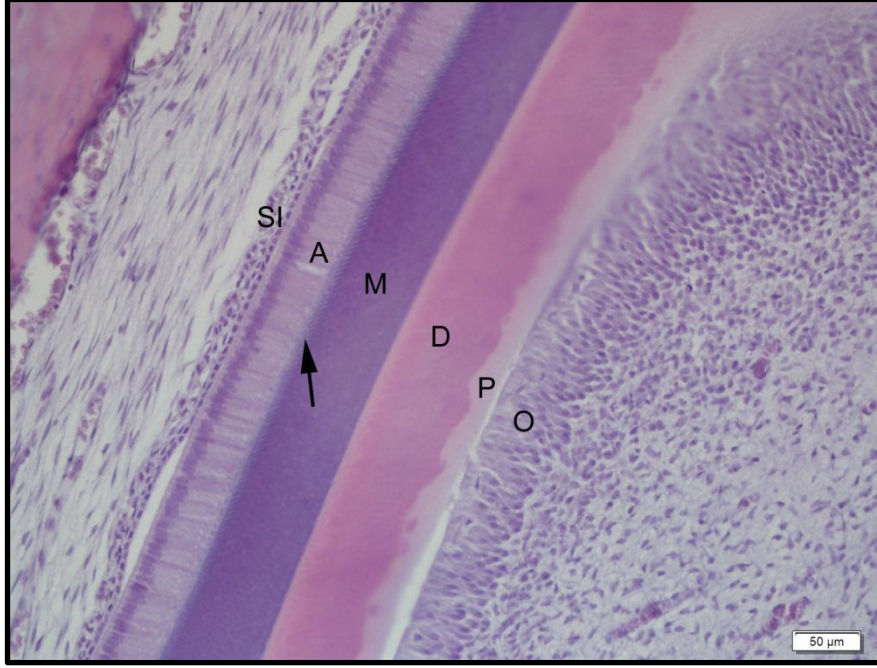
Resim 23: 1. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenesis maturasyon safhası. A: ameloblast, M: matriks, D:dentin, P: pre-dentin, O: odontoblast. H&E boyası



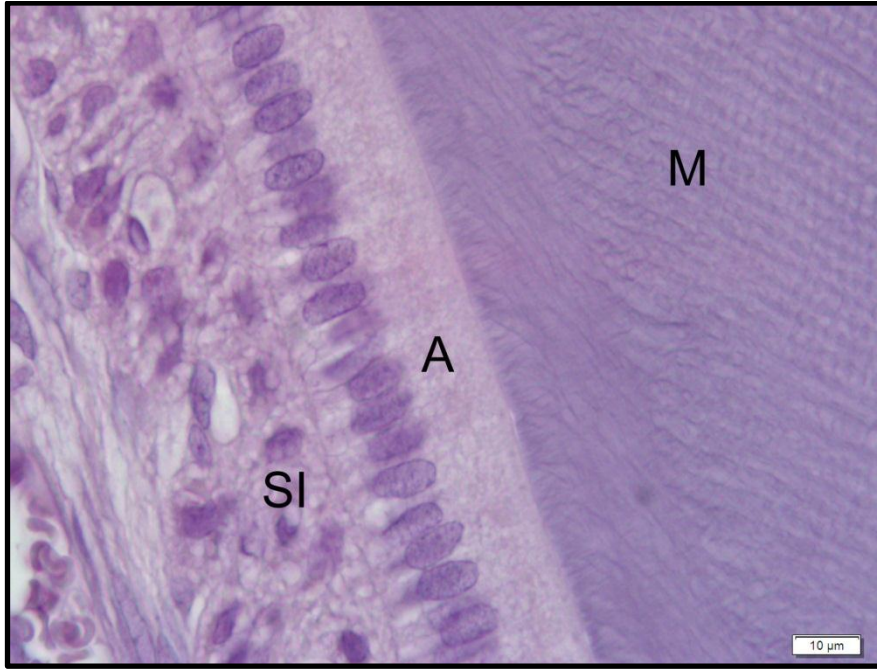
Resim 24: 5. ay 100 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş. Minenin dış yüzeyinde düzensiz görünüm (oklar), mine çubukları (*), mine çubukları arası (**). H&E boyası



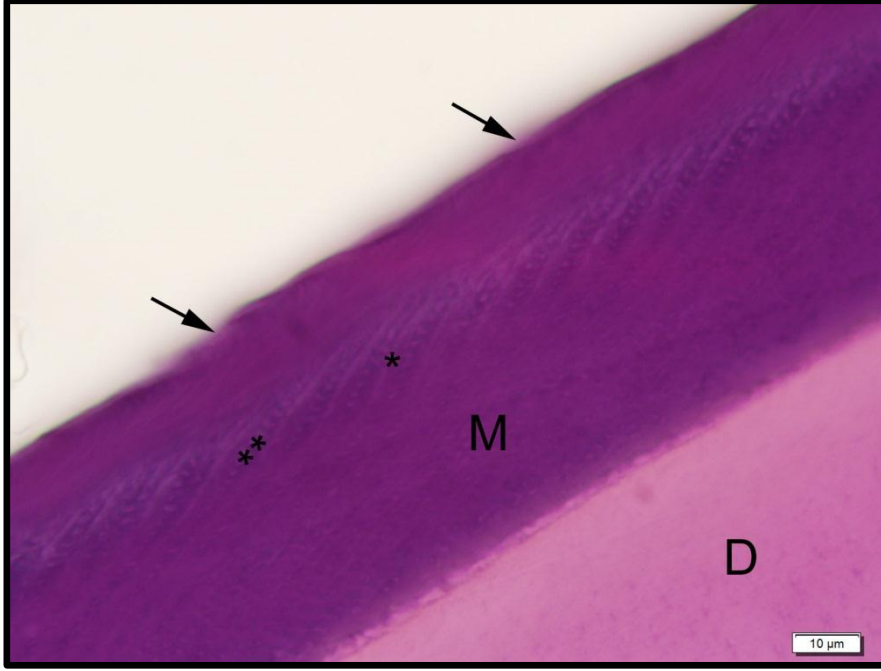
Resim 25: 3. ay 30 ppm F grubu mandibular kesici diş. Amelogenesis sekresyon safhasında Tomes uzantılarının görüntüsü (oklar) A: ameloblast, M: matriks. H&E boyası



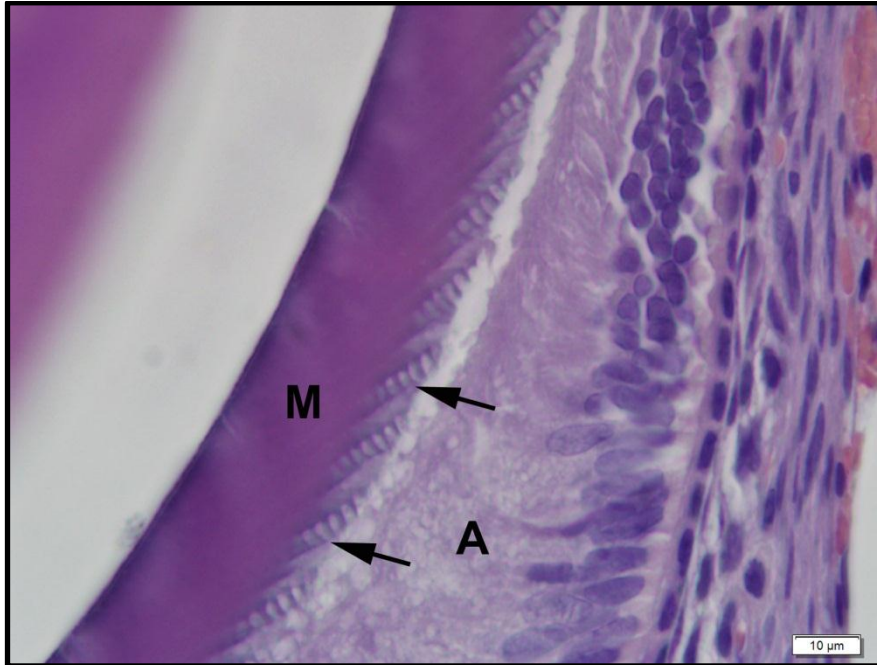
Resim 26: 3. ay 30 ppm F grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenesis postsekresyon safhası. A: ameloblast, M: matriks, D:dentin, P: predentin, O: odontoblast, Tomes uzantıları (oklar). H&E boyası



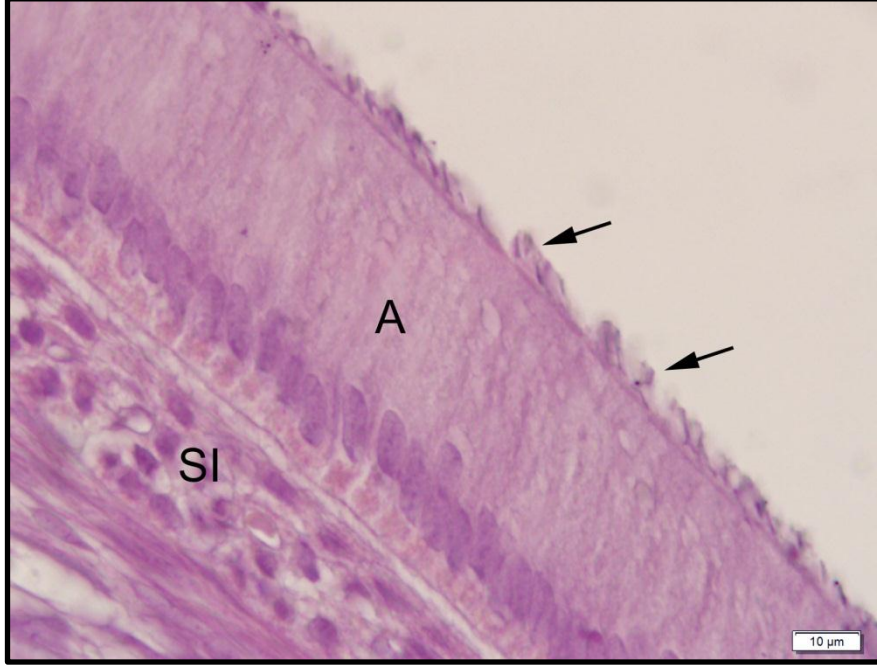
Resim 27: 3. ay 30 ppm F grubu mandibular kesici diş. Amelogenesisi maturasyon dönemi A: ameloblast, M: matriks, SI: Stratum intermedium. H&E boyası



Resim 28: 3. ay 30 ppm F grubu mandibular kesici diş. Minenin dış yüzeyinde düzensiz görünüm (oklar) mine çubukları (*), çubuklar arası (**),M: mine matriksi, D: dentin. H&E boyası



Resim 29: 1. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenesis sekresyon dönemi. A: ameloblast, M: matriks, Tomes uzantıları (oklar). H&E boyası



Resim 30: 5. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenesis sekresyon safhası. A: ameloblast, SI: stratum intermedium, Tomes uzantıları (oklar). H&E boyası



Resim 31: 3. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenesis maturasyon safhası. A: ameloblast, mine çubukları(*), mine çubukları arası(**). H&E boyası



Resim 32: 3. ay kontrol grubuna ait mandibular kesici diş. Amelogenesis maturasyon safhası. A: ameloblast, M: matriks, SI: Stratum intermedium. H&E boyası

6.3. Beyin Dokusuna Ait Bulgular

6.3.1. Yeni doğan gruplarında beyin dokularında katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) immünreaktivitelerinin değerlendirilmesi

Tablo 18’de yeni doğan sıçanlarda farklı F dozlarında CAT ve SOD immünreaktivitelerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi görölmektedir.

Yeni doğan sıçanların beyin dokularında glial hücrelerde farklı dozların CAT immünreaktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.05$). Kontrol grubundaki glial hücrelerde CAT immünreaktivite düzeyi, 30 ppm ($p: 0.005$) ve 100 ppm ($p: 0.018$) F gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0.05$; $p < 0.01$). 30 ppm ve 100 ppm F gruplarında glial hücrelerde CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p: 0.577$; $p > 0.05$).

Yeni doğan sıçanların nöron hücrelerinde farklı dozların CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$). Kontrol grubundaki nöron hücrelerinde CAT immünreaktivite düzeyi, 30 ppm ($p:0.001$) ve 100 ppm ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm ve 100 ppm F gruplarının nöron hücresinin CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$). Yeni doğan sıçanlarda beyin dokularında nöron hücrelerinde ve glial hücrelerde tüm dozlardaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Tablo 18: Yeni doğanlarda farklı F dozlarında CAT ve SOD immünreaktivite düzeylerinin değerlendirilmesi

Yeni doğan	Hücre	Aktivite	Kontrol n (%)	30 pm n (%)	100 ppm n (%)	p
CAT	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	2 (%28,6)	3 (%42,9)	0,017*
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	5 (%71,4)	4 (%57,1)	
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0,001**
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	
SOD	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	

Ki-kare test kullanıldı

* $p<0.05$

** $p<0.01$

6.3.2. Beyin dokusunda farklı F dozlarında katalaz (CAT) immünreaktivite bulguları

Tablo 19’da farklı F dozlarında 1. ay CAT immünreaktivitesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesinde; glial hücrelerde farklı F dozlarında 1. aydaki görülen CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı

farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$). 100 ppm F grubunun 1. ayda serebellum bölgesinde glial hücrelerdeki CAT immünreaktivitesi, 30 ppm F ($p:0.001$) ve kontrol ($p:0.005$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p < 0.01$). 30 ppm F ve kontrol gruplarının 1. ay CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p > 0.05$).

Serebellum bölgesinde; nöron hücrelerinde farklı F dozlarında 1. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$). 100 ppm F grubunun 1. ayda serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinin CAT immünreaktivitesi, 30 ppm F ($p:0.001$) ve kontrol ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p < 0.01$). 30 ppm F ve kontrol gruplarının 1. ay immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p > 0.05$).

Serebrum bölgesinde; glial hücrelerde farklı F dozlarında 1. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$). 100 ppm F grubunun 1. ayda serebrum bölgesindeki glial hücrelerde immünreaktivite düzeyi, 30 ppm F ($p:0.018$) ve kontrol ($p:0.018$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p < 0.01$). 30 ppm F ve kontrol gruplarının serebrum bölgesinde glial hücrelerde 1. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p > 0.05$).

Serebrum bölgesinde; nöron hücrelerinde farklı F dozlarında 1. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde tüm dozlarda düşük immünreaktivite saptanmıştır.

Perihipokampal alanda; glial hücrelerde farklı F dozlarında 1. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$). 100 ppm grubunun 1. ayda perihipokampal alanda glial hücrelerde immünreaktivite düzeyi, 30 ppm F ($p:0.005$) ve kontrol ($p:0.005$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p < 0.01$). 30 ppm F ve kontrol gruplarının hipokampus bölgesindeki glial hücrelerdeki 1. ay immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p > 0.05$).

Tablo 19: Farklı F dozlarında 1. Ay CAT immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

CAT 1. Ay	Hücre	İmmünreaktivite	Kontrol	30 ppm	100 ppm	p	
			n (%)	n (%)	n (%)		
Serebellum	Glial	Düşük Skor	6 (%85,7)	7 (%100,0)	0 (%0,0)	0,001**	
		Yüksek Skor	1 (%14,3)	0 (%0,0)	7 (%100,0)		
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	2 (%28,6)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	5 (%71,4)		
	Serebrum	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	3 (%42,9)	0,007**
			Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	4 (%57,1)	
Nöron		Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	5 (%71,4)	0,110	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	2 (%28,6)		
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-	
		Yüksek Skor	-	-	-		
Perihipokampal Alan	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	1 (%14,3)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	6 (%85,7)		

*Ki-kare test kullanıldı***** p<0.01**

Tablo 20’de farklı F dozlarında 3. ay CAT immünreaktivitesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesinde; glial hücrelerde farklı F dozlarında 3. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$). Kontrol grubunun 3. ayda serebellum bölgesindeki glial hücrelerdeki CAT immünreaktivitesi, 30 ppm F ($p:0.001$) ve 100 ppm F ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm ve 100 ppm F gruplarının 3. ay immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Serebellum bölgesinde; nöron hücrelerinde farklı dozların 3. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$). 100 ppm grubunun 3. ayda serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinin immünreaktivitesi, 30 ppm F ($p:0.021$) ve kontrol ($p:0.021$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p<0.01$). 30 ppm F ve kontrol gruplarının

nöron hücrelerindeki 3. ay immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Serebrum bölgesinde; glial hücrelerde farklı dozlarda 3. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). 30 ppm F grubunun 3. ayda serebrum bölgesindeki glial hücrelerindeki CAT immünreaktivitesi, kontrol gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p:0.021$; $p<0.05$). 30 ppm ve 100 F ppm gruplarının 3. ay immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.286$; $p>0.05$). 100 ppm ve kontrol gruplarının 3. ay immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.462$; $p>0.05$).

Serebrum bölgesindeki nöron hücrelerinde tüm dozlarda düşük immünreaktivite saptanmıştır.

