

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI**

**2.45 GHZ ELEKTROMANYETİK RADYASYONUN, DIŞ
GELİŞİMİ VE ÇÜRÜK OLUŞUMUNA YATKINLIK ÜZERİNE
ETKİSİ VE LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
KORUYUCULUĞUNUN İNCELENMESİ**

Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ

DOKTORA TEZİ

I. DANIŞMAN

Prof. Dr. Zuhal KIRZIOĞLU

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 3334-D2-12 proje numarası ile desteklenmiştir**

Tez. No: 101


ISPARTA-2014

KABUL ve ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

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


Tez Savunma Tarihi: 24/06/2014

Tez I. Danışman : Prof. Dr. Zuhar KIRZIOĞLU 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi,
Pedodonti AD

Tez II. Danışman : Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik AD

Üye : Prof. Dr. Oya AKTÖREN 
İstanbul Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Pedodonti AD

Üye : Prof. Dr. M. Üstün GÜLDAĞ 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi,
Protetik Diş Tedavisi AD

Üye : Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜKEŞMEN 
Süleyman Demirel Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi,
Pedodonti AD

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

Doç. Dr. Nejdet ADANIR
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

BEYAN

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

Tezi Hazırlayan

Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ

İmza

Danışmanlar:

I. DANIŞMAN

Prof. Dr. Zuhâl KIRZIOĞLU

İmza

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU

İmza

BEYAN

“2.45 GHz Elektromanyetik Radyasyonun, Diş Gelişimi ve Çürük Oluşumuna Yatkinlık Üzerine Etkisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Koruyuculuğunun İncelenmesi” adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ

İmza

Danışmanlar:

I. DANIŞMAN

Prof. Dr. Zuhâl KIRZIOĞLU

İmza

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU

İmza

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında, büyük bir sabır ve titizlikle bana yardımcı olan ve yol gösteren, doktora eğitimim boyunca her konuda bilgi, fikir ve desteğini esirgemeyen, yetişmemde büyük emeği geçen ve yanında eğitim almaktan gurur duyduğum çok değerli hocam ve tez yöneticim Prof. Dr. Zuhâl KIRZIOĞLU'na,

Tezimin başından bitimine kadar önerileri ve yardımları ile bana destek olan tez izleme komitesindeki değerli hocalarım Prof. Dr. M. Üstün GÜLDAĞ ve Doç. Dr. Çiğdem KÜÇÜKEŞMEN'e

Tez çalışmamın, elektromanyetik radyasyon ile ilgili kısmının yürütülmesindeki değerli katkılarından dolayı, Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı ve ikinci danışman hocam Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU'na,

Doktora tezimin, hayvan çalışmaları sırasında deney hayvanları laboratuvarında bana çalışma koşulları sağlayan ve desteğini gördüğüm, Deney Hayvanları ve Tıp Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Doç. Dr. Efkân UZ ve personeline,

Araştırmamın histolojik inceleme kısımlarını gerçekleştirmemde desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e,

Çalışmamın mikrobiyoloji kısmı ile ilgili probiyotik suşların temin edilmesinde yardımcı olan ve çalışma boyunca bilgi ve desteğini esirgemeyerek büyük katkı sağlayan Prof. Dr. Merih KIVANÇ'a,

Tez sonuçlarının istatistik analizlerine yoğun iş yükü içerisinde zaman ayıran Doç. Dr. Hikmet ORHAN'a,

Doktora hayatım boyunca, özellikle tez çalışmam süresinde de yardım ve desteklerini esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarım ve anabilim dalı personeline,

Doktora eğitimim süresince, verdikleri destek ve sağladıkları kolaylıklardan dolayı S.D.Ü. Sağlık Bilimleri yönetimi ve personeline,

Maddi olanak sağlayarak tez projemi destekleyen, S.D.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Büyük fedakarlıkları ve emekleriyle bu günlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca her konuda ilgi, destek ve sevgileriyle yanımda olan annem, babam ve ablama,

Her zaman olduğu gibi, bu zorlu ve yorucu dönemde de, ihtiyaç duyduğum her an sevgisini ve desteğini hep yanımda hissettiğim ve doktora tezimin mikrobiyoloji bölümü çalışmaları sırasında da bana yardımcı olan sevgili eşim Esra'ya, varlığı ile bana güç veren canım kızım Şerife Zülal'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ
Isparta, 2014

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY SAYFASI	ii
BEYAN	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ	xiv
GRAFİKLER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Radyasyon	4
2.1.1. Radyasyonun Sınıflandırılması.....	4
2.1.1.1. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon (Elektromanyetik Radyasyon).....	4
2.1.1.1.1. Elektromanyetik Radyasyonun Dalga Özelliği	4
2.1.1.1.2. Elektromanyetik Radyasyonun Tanecik Özelliği.....	5
2.1.1.2. İyonlaştırıcı Radyasyon ve Etkileri.....	5
2.1.2. Elektromanyetik Alan	6
2.1.3. Kablosuz Yerel Alan Ağları (WLAN).....	7
2.1.4. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etki Mekanizması ...	8
2.1.5. Elektromanyetik Radyasyonun Biyolojik Etkileri.....	9
2.2. Ratlarda Dış Yapıları ve Gelişimi	11
2.2.1. Dış Tipleri	11
2.2.2. Dış Gelişiminin Ana Hatları	13
2.2.3. Dış Gelişiminin Başlangıç, Morfogenezis ve Farklılaşma Safhaları.....	13
2.2.4. Dış Gelişimi ve Apoptozis.....	15
2.2.5. Dış Gelişiminde Moleküler Mekanizmalar	16
2.2.6. Dış Sert Dokuları	17
2.2.6.1. Minenin Oluşumu ve Yapısı	17
2.2.6.2. Dentinin Oluşumu ve Yapısı	18
2.2.7. Dış Gelişiminde Sapmalar	18
2.2.7.1. Genetik Sapmalar	19