Hipokampus bölgesinde; nöron hücrelerinde farklı dozların 3. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Perihipokampal alanda; glial hücrelerde farklı dozlarda 3. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Kontrol grubunun 3. ayda perihipokampal alandaki glial hücrelerde CAT immünreaktivitesi, 30 ppm F ($p:0.029$) ve 100 ppm F ($p:0.031$) gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.05$). 30 ppm ve 100 ppm F gruplarının 3. ay immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Tablo 20: Farklı F dozlarında 3. ay CAT immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

CAT 3. Ay	Hücre	İmmüreaktivite	Kontrol	30 ppm	100 ppm	p	
			n (%)	n (%)	n (%)		
Serebellum	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)		
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	2 (%28,6)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0)	0 (%0)	5 (%71,4)		
	Serebrum	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	2 (%28,6)	5 (%71,4)	0,017*
			Yüksek Skor	0 (%0,0)	5 (%71,4)	2 (%28,6)	
Nöron		Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-	
		Yüksek Skor	-	-	-		
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	6 (%85,7)	0,350	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	1 (%14,3)		
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	6 (%85,7)	1 (%14,3)	2 (%28,6)	0,017*	
		Yüksek Skor	1 (%14,3)	6 (%85,7)	5 (%71,4)		

Ki-kare test kullanıldı * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

Tablo 21’de farklı F dozlarında 5. ay CAT immünreaktivitesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesinde; glial hücrelerde farklı F dozlarında 5. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.05$). 30 ppm grubunun 5. ayda serebellum bölgesindeki glial hücrelerde CAT immünreaktivitesi, 100 ppm ($p:0.018$) ve kontrol ($p:0.018$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p < 0.05$). 100 ppm ve kontrol gruplarının 5. ay CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p > 0.05$).

Serebellum bölgesinde; nöron hücrelerinde farklı F dozlarında 5. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p < 0.01$). 30 ppm grubunun 5. ayda serebellum bölgesindeki nöron

hücrelerinde CAT immünreaktivitesi, 100 ppm (p:0.049) ve kontrol (p:0.001) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir (p<0.05, p<0.01).

100 ppm grubunun 5. ayda serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinde CAT immünreaktivitesi, kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksektir (p:0.018; p<0.05).

Serebrum bölgesinde; glial hücrelerde farklı F dozlarında 5. aydaki CAT aktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p<0.01). 30 ppm grubunun 5. ayda serebrum bölgesindeki glial hücrelerde CAT immünreaktivitesi, 100 ppm (p:0.001) ve kontrol (p:0.001) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir (p<0.01). 100 ppm ve kontrol gruplarının 5. ay CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:1.000; p>0.05).

Serebrum bölgesinde; nöron hücrelerinde farklı F dozlarında 5. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p<0.01). 30 ppm grubunun 5. ayda serebrum bölgesindeki nöron hücrelerinde CAT immünreaktivitesi, 100 ppm (p:0.001) ve kontrol (p:0.001) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir (p<0.01). 100 ppm ve kontrol gruplarının 5. ay CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:1.000; p>0.05).

Hipokampus bölgesinde; nöron hücrelerinde farklı F dozlarında 5. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p<0.01). 30 ppm grubunun 5. ayda hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde CAT immünreaktivitesi, 100 ppm (p:0.001) ve kontrol (p:0.001) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir (p<0.01). 100 ppm ve kontrol gruplarının 5. ay CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:1.000; p>0.05).

Perihipokampal alanda; glial hücrelerde farklı dozlarında 5. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır (p<0.01). 30 ppm grubunun 5. ayda perihipokampal alandaki glial hücrelerde CAT immünreaktivitesi, 100 ppm (p:0.018) ve kontrol (p:0.001) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir (p<0.05, p<0.01). 100 ppm ve kontrol gruplarının 5. ay CAT immünreaktivite düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0.237; p>0.05).

Tablo 21: Farklı F dozlarında 5. ay CAT immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

CAT 5. ay	Hücre	İmmünreaktivite	Kontrol n (%)	30 ppm n (%)	100 ppm n (%)	p
Serebellum	Glial	Düşük Skor	4 (%57,1)	0 (%0,0)	4 (%57,1)	0,040*
		Yüksek Skor	3 (%42,9)	7 (%100,0)	3 (%42,9)	
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	0 (%0,0)	3 (%42,9)	0,001**
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	7 (%100,0)	4 (%57,1)	
Serebrum	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	0 (%0,0)	7 (%100,0)	0,001**
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	7 (%100,0)	0 (%0,0)	
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	0 (%0,0)	7 (%100,0)	0,001**
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	7 (%100,0)	0 (%0,0)	
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	0 (%0,0)	7 (%100,0)	0,001**
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	7 (%100,0)	0 (%0,0)	
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	6 (%85,7)	0 (%0,0)	4 (%57,1)	0,005**
		Yüksek Skor	1 (%14,3)	7 (%100,0)	3 (%42,9)	

Ki-kare test kullanıldı * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

6.3.3. Beyin dokusunda takip sürelerine göre tüm gruplarda katalaz (CAT) immünreaktivite bulguları

Tablo 22’de CAT immünreaktivitesinin kontrol grubunda takip sürelerine göre istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesindeki glial hücrelerde kontrol grubunda takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p < 0.05$). Serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinde kontrol grubunda tüm takip sürelerinde CAT immünreaktivite düzeyleri düşüktür.

Serebrum bölgesindeki glial ve nöron hücrelerinde kontrol grubunda tüm takip sürelerinde CAT immünreaktivite düzeyleri düşüktür.

Hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde kontrol grubunda tüm takip sürelerinde CAT immünreaktivite düzeyleri düşüktür. Perihipokampal alanda glial hücrelerde kontrol grubunda takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Tablo 22: CAT immünreaktivitesinin Kontrol grubunda takip sürelerine göre değerlendirilmesi

CAT Kontrol	Hücre	İmmünreaktivite	Takip süresi			p
			1.Ay n (%)	3.Ay n (%)	5.Ay n (%)	
Serebellum	Glial	Düşük Skor	6 (%85,7)	7 (%100,0)	4 (%57,1)	0,115
		Yüksek Skor	1 (%14,3)	0 (%0,0)	3 (%42,9)	
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
		Yüksek Skor	-	-	-	
Serebrum	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
		Yüksek Skor	-	-	-	
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
		Yüksek Skor	-	-	-	
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
		Yüksek Skor	-	-	-	
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	6 (%85,7)	6 (%85,7)	0,575
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	1 (%14,3)	1 (%14,3)	

Ki-kare test kullanıldı

Tablo 23'de CAT immünreaktivitesinin 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesindeki glial hücrelerde 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebellum bölgesindeki glial hücrelerinde 1. aydaki CAT immünreaktivite düzeyi, 3. ay ($p:0.001$) ve 5. ay ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebellum bölgesindeki glial hücrelerinin 3. ay ve 5. aylardaki

immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinde 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinin 5. ay immünreaktivite düzeyi, 1. ay ($p:0.001$) ve 3. ay ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinin 1. ve 3. aylardaki immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Serebrum bölgesindeki glial hücrelerinde 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebrum bölgesindeki glial hücrelerin 1. ay immünreaktivite düzeyi, 3. ay ($p:0.005$) ve 5. ay ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebrum bölgesindeki glial hücrelerin 3. ve 5. aylardaki immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:0.462$; $p>0.05$).

Serebrum bölgesindeki nöron hücrelerinde 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebrum bölgesindeki nöron hücrelerinin 5. ay immünreaktivite düzeyi, 1. ay ($p:0.001$) ve 3. ay ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında serebrum bölgesindeki nöron hücrelerinin 1. ve 3. aylardaki immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p:1.000$; $p>0.05$).

Hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immüneaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinin 5. ay immünreaktivite düzeyi, 1. ay ($p:0.001$) ve 3. ay ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde yüksektir ($p<0.01$). 30 ppm F varlığında hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinin 1. ve 3. aylardaki immünreaktivite

düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:1.000; p>0.05).

Perihipokampal alandaki glial hücrelerinde 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immüneaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmamaktadır (p<0.01). 30 ppm F varlığında perihipokampal alandaki glial hücrelerinde 1. ay immünreaktivite düzeyi, 3. ay (p:0.001) ve 5. ay (p:0.001) gruplarından anlamlı şekilde düşüktür (p<0.01). 30 ppm F varlığında perihipokampal alandaki glial hücrelerin 3. ve 5. aylardaki immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:1.000; p>0.05).

Tablo 23: CAT immünreaktivitesinin 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

CAT 30 ppm	Hücre	İmmünreaktivite	Takip süresi			p	
			1.Ay n (%)	3.Ay n (%)	5.Ay n (%)		
Serebellum	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)		
	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	0 (%0,0)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	7 (%100,0)		
	Serebrum	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	2 (%28,6)	0 (%0,0)	0,001**
			Yüksek Skor	0 (%0,0)	5 (%71,4)	7 (%100,0)	
Nöron		Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	0 (%0,0)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	7 (%100,0)		
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	0 (%0,0)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	7 (%100,0)		
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	7 (%100,0)	1 (%14,3)	0 (%0,0)	0,001**	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	6 (%85,7)	7 (%100,0)		

Ki-kare test kullanıldı

** p<0.01

Tablo 24'de CAT immünreaktivitesinin 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesindeki glial hücrelerinde 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$).

100 ppm F varlığında serebellum bölgesindeki glial hücrelerin 5. ay CAT immünreaktivite düzeyi, 1. ay ($p:0.001$) ve 3. ay ($p:0.001$) gruplarından anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.01$).

100 ppm F varlığında serebellum bölgesindeki glial hücrelerin 1. ve 3. aylardaki immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p: 0.001$; $p>0.05$).

Serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinde 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

Serebrum bölgesindeki glial hücrelerinde 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

Serebrum bölgesindeki nöron hücrelerinde 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

Hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT aktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

Perihipokampal alanda glial hücrelerde 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

Tablo 24: CAT immünreaktivitesinin 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

CAT 100 ppm	Hücre	İmmünreaktivite	Takip süresi			p	
			1.Ay n (%)	3.Ay n (%)	5.Ay n (%)		
Serebellum	Glial	Düşük Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	4 (%57,1)	0,007**	
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	3 (%42,9)		
	Nöron	Düşük Skor	2 (%28,6)	2 (%28,6)	3 (%42,9)	0,807	
		Yüksek Skor	5 (%71,4)	5 (%71,4)	4 (%57,1)		
	Serebrum	Glial	Düşük Skor	3 (%42,9)	5 (%71,4)	7 (%100,0)	0,061
			Yüksek Skor	4 (%57,1)	2 (%28,6)	0 (%0,0)	
Nöron		Düşük Skor	5 (%71,4)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	0,110	
		Yüksek Skor	2 (%28,6)	0 (%0,0)	0 (%0,0)		
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	7 (%100,0)	6 (%85,7)	7 (%100,0)	0,350	
		Yüksek Skor	0 (%0,0)	1 (%14,3)	0 (%0,0)		
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	1 (%14,3)	2 (%28,6)	4 (%57,1)	0,223	
		Yüksek Skor	6 (%85,7)	5 (%71,4)	3 (%42,9)		

Ki-kare test kullanıldı

** p<0.01

6.3.4. Beyin dokusunda farklı F dozlarında süperoksit dismutaz (SOD) immünreaktivitesi bulguları

Tablo 25’de farklı F dozlarında 1. ay SOD immünreaktivitesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesinde; glial hücrelerinde farklı dozların 1. ayda SOD immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0.05). Tüm dozlarda yüksek skor görülme oranı yüksektir.

Serebellum bölgesinde; nöron hücrelerinde tüm dozların 1. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Serebrum bölgesinde; glial ve nöron hücrelerinde tüm dozların 1. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Hipokampus bölgesinde; nöron hücrelerinde tüm dozların 1. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Perihipokampal alanda; glial hücrelerde tüm dozların 1. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Tablo 25: Farklı F dozlarında 1. ay SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

SOD 1. Ay	Hücre	İmmünreaktivite	Kontrol	30 ppm	100 ppm	p	
			n (%)	n (%)	n (%)		
Serebellum	Glial	Düşük Skor	0 (%0,0)	0 (%0,0)	1 (%14,3)	0,350	
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	6 (%85,7)		
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)		
	Serebrum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
			Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	
Nöron		Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)		
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)		
Perihipokampal Alan	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)		

Ki-kare test kullanıldı

Tablo 26’da farklı F dozlarında 3. ay SOD immünreaktivitesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesinde; glial ve nöron hücrelerinde tüm dozların 3. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Serebrum bölgesinde; glial ve nöron hücrelerinde tüm dozların 3. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Hipokampus bölgesinde; nöron hücrelerinde tüm dozların 3. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Perihipokampal alanda nöron hücrelerinde 3. ayda SOD immünreaktivitesi saptanmamıştır.

Tablo 26: Farklı F dozlarında 3. ay SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

SOD 3. ay	Hücre	İmmünreaktivite	Kontrol n (%)	30 ppm n (%)	100 pm n (%)	p
Serebellum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Serebrum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Perihipokampal Alan	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-

Tablo 27’de farklı F dozlarında 5. ay SOD immünreaktivitesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesinde; glial ve nöron hücrelerinde tüm dozların 5. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Serebrum bölgesinde; glial ve nöron hücrelerinde tüm dozların 5. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Hipokampus bölgesinde; nöron hücrelerde tüm dozların 5. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Perihipokampal alanda; glial hücrelerde tüm dozların 5. aydaki SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Tablo 27: Farklı F dozlarında 5. ay SOD immünreaktivitesinin değerlendirilmesi

SOD 5. ay	Hücre	İmmünreaktivite	Kontrol n (%)	30 ppm n (%)	100 ppm n (%)	p
Serebellum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Serebrum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Perihipokampal Alan	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-

6.3.5. Beyin dokusunda takip sürelerine göre tüm gruplarda süperoksit dismutaz (SOD) immünreaktivitesi bulguları

Tablo 28’de SOD immünreaktivitesinin kontrol grubunda takip sürelerine göre istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesindeki glial ve nöron hücrelerinde kontrol grubunda tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Serebrum bölgesindeki glial ve nöron hücrelerinde kontrol grubunda tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde kontrol grubunda tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Perihipokampal alan glial hücrelerde kontrol grubunda tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Tablo 28: SOD immünreaktivitesinin Kontrol grubunda takip sürelerine göre değerlendirilmesi

SOD Kontrol	Hücre	İmmünreaktivite	Takip süresi			p
			1.Ay n (%)	3.Ay n (%)	5.Ay n (%)	
Serebellum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Serebrum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-

Tablo 29’da SOD immünreaktivitesinin 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesindeki glial ve nöron hücrelerinde 30 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Serebrum bölgesindeki glial ve nöron hücrelerinde 30 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Hipokampus bölgesindeki glial hücrelerinde 30 ppm F varlığında SOD immünreaktivitesi saptanmamıştır. Hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde 30 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir. Perihipokampal alandaki glial hücrelerde 30 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Tablo 29: SOD immünreaktivitesinin 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

SOD 30 ppm	Hücre	İmmünreaktivite	Takip süresi			p
			1.Ay n (%)	3.Ay n (%)	5.Ay n (%)	
Serebellum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Serebrum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
		Yüksek Skor	7 (%100,0)	7 (%100,0)	7 (%100,0)	-

Tablo 30’da SOD immünreaktivitesinin 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre istatistiksel olarak değerlendirilmesi görülmektedir.

Serebellum bölgesindeki glial hücrelerde 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre SOD immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p>0.05$). Serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinde 100 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Serebrum bölgesindeki glial ve nöron hücrelerinde 100 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde 100 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Perihipokampal alan ki glial hücrelerde 100 ppm F varlığında tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivite düzeyleri yüksektir.

Tablo 30: SOD immünreaktivitesinin 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre değerlendirilmesi

SOD 100 ppm	Hücre	İmmünreaktivite	Takip süresi			p	
			1.Ay n (%)	3.Ay n (%)	5.Ay n (%)		
Serebellum	Glial	Düşük Skor	1 (% 14,3)	0 (%0,0)	0 (%0,0)	0,350	
		Yüksek Skor	6 (% 85,7)	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)		
	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)		
	Serebrum	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-
			Yüksek Skor	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	
Nöron		Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)		
Hipokampus	Nöron	Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)		
Perihipokampal alan	Glial	Düşük Skor	-	-	-	-	
		Yüksek Skor	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)	7 (% 100,0)		

Ki-kare test kullanıldı.

6.3.6. Beyin dokularının morfolojik değerlendirmesi

Serebellum, serebrum ve hipokampus bölgelerinden alınan kesitler H&E ve krezil viyole boyama ile boyandı ve ışık mikroskobunda x200 ve x400 büyütmede morfolojik olarak incelendi.

1. ay kontrol ve deney gruplarına ait bulgular

Kontrol grubuna ait beyin doku örneklerinden alınan kesitlerde serebellum, serebrum ve hipokampus bölgelerindeki nöronlarda normal hücre yapısı gözlenmiştir.

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

100 ppm F grubunda yer alan sıçanlara ait histolojik kesitlerde serebellumda az sayıda purkinje hücresinde morfolojik değişiklikler gözlenmiştir. 1. ay kontrol sıçan grubuna kıyasla purkinje hücrelerinde hücresel şişme görülmüştür (Resim 37). Serebrumda az sayıda nöronda piknoz, hiperkromatik nukleus, nukleolus kaybı ve nissl maddesinde azalma gibi iskemik değişikliklere rastlanmıştır. Hipokampus bölgesinde az sayıda nöronda hücresel değişiklikler izlenmiştir.

3. ay kontrol ve deney gruplarına ait bulgular

Kontrol grubunda ait histolojik kesitlerde normal hücre yapısı gözlenmiştir.

30 ppm F grubuna ait histolojik kesitlerde serebellum bölgesinde yeralan nöron hücreleri genel olarak düzgün bir görünüme sahiptir. Az sayıda purkinje hücresinin yapısında düzensizlikler görülmüştür. Purkinje hücrelerinde kontrol grubuna kıyasla hücresel şişme gözlenmiştir.

30 ppm F deney grubunda serebrum ve hipokampus bölgelerindeki ise yapısal değişiklere rastlanmamıştır.

100 ppm F deney grubunda yer alan sıçanlara ait histolojik kesitlerde nöron hücrelerinde hücresel değişikliğe rastlanmıştır. Serebellum bölgesinde bazı purkinje hücrelerinde şekil bozuklukları ve hücresel şişme görülmüştür.

100 ppm F deney grubunda, serebrumda nöronlarda piknoz, hiperkromatik nükleus, nükleolus kaybı ve nissl maddesinde azalma gibi iskemik değişikliklere rastlanmıştır.

100 ppm F deney grubunda hipokampus bölgesindeki nöronlarda da hücrel değişiklikler görülmüştür. CA1 bölgesinde seyrek olarak piknotik nöronlara rastlanmıştır. CA2 bölgesindeki nöronlar normal görünümündedir. CA3 te ise grup halinde piknotik ve hiperkromatik nöronlara rastlanmıştır.

5. ay kontrol ve deney gruplarına ait bulgular

Kontrol grubunda beyin dokularında normal hücre yapısı izlenmiştir.

30 ppm F deney grubunda, serebellum bölgesinde kontrol grubundan farklı olarak purkinje hücrelerinde hücrel şişme görülmüştür (Resim 38).

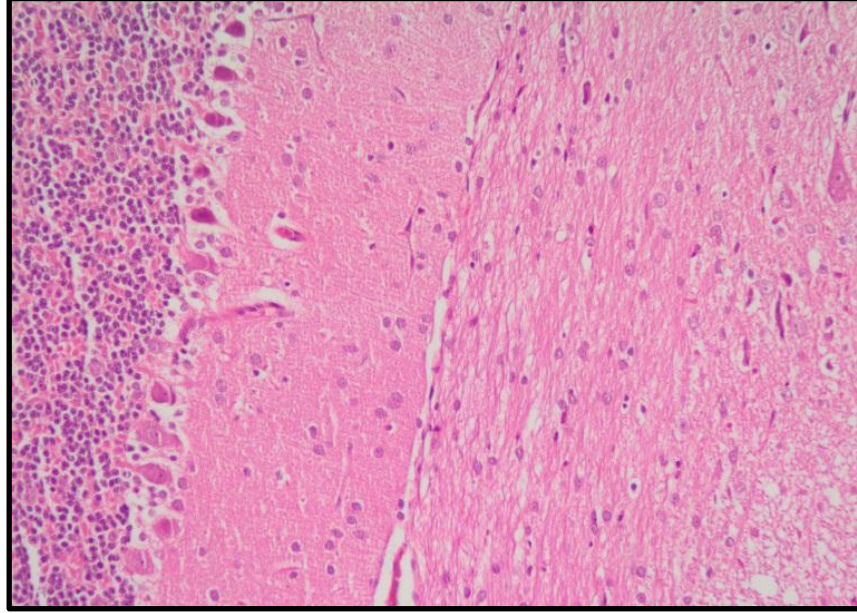
30 ppm F deney grubunda serebrum bölgesinde ise az sayıda nöronda piknoz, nissl maddesinde azalma, hiperkromatik nükleus gibi değişiklikler görülmüştür (Resim 39a, b).

30 ppm F deney grubunda hipokampus bölgesinde yaygın olamamakla birlikte disorganize nöronlara rastlanmıştır. 100 ppm F deney grubuna kıyasla daha az sayıda nöron hücrelerinde piknoz, hiperkromatik nükleus ve nükleolus kaybı gibi değişiklikler görülmüştür.

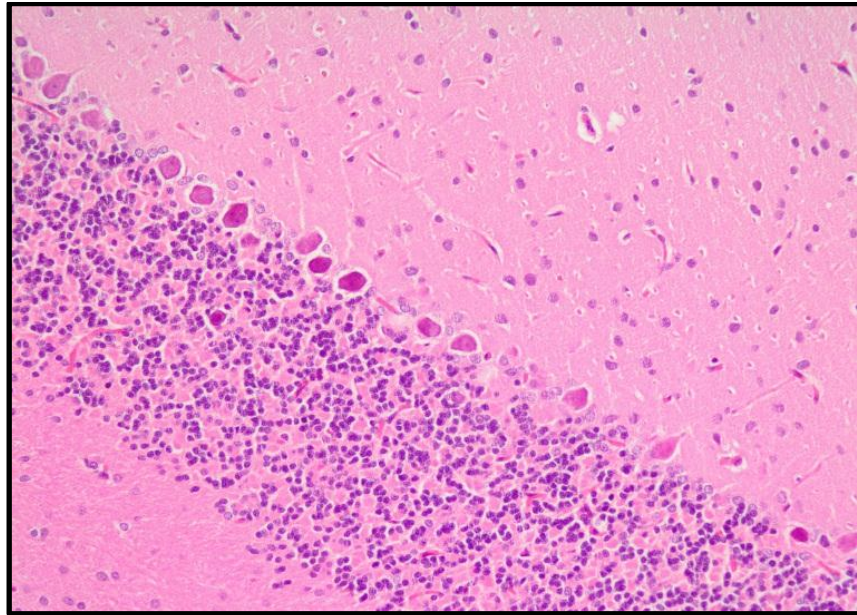
100 ppm F deney grubunda, serebellum bölgesindeki kontrol ve 30 ppm F grubuna kıyasla daha çok purkinje hücrelerinde iskemik bulgulara rastlanmıştır. Purkinje hücrelerinde belirgin şekil bozuklukları, normal hücre görünümünden farklı şişmiş bir görüntü, piknoz, hiperkromatik nükleus, nükleolus kaybı gibi değişikliklere izlenmiştir (Resim 40a, b).

100 ppm F deney grubunda serebrum bölgesindeki nöronlarda piknotik ve hiperkromatik nükleus, nükleolus kaybı, nissl maddesinde azalma gibi morfolojik değişiklikler görülmüştür (Resim 41). Hipokampusta ise CA1 ve CA2 bölgelerinde küçülmüş, büzüşmüş şekli bozulmuş hiperkromatik nükleusa sahip nöronlara rastlanmıştır. Bununla birlikte bu hücrelerde nükleolus kaybı ve nöron hücrelerinin

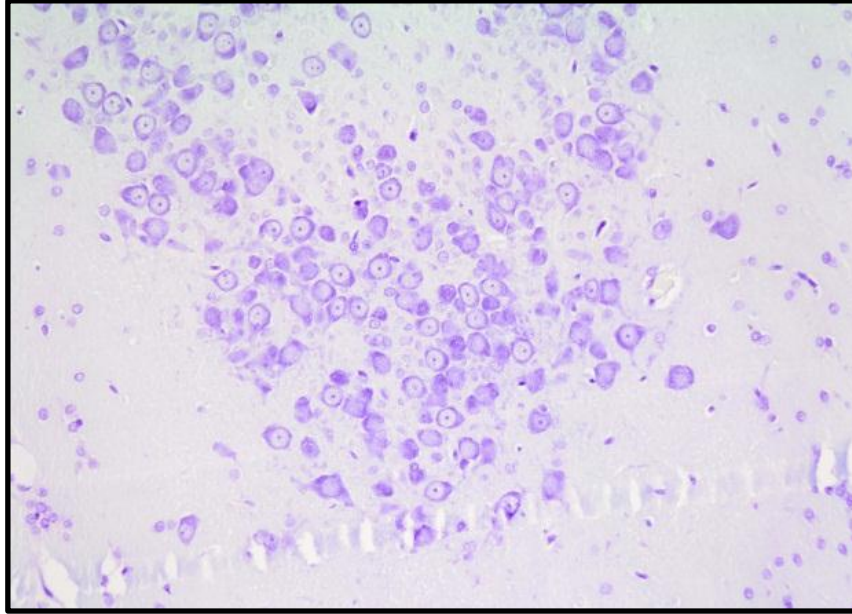
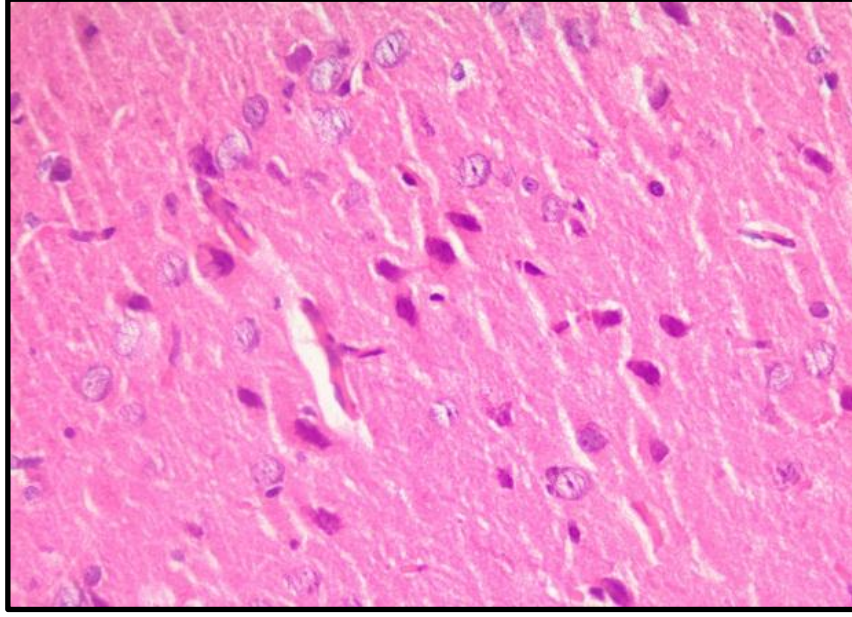
çevresinde berrak boşluklar görülmüştür. CA3 bölgesinde ise daha az nöronda morfolojik değişikliklere rastlanmıştır (Resim 42).



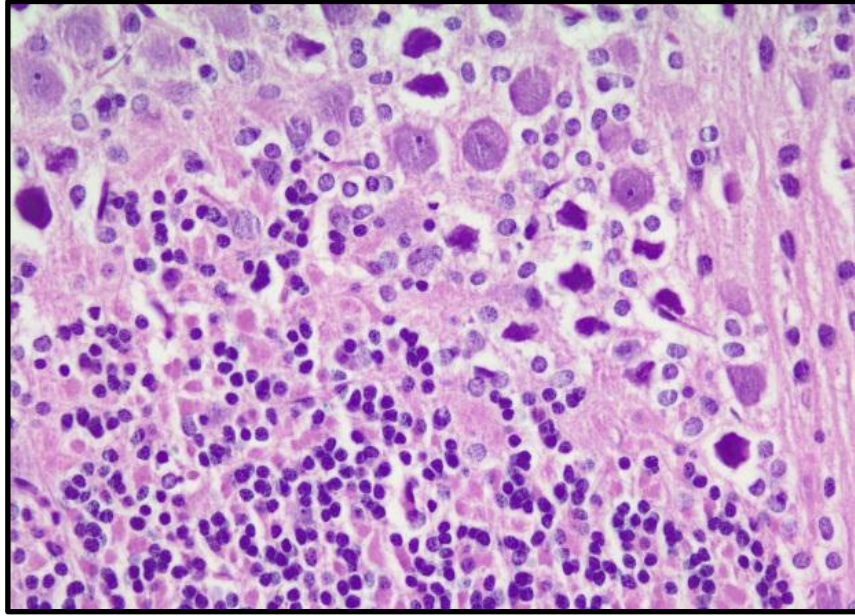
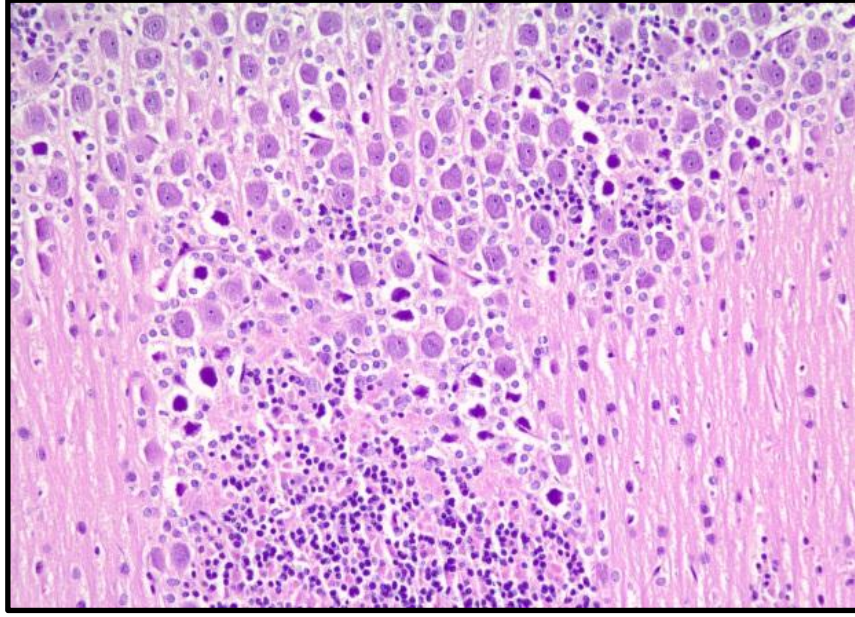
Resim 33: 1. ay 100 ppm F grubunda serebellumda az sayıda purkinje hücrelerinde hücresel şişme x200 büyütme. H&E boyama



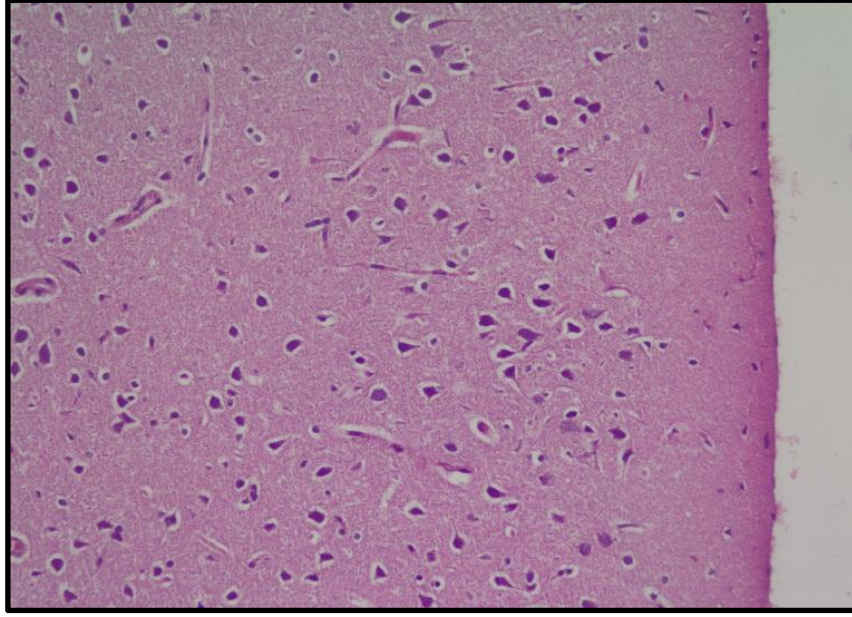
Resim 34: 5. ay 30 ppm F grubunda, serebellum bölgesinde purkinje hücrelerinde belirgin hücresel şişme x200 büyütme. H&E boyama



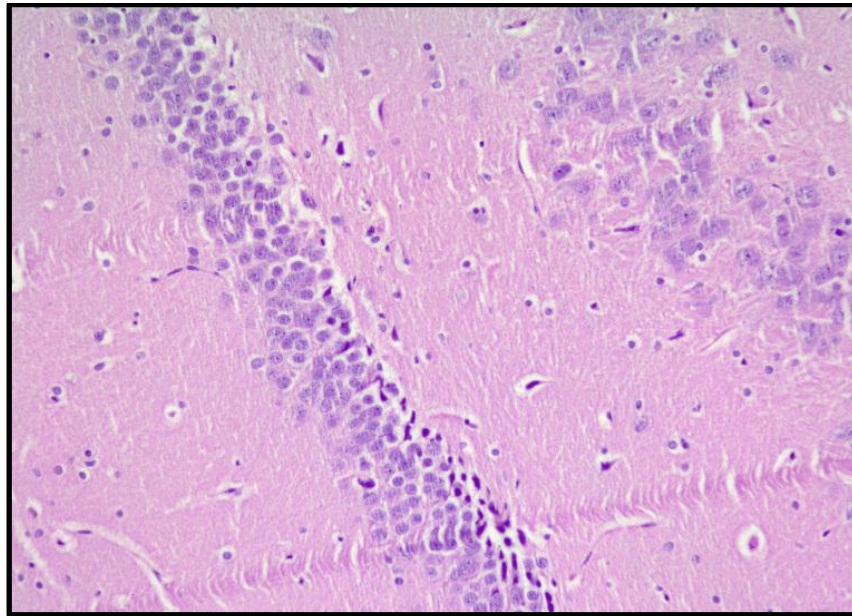
Resim 35: 5. ay 30 ppm F grubunda serebrum bölgesinde ise az sayıda nöronda piknoz, nissl maddesinde azalma, hiperkromatik nükleus gibi değişiklikler A- x400 büyütme. H&E boyama, B- x400 büyütme. Krezil viyole boyama



Resim 36: 5. ay 100 ppm F grubunda, serebellumda purkinje hücresinde iskemik bulgular, hiperkromatik nukleus, nukleolus kaybı. A- x200 büyütme, B- x400 büyütme. H&E boyama