2.2.7.2. Çevresel Defektler.....	19
2.3. Diş Çürüğü	20
2.3.1. Dental Plak.....	21
2.3.2. Çürük Mikrobiyolojisi	22
2.3.2.1. Streptokoklar	23
2.3.2.1.1. Mutans Streptokoklar	24
2.3.2.2. Laktobasiller.....	25
2.3.3. Diş Çürüğünün Karbonhidratlarla İlişkisi	26
2.3.4. Diş Çürüklerinden Korunma.....	26
2.3.4.1. Probiyotikler.....	27
2.3.4.1.1. Probiyotikler ve Ağız-Diş Sağlığı	28
2.3.4.1.2. Probiyotiklerin Oral Kaviteye Adezyonu ve Kolonizasyonu	31
2.3.4.1.3. Probiyotik Bakteriler İçin Öne Sürülen Etki Mekanizmaları	33
2.3.5. Deneysel Diş Çürüğü Oluşumu	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	36
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması	36
3.2. Maruziyet Sistemi ve Tasarımı.....	38
3.2.1. SAR Hesabı	41
3.3. Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Ratlarda Diş ve Çevre Dokuların Gelişimi	42
3.3.1. Ratların Dekapitasyonu ve Çene Örneklerinin Alınması	42
3.3.2. Histolojik Çalışma	43
3.3.3. İmmünohistokimyasal Çalışma	43
3.4. Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Ratlarda Çürük Oluşumunun İncelenmesi.....	44
3.4.1. Ratlarda Ağız Floralarının İncelenmesi ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	45
3.4.2. Probiyotik Preparatlarının Hazırlanması	45
3.4.3. Çürük Oluşturma Süreci ve Probiyotiklerin Uygulanması	46
3.4.4. Mikrobiyolojik Değerlendirme	48
3.4.5. Dişlerde Çürük Tayini	49
3.5. İstatistiksel Analiz	51
4. BULGULAR	52
4.1. EMR'ye Maruz Kalan Ratlarda Diş Gelişiminin İncelenmesi	52
4.1.1. Kilo Ölçümlerine Ait Bulgular	52

4.1.2. Makroskopik Bulgular	52
4.1.3. Histolojik Bulgular	53
4.1.4. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	53
4.2. EMR'ye Maruz Kalan Ratlarda Çürük Oluşumunun İncelenmesi.....	57
4.2.1. Gruplardaki Ağırlık Artışına İlişkin Bulgular	58
4.2.2. Kontrol ve Deney Gruplarında Toplam MS Düzeyi Bulguları.....	59
4.2.3. Diş Çürüğüne İlişkin Bulgular	60
4.2.3.1. Düz Yüzey Çürüğü Şiddeti Bulguları	62
4.2.3.2. Sulkus Çürüğü Bulguları.....	63
5. TARTIŞMA	65
5.1. 2.45 GHz EMR, Diş Gelişimi	67
5.2. 2.45 GHz EMR, Laktik Asit Bakterileri, MS ve Çürük Oluşumu	75
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	89
6.1. Birinci Bölüm; EMR ve Gelişim.....	89
6.2. İkinci Bölüm; EMR, Laktik Asit Bakterileri, Mutans Streptokoklar ve Çürük oluşumu	89
ÖZET.....	91
ABSTRACT.....	92
KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ.....	117
EKLER.....	120
ETİK KURUL İZİNİ	120

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BMP	: Kemik morfojenetik protein
CFU/ml	: Colony forming unite/mililitre
DDP	: Dentin fosfoprotein
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSP	: Dentin sialoprotein
DSPP	: Dentin sialofosfoprotein
E	: Embriyonal
Eda	: Ectodysplasin-A
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EM	: Elektromanyetik
EMA	: Elektromanyetik alan
EMD	: Elektromanyetik dalga
EMR	: Elektromanyetik radyasyon
EPS	: Ekstrasellüler polisakkarit
FAO	: Amerika Gıda ve Tarım Örgütü
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HE	: Hematoksilen-Eozin
Hz	: Hertz
İPS	: İntrasellüler polisakkarit
LB	: Laktobasiller
LEF1	: Lenfoid güçlendirici bağlayıcı faktörü-1
LGG	: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG
ml	: Mililitre
MMP-20	: Matriks metalloproteinaz-20
MS	: Mutans streptokok
PBS	: Fosfat buffer saline
RF	: Radyofrekans
SAR	: Spesifik absorpsion rate
SHH	: Sonik hedgehog

sn	: Saniye
V/m	: Volt/metre
W/kg	: Watt/kilogram
TGFβ	: Transforming growth factor beta
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
W/m²	: Watt/metrekare
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
Wi-Fi	: Kablosuz yerel alan ağ sistemleri
WLAN	: Kablosuz yerel alan ağları
LAN	: Yerel alan ağları
WNT	: Wingless

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Günlük yaşamda sık karşılaştığımız bazı EMA oluşturan cihazlar	7
Tablo 2. Probiyotik olarak kabul edilen bakteriler	29
Tablo 3. Histolojik takip serileri.....	43
Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun derecesi	44
Tablo 5. EMR'ye maruziyet, <i>S. sobrinus</i> ve laktik asit bakterisi verilme durumu ve diyet tipine göre grupların oluşumu	45
Tablo 6. Araştırmada kullanılan kuru yem formülü.....	47
Tablo 7. Çürük tayininde kullanılan skorlar.....	51
Tablo 8. Diş gelişimlerinin incelenmesi amacıyla dekapite edilen ratların ağırlık ölçümleri	52
Tablo 9. Anne ve yavru ratların ağız floralarından izole edilmiş olan bakteriler.....	58
Tablo 10. Kontrol ve deney gruplarına ait sürüntü örneklerinde MS düzeyleri.....	60
Tablo 11. 4. ve 8. hafta MS düzeylerinin başlangıç sayımlarına oranları	60
Tablo 12. Çürük skorlarının analizinde, sulkus ve düz yüzey çürük skorlarının olabilecek en yüksek skorlara oranları kullanılmıştır	61
Tablo 13. Kontrol ve deney gruplarında düz yüzey çürüğü şiddeti skorları	62
Tablo 14. Kontrol ve deney gruplarında sulkus çürüğü şiddeti skorları	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Elektromanyetik spektrum diagramı.....	6
Şekil 2. Rata ait üst ve alt çene örneğinde diş tipleri ve konumları.....	11
Şekil 3. Rata ait üst ve alt çene azı dişleri.....	12
Şekil 4. Ratlarda diş gelişiminin kronolojisi.....	15
Şekil 5. Diş gelişiminde, epitelyal ve mezenşimal yapılar arasındaki etkileşimde yer alan sinyaller, transkripsiyon faktörleri ve moleküler olaylar	16
Şekil 6. Çalışmada kullanılan ratların gruplandırılması	37
Şekil 7. Maruziyet düzeneği şeması	41

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kullanılan hamile ratların, çalışma öncesi toplu görüntüleri	36
Resim 2. Anne deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüleri	39
Resim 3. Yavru deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüleri.....	39
Resim 4. Çelik tabakalarla tamamen dış ortam radyasyonundan izole edilmiş çalışma odası ve RF oluşturan cihaz.	40
Resim 5. 7 günlük yavru ratlar ve anneleri.....	42
Resim 6. Hazırlanan probiyotik solüsyonları	46
Resim 7. Kuru yem talaşları ve % 56 oranında sükröz içeren, özel karyojenik diyetin etüvde kurutulması	47
Resim 8. Ratlara, özel steril pipetlerle probiyotik solüsyonunun verilmesi	48
Resim 9. <i>S. sobrinus</i> kolonilerinin streptomisin eklenmiş mitis salivarius agarda üremesi	49
Resim 10. Alt çene azı dişlerinin genel görünümü.....	50
Resim 11. Alt çene azı dişlerinin genel görünümü.....	50
Resim 12. 7 (a), 14 (b) ve 21 (c) günlük ratlardan alınan çene örnekleri.....	53
Resim 13. EMR verilen 7 günlük bir ratın diş gelişimi.....	54
Resim 14. EMR verilmeyen 7 günlük bir ratın diş gelişimi	54
Resim 15. EMR verilen 14 günlük bir ratın diş gelişimi.....	55
Resim 16. EMR verilmeyen 14 günlük bir ratın diş gelişimi.....	55
Resim 17. EMR verilen 21 günlük bir ratın diş gelişimi.....	56
Resim 18. EMR verilmeyen 21 günlük bir ratın diş gelişimi.....	56
Resim 19. EMR verilmeyen 7 günlük gruptaki bir ratın dişlerinin Kaspaz-3 reaksiyonu, epitelde pozitif reaksiyon (oklar), streptoavidin biotin metodu	57
Resim 20. EMR verilen 14 günlük gruptaki bir ratın dişlerinin odontoblastlarındaki (oklar) Kaspaz-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin metodu	57
Resim 21. Alt çene birinci azı dişindeki düz yüzey çürüğünün diseksiyon mikroskopundaki görüntüsü.....	62
Resim 22. Alt çene azı dişlerindeki sulkus çürüklerinin diseksiyon mikroskopundaki görüntüsü.....	63

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Grupların başlangıç kiloları ve haftalara göre ağırlık artışları	59
---	----