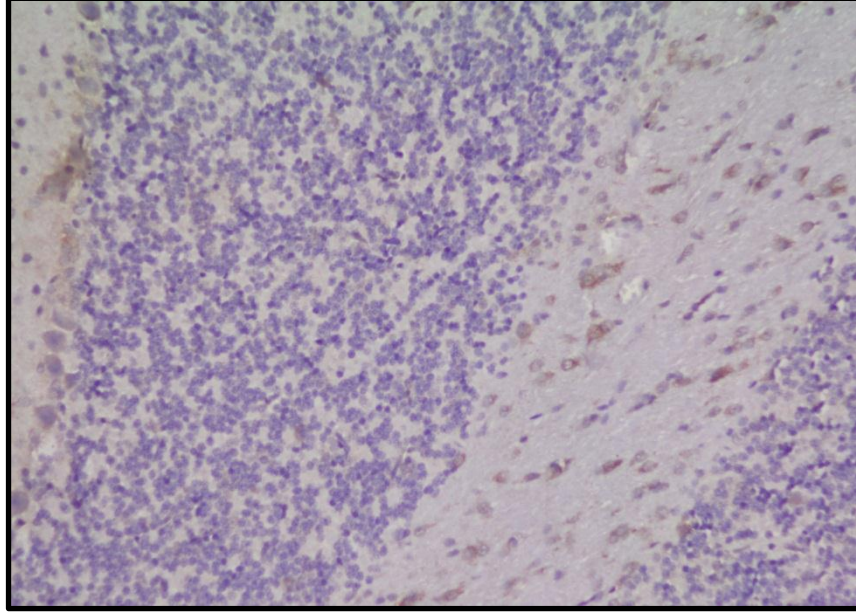


Resim 37: 5. ay 100 ppm F grubunda serebrum bölgesindeki nöronlarda piknotik ve hiperkromatik nukleus, nukleolus kaybı, nissl maddesinde azalma gibi hücresel değişiklikler x400 büyütme. H&E boyama

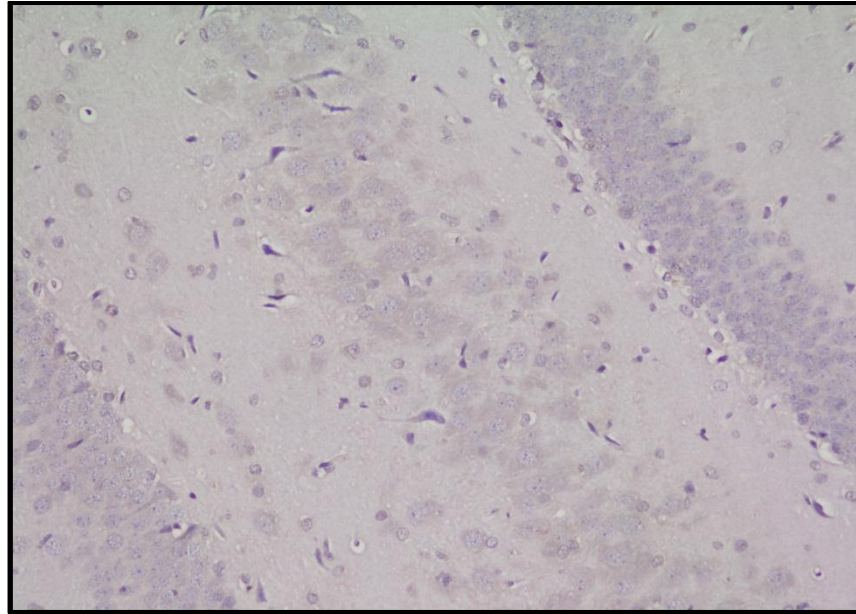


Resim 38: 5. ay 100 ppm F grubunda hipokampuste küçülmüş, büzüşmüş şekli bozulmuş hiperkromatik nukleusa sahip nöronlar x200 büyütme. H&E boyama

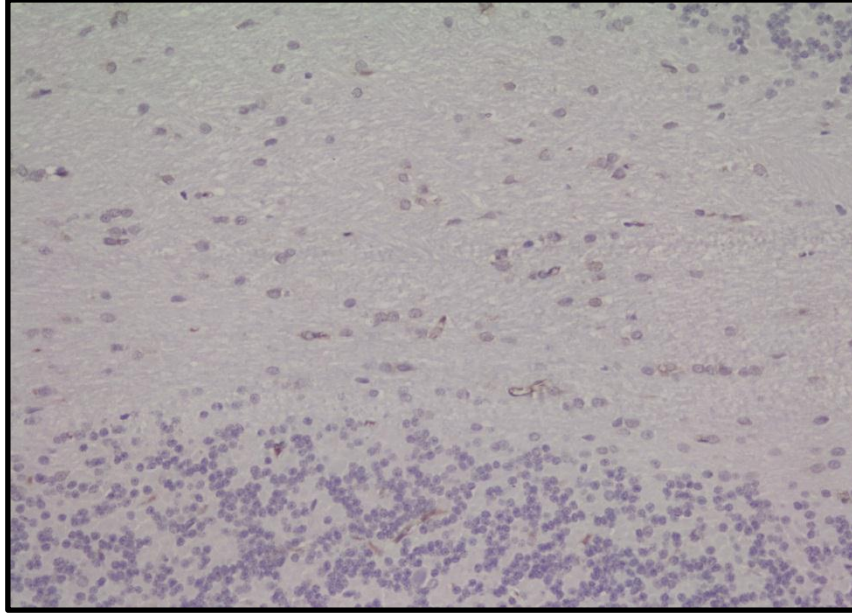
6.3.7. Beyin dokularının immünohistokimyasal değerlendirmesi



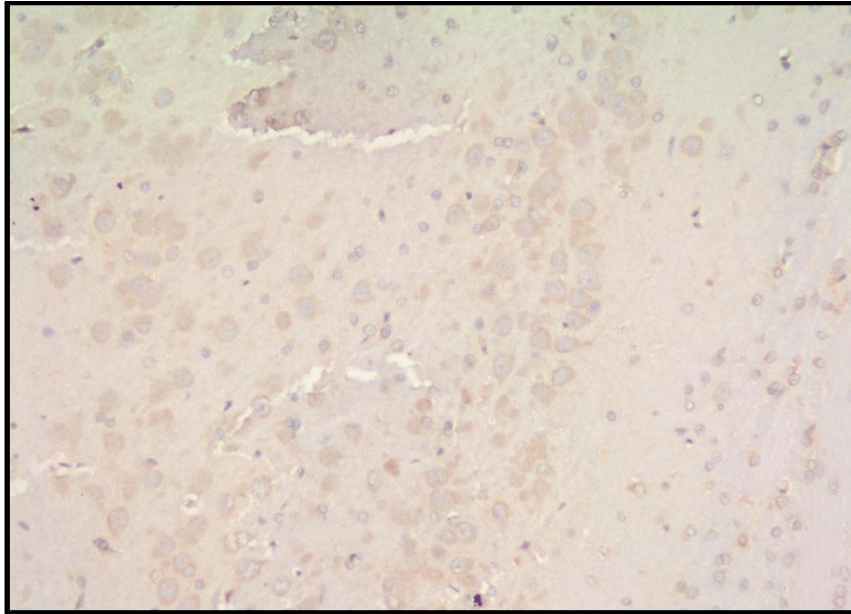
Resim 39: 1. ay 100 ppm F grubunda serebellumda Şiddetli CAT immünoaktivitesi x200



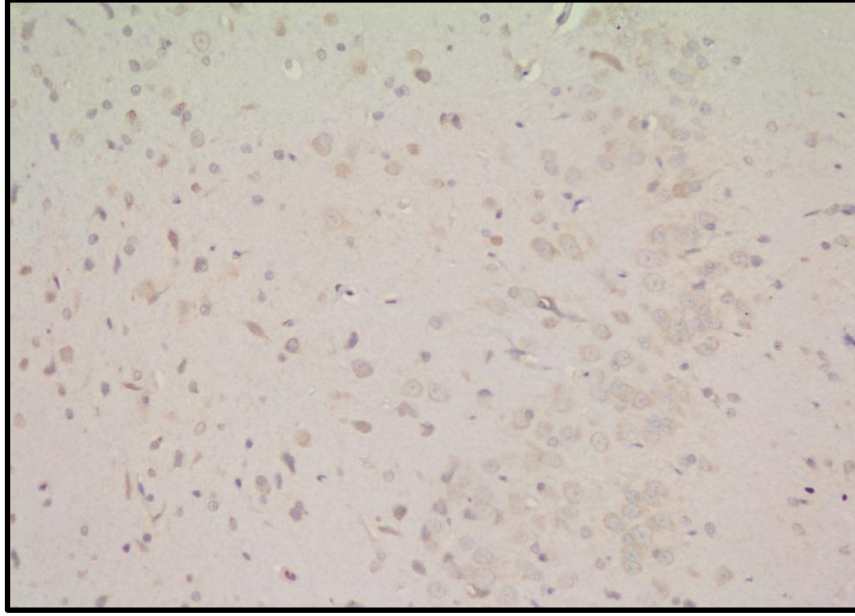
Resim 40: 1. ay 100 ppm F grubunda hipokampusta zayıf CAT immünoaktivitesi x400



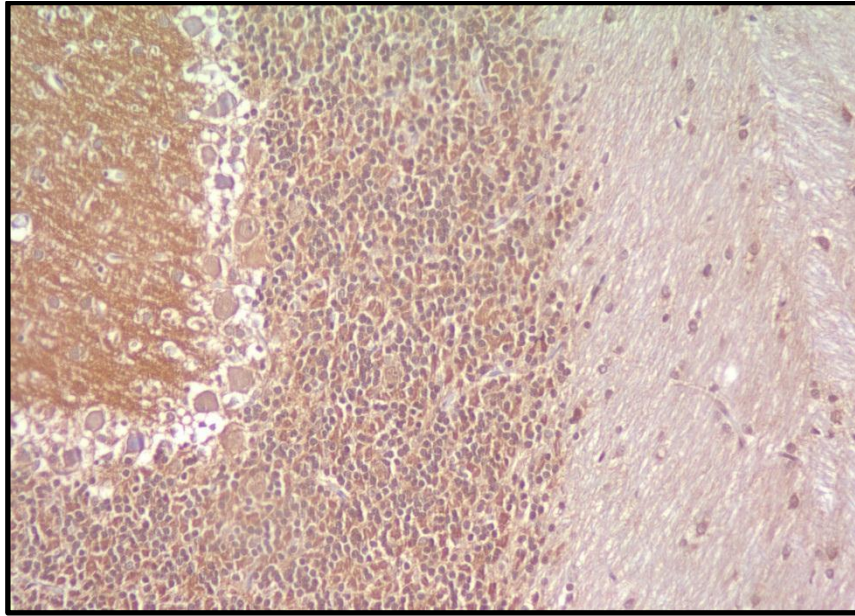
Resim 41: 3. ay 100 ppm F grubunda serebellumda şiddetli CAT immünreaktivitesi x200



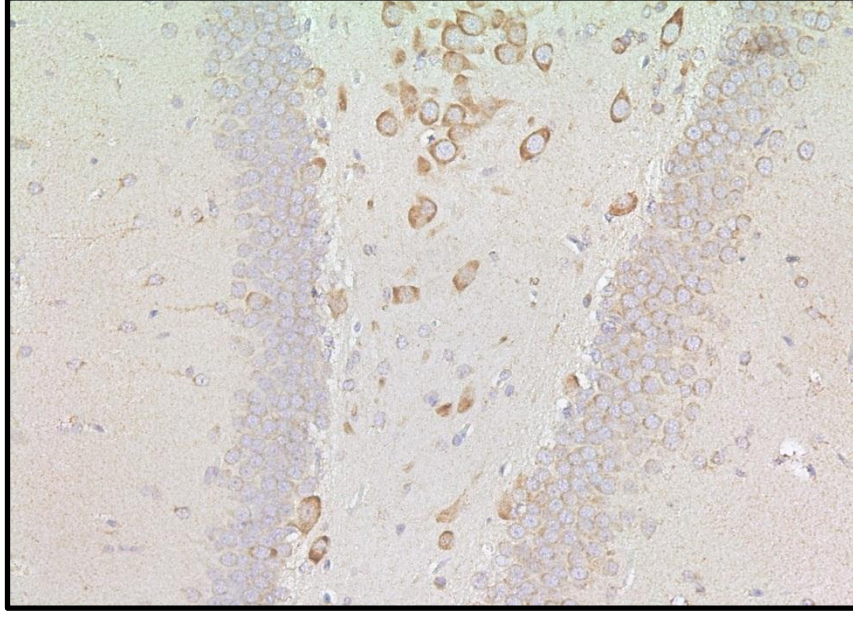
Resim 42: 5. ay 30 ppm F grubunda hipokampusta şiddetli CAT immünreaktivitesi x400



Resim 43: 5. ay 30 ppm F grubunda serebrumda şiddetli CAT immünreaktivitesi x400



Resim 44: 3. ay 100 ppm F grubunda serebellumda şiddetli SOD immünreaktivitesi x200



Resim 45: 1. ay 30 ppm F grubunda hipokampuste şiddetli SOD immünreaktivitesi x400

7. TARTIŞMA

F bileşikleri diş çürüğünün kontrolü ve korunmasında önemli bir yere sahiptir. Geçen yüzyılın ortalarına kadar F'in maksimum koruyucu etkisinin sistemik olduğu düşünülmekte ve bu etkinin F'in minenin gelişim döneminde hidroksiapatit kristallerine katılması ile gerçekleştiği kabul edilmekteydi. Bu dönemlerde çocuklardaki diş çürüğü sıklığı ve şiddetini azaltmak temel amaç olmuş, dental fluorozis göz ardı edilmiştir (6, 21, 22, 47, 48, 50).

F'in diş çürüğündeki etki mekanizmasının daha iyi anlaşılmasını takiben özellikle çocuklarda erken dönemde diş çürüğünden korunmak için topikal uygulamalara geçilmiştir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar göstermiştir ki çocuklarda ve bebeklerde kullanılan farklı F'li ajanların piyasada artması nedeniyle dental fluorozis görülme sıklığı artmıştır (86, 87, 90).

Maupome ve ark. (90) 2003 yılında yaptıkları çalışmada 1. yaştan itibaren diş macunu kullanan çocuklarda dental fluorozisin arttığını tespit etmişlerdir. Franzman ve ark. (52) 2006 yılında yaptıkları çalışmada 24 aylık bebeklerde diş macunu yutulmasına bağlı dental fluorozis şiddetinin arttığını bildirmiştir. Pendrys ve ark. (106) 2010 yılında yaptıkları çalışmada 1000 ppm F içeren macunların hafiften orta şiddete kadar dental fluorozise neden olduğunu bildirmişlerdir. Toplumda dental fluorozis prevalansının artması sonucu son yıllarda bu konuda yapılan araştırmalar yoğunluk kazanmıştır (17, 37, 38, 85, 90, 106, 148). Günümüzde yapılan çalışmalar özellikle dental fluorozisin oluşum mekanizması üzerine yoğunlaşmaktadır.

Tıbbın diğer branşlarında olduğu gibi diş hekimliğinde de insanlarda uygulanması mümkün olmayan çalışmalarda deney hayvanları kullanılmaktadır (21, 34, 35, 44, 45, 74, 115). Amelogenesis ve onu etkileyen çevresel ve genetik faktörlerin incelenmesinde benzer gelişim dönemleri gösteren memeli hayvanlar; özellikle sıçan, fare, kobay, tavşan; kolay üretilmeleri, barınmaları, beslenmeleri ve kısa yaşam döngülerinden dolayı tercih edilmektedir (81, 108, 112, 114). Dental fluorozis de çevresel kaynaklı diğer dental bozukluklar gibi klinik olarak bu canlıların dişlerinde kendini göstermektedir. Sıçanların diş dokularının gelişimi ve yapıları insan dişine benzemektedir. Bu nedenle sıçanlar diş gelişimini etkileyen

faktörlerin incelenmesi açısından deneysel çalışmalarda en sık kullanılan hayvanlardır (7, 21, 34, 35, 50, 63, 68). Ancak her canlı kendi metabolizma ve genetiğine özel farklılıklar bulundurmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız sıçanlarda da benzer durumlar söz konusudur.

Deney hayvanı olarak sıçanların kullanıldığı dental fluorozis çalışmalarında araştırmanın amacına bağlı olarak erişkin veya yavru sıçanlar kullanılmaktadır.

Bazı çalışmalar F'in plasentadan geçtiği (13, 14, 60, 61, 70), bazıları da plasentanın F'e seçici geçirgen davrandığını bildirmiştir (47).

Katz ve ark. (70) yaptıkları bir çalışmada bir grup sıçana gebelik döneminden itibaren 25 ppm F, diğer gruptaki sıçanlara ise çiftleşme öncesi dönemden itibaren 25 ppm F uygulamışlardır. Yeni doğan yavrular doğumdan hemen sonra F analizleri için sakrifiye edilmiş ve çiftleşme öncesi dönemden itibaren F'e maruz kalan sıçanlardan doğan yavrularda plasentadan F geçişinin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Madhusudhan ve ark. (82) çalışmalarında gebelik döneminde sıçanlara 100 ppm F vermişlerdir. Postnatal 21. günde yavru sıçanları sakrifiye edip antioksidan enzimler aktivitelerini değerlendirmiş ve santral sinir sisteminde F'in toksik etkilerini tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları F'in plasentadan geçişini desteklemektedir.