1. GİRİŞ

Günümüz dünyasındaki teknolojik gelişmeler toplumun büyük kısmına sosyal ve ekonomik yararlar sağlayarak yaşantımızı oldukça kolaylaştırmıştır. Ancak teknolojik gelişmelerin yarattığı çevre kirliliği ve buna bağlı ortaya çıkabilecek sağlık sorunlarını tahmin etmek oldukça güçtür. Bu gelişmeler sonucunda ortaya çıkan önemli bir çevre sorunu da elektromanyetik kirliliktir. Günlük yaşantımızda ne kadar sık ve uzun süreli kullandığımızın farkında bile olmadığımız elektronik cihazların tamamı elektromanyetik alan oluşturmaktadır (1). Radyofrekans (RF) bölgesinde (3 KHz -300 GHz) yer alan elektromanyetik dalgalar iletişimde, radyo ve televizyon yayınlarında kullanılmaktadır. Teknolojideki gelişmelerin sonucu olarak elektromanyetik dalgaların kullanımı her geçen gün artmakta ve dolayısıyla günlük hayatımızda, doğada bulunanın çok üstündeki seviyelerde elektromanyetik dalgalara maruz kalınmaktadır. Telefonlardan daha yüksek elektromanyetik radyasyon (EMR)'a neden olan modern wireless cihazları ve mikrodalga gibi, günlük yaşantımızda sıkça kullandığımız cihazlardan kaynaklanan, 2.45 GHz EMR'nin geniş bir yayılma alanı vardır. Elektronik cihazlardan üretilen elektromanyetik dalgaların gücü ister yüksek, ister düşük olsun, bu dalgaların insan vücudunda etkileri olduğu düşünülmektedir. 2.45 GHz EMR yayın cihazların kullanımının yaygınlaşması, bu dalga boyundaki EMR'nin, insan sağlığını nasıl etkileyebileceği düşüncesini de beraberinde getirmektedir.

Günümüzde EMR'nin insan sağlığına etkilerini bildiren yayınlar, bu konunun önemli bir sağlık problemi haline gelebileceğini göstermektedir. EMR'ye maruz kalma ile ilgili pek çok çalışmada; EMR'nin vücut ağırlıkları, organların morfolojisi ve histolojisi, hematolojik parametreler, biyokimyasal parametreler, hormonlar, bağışıklık sistemi ve kan elektrolit düzeyleri gibi, çok sayıda biyolojik etkisi incelenmiş ve farklı sonuçlar bulunmuştur (2, 3). Büyüme ve gelişim döneminde maruz kalınan EMR'nin de, zararlı etkilerinin olabileceği gösterilmiştir. Araştırmacılar, embriyogenezis gibi kritik ve çevresel etkenlere hassas bir dönemde, EMR etkisinin incelenmesinin, daha faydalı bilgiler verebileceğini belirtmişlerdir (4).

Embriyogenezis, çevresel faktörlere karşı çok hassastır ve bu dönem normal embriyo gelişimi için kritik bir öneme sahiptir. Embriyogenezis döneminde maruz kalınan; kemoterapotik ve kimyasal ajanlar, viral, bakteriyel ve parazitik enfeksiyonlar, beslenme bozuklukları ve iyonize radyasyon gibi birçok çevresel faktör, diş gelişiminde de çeşitli problemlere neden olabilmektedir. Bu nedenle, EMR ile ilişkili oluşabilecek zararlı bir etki, gelişim sırasında veya sonrasında, diş ve çevre dokularda defekt olarak karşımıza çıkabilmektedir. Bu gibi çevresel bir etkiye bağlı olarak, diş yapısında oluşmuş gelişimsel defektlerin, dişleri, dünya çapında ve ülkemizde halk sağlığı sorunu olmaya devam eden diş çürüklerine karşı daha hassas hale getirdiği de bilinmektedir.

Oral mikroorganizmaların diş yüzeyinde kolonizasyonu, dental plak (bakteriyel biyofilm) oluşumu ve diş yapısının demineralizasyonu ile karakterize olan diş çürüğü, çocuklarda, sıklıkla görülen enfeksiyonel bir hastalıktır. Endüstriyelmiş toplumlarda, flor kullanımı yaygın olmasına rağmen geçtiğimiz 10 yıllık süreçte, çürük prevalansı artmaya devam etmiştir (5, 6). Bu nedenle, diş çürüğü gibi enfeksiyonel ağız hastalıklarını önlemede risk faktörlerinin belirlenmesi ve hastalıklardan korunmada yeni yöntemlerin geliştirilmesi için araştırmalar devam etmektedir.

Günümüzde, çürük ve periodontal hastalıklar gibi bakteriyel patojenlerle ilişkili hastalıkların tedavisinde, yararlı mikroorganizmaların kullanımına olan ilgi hızla artmaktadır. Bakteriyoterapi, patojen mikroorganizmaları zararsız bakterilerle yer değiştirerek, enfeksiyonla mücadele etme yöntemidir (7). İnsan sağlığı için faydalı olan probiyotik bakteriler uzun yıllardan beri, bazı yiyecek ve içeceklerin içerisine ilave edilmektedir. Probiyotik kültürler içeren süt ve süt ürünlerinin diş sağlığını olumlu yönde etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (8-10). Özellikle erken çocukluk döneminde, probiyotik içerikli gıdaların tüketilmesi, çocukların ilerleyen yaşlarda ağız ve diş sağlığını olumlu yönde etkilemektedir (11). Ancak, probiyotiklerin ağız ve diş sağlığına olan olumlu etkilerini, özellikle de çocuklarda ağız sağlığına olan etkilerini inceleyen araştırma sayısı sınırlıdır. Bununla birlikte, gelişim döneminde, çevresel etkenlere bağlı olarak çürüğe hassas hale gelebilen diş yapılarında da, probiyotiklerin koruyucu fonksiyonunun ve çocuklarda ağız sağlığına etkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde; endüstriyel, bilimsel, tıbbi, askeri ve ev ortamı uygulamalarında 2.45 GHz radyasyon yayan cihazlar büyük oranda kullanılmaktadır. Çalışmamızda, genel sağlığa olduğu kadar diş gelişimi üzerinde de, bu radyasyonun etkisi olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda, özellikle diş ve çevre dokularının oluşmaya başladığı ve devam ettiği, doğum öncesi ve sonrası dönemde maruz kalınan elektromanyetik radyasyonun; bu dokular üzerindeki gelişimsel etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca, diş yapılarında oluşabilecek olası problemlere bağlı olarak, EMR'nin diş çürüğü oluşumu üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve bu çürük oluşumunun önlenmesinde, laktik asit bakterilerinin etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Radyasyon

Bir elementin özelliklerini taşıyan en küçük ögesi atomdur. Pozitif yüklü atom çekirdekleri, negatif yüklü elektronlarla birlikte nötr olan atomları oluşturmaktadır. Bir atom çekirdeğinin kararsız durumdan daha kararlı bir duruma geçerken elektromanyetik dalga veya parçacık şeklinde enerji yayılmasına radyasyon (ışınım) denmektedir (12).

2.1.1. Radyasyonun Sınıflandırılması

Cinsleri ve kaynakları farklı olan ışınların tek ortak yönü maddeye ve insan vücuduna nüfuz edebilmeleridir. Çeşitli radyasyon türlerinin madde içine nüfuz edebilme özellikleri farklılık göstermektedir. Ancak, belli bir radyasyon türü için nüfuz edebilme özelliği enerji ile ilişkilidir. Radyasyonlar, madde içine nüfuz edip cismi oluşturan atomları iyonlaştırması veya iyonlaştırmamasına göre iki sınıfta incelenirler:

- a. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon (Elektromanyetik Radyasyonlar)
- b. İyonlaştırıcı radyasyon [nötron, proton, alfa (α), beta (β) tanecikleri, x ışınları (x) ve gamma (γ) ışınları] (13).

2.1.1.1. İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyon (Elektromanyetik Radyasyon)

Yeterince enerjisi olmadığı için, ortamdaki atomları iyonlaştıramayan radyasyon türüdür. Elektromanyetik (EM) ışınların oldukça karmaşık ve değişken özelliklerini tanımlayabilmek için EMR dalga ve tanecik özellikleri şeklinde iki ayrı görüşle açıklanmaktadır (13). Kablosuz yerel alan ağ sistemleri (Wi-Fi)'nin neden oldukları ışınlım, iyonlaştırıcı olmayan radyasyon bölgesi içinde yer almaktadır.

2.1.1.1.1. Elektromanyetik Radyasyonun Dalga Özelliği

EMR, boşlukta dalgalar biçiminde yayılmaktadırlar. Yakından bildiğimiz pek çok dalgalı yayılım için (ses dalgalarının hava, su ya da vücut dokuları içindeki

yayımları) mutlak bir ortama gerek vardır. Oysa elektromanyetik dalga (EMD)'lar, boşlukta bir ortama gereksinim duymaksızın yayılabilmektedirler.

Her tür dalganın bir dalga boyu ve frekansı vardır. Sinüs ritmi şeklindeki dalga konvoyunda birbirini izleyen iki tepe noktası arasındaki uzaklık, dalga boyu olarak tanımlanmaktadır. EMD'nin bir saniyedeki periyodu 1 Hertz (Hz)'dir. Yani 1 Hz, saniyedeki (sn) 1 dalgaya eşittir ($1 \text{ Hz}=1/\text{sn}$). Bir noktadan belli sürede geçen dalga sayısı ise frekansı göstermektedir. Hız ile frekans arasındaki ilişki "Hız = Frekans X Dalga Boyu" ile ifade edilmektedir. Tüm EMD'ler, boşlukta aynı hızla yayılırlar, bu hız ışığın hızına eşit olup saniyede 300 000 km'dir. EMR tiplerinde hız aynı olduğundan bu ışınların frekansları dalga boyları ile ters orantılıdır (14).

2.1.1.1.2. Elektromanyetik Radyasyonun Tanecik Özelliği

Kısa dalga boylu EMD'ler, madde ile karşılaştırıldıklarında, dalga olmaktan çok partikülmüş gibi tepki görmekte ve göstermektedirler. Gerçekte bu dalgalar enerji demetleri olup "kuantum" veya "foton" adını alırlar. Her bir foton tarafından taşınan enerji, bu radyasyonun frekansına bağlıdır. Örneğin, frekans iki katına yükseltirirse, foton enerjisi de iki katı kadar artmaktadır. Elektromanyetik spektrumu oluşturan tüm radyasyonlar (x ve γ ışınları hariç) iyonlaştırmayan radyasyon türüne girmektedir (13).