Basha ve ark. (13) sıçanlara gebelik süresinde 50 ppm ve 150 ppm F içeren içme suyu vermişlerdir. Postnatal 21. günde yavru sıçanları sakrifiye etmişler ve biyokimyasal parametrelerini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar yavru sıçanların beyinde antioksidan dengenin bozulduğunu bildirmişlerdir. Basha ve ark.'nın çalışması da plasentadan F geçişini desteklemektedir.

İnsanlarda da plasentadan F geçişi ile ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur (60, 61). Gupta ve ark. (60) yaptıkları çalışmada 25 yeni doğanda plasenta geçişini araştırmışlar annelerden ve yeni doğanların göbek kordonlarından alınan kan örneklerinde kordon kanındaki F konsantrasyonunun annelerin kanındaki F konsantrasyonunun % 60'ı kadar olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları F'in plasentadan geçtiğini desteklemektedir. Plasentanın ne dereceye kadar F geçişine izin verdiği hala tam olarak bilinmemektedir ve prenatal dönemde F takviyeleri önerilmemektedir.

Biz de F'in sistemik etkisinin doğum öncesi de görülebileceğini göz önünde bulundurarak çalışmamızda canlı organizmada prenatal dönemden itibaren F' in toksik etkilerini araştırmayı amaçladık. Sistemik F'e bağlı diş ve beyin dokularında meydana gelebilecek histopatolojik değişiklikleri histolojik yöntemlerle inceledik. Böyle bir *in vivo* çalışmanın izole kontrol grubu ile birlikte, başka türlü yapılması mümkün olmadığından, sıçanlarda oluşturulan dental fluorozis modelinden yararlandık.

Deney hayvanlarında, fluorozis ile ilgili çalışmalarda F oral veya parenteral yöntem ile hayvanlara uygulanmaktadır. Parenteral yöntemi kullanan çalışmalarda F'in akut F toksisitesine bağlı gelişen etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır. Oral yoldan F uygulanması ise iki şekilde yapılmaktadır. F içme suyunu katılarak *ad libidum* verilmekte ya da oral gavaj yöntemi ile direk mideye uygulanmaktadır (21).

Lyaruu ve ark. (80) sıçanlarda dental fluorozisi değerlendirdikleri çalışmalarında 14 gün boyunca 50 ppm F'u *ad libidum* olarak vermişlerdir. Zhu ve ark. (156) sıçan hipokampusundaki F'in nörotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, sıçanlara 9 ay boyunca 15, 30 ve 60 mg/l F içeren içme suyunu *ad libidum* olarak vermişlerdir.

Çalışmamızda Lyaruu ve ark. ile Zhu ve ark.'na benzer olarak oral yöntem kullanılmıştır ve deney hayvanlarına F içme suyuna eklenerek *ad libidum* olarak verilmiştir.

Deney hayvanları ile fluorozis çalışmalarında insandakine benzer etkiyi yakalamak için F düzeyleri temel alınmıştır. Sıçan ve farelerde aynı plazma F seviyeleri sağlandığı zaman insandaki ile benzer dental fluorozis belirtileri görülmektedir. Yapılan çalışmalarda aynı plazma F düzeylerinin sağlanması için F miktarının yaklaşık 10 kat artırılarak sıçanlara verilmesi gerektiği bildirilmektedir (21). Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte araştırmacılar sıçanların metabolizmasının daha hızlı olması, kemik büyüme ve gelişiminin çabuk olması, plazma F kleransını yüksek olması ve böbreklerden F atılımının hızlı olmasına bağlamışlardır (21, 80, 115, 134). Çalışmalarda insanda 1 ppm içme suyunda F'in karşılığının rodentlerde 10 ppm F'e denk geldiği kabul edilmektedir (21, 124).

Hayvan modellerinde yapılan fluorozis çalışmalarında değişik F dozları kullanılmaktadır. Genellikle kontrol grubu ile beraber 10 ppm'den 250 ppm'e kadar

değişik konsantrasyonlarda sistemik F uygulanan deney grupları görülmektedir. Sıçanların genel sağlığı üzerine F'in toksik etkilerinin görülmeye başladığı doz 125 ppm olarak bildirilmektedir (21). 100 ppm F dozunun sıçanlarda diş dokularında fluorozis defektleri oluşturduğu daha önce yapılan çalışmalardan bilinmektedir (63, 74, 124).

Mousny ve ark. (96) farelerde F'in sert dokular üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, farelere 25, 50 ve 100 ppm F uygulamışlardır. 50 ve 100 ppm F gruplarında kemik dokularında ostoid formasyonunda artış bildirmişlerdir.

Smith ve ark. (124) minede F'in toksik etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında sıçanlara içme suyu ile 100 ppm F vermişlerdir. Araştırmacılar sonuç olarak, 100 ppm F'in sistemik değişikliklere neden olmadığını ancak dental fluorozise neden olduğunu bildirmişlerdir.

Biz çalışmamızda kontrol grubu ile beraber yüksek doz olarak 100 ppm F kullandık. Bununla birlikte 30 ppm F dozunu da günlük kullanılan diş macunu, F'li gargaralar gibi dental ürünlerden veya yiyecek ve içeceklerden kolaylıkla maruz kalabileceğimiz ve hafif dental fluorozis riskini göz önünde bulundurarak kullandık.

Uzun süreli ya da yüksek dozda F alımının vücut ağırlığında düşüğe neden olabileceği bildirilmektedir. Mullenix ve ark. (98) laktasyon döneminden itibaren 125 ppm F verilen hayvanlarda 6 hafta sonunda vücut ağırlığında değişim görmemiş ancak 20 hafta sonunda ağırlık kaybı göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada 175 ppm F verilmesinin ise her üç sıçandan birinin ölümüne yol açtığını bildirmişlerdir.

Basha ve ark. (13) prenatal dönemlerden itibaren 50 ve 150 ppm F'a maruz kalan sıçanların doğum ağırlıkları arasında istatistiksel anlamlı fark kaydetmezken 150 ppm grubunda gelişim geriliği olduğunu bildirmişlerdir.

Aydın ve ark. (10) 1, 50 ve 100 ppm F'e maruz bıraktıkları sıçanların vücut ağırlıklarını değerlendirdikleri çalışmalarında, 50 ve 100 ppm gruplarının vücut ağırlıklarının 1 ppm grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Doza ve alınan süreye bağlı olarak F'in dokularda meydana getirdiği etki değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda da 100 ppm F grubunda yer alan sıçanların kontrol ve 30 ppm F gruplarına göre vücut ağırlıkları düşüktür ve bu fark yeni doğan ve 3. ayda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Dental Fluorozis Değerlendirmesinin Tartışması

İnsanda dental fluorozisin şiddetini belirlemek için değişik indeksler kullanılmaktadır. En çok kullanılan ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından kabul edilen Dean indeksi daha ziyade klinik ve epidemiyolojik çalışmalarda tercih edilmektedir. TF indeksi ise minenin histolojik yapısını da göz önünde bulundurarak daha detaylı incelendiği çalışmalarda kullanılmaktadır. Fare ve sıçanlarda dental fluorozisin klinik görünümü, insanda görülen hafif ve hafiften şiddetliye dental fluorozis formlarına paraleldir (44). Deney hayvanlarında da dental fluorozisin fenotipini belirlemek için bir indekse ihtiyaç vardır. Fare ve sıçanlarda sağlam mine görüntüsünde demir pigmentasyonuna bağlı koyu sarı bir mine görüntüsü vardır. İnsandan farklı olarak rodentlerin dişleri sürekli aşındığından fluorozisli minede şiddetli lekelenmeler görülmez. Bu nedenle rodentlerde TF indeksin ilk 4 skoru kullanılmaktadır. Çünkü TF indeksi 5. skordan itibaren diş yüzeyinde meydana gelen mine kayıplarını temel almaktadır (44, 45).

Everett ve ark.'nın çalışmalarında iki farklı fare türüne içme suyu ile 25 ve 50 ppm F verilmiştir ve 60 gün sonunda maksiller kesici dişlerde 2 gözlemci tarafından diş renk skalaları kullanılarak dental fluorozis değerlendirilmiştir. Bunun için modifiye TF indeksi kullanılmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar arasında yüksek uyum bulunmuştur ancak bu indeksi doğrulamak için QLF kullanılmıştır (44). Everett ve ark. 2009 yılında yaptıkları başka bir çalışmada TF indeksinin skor 4'e kadar olan bölümünü kullanmışlardır (45). Kesit yapılmadan bukkal yüzeyde QLF ile doğrulanan bu metod ile değerlendirmenin bazı sınırlamaları vardır. F'e bağlı gelişen tek bir lezyonun lokalizasyonunda kullanılamaz. Yüzey özellikleri mine iç yüzeyi histolojik değişiklikler ile bağlantılı değildir ve yüzeyde görülen kavite sayısı dikkate

alınmamaktadır. Yüzey ve internal mine defektleri arasındaki ilişki dental fluorozis mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına yardımcı olabilir (44).

Vieira ve ark. (137) iki farklı fare türüne 0, 25, 50 ve 100 ppm F'u içme suyu ile 42 gün boyunca vermişlerdir. Araştırmacılar dental fluorozisi QLF ile değerlendirmişlerdir. Aynı çalışmada dişlerdeki F konsantrasyonu analiz etmişler ve QLF değerleri ile F konsantrasyonu arasında korelasyon bildirilmiştir.

Catani ve ark. (25) 2010 yılında dental fluorozisi belirlemek için yaptıkları çalışmada resim analiz yöntemini kullanmışlardır. Bu yöntem, F'in sıçan kesici diş mine yüzeyinin demir pigmentasyonunu değiştirmesi esasına dayanmaktadır. Araştırmacılar kullandıkları indeks ile içme suyundaki F konsantrasyonu arasında lineer bir bağlantı bulmuşlardır.

Leite ve ark. (74) 2011 yılında yaptıkları çalışmada Fluorosis Mine Defekt indeksinden yola çıkarak oluşturdukları indekste fluorozis görülen sıçan dişlerinde beyaz bantları, pigmente sınırlarla çevrili beyaz adacıkları hipomineralize alanlar olarak tanımlamışlardır. Bunu polarize mikroskop ve mikroradyografi ile doğrulamışlardır. Araştırmacılar bu indeksi kullanarak tipik rodent mine görüntülerini tarif etmişler ve maksiller ve mandibular kesici dişlerde buldukları 2 medyan değerini F ile beraber kurşun varlığında alt kesicilerde daha yüksek bulmuşlardır.

Leite ve ark.'nın (74) indeksini modifiye ederek kullandığımız çalışmamızda gözlemciler arasında ekseriyetle uyum bulunmuştur. MREF indeksi skorları içme suyu F değerleri arttıkça anlamlı derecede artmıştır. Aynı zamanda takip süresi arttıkça indeks skorlarının arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar dental fluorozis şiddetinin doza ve zamana bağlı olarak arttığını bildiren çalışmalarla uyumludur ve sıçanların dental fluorozis araştırmaları için uygun model hayvanları olduğunu göstermektedir (63, 80,74, 115).

Kesici dişlerin SEM bulgularının tartışması

Shinoda ve Ogura (119) 100 ppm F içeren içme suyu uyguladıkları 58 günlük sıçanların kesici dişlerinin mine yüzeyini taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile değerlendirmişlerdir. Belirgin hipokalsifikasyonlar saptamışlar ve mine çubuklarının yoğunluğunun F grubunda kontrole göre azaldığını bildirmişlerdir. Bu değişimlerin

minenin dış tabakasında daha belirgin olduğunu bildirmişler ve bunu da F'in mine maturasyonuna etkisine bağlamışlardır.

Shusheela ve Bhatnagar (127) 18 ve 23 ay boyunca 10 ppm F verdikleri tavşanların mine yüzeyini inceledikleri çalışmada uzun süreli F alımına bağlı hipoplastik, kesintili, çukurcuklu ve çatlamaş yüzeylerin granüllü birikintilerle kaplı olduğunu SEM'de göstermişler ve F'e bağlı meydana gelen mineralizasyon bozukluğu sonucunda mine yüzeyinde yapısal değişikliklerin oluştuğunu bildirmişlerdir.

Saiani ve ark. (115) 2009 yılında yaptıkları çalışmada sıçanlara 60 gün boyunca 45 ppm F vermişler ve sıçan kesici dişlerinde F'e bağlı meydana gelen morfolojik değişiklikleri taramalı elektron mikroskobu ile incelemişlerdir. SEM analizi sonucunda pigmente bantların asit ataklarına daha dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar asit uygulanmadığı zaman fluorozisli minenin kontrol minesinden farklı olmadığını ve asit uygulamasının ancak bantları ve mine çubuklarını açığa çıkardığını bildirmiştir. Makroskopik olarak mine yüzeyinde görülen beyaz bantlar SEM'de yüzeyden çökmüş olarak görünmektedir. Araştırmacılar bu durumu bantların aside daha az dirençli olmasına bağlamaktadır. Bu nedenle fluorozisli mine yüzeyi daha poröz bir görünüme sahiptir.

SEM değerlendirme sonuçlarımıza göre;

Kontrol grubunda mine üst yüzeylerinde mine çubuklarının 1. aydan 3. ve 5. aya doğru gittikçe sıklaştığı görülmüştür. 30 ppm F grubunda 1. aydaki mine üst yüzeyi görüntüsünde kontrol grubuna göre herhangi bir fark bulunmaz iken 5. aya doğru mine çubukları arasındaki mesafenin arttığı görülmüştür. 100 ppm F grubunda 1. ayda mine çubuklarının incelendiği görülmüştür, 5. ayda ise mine çubukları arasındaki mesafenin oldukça arttığı ve yer yer büyük demineralize alanların meydana geldiği görülmüştür. Sonuç olarak SEM çalışmamızda 30 ppm F grubunda daha az 100 ppm F grubunda daha belirgin demineralize alanlar tespit edilmiştir. Bu bulgularımız diğer araştırmalarla (72, 119, 127) benzerlik göstermektedir.

Kesici dişlerin ışık mikroskobu bulgularının tartışması

Ameloblastlar yaşam döngüleri boyunca fonksiyonlarına bağlı değişim geçiren hücrelerdir. Bu değişimi sıçan kesici dişlerinde kolayca izlemek mümkündür ve dental fluorozis gibi yapısal bozukluklarda ameloblastların ve salgıladığı mine dokusunun değişiklikleri gözlemlenebilir (74, 81, 115). Dental fluorozis sıçanlarda uzun yıllardan beri incelenmektedir. Kronik F miktarına maruz kalındığında matürasyon safhasındaki ameloblastlarının hedef olduğu bilinmektedir (107, 123) Akut F toksisitesinde ise geçiş dönemi ve erken sekresyon dönemi ameloblastları etkilenmektedir (81).

Dental fluorozisin altında yatan mekanizma hala araştırılmakta ve birçok teori öne sürülmektedir. Bunlar kısaca; 1) F'nin matriks kompozisyonunu değiştirmesi veya çözünmesini önlemesi, 2) Fluorozisli minenin matriks içinde fiziksel olarak hapsolmesi, 3) Kalsiyumun amelogenezis esnasında F ile etkileşmesi, 4) Amelogeninin tamponlama etkisinden dolayı F'in etkilerinin değişmesidir (11,21, 130).

Uzun yıllardan beri F'in mine matriksinin kompozisyonunu değiştirdiği ve bunun sonucunda değişmiş kristal büyümesi olduğu düşünülmekteydi. Fakat yapılan ultrastrüktürel çalışmalar göstermiştir ki, F enjeksiyonlarının arkasından salgılanan matriks daha amorf ve çizgilidir ve normal mine matriksiyle kıyaslandığında dağınık yerleşmiş kristaller ve artmış kristaller arası boşlukları vardır. Daha şiddetli vakalarda prizmatik iç mine dokusunda prizmasız mine bulunmaktadır. Bu bölgelerde F miktarı yükseldiğinde prizmatik mine yoğun olarak kesintiye uğramıştır ve prizmasız mine oluşmuştur. F etkisi geçtikten sonra prizmatik mine oluşmaya devam eder. Fluorozisli salgısal matriksin biyokimyasal analizleri matriks proteinlerinin içeriğinde veya kalitesinde değişiklikler tanımlamamıştır (21).

Bundan başka organ kültürlerindeki işleve yönelik yapılan çalışmalar göstermiştir ki fluorozisli matriks de mineral oluşturma kapasitesine sahiptir. Bu durum F'in uzaklaştırılmasını takiben iyileşme ile oluşan mine de in vivo görülmektedir. Plazmadan F kleransına benzer şekilde kültür ortamındaki F uzaklaşması, ameloblast yapısını restore etmekte ve fluorozisli matriks içinde kristal oluşumunun başlamasına izin vermektedir. (7, 21).

Ribeiro ve ark. (109) mine gelişimi esnasındaki F'in ameloblastlar üzerine toksik etkisini incelemişlerdir. 6 hafta boyunca sıçanlara içme suyu ile 7 ve 100 ppm F vermişlerdir. Araştırmacılar 7 ppm grubunda sekresyon dönemi ameloblastlarında bir değişikliğe rastlamazken, 100 ppm grubunda sekresyon dönemi ameloblastlarının apikal kısmında kist benzeri oluşumlar izlemişlerdir.

Hassunuma ve ark. (63) çalışmalarında sıçanlara çiftleşme döneminden 1 hafta önce 7 ve 100 ppm olacak şekilde içme suyu ile F vermişlerdir. Sıçan yavrularını doğumdan sonra 0, 7 ve 14 günde sakrifiye etmişlerdir. 7 ppm F'e maruz kalan gruplarda ameloblastlarda morfolojik değişiklikler gözlemlenmemiştir. 100 ppm F'e maruz kalan gruplarda özellikle sekresyon döneminde F'e bağlı değişiklikler izlenmiştir.