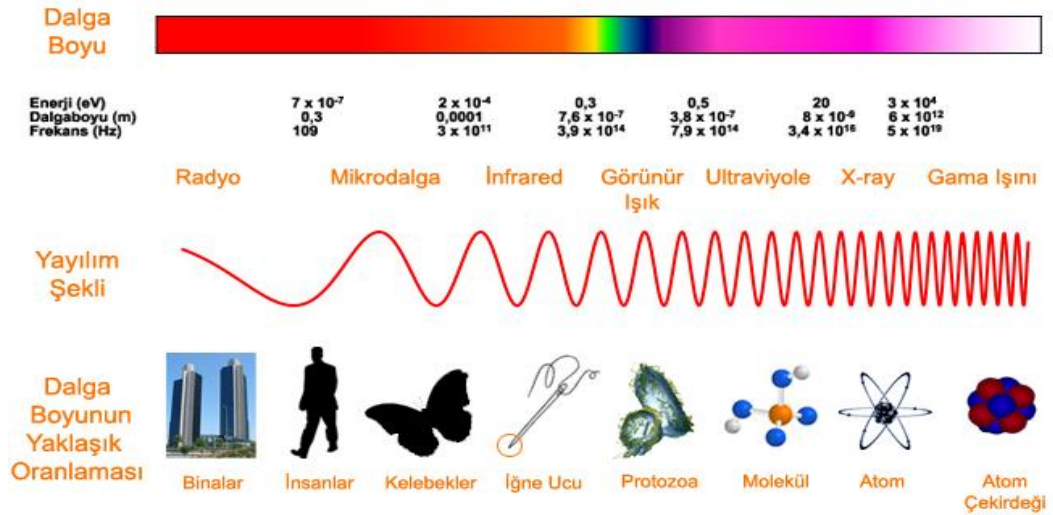
2.1.1.2. İyonlaştırıcı Radyasyon ve Etkileri

İyonlaştırıcı radyasyon; madde içerisinden geçerken enerjisini ortama aktarmak suretiyle, ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı yollarla iyonlaştıran radyasyon türüdür (15). İyonlaştırıcı radyasyon, ortamdaki atom ve moleküllerle rastgele çarpışarak kimyasal bağları kırıp, moleküler değişiklikler oluşturarak, hücre ve hücrenin etrafındaki dokuya zarar veren iyonların ve serbest radikallerin açığa çıkmasına neden olmaktadır. İyonlaştırıcı radyasyona maruz kalan her molekül bundan etkilenebilmektedir. DNA (deoksiribonükleik asit) molekülü, genetik içeriğinin sınırlı olmasından dolayı en önemli hedeftir (16).

2.1.2. Elektromanyetik Alan

Bir iletken üzerinden elektrik akımı geçirildiğinde iletkenin çevresinde elektrik alan ve manyetik alan oluşmaktadır. Akım geçen iletkenin çevresinde oluşan elektrik alan ve manyetik alan bileşimine elektromanyetik alan (EMA) adı verilmektedir.

Radyasyonun oluşturduğu EMA, belli bir frekansta salınan ve bir birleri arasında belli bir mesafe olan bir dizi dalga şeklinde tanımlanabilir. EMA'ların çok geniş bir frekans aralığı mevcut olup, birkaç yüz metre dalga boyuna sahip alçak frekanslı elektrik ikmal hatlarından, radyo ve görülebilir ışık frekanslarına, boyu bir metrenin trilyonda biri ile ifade edilecek kadar kısa dalga boyuna sahip çok yüksek frekanslı tıbbi X ışınlarına kadar değişebilmektedir (Şekil 1)(17).



Şekil 1. Elektromanyetik spektrum diagramı

Günümüzde EMR oluşturan kaynaklar arasında radarlar, mobil telefonlar, radyo ve televizyon vericileri, tıbbi ve endüstriyel uygulamalarda kullanılan çeşitli aletler, yüksek gerilim hatları, mikrodalga fırınlar ve elektrikli ev aletleri bulunmaktadır (Tablo 1). Günlük yaşamımızdaki örnekler arasında, 50 Hz frekansında olan ve saniyede 50 salınım yapan evimizdeki prizdeki elektrik ile saniyede 2000 milyon salınım yapan 2000 MHz frekansını kullanan cep telefonları sayılabilir. Elektrik alanları metre başına volt/metre (V/m) cinsinden ölçülür. Elektrik alanının gücü kaynaktan uzaklaştıkça azalmakta ve duvar, bina ve diğer malzemeler tarafından bloke edilebilmektedir (17).

Tablo 1. Günlük yaşamda sık karşılaştığımız bazı EMA oluşturan cihazlar (18)

Frekans bandı	Çesitli tiplerde yayınlar
10 KHz – 10 MHz	Farklı özellikte toplanan frekans bantları “Uzun Dalga”, “Kısa Dalga” ve diğer tip radyo veya televizyon gibi
10 MHz – 30 MHz	Farklı frekans bantlarının yapımı (çağrı cihazları, radyo veya televizyon yayınları)
30 MHz – 87.5 MHz	Şahsi mobil radyo, Band I TV, amatör radyo operatörleri, vb.
87.5 MHz – 108 MHz	FM-band radyo
108 MHz – 136 MHz	Sivil havacılık
136 MHz – 400 MHz	Şahsi mobil radyo, Band III TV (174-223 MHz)
400 MHz – 470 MHz	Şahsi radyo dalgaları
470 MHz – 862 MHz	TV (IV ve V bantlar)
960 MHz – 1375 MHz	Radar, vb.
1375 MHz – 1710 MHz	Mikrodalga radyo sistemleri, hava istasyonları
1710 MHz – 1900 MHz	Mobil Telefonlar
1900 MHz – 2700 MHz	Bluetooth (2400 – 2483.5 MHz), radyo kamera
2700 MHz – 3400 MHz	Radar
3400 MHz – 3600 MHz	Kablosuz cihazlar / WI-Max
> 3600 MHz	Uydu merkezleri, radar gibi...

2.1.3. Kablosuz Yerel Alan Ağları (WLAN)

Yerel alan ağları (Local Area Networks, LAN) bina, okul, hastane, kampüs gibi sınırlı bir alanda kurulan ve çok sayıda kişisel bilgisayarın yer aldığı ağlardır. LAN’lar, kamu kurum ve kuruluşlarında, şirketlerde, üniversitelerde, konferans salonlarında ve benzeri pek çok yerde kullanılmaktadır. WLAN’larda bilgisayarlar ve ağ içerisindeki diğer cihazlar arasında iletişimi sağlamak üzere kablo yerine RF veya kızılötesi teknoloji kullanılmaktadır. En kısa tanımıyla WLAN sistemi bir kablosuz LAN’dır. Bu nedenle kablolu LAN’ların tüm özelliklerine sahiptir. Ayrıca kablosuz bir sistem olması nedeniyle cadde, sokak, park, bahçe ve benzeri açık alanlarda WLAN sistemleri başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. WLAN

sistemlerinde kullanılan yüksek frekanslı RF sinyali (2.4 GHz ve 5 GHz) temel özelliği nedeniyle katı cisimlere nüfuz edebilmekte ve geçebilmektedir (19).

2.1.4. İyonlaştırmayan Radyasyonun Biyolojik Sistemlere Etki Mekanizması

EM kuvvetler, vücutta atomlardan moleküllere, moleküllerden hücrelere ve organlara kadar tüm yapıları bir arada tutan kuvvetlerdir. Dolayısıyla dışarıdan verilen EM kuvvetler aletleri bozabildiği gibi biyolojik sistemi de etkileyebilmektedir. EMD'lerin etkileri tek bir mekanizma ile açıklanamamıştır. EMD'lerin biyolojik organizmalarla etkileşimi, enerji miktarına ve frekansına bağlıdır. İnsan bedeni bazı frekanslar için geçirgen özellik gösterirken, bazı frekanslar için göstermemektedir. İyonlaştırıcı olmayan radyasyon, yüksek şiddette bile olsa biyolojik sistemlerden elektron koparamazken, sıcaklık artırarak, kimyasal reaksiyonları değiştirerek ya da elektriksel akımı indükleyerek etkilerini gösterebilmektedirler (3).

İyonlaştırıcı olmayan EMR dalgalarının etkisine maruz kalma sonucunda termal ve termal olmayan olmak üzere iki tür etki oluşmaktadır (3). EMR'ye maruz kalan cisimde, gelen dalgaın alan şiddeti yeterince küçükse ısı oluşmaz. Termal etkiler, cismin EMR ile etkileşmesinde, artan moleküler hareket ve sürtünmeden dolayı oluşmaktadır. Biyolojik ortamda ısı artışı oluşur. Vücut ısısında 1–5°C'lik artış, geçici infertilite, beyin lezyonları ve kan biyokimyasında değişikliklerle sonuçlanabilmektedir. Yaklaşık 1°C'lik küçük ısı artışları bile hormon üretiminde değişikliklere ve immün cevabın baskılanmasına yol açabilmektedir (20). Termal olmayan etkisi ise, canlı organizma içindeki birbirine bağlanmış olan molekülleri, atomları etkileyerek bozmaktadır (21, 22). Sonrasında organizma kendini tamir ederek düzeltmektedir. Kontrolde çıktığında ise basit bir iki hücrenin ölümüne veya kanser gibi ölümcül bir hastalığa neden olabileceği düşünülmektedir (23, 24). Termal etki kabul edilen dozlarda veya daha yüksek değerlerde meydana gelirken, termal olmayan kimyasal etkiler tehlike sınırlarının altındaki düşük dozlarda meydana gelebilmektedir. Uzun süreli düşük doza maruz kalmanın, kısa süreli yüksek dozdan daha riskli olduğu kabul edilmektedir (25).

EMA, dokular üzerinde bir metrekare yüzey başına watt/metrekare (W/m^2) birimiyle ifade edilen güç yoğunluğunun canlı vücudunda soğurulmasına ve oradan doku ısınması yoluyla hasar oluşmasına neden olmaktadır. Soğurulan bu güç (Specific absorption rate, SAR), gelen dalganın frekansına, geliş açısına, canlı dokunun su içeriğine, biyolojik yapının elektriksel özelliklerine (iletkenlik, dielektrik sabitleri) ve en önemlisi etki süresine bağlıdır (14).

SAR, yani özgül soğurma oranı, EM dalgalarının vücut tarafından soğurulma hızıdır. Birimi watt/kilogram (W/kg)'dır. SAR değeri, vücudun 1 kg'ının sıcaklığını 1 °C yükselten elektromanyetik enerji miktarıdır (26). Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Korunma Komitesine göre bu değer 4 W/kg 'dır. Bu değerinde biri meslekleri gereği elektromanyetik alanlara maruz kalanlar için (0.4 W/kg), 50'de 1'i ise genel halk için (0.08 W/kg) limit değeri olarak kabul edilmiştir (27).

İnsan vücudu soğurma karakteristiği dikkate alındığında, EM frekans bandı 30 MHz' den daha düşük, 30-300 MHz arası ve 300 MHz ve üzeri olmak üzere üç alt bölgeye ayrılabilir. 400 MHz'den 3 GHz'e kadar olan aralıkta ısı etkisi oldukça belirgin olmaktadır. Standart insan boyutlarındaki bir kişi 2.45 GHz'lik manyetik alanda mevcut alanın % 50'sini absorbe etmektedir (28).