Lyaruu ve ark. (81) hamsterlerde F'in mine gelişimi esnasında, ameloblastlar üzerindeki toksik etkilerini incelemişlerdir. 100 ppm F'a maruz kalan gruplarda postsekresyon dönemi ameloblastlarında kist benzeri oluşumlara rastlamışlardır.

Lyaaruu ve ark.'ın (80) başka bir çalışmasında 14 gün boyunca ad libidum 50 ppm F içeren içme su verilen sıçanlarda postsekresyon safhasında ameloblastların altında kist benzeri oluşumlar görülmüştür

Çalışmamızda 30 ppm F grubunda Ribeiro ve ark.'nın çalışmalarına benzer olarak, ameloblastlar hem sekresyon hem de maturasyon döneminde kontrol grubu ile benzer normal histolojik bir yapı göstermektedir. Ancak 100 ppm F grubunda Ribeiro ve ark. ile Lyaruu ve ark.'na benzer şekilde sekresyon safhası ameloblastları ile mine matriksi arasında kist benzeri oluşumlar tespit edilmiştir. Ayrıca matriks dış yüzeyinde Tomes uzantılarını tespit edemememizin, daha sonra bu dişlerde görülen dental fluorosizle alakalı olduğunu düşünmekteyiz. Nitekim matriksin kalınlığı ve genel görüntüsünde belirgin bir farklılık yok iken dış yüzeyinin düzgün yapısı bozulmuştur.

Yüksek F dozlarında kobay azı dişlerinde ameloblastların oluşumu esnasında, distal uçlarında kistik oluşumlar tarif edilmiştir. Bu oluşumların amelogeninle bağlantısı olduğu düşünülmektedir. Amelogenin tarafından yönlendirildiği düşünülen tamponlama etkisi ise yüksek F konsantrasyonlarında özellikle ameloblastların geçiş safhasında meydana gelen kist oluşumuna açıklayabilir (21, 130).

Geçiş döneminde mine katmanlarındaki tamponlama sistemleri amelogeninden bikarbonatlara değişmekte ve bu değişim bazı hücreleri pH düşüşüne hassas hale getirmektedir. Mine birikiminin stimülasyonu sonucu oluşan F kaynaklı asitlenme aynı zamanda maturasyon safhasındaki fluorozisli mine oluşumuna etki eden faktörlerden biri olabilir. Maturasyon safhasında yüksek miktarda protonlar oluşur ve bu protonların miktarı sekresyon safhasından daha fazladır. İlk olarak F'e bağlı hipermineralizasyon en dış tabaka da oluşur. Bu tabaka maturasyon dönemi ameloblastlarının apikal hücre duvarının hemen altındadır ve bu süreç yüzey altı hipomineralize lezyonların oluşmasıyla bağlantılı gibi görülmektedir. Ortamda F varlığında maturasyon safhası ameloblastlarında stres kaynaklı proteinlerin olması bu hücrelerin stres varlığını da göstermektedir.(21, 130).

Beyin bulgularının tartışması

F'in yumuşak dokularda ve moleküler düzeyde sitotoksitesi son yıllarda sık olarak gündeme gelmektedir. *In vitro* hayvan hücreleri çalışmalarında F'in pankreas beta hücrelerinde oksijen oluşumunu arttırdığı SOD aktivitesini düşürdüğü, karaciğer hücrelerinde serbest oksijen reaktiflerinin oluşumunu arttırdığı, SOD ve CAT'ın aktivitesini düşürdüğü gösterilmiştir. Yine *in vitro* insan hücrelerinde karaciğer karsinomlarında MnSOD'ın gen ekspresyonunu arttırdığını, nöroblastoma hücrelerinde lipit peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu arttırdığını, insan saç foliküllerinde lipit peroksidasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (11).

In vivo hayvan çalışmalarında koblarda kandaki NO oluşumunu arttırdığını, sıçanlarda spermatozoidlerin lipit peroksidasyonunu arttırdığı, farelerde beyin hücrelerinde SOD ve CAT aktivitesini düşürdüğü, sıçanlarda eritrositlerde SOD aktivitesini düşürdüğü, karaciğer ve böbrekte serbest oksijen reaktiflerinin oluşumunu arttırdığı, akciğerde GSH aktivitesini düşürdüğü, karaciğerde lipit peroksidasyonunu yükselttiği, domuzlarda karaciğerde SOD geninin ekspresyonunu düşürdüğü bildirilmiştir (11).

Çin'deki endemik fluorozis bölgelerinde yaşayan insanlarda ise serum lipit peroksidasyonunun arttığı, SOD ve CAT aktivitesinin düştüğü, Hindistan'da ise iskeletsel fluorozisi olan çocuklarda plazmadaki askorbik asit düzeyinin arttığı, ürik

asit düzeyinin düştüğü, eritrositlerde lipit peroksidasyonunun arttığı, SOD aktivitesinin düştüğü gösterilmiştir. Ayrıca F'e bağlı gen ekspresyonunun düzenlenmesinde *in vitro* hayvan ve insan hücrelerinde değişiklikler olduğu bildirilmiştir (11).

2012 yılında yayınlanan bir derleme makalede F'in G proteinleri stimüle etme özelliği olduğu ve buna bağlı olarak çeşitli metabolik yolların aktivasyonunda bozulmalar meydana geldiği öne sürülmektedir. F'in ayrıca mitokondria dış zarını zedelediği apoptoza neden olduğu bildirilmektedir (1). Ancak tüm çalışmalarda en çok öne çıkan F'in oksidatif stresi indüklemesidir (13, 14, 18, 27, 53, 55, 59).

F'in kan beyin bariyerini geçerek beyin dokuları üzerinde etkilerinin görüldüğü yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (13, 14, 57). Ancak F'in beyin dokularındaki toksik etki mekanizmaları tam olarak anlaşılmış değildir. Yapılan son çalışmalarla bu etkinin F'in beyin dokularında oluşturduğu oksidatif strese bağlı oluşabileceği düşünülmektedir (13, 14, 83).

Kaur ve ark. (71) F'in tek başına ve alüminyum ile kombine verildiği zaman sıçanlarda beyin dokusundaki toksik potansiyeli araştırmışlardır. F'e bağlı antioksidan enzim aktivitelerinin düşmesi ve lipit peroksidasyonunun artması sonucu oksidatif stresin anlamlı derecede arttığını bildirmişlerdir. Histolojik değerlendirmede ise nöronal bütünlüğün azaldığını bildirmişlerdir.

Zhu ve ark. (156) içme suyu ile 15, 30 ve 60 mg/l F verdikleri sıçanlarda hipokampusta CA3 bölgesinde F'e bağlı PSD-95 immünreaktivitesini incelemişlerdir. Hipokampusta F'e bağlı meydana gelen toksisitenin, oksidatif strese bağlı geliştiğini bildirmişlerdir. 30 ppm grubunun PSD-95 immünreaktivitesini 100 ppm F grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Çalışmamızda 30 ve 100 ppm F gruplarında CAT immünreaktivitesinde kontrol grubuna göre artış görülmüştür. Ayrıca Zhu ve ark. 'na benzer şekilde 30 ppm F grubunda 3 ve 5. aylarda 100 ppm grubundan daha yüksek CAT immünreaktivitesi izlenmiştir. 100 ppm ve 30 ppm F grubunda tüm takip sürelerinde gözlemlediğimiz CAT immünreaktivitesi ise bize hücrelerde oksidatif stres varlığını düşündürmektedir.

Basha ve ark. (14) F'in serebellum, serebral korteks, hipokampus ve medulla bölgelerindeki nörotoksik etkisini antioksidan enzim aktivitelerine göre değerlendirmişlerdir. Sıçanlara içme suyu ile 100 ppm ve 200 ppm F vermişlerdir. F varlığında katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S, transferaz enzimlerinin aktivitelerinde azalma görmüşlerdir. Azalan enzim aktivitesinin F' in nörotoksik etkisine bağlı beynin değişik bölgelerinde meydana gelen, oksidatif strese kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Çalışmamız da beynin farklı bölgelerinde F'in nörotoksik etkilerini morfolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirdik. Literatürde denge merkezi olan serebellum bölgesinde purkinje hücrelerinin F'in nörotoksik etkilerine hassas olduğu bildirilmektedir(134). Araştırmamızda beyin dokuların morfolojik değerlendirmesi sonrasında serebellumda purkinje hücrelerinde 30 ve 100 F gruplarında hücresel şişme, hiperkromazi, piknoz, nukleolus kaybı ve Nissl maddesinde azalma gibi morfolojik değişiklikler gözlemledik. 100 ppm F grubunda bu değişiklikler 30 ppm F grubuna kıyasla daha yoğun görülmektedir.

Hipokampusun F gibi toksik maddelere hassas olduğu ve F varlığında hipokampusta nörotoksisite meydana geldiği bildirilmektedir (100). Çalışmamızda da 100 ppm F grubunda hipokampus bölgesindeki nöronlarda piknoz, hiperkromatik nukleus, nukleolus kaybı ve Nissl maddesinde azalma gibi morfolojik değişiklikler gözlemledik.

Basha ve ark. (13) başka bir çalışmalarında hamile sıçanlara 50 ve 150 ppm F vermişlerdir. F'e maruz kalan yavru sıçanlarda serebral korteks, serebellum, medulla ve spinal kordta, CAT ve SOD aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Tüm bölgelerde enzim aktivitesinin azaldığı görülmüştür. F'in gelişmekte olan santral sinir sistemi üzerine etkisinin değerlendirildiği bu çalışmada, F' in bu dokular üzerine birikiminin, oksidatif strese neden olduğu ve nöronal bütünlüğü bozduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda 30 ve 100 ppm F gruplarından doğan ve post natal ikinci gün ve 1 ay sonunda sakrifiye edilen sıçanların beyin dokusunda CAT enzim immünreaktivitesinin arttığı görülmüştür. Bu durumun meydana gelen oksidatif

strese baęlı olabileceęini ve F'e maruz kalan geliřmekte olan santral sinir sisteminin F'in toksik etkilerine hassas olduęunu dűřünmekteyiz.

Çalışmamız bir kere daha, sıçanların fluorozis çalışmalarında uygun deney modelleri olduklarını göstermektedir. Mine oluşumu dahil dental dokuların gelişiminde F'in etkisinin incelenmesi aynı zamanda oldukça kompleks bir mekanizmaya sahip olan amelogenezisinde aydınlatılmasına yardımcı olacaktır. Yine bu çalışmalar dental dokuların dışındaki dokularda da F'in etki mekanizmasını değerlendirmede önemli bulgular vermektedir. Bu nedenle hayvan modellerini kullanarak geliştirilen son teknolojiler ile daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, dişhekimliğindeki temel koruyucu yöntemlerden biri olan F uygulamalarının beraberinde önemli riskler taşımakta olduğu görűlmektedir. Özellikle çocuklarda bilinçsizce yapılan F uygulamaları çocuğun alacağı F miktarını önemli derecede yükseltmekte sadece dental dokuları değil, beyin dahil tüm vücudu tehdit etmektedir. Bu nedenle çocuk diř hekimleri F uygulamalarından önce mutlaka hastalarından ayrıntılı bir F geçmişi almalıdır. Diřhekimlięinde kullanılan F içeren preparatlar çocuğun yaşı, kilosu, sosyoekonomik durum, beslenme alışkanlıkları ve tüm F kaynakları irdelendikten sonra önerilmelidir. Ailelere mutlaka diř sağlığını koruyucu ve önleyici ürünlerin bileşiminde bulunan F değerleri ve bu değerleri ifade eden kısaltmalar (ppm, µm, % vb.) anlatılarak aileler F kaynakları konusunda bilgilendirilmelidir.

8. SONUÇLAR

Prenatal dönemden itibaren değişik konsantrasyonlarda sistemik F verilen sıçanların diş ve beyin dokularını çeşitli histolojik yöntemlerle incelediğimiz çalışmamızda sonuçlar aşağıdaki şekildedir:

A- Sıçanların tükettikleri su miktarları ve ağırlık sonuçları:

1. 0, 30 ve 100 ppm F gruplarında günlük su tüketimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
2. Kontrol ve deney gruplarındaki sıçanların ağırlıkları incelendiğinde 100 ppm F grubunda yer alan sıçanların tüm takip sürelerinde ağırlıkları 30 ppm F ve kontrol grubundaki sıçanların ağırlıklarından düşüktür ve bu fark yeni doğanlarda ve 3. ayda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

A- Sıçan kesici dişlerinin stereomikroskop incelemesi sonuçları:

1. Kullanılan MREF indeksi araştırmacılar tarafından ekseriyetle uyumlu bulunmuştur.
2. Gözlemciler arasındaki uyum maksiller dişlerde mandibular dişlere göre daha yüksek bulunmuştur.
3. Hem maksilla hem de mandibulada içme suyu F değerleri arttıkça MREF indeks skorları anlamlı derecede artmıştır ($p<0.01$).
4. 1, 3 ve 5 ay takip sürelerinde MREF indeks skorlarında kontrol grubunda fark bulunmazken 30 ppm ve 100 ppm F gruplarında takip sürelerine göre MREF indeks sonuçları istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.01$).
5. Kontrol ve 30 ppm F gruplarında maksiller ile mandibular kesici dişler kıyaslandığı zaman çalışmanın takip süresi boyunca dental fluorozis açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak 100 ppm F grubunda 1. ve 5. aylarda fark olmazken sadece 3. ayda maksiller kesici dişlerde MREF indeks skorları mandibular dişlerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

B- Sıçan maksiler kesici dişlerinin SEM değerlendirme sonuçları:

1. Kontrol grubunda mine üst yüzeyleri incelendiğinde 1. aydan 3. ve 5. aya doğru mine çubuklarının gittikçe sıklaştığı görülmüştür.
2. 30 ppm F grubunda 1. aydaki mine üst yüzeyi görüntüsünde kontrol grubuna göre herhangi bir fark bulunmaz iken 5. aya doğru mine çubukları arasındaki mesafenin arttığı görülmüştür.
3. 100 ppm F grubunda 1. ayda mine çubuklarının inceldiği görülmüştür. 5. ayda ise mine çubukları arasındaki mesafenin oldukça arttığı ve yer yer büyük demineralize alanların meydana geldiği görülmüştür.

C- Diş dokularının ışık mikroskopunda histolojik değerlendirme sonuçları:

1. 30 ppm F grubunda ameloblastlar hem sekresyon hem de maturasyon döneminde kontrol grubu ile benzer normal histolojik bir yapı göstermektedir.
2. 100 ppm F grubunda sekresyon safhası ameloblastları ile mine matriksi arasında kist benzeri oluşumlar tespit edilmiştir.
3. 100 ppm F grubunda sekresyon safhasında Tomes uzantılarına nadiren rastlanmıştır.
4. Diğer diş dokularında gruplar arasında belirgin bir fark saptanmamıştır.

D- Beyin dokularının immünohistokimyasal değerlendirme sonuçları:

1. Yenidoğanlarda CAT immünreaktivitesi glial hücrelerde ve nöron hücrelerinde F miktarı arttıkça istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0.01$).
2. 1. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında serebellum bölgesinde glial ve nöron hücrelerinde ($p<0.01$), serebrum bölgesinde glial hücrelerde ($p<0.01$), perihipokampal alanda glial hücrelerde farklı F dozlarında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.01$).
3. 3. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında serebellum bölgesinde glial hücrelerde ($p<0.01$), serebellum bölgesinde nöron hücrelerinde ($p<0.01$), serebrum bölgesinde glial hücrelerde ($p<0.05$), perihipokampal

alanda glial hücrelerde farklı F dozlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$).

4. 5. aydaki CAT immünreaktivite düzeyleri arasında serebellum bölgesinde glial hücrelerde ($p<0.05$) ve nöron hücrelerinde ($p<0.01$), serebrum bölgesinde glial hücrelerde ($p<0.01$) ve nöron hücrelerinde ($p<0.01$), hipokampus bölgesinde nöron hücrelerinde ($p<0.01$), perihipokampal alanda glial hücrelerde ($p<0.01$) farklı F dozlarında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılık bulunmaktadır.
5. 30 ppm grubunun 5. ayda serebellum bölgesindeki nöron hücrelerinde ($p<0.05$), serebrum bölgesindeki glial hücrelerde ($p<0.01$) ve nöron hücrelerinde ($p<0.01$), hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde ($p<0.01$), perihipokampal alandaki glial hücrelerde ($p<0.05$) CAT immünreaktivitesi, 100 ppm ve kontrol gruplarından anlamlı şekilde yüksektir.
6. Kontrol grubunda tüm takip sürelerinde glial ve nöron hücrelerinde CAT immünreaktivite düzeyleri düşüktür.
7. 30 ppm F varlığında takip sürelerine göre serebellum bölgesindeki nöron ve glial hücrelerde ($p<0.01$), serebrum bölgesindeki nöron ve glial hücrelerinde ($p<0.01$), hipokampus bölgesindeki nöron hücrelerinde ($p<0.01$), perihipokampal alandaki glial hücrelerinde ($p<0.01$) CAT immüneaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.
8. 100 ppm F varlığında takip sürelerine göre serebellum bölgesindeki nöron ve glial hücrelerinde ($p<0.05$), serebrum bölgesindeki glial ve nöron hücrelerinde ($p<0.05$), hipokampus bölgesindeki nöron ($p<0.05$), perihipokampal alanda glial hücrelerde ($p<0.05$) CAT immünreaktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır.
9. Tüm gruplarda ve tüm takip sürelerinde SOD immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

E- Beyin dokularının ışık mikroskobunda morfolojik değerlendirme sonuçları:

1. 1. ay 100 ppm F grubunda serebellumda az sayıda purkinje hücrelerinde hücresel değişiklikler gözlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla purkinje hücrelerinde hücresel şişme görülmüştür.
2. 3. ay 30 ve 100 ppm F gruplarında kontrole kıyasla serebellum bölgesindeki purkinje hücrelerinde hücresel şişme gibi morfolojik değişiklikler izlenmiştir.
3. 3. ay 100 ppm F grubunda, hipokampusta CA1 bölgesinde seyrek olarak piknotik nöronlara CA3 te ise grup halinde piknotik ve hiperkromatik nöronlara rastlanmıştır.
4. 5. ay 30 ppm F grubunda serebrum bölgesindeki nöronlarda piknoz, nissl maddesinde azalma, hiperkromatik nükleus, nukleolus kaybı gibi iskemi bulgularına rastlanmıştır. Hipokampus bölgesinde de çok yaygın olamamakla birlikte disorganize nöronlara gözlenmektedir.
5. 5. ay 100 ppm F grubunda, serebellum bölgesinde kontrol ve 30 ppm F grubuna kıyasla pek çok purkinje hücrelerinde iskemi bulguları görülmüştür. Serebrum bölgesindeki nöronlarda piknoz, hiperkromatik nükleus ve nukleolus kaybı gibi morfolojik değişiklikler izlenmiştir. Hipokampusta ise CA1 ve CA2 bölgelerinde CA3'e nazaran büzüşmüş şekli bozulmuş hiperkromatik nükleusa sahip nöron hücrelerine rastlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Agalakova IN, Gusev GP. (2012). Molecular Mechanisms of Cytotoxicity and Apoptosis Induced by Inorganic Fluoride. *ISRN Cell Biology*, p.1-16
2. Agalakova IN, Gusev GP. (2011). Fluoride induced death of rat erythrocytes in vitro. *Toxicology in vitro*, 25(8):1609-1618.
3. Akdoğan M, Bilgili A, Karagöz E, Gökçimen A, Eraslan G, Ustüner E. (2002). Flor zehirlenmesi oluşturulmuş tavşanların böbrek dokusunda yapısal ve biyokimyasal değişiklikler. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 26:71-77.
4. Ando M, Tadano MK, Yamamoto SJ. (2001). Health effects of fluoride pollution caused by coal burning. *Sci. Total Environ*, 271:107-116.
5. Angmar MB, Whitford GM. (1990). Environmental and physiological factors affecting dental fluorosis. *J Dent Res*, 69:706-713-721.
6. Aoba T, Fejerskov O. (2002). Dental fluorosis: Chemistry and biology. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13:155-170.
7. Aoba T, Moreno EC, Tanabe T, Fukae M. (1990). Effects of fluoride on matrix proteins and their properties in rat secretory enamel. *J Dent Res*, 69:1248–1250.
8. Aoba T. (1994). Strategies for improving the assessment of dental fluorosis: Focus on chemical and biochemical aspects. *Advance in Dental Research*, 8(1):66-74.
9. Atabey E. (2005). Tıbbi Jeoloji. Jeoloji Mühendisleri Odası Yayınları, Ankara, s. 216.
10. Aydın G, Çiçek E, Akdoğan M, Gökalp O. (2003). Histopathological and biochemical changes in lung tissues of rats following administration of fluoride over several generations. *Journal of applied toxicology: JAT*, 23(6):437-46.
11. Barbier O, Arreola ML, Razo LM. (2010). Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chemico Biological Interactions*, 188(2):319–333.
12. Barron MJ, Brookes SJ, Draper CE, Garrod D, Kirkham J, Shore R, Dixon MJ. (2008). The cell adhesion molecule nectin-1 is critical for normal enamel formation in mice. *Hum. Mol. Genet*, 17(22):3509-3520.

13. Basha PM, Madhusudhan N. (2010). Pre and post natal exposure of fluoride induced oxidative macromolecular alterations in developing central nervous system of rat and amelioration by antioxidants. *Neurochemical Research*, 35(7):1017-1028.
14. Basha PM, Rai P, Begum S. (2011). Evaluation of fluoride induced oxidative stress in rat brain: A multigeneration study. *Biological trace element research*, 142(3):623-37.
15. Baysal A. (1999). Beslenme. Hatiboğlu, Ankara, s.8.
16. Berg J, Gerweck C, Hujoel PP, King R, Krol DM, Kumar J. (2011). Evidence based clinical recommendations regarding fluoride intake from reconstituted infant formula and enamel fluorosis: A report of the American dental assoc council on scientific affairs. *J Am Dent Assoc*, 142:79–87.
17. Birkeland JM, İbrahim YE, Ghandour I, Haugejorden O. (2005). Severity of dental caries among 12-year-old Sudanese children with different fluoride exposure. *Clinical oral investigations*, 9(1):46-51.
18. Bouaziz H, Croute F, Boudawarac T, Soleilhavoup JP, Zeghala N. (2007). Oxidative stress induced by fluoride in adult mice and their suckling pups. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 58:339–349.
19. Bozkurt SU, Ayan E, Bölükbaşı F, Elmacı I, Pamir N, Sav A. (2009). Immunohistochemical expression of SPARC is correlated with recurrence, survival and malignant potential in meningiomas. *APMIS*, 117(9):651-9.
20. Brambilla E. (2001). Fluoride: Is it capable of fighting old and new dental diseases? An overview of existing fluoride compounds and their clinical applications. *Caries Res*, 35(1):6-9.
21. Bronckers AL, Lyaruu DM, Besten PK. (2009). The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel *J Dent Res*, 88(10):877-93.
22. Browne D, Whelton H, Mullane OD. (2005). Fluoride metabolism and fluorosis. *Journal of Dentistry*, 33:177-186.
23. Buzalaf MAR. (ed), (2011). Fluoride and the oral environment. 1st ed, Monographs in Oral Science. Karger, Basel.
24. Buzalaf MA, Damante CA, Trevizani LM, Granjeiro JM. Risk of fluorosis associated with infant formulas prepared with bottled water.(2004) *J Dent Child*, 71(2):110-113.

25. Catani DB, Tenuta LMA, Andaló FA, Cury JA. (2010) Fluorosis in rats exposed to oscillating chronic fluoride doses. *Braz Dent J* 21(1): 32-37
26. Chouhan S, Flora SJS. (2008). Effects of fluoride on the tissue oxidative stress and apoptosis in rats: Biochemical assays supported by IR spectroscopy data. *Toxicology*, 254(2):61-67.
27. Chen Q, Wang Z, Xiong Y, Xue W, Kao X, Gao Y, Muhammad N, Song D. (2009) Selenium increases expression of HSP70 and antioxidant enzymes to lessen oxidative damage in F in coal-type fluorosis, *J. Toxicol. Sci.* 34 (2009) 399–405.
28. Çiçek E, Aydın G, Akdoğan M, Okutan H. (2005). Effects of chronic ingestion of sodium fluoride on myocardium in a second generation of rats. *Hum Exp Tox*, 24:79-87.
29. D'Alessandro W. (2006). Human fluorosis related to volcanic activity. *Environmental Toxicology Transaction. Biomedicine and Health*, 10:21–30.
30. Dawson DV. (2010). Preliminary evidence of an association between COL1A2 polymorphisms and dental fluorosis in a population with high fluoride exposure. *The journal of evidence based dental practice*, 10(2):96-98.
31. Dean HT, Arnold FA, Elvove E. (1942). Domestic water and dental caries: Additional studies of the relation of fluoride in domestic waters to dental caries in 4425 white children, age 12–14 years of 13 cities in 4 states. *Public Health Rep*, 57:1155–1179.
32. DenBesten P, Li W. (2011). Chronic fluoride toxicity: Dental fluorosis. *Monogr Oral Sci*, 22:81–96.
33. DenBesten PK. (1999). Biological mechanisms of dental fluorosis relevant to the use of fluoride supplements. *Community Dent Oral Epidemiol*, 27:41-47.
34. DenBesten PK, Yan Y, Featherstone JD, Hilton JF, Smith CE, Li W. (2002). Effects of fluoride on rat dental enamel matrix proteinases. *Arch Oral Biol*, 47(11):763-70.
35. DenBesten PK, Thariani H. (1992). Biological mechanisms of fluorosis and level and timing of systemic exposure to fluoride with respect to fluorosis. *Journal of dental research*, 71(5):1238-43.

36. Dhar V, Bhatnagar M. (2009). Physiology and toxicity of fluoride. *Indian Journal of Dental Research*, 20(3):350–355.
37. Ding Y, Yanhui G, Sun H, Han H, Wang W, Ji X, Liu X. (2011). The relationships between low levels of urine fluoride on children's intelligence, dental fluorosis in endemic fluorosis areas in Hulunbuir, Inner Mongolia, China. *Journal of hazardous materials*, 186(2-3):1942-6.
38. Do LG, Levy SM, Spencer AJ. (2011). Association between infant formula feeding and dental fluorosis and caries in Australian children. *J Public Health Dent*.
39. Doull J, Boekelheide K, Farishian BG, Isaacson RL, Klotz JB, Kumar JV. (2006). Fluoride in drinking water: A scientific review of EPA's standards. Washington, DC.
40. Edmunds WM, Smedley PL. (2005). Fluoride in natural waters. In: *Essentials of Medical Geology*, Ed: Selinus O, Elsevier Academic Press, Burlington MA, p.301-329.
41. Emre B, Pişkin İ, Şireli M. (1994). Kobaylarda akut flor zehirlenmesinin bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 41:182-188.
42. Ermis RB, DeMunck J, Cardoso MV, Coutinho E, VanLanduyt KL, Poitevin A, Lambrechts P, VanMeerbeek B. (2007) . Bonding to ground versus unground enamel in fluorosed teeth. *Dent Mater*, 23(10):1250-5.
43. Everett ET. (2011). Fluoride's effects on the formation of teeth and bones and the influence of genetics. *J Dent Res*, 90:552-560
44. Everett ET, McHenry MA, Reynolds N, Eggertsson H, Sullivan J, Kantmann C. (2002). Dental fluorosis: Variability among different inbred mouse strains. *J Dent Res*, 81:794-798.
45. Everett ET, Yan D, Weaver M, Liu L, Foroud T, Martinez MEA. (2009). Detection of dental fluorosis associated quantitative trait loci on mouse chromosomes 2 and 11. *Cells Tissues Organs*, 189:212-218.
46. Fawell J, Bailey K, Chilton J, Dahi E, Fewtrell L, Magara Y. (2006). Fluoride in drinking water. IWA Publishing, London.
47. Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. (1996). Fluoride in dentistry. 2nd ed, Munksgaard Co, Copenhagen.
48. Fejerskov O, Larsen MJ, Richards A, Baelum V. (1994). Dental tissue effects of fluoride. *Adv Dent Res*, 8:15-31.

49. Fidancı UR, Salmanoğlu B, Maraşlı Ş, Maraşlı N. (1998). İç Anadolu Bölgesinde Doğal ve Endüstriyel Florozis ve Bunun Hayvan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Tr J Vet Anim Sci*, 22:537–544.
50. Fincham AG, Moradian OJ, Simmer JP. (1999). The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol*, 126(3):270.
51. Fluoride in drinking water: A scientific review of EPA's standards. (2006). The National Academies Press, Washington DC.
52. Franzman MR, Levy SM, Warren JJ, Broffitt B. (2006). Fluoride dentifrice ingestion and fluorosis of the permanent incisors. *JADA*, 137(5):645-652
53. Ghosh D, Sarkar S, Maiti R, Jana D, Das UB. (2002). Testicular toxicity in sodium fluoride treated rats: Association with oxidative stress. *Reproductive toxicology*, 16(4):385-90.
54. Griffith JQ, Farris EJ. (1942). The rat in laboratory investigation. L.B Lippincott Company Phila, Montreal, London, p.102-140.
55. Guan ZZ, Xiao KQ, Zeng XY, Long YG, Cheng YH, Jiang SF, Wang YN. (2000). Changed cellular membrane lipid composition and lipid peroxidation of kidney in rats with chronic fluorosis. *Arch Toxicol*, 74(10):602-8.
56. Guan ZZ, Wang YN, Xiao KQ, Dai DY, Chen YH, Liu JL, Sindelar P, Dallner G. (1998). Influence of chronic fluorosis on membrane lipids in rat brain. *Neurotoxicol Teratol*, 20(5):537-42.
57. Gui CZ, Ran LY, Li JP, Guan ZZ. (2010). Changes of learning and memory ability and brain nicotinic receptors of rat offspring with coal burning fluorosis. *Neurotoxicol Teratol*, 32(5):536-41.
58. Guidelines on the use of fluoride in children: An EAPD policy document. (2009). *Eur Arch Paediatr Dent*, 10(3):129-35.
59. Guney M, Oral B, Take G, Giray SG, Mungan T. (2007). Effect of fluoride intoxication on endometrial apoptosis and lipid peroxidation in rats: Role of vitamins E and C. *Toxicology*, 231(2-3):215-223.
60. Gupta S, Seth AK, Gupta A, Gavane AG. (1993). Transplacental passage of fluorides. *J Pediatr*, 123(1):139-141.
61. Gurumurthy SM, Mohanty S, Bhongir AV, Mishra AK. (2011). Association of higher maternal serum fluoride with adverse fetal outcomes. *International journal of medicine and public health*, 1(1):13-17.

62. Harrison TCP. (2005). Fluoride in water: A UK perspective. *Journal of Fluorine Chemistry*, 126(12):1448–1456.
63. Hassunama RM, Edson VZF, Ceolin DS, Cestari TM, Taga R, Assis GF. (2007). Ultrastructural and immunohistochemical study of the influence of fluoride excess on the development of rat incisor tooth buds. *J Appl Oral Sci*, 15(4):292-298.
64. Heba M, Dalia A, Heba A, Samira M, Effect of Fluoride on Rat Cerebellar Cortex: Light and Electron Microscopic Studies. *Egypt J Histol*, 33(2): 245 - 256
65. Houdou S, Takashima S, Suzuki Y. (1993) Immunohistochemical expression of peroxisomal enzymes in developing human brain. *Mol Chem Neuropathol*, 19:235–248.
66. Hujoel PP, Zina LG, Moimaz SA, Cunha CJ. (2009). Infant formula and enamel fluorosis: A systematic review. *Am Dent Assoc.*, 140(7):841- 54.
67. Janos Z, Krishnamurti D. (2005). Oxidative stress and disease 10: Nutrients and cell signaling. Taylor & Francis.
68. Josephsen K, Takano Y, Frische S, Praetorius J, Nielsen S, Aoba T, Fejerskov O. (2010). Ion transporters in secretory and cyclically modulating ameloblasts: A new hypothesis for cellular control of preeruptive enamel maturation. *Am J Physiol Cell Physiol*, 299(6):1299-1307.
69. Kaminsky LS, Mahoney MC, Leach J, Melius J, Miller MJ. (1990). Fluoride: Benefits and risks of exposure. *Oral biology and medicine*, 1(4):261-283.
70. Katz S, Stookey GK. (1973). Further studies concerning the placental transfer of fluoride in the rat. *J Dent Res*, 52(29):206-210.
71. Kaur T, Bijarnia RK, Nehru B. (2009). Effect of concurrent chronic exposure of fluoride and aluminum on rat brain. *Drug and chemical toxicology*, 32(3):215-21.
72. Kierdorf H, Kierdorf U. (1997). Disturbances of the secretory stage of amelogenesis in fluorosed deer teeth: A scanning electron microscopic. *Cell Tissue Res*, 289(1):125-35.
73. Kobayashi CAN, Leite AL, Silva TL, Santos LD, Nogueira FCS, Oliveira RC, Palma MS. (2009). Proteomic analysis of kidney in rats chronically exposed to fluoride. *Chemico biological interactions*, 180(2):305-11.

74. Leite GS, Sawan RMM, Teófilo JM, Porto IM, Sousa FB, Gerlach RF. (2011). Exposure to lead exacerbates dental fluorosis. *Archives of oral biology*, 56(7):695-702.
75. Levy SM, Broffitt B, Marshall TA, Eichenberger GJM, Warren JJ. (2010). Associations between fluorosis of permanent incisors and fluoride intake from infant formula, other dietary sources and dentifrice during early childhood. *J Am Dent Assoc.*, 141(10):1190-2201
76. Liang H, Liang Y, Gardella JA, He P, Yatzor BP. (2011). Potential release of hydrogen fluoride from domestic coal in endemic fluorosis area in Guizhou, China. *Chinese Science Bulletin*, 56(22):2301-2303.
77. Liu YJ, Gao Q, Wu CX, Guan ZZ. (2010). Alterations of nAChRs and ERK1/2 in the brains of rats with chronic fluorosis and their connections with the decreased capacity of learning and memory. *Toxicology letters*, 192(3):324-9.
78. Luo K, Liu Y, Li H. (2012). Fluoride content and distribution pattern in groundwater of eastern Yunnan and western Guizhou, China. *Environmental geochemistry and health*, 34(1):89-101.
79. Lyaruu DM, Bervoets TJ, Bronckers AL. (2006). Short exposure to high levels of fluoride induces stage-dependent structural changes in ameloblasts and enamel mineralization. *Eur J Oral Sci*, 114(1):111–115.
80. Lyaruu DM, Bronckers AL, Santos F, Mathias R, DenBesten P. (2008). The effect of fluoride on enamel and dentin formation in the uremic rat incisor. *Pediatr Nephrol*, 23:1973–1979.
81. Lyaruu DM, Alberga JMR, Kwee NCH, Bervoets TJM, Bronckers ALJ, DenBesten PK. (2011). Fate of fluoride induced subameloblastic cysts in developing hamster molar tooth germs. *Archives of oral biology*, 56(3):238-43.
82. Madhusudhan N, Basha PM, Rai P, Ahmed F, Prasad GR. (2010). Effect of maternal fluoride exposure on developing CNS of rats: Protective role of aloe vera, curcuma longa and ocimum sanctum. *Indian journal of experimental biology*, 48(8):830-6.
83. Mahaboob BP, Madhusudhan N. (2010). Effect of maternal exposure of fluoride on oxidative stress markers and amelioration by selected antioxidants in developing central nervous system of rats. *Biologia*, 66(1):187-193.