Belirtildiği gibi, emilen enerji miktarı, maruz kalan cismin büyüklüğünü de içeren birçok faktöre bağlıdır. Standart bir kişi (boy 1.74 m) eğer topraklanmışsa, yaklaşık 70 MHz'lik bir emilim frekansına sahiptir. Daha uzun bireyler için bu değer biraz daha düşük iken, daha kısa bireyler, çocuklar ve bebekler için ise 100 MHz'i aşacak kadar fazla olabilmektedir (28). Bunun yanında, başın gövdeye oranla büyük, cilt ve kafatasının ise daha ince olması nedeniyle de, çocuklar EMR'ye erişkinlerden daha duyarlıdır.

2.1.5. Elektromanyetik Radyasyonun Biyolojik Etkileri

Uzun süre çok düşük frekanslı manyetik alanların, sahip oldukları düşük enerji potansiyelinden dolayı biyolojik sistemler üzerinde etkilerinin olmadığı düşünülmüştür. Ancak, 1970'lerde yüksek gerilim hatları yakınlarındaki yerleşim bölgelerinde çocukluk çağı lösemi sıklığında artış gözlenmesi, bu alanların biyolojik sistemler üzerinde etkilerinin araştırılmasına yol açmıştır (29). Araştırmalar, büyük

ölçüde bu alanların kanser oluşumuna yol açıp açmadığı konusuna odaklanmıştır. Bu doğrultuda yürütülen çalışmalarda manyetik alanların hücre proliferasyonuna, sinyal ileti yollarına ve bağışıklık sistemi üzerine etkileri araştırılmıştır (2, 30, 31). İyonlaşmaya neden olmayan radyasyonun biyolojik sistemler insan sağlığı üzerine olan etkileri, çok sayıda çalışma ile gösterilmiş ve bu etkilerin manyetik alanların oluşturduğu ısı artışından bağımsız olduğu saptanmıştır (32-34).

EMD'lerin oluşturduğu biyolojik etkilerin canlı organizma üstünde güvenilir bir sınırdaki kalması için, insan hücre ve dokularını temsil eden matematiksel modeller ile çalışmalar yapılmaktadır. EM dalgalarının bilinen potansiyel biyolojik etkileri şu başlıklarda toplanabilir (8, 14).

a) Tek bir hücre veya hücre sistemlerine etkiler

Moleküler etkiler

Hücre içi sistemler üzerine etkiler

Tek bir hücreye etkiler

b) Genetik düzen ve gelişim üzerine etkiler

Genetik ve mutajenik etkiler

Teratolojik etkiler

Büyüme ve gelişme etkileri

c) Gelişmiş organ, doku veya hücre sistemleri üzerine etkiler

Testisler üzerine etkiler

Kardiyak fonksiyona etkiler

Sinir sistemi ve davranış tepkileri üzerine etkiler

Hematolojik etkiler

İmmünolojik etkiler

d) Metabolizma ve düzenleme sistemleri üzerine etkiler

Klinik biyokimya ve metabolizma üzerine etkiler

Nöroendokrinolojik tepkiler

2.2. Ratlarda Diş Yapıları ve Gelişimi

2.2.1. Diş Tipleri

Omurgalı canlı türleri, homodont ve heterodont olarak sınıflandırılabilen dişlere sahiptirler. Heterodont hayvanların diş şekilleri dört kümeye ayrılmaktadır: keser dişler, kaninler, küçük azı dişleri ve büyük azı dişleri. Keser dişlerin tek tüberküle sahip olmaları ve ağzın ön kısmında gelişmelerine rağmen azı dişleri birden çok tüberküle sahiptirler ve daha arkada yerleşmişlerdir. Farklı hayvan türleri, farklı diş kümelerinden oluşmuş dişlenmeye sahiptirler. Örneğin ratlar ve fareler sadece keser ve büyük azı dişlerine sahipken (Şekil 2), tavşanlar; keserler, küçük azı ve büyük azı dişlerine sahiptirler (35).



Şekil 2. Rata ait üst ve alt çene örneğinde diş tipleri ve konumları

Rat azı dişlerinde büyük ve küçük olmak üzere iki tip fissür bulunmaktadır. Büyük fissür, mine yüzeyinde katlantı benzeri bir yapı şeklinde görülen derin fissürlerdir, derinlik ve genişlikleri farklılık göstermektedir. Alt çene arkında, birinci azı dişinde üç, ikinci azı dişinde iki ve üçüncü azı dişinde üç adet iyi tanımlanan fissür bulunmaktadır. Üst çene arkında, her bir azı dişinde iki fissür bulunmaktadır. Birinci azı dişlerindeki her iki fissür de iyi tanımlanmaktadır. İkinci azı dişinde, mesial fissür sığ ve kısadır, ara yüzeyin orta hattına yakın bölümünde sonlanmaktadır. Bu oluşum plak birikimi için odak noktası oluşturmakta ve birinci ve ikinci azı dişleri arasındaki

ara yüzeylerde, yüksek oranda çürük oluşumuna neden olabilmektedir. Üçüncü azı dişlerindeki her iki fissür de küçüktür ve çürük skorlama için sıklıkla kullanılan kesme işlemi nedeniyle pozisyonuna bağlı olarak sadece biri görülebilmektedir. (36) (Şekil 3).



Şekil 3. Rata ait üst ve alt çene azı dişleri

İnsan ve kemirgen dişlerinin