84. Mandinic Z, Curcic M, Antonijevic B, Carevic M, Mandic J, Djukic CD, Lekic CP. (2010). Fluoride in drinking water and dental fluorosis. *The Science of the total environment*, 408(17):3507-12.
85. Martínez MEA, Soto RAE, Ureña CJL, Stookey GK, Dunipace AJ. (2003). Fluoride intake from foods, beverages and dentifrice by children in Mexico. *Community Dent Oral Epidemiol*, 31:221-230.
86. Marya CM, Dhingra S, Ashokkumar MV. (2010). Relations of dental fluorosis at different concentrations of fluoride in endemic areas: Epidemiological study. *Journal of clinical pediatric dentistry*. 35(1):41-45.
87. Mascarenhas AK, Burt BA. (1998). Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste. *Community Dentistry Oral Epidemiology*, 26:241–248.
88. Mascarenhas AK. (2000). Risk factors for dental fluorosis: A review of the recent literature. *J Pediatr Dent*. ,22(4):269-277.
89. Mascarenhas AK. (2008). High fluoride concentration in drinking water may increase the prevalence and severity of dental fluorosis and decrease occurrence of caries. *Journal of Evidence Based Dental Practice*, 8(1):15-16.
90. Maupomé G, Shulman JD, Clark DC, Levy SM. (2003). Socio-Demographic Features and Fluoride Technologies Contributing to Higher Fluorosis Scores in Permanent Teeth of Canadian Children. *Caries Res* 2003; 37:327–334
91. Meenakshi MRC. (2006). Fluoride in drinking water and its removal. *Journal of hazardous materials*, 137(1):456-63.
92. Meenakshi V. (2004). Groundwater quality in some villages of Haryana, India: Focus on fluoride and fluorosis. *Journal of Hazardous Materials*, 106(1):85-97.
93. Mittal M, Flora SJS. (2006). Effects of individual and combined exposure to sodium arsenite and sodium fluoride on tissue oxidative stress, arsenic and fluoride levels in male mice. *Chemico biological interactions*. 162(2):128-39.
94. Mittal M, Flora SJS. (2007). Vitamin E supplementation protects oxidative stress during arsenic and fluoride antagonism in male mice. *Drug and chemical toxicology*, 30(3):263-81.

95. Morgan L, Allred E, Tavares M, Bellinger D, Needleman H. (1998). Investigation of the possible associations between fluorosis, fluoride exposure, and childhood behavior problems. *Pediatr Dent*, 20(4):244-252.
96. Mousny M, Omelon S, Wise L, Everett ET, Dumitriu M, Holmyard DP, Banse X. (2008). Fluoride effects on bone formation and mineralization are influenced by genetics. *Bone*, 43(6):1067-74.
97. Mullane DM. (1990). The future of water fluoridation. *J Dent Res*, 9:756-9.
98. Mullenix PJ, Denbesten PK, Schunior A, Kernan WJ. (1995). Neurotoxicity of sodium fluoride in rats. *Neurotoxicol Teratol*, 17:169-177.
99. Nanci A. (2007). Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure, and Function 7th Edition, Mosby, p.141-173.
100. Niu R, Sun Z, Cheng Z, Li Z, Wang J. (2009). Decreased learning ability and low hippocampus glutamate in offspring rats exposed to fluoride and lead. *Environmental toxicology and pharmacology*, 28(2):254-258.
101. Ortizperez D. (2003). Fluoride induced disruption of reproductive hormones in men. *Environmental Research*, 93(1):20-30.
102. Oruc N. (2008). Occurrence and problems of high fluoride waters in Turkey: An overview. *Environ Geochem Health*, 30(4):315-23.
103. Oruç N. (2005). Türkiye’de Yüksek Düzeyde Fluorür İçeren Kaynak Suları ve Sağlık Açısında Önemi, Bildiri Özetleri Kitabı. 1. Tıbbi Jeoloji MTA, Ankara, s.48-51.
104. Özdemir H. (2002). Elazığ ve Çevresindeki Sığır ve Koyunların Kan Serumu, İdrar, Kemik ve Dişlerindeki Flor Düzeylerinin Araştırılması. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 16(2):187-197.
105. Paul V, Ekambaram P, Jayakumar AR. (1998). Effects of sodium fluoride on locomotor behavior and a few biochemical parameters in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 6:187–191.
106. Pendrys DG, Haugejorden O, Bårdsen A, Wang NJ, Gustavsen F. (2010) The Risk of Enamel Fluorosis and Caries Among Norwegian Children Implications for Norway and the United States. *JADA*, 141(4):401-414
107. Porto MI, DeSousa FB, Bachmann L, Cury JA, Line SRP, Gerlach RF. (2009). Enamel mineralization in the absence of maturation stages. *Archives of Oral Biology*, 54(4):313-321.

108. Porto IM, Saiani RA, Chan KLA, Kazarian SG, Gerlach RF, Bachmann L. (2010). Organic and inorganic content of fluorotic rat incisors measured by FTIR spectroscopy. *Spectrochimica acta*, 77(1):59-63.
109. Ribeiro DA, Hirota L, Cestari TM, Ceolin DS, Taga R, Assis GF. (2006). Ultrastructural morphometric analysis of ameloblasts exposed to fluoride during tooth development. *J Mol Histol*, 37:361-367.
110. Richards A, Fejerskov O, Baelum V. (1989). Enamel fluoride in relation to severity of human dental fluorosis. *Adv Dent Res*, 3(2):147-153.
111. Richter H, Kierdorf U, Richards A, Melcher F, Kierdorf H. (2011). Fluoride concentration in dentine as a biomarker of fluoride intake in European roe deer (*Capreolus capreolus*) an electron microprobe study. *Archives of oral biology*, 56(8):785-92.
112. Riksen EA, Kalvik A, Brookes S, Hynne A, Snead ML, Lyngstadaas SP, Reseland JE. (2011). Fluoride reduces the expression of enamel proteins and cytokines in an ameloblast-derived cell line. *Archives of Oral Biology*, 56(49):324–33.
113. Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC. (2004). The effect of fluoride on the developing tooth. *Caries Res*, 38:268–276.
114. Robinson C, Kirkham J. (1990). The effect of fluoride on the developing mineralized tissues. *J Dent Res*, 69:685–691.
115. Saiani RA, Porto IS, Junior EM, Cury JA, Sousa FB, Gerlach RF. (2009). Morphological characterization of rat incisor fluorotic lesions. *Archives of oral biology*, 54:1008-1025.
116. Shan KR, Qi XL, Long YG, Nordberg A, Guan ZZ. (2004). Decreased nicotinic receptors in PC12 cells and rat brains influenced by fluoride toxicity a mechanism relating to a damage at the level in post-transcription of the receptor genes. *Toxicology*, 200:169-177.
117. Shanthakumar D, Srinivasalu S, Subramanian S. (2004). Effect of fluoride intoxication on lipidperoxidation and antioxidant status in experimental rats. *Toxicology*, 204(2-3):219-328.
118. Sharma R, Tsuchiya M, Skobe Z, Tannous BA, Bartlett JD. (2010). The acid test of fluoride: How pH modulates toxicity. *PLoS ONE*, 5(5).
119. Shinoda H, Ogura H. (1978) Scanning electron microscopical study on the fluorosis of enamel in rats. *Calcified Tooth International*, 25(1) :75-83.

120. Shitumbanuma V, Tembo F, Tembo JM, Chilala S, Van RE. (2007). Dental fluorosis associated with drinking water from hot springs in Choma district in southern province, Zambia. *Environmental geochemistry and health*, 29(1):51-8.
121. Simmer JP, Fincham AG. (1995). Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med*, 6:84–108.
122. Smith CE, Chong DL, Bartlett JD, Margolis HC. (2005). Mineral acquisition rates in developing enamel on maxillary and mandibular incisors of rat and mice: Implications to extracellular acid loading as apatite crystals mature. *J Bone Miner Res*, 20:240-249.
123. Smith CE. (1998). Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit Rev Oral Biol Med*, (2):128–61.
124. Smith CE, Nanci A, DenBesten PK. (1993). Effects of chronic fluoride exposure on morphometric parameters defining the stages of amelogenesis and ameloblast modulation in rat incisors. *Anat Rec*, 237:243-258.
125. Smith MC, Lantz EM. (1933). Changes in the incisors of of albino rats accompanying a deficiency of vitamin A. *J of Home Econ*, 25:5.study. *Cell Tissue Res*, 289:125-135.
126. Suga S, Aoki H, Yamashita Y, Tsuno M, Ogawa M (1987) A comparative study of disturbed mineralization of rat incisor enamel induced by strontium and fluoride administration. *Adv Dent Res* 1:339-355.
127. Susheela AK, Bhatnagar M. (1993). Fluoride toxicity: A biochemical and scanning electron microscopic study of enamel surface of rabbit teeth. *Arch Toxicol*, 67:573-579.
128. Şireli M, Bülbül A. (2004). The effect of acute fluoride poisoning on nitric oxide and methemoglobin formation in the guinea pig. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 28:591-595.
129. Tamer MN, Köroğlu KB, Arslan C, Akdoğan M, Köroğlu M, Cam H, Yıldız M. (2007). Osteosclerosis due to endemic fluorosis. *Sci Total Environ*, 373(1):43-48.
130. Tanimoto K, Le T, Zhu L, Chen J, Featherstone JD, Li W. (2008). Effects of fluoride on the interactions between amelogenin and apatite crystals. *J Dent Res*, 87:39-44.

131. Tao X, Rong XU, Wang YZ. (2006). Effects of dietary fluoride levels on growth, serum indekses and antioxidant systems in growing pigs. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 30:65–70.
132. Tekle HR, Melaku Z, Kloos H, Reimann C, Fantaye W, Zerihun L, Bjorvatn K. (2006). The geographic distribution of fluoride in surface and groundwater in Ethiopia with an emphasis on the Rift Valley. *The Science of the total environment*, 367(1):182-190.
133. Thylstrup A, Fejerskov O. (1978). Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation histologic changes. *Community Dent Oral Epidemiol*, 6(6):315-328.
134. Varner JA, Jensen KF, Horvath W, Isaacson RL. (1998). Chronic administration of aluminum fluoride or sodium fluoride to rats in drinking water: Alterations in neuronal and cerebrovascular integrity. *Brain Res*, 16(2):284-298.
135. Varol E, Varol S. (2010). Çevresel bir hastalık olarak fluorozis ve insan sağlığı üzerine etkisi. *TAF Prev Med Bull*, 9(3):233-238.
136. Varol S, Davraz A, Varol E. (2008). Yeraltı suyu Kimyası ve Sağlığa Etkisinin Tıbbi Jeoloji Açısından Değerlendirilmesi. *TAF Prev Med Bull*, 7(4):351-356.
137. Vieira PGF, Hanocock R, Eggertsson H, Everett ET, Grynepas MD. (2005). Tooth quality in dental fluorosis genetic and environmental factors. *Calcified tissue international*, 76(1):17-25.
138. Viswanathan G, Gopalakrishnan S, Siva IS. (2010). Assessment of water contribution on total fluoride intake of various age groups of people in fluoride endemic and non-endemic areas of dindigul district. Tamil Nadu, South India. *Water research*, 44(20):6186-6200.
139. Viswanathan G, Jaswanth A, Gopalakrishnan S, Siva IS. (2009). Mapping of fluoride endemic areas and assessment of fluoride exposure. *The Science of the total environment*, 407(5):1579-1587.
140. Wang B, Zheng B, Zhai C, Yu G, Liu X. (2004). Relationship between fluorine in drinking water and dental health of residents in some large cities in China. *Environment international*, 30(8):1067-73.
141. Wang YN, Xiao KQ, Liu JL, Dallner G, Guan ZZ. (2000). Effect of long term fluoride exposure on lipid composition in rat liver. *Toxicology*, 5:146(2-3):161-169.

142. Wang G, Chu QL, He WH, Xia T, Liu JL, Zhang M, Nussler K, (2005). Effects on protein and mRNA expression levels of p53 induced by fluoride in human embryonic hepatocytes. *Toxicology letters*, 158(2):158-63.
143. Warren JJ, Levy SM, Broffitt B, Cavanaugh JE, Kanellis MJ, Weber-Gasparoni K. (2009). Considerations on optimal fluoride intake using dental fluorosis and dental caries outcomes a longitudinal study. *J Public Health Dent*, 69:111-115.
144. Whitford GM. (1994). Intake and metabolism of fluoride. *Adv Dent Res*, 8:5-14.
145. Whitford GM. (1990). The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res*, 69:539-44.
146. WHO (World Health Organization). Guidelines for drinking water quality. (2006). 3th ed, Geneva, p.221-459.
147. Wong MH, Fung KF, Carr HP. (2003). Aluminium and fluoride contents of tea, with emphasis on brick tea and their health implications. *Toxicology Letters*, 137(1-2):111–120.
148. Xion X, Liu J, He W, Xia T, He P, Chen X, Yang K. (2007). Dose effect relationship between drinking water fluoride levels and damage to liver and kidney functions in children. *Environmental research*, 103(1):112-116.
149. Xiu AZ, Wang M, Xu ZR, Li WF, Li JX. (2006). Evaluation of caspase dependent apoptosis during fluoride induced liver lesion in pigs. *Arch Toxicol*, 80:74–80.
150. Xu H, Zhou YL, Zhang XY, Lu P, Li GS. (2010). Activation of PERK signaling through fluoride mediated endoplasmic reticulum stress in OS732 cells. *Toxicology*, 277(1-3):1-5.
151. Yadav AK, Kaushik CP, Haritash AK, Singh B, Raghuvanshi SP, Kansal A. (2007). Determination of exposure and probable ingestion of fluoride through tea, toothpaste, tobacco and pan masala. *Journal of hazardous materials*, 142(1-2):77-80.
152. Yan Q, Zhang Y, Li W, DenBesten PK. (2007). Micromolar fluoride alters ameloblast lineage cells in vitro. *J Dent Res*, 86:336-340.
153. Yi J, Cao J. (2008). Tea and fluorosis. *Journal of Fluorine Chemistry*, 129:76–81.

154. Zhang Y, Yan Q, Li W, DenBesten PK. (2006). Fluoride down regulates the expression of matrix metalloproteinase 20 in human fetal tooth ameloblast lineage cells in vitro. *Eur J Oral Sci*, 114(1):105-110.
155. Zhou R, Zaki AE, Eisenmann DR (1996). Morphometry and autoradiography of altered rat enamel protein processing due to chronic exposure to fluoride. *Arch Oral Biol* 41:739-747.
156. Zhu W, Zhan J, Zhang Z. (2011). Effects of fluoride on synaptic membrane fluidity and PSD-95 expression level in rat hippocampus. *Biological trace element research*, 139(2):197-203.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Şirin	Soyadı	GÜNER
Doğum Yeri	Kırçali	Doğum Tarihi	17.12.1983
Uyruğu	T.C.	TC Kimlik No	
E-mail	sirin_guner@yahoo.com	Tel	5332514170

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti AD	2012
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2007
Lisans		
Lise	Tekirdağ Fen Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			
2.			
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi
Almanca	Orta	Orta	Orta

* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	95							

Başarılımış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS:

International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin



MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

PROJENİN ADI : Doğum öncesi ve sonrası kronik olarak değişik konsantrasyonlarda sistemik florid verilen yavru ratların diş, kemik ve beyin dokularının makroskopik ve mikroskopik incelenmesi

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof. Dr. Ali MENTEŞ

PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Dt. Şirin GÜNER, Prof. Dr. Feriha ERCAN, Dr. Dilek AKAKIN, Yrd. Doç. Dr. Süheyla BOZKURT

PROJENİN YÜRÜTÜLECEĞİ LABORATUVAR : Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Emriyoloji A.D, Nörolojik Bilimler Enstitüsü Patoloji Labrotuvarı , Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ar-Ge Laboratuvarı

ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI : 23.09.2010- 66.2010.mar

Sayın 1: Prof. Dr. Ali MENTEŞ

“Doğum öncesi ve sonrası kronik olarak değişik konsantrasyonlarda sistemik florid verilen yavru ratların diş, kemik ve beyin dokularının makroskopik ve mikroskopik incelenmesi ” isimli projeniz Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından incelenerek onaylanmıştır. Çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Prof.Dr. Benrak YEĞEN
Hayvan Deneyleri/Etik Kurul
Başkan

Prof.Dr. Zafer GÖREN

Prof.Dr. Göksel ŞENER

Prof.Dr. Ayşen YARAT

Doç.Dr. Hızil YÜGTEPE

Öğr. Gör. Dr. Gürkan SERT

Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ

Av. Serkan DURAN

Av. Onur GİR

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, “Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu’na” bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir. Araştırmacıların proje ile yapılan bütün yayınlarda proje onay tarih ve numarası belirtmesi zorunludur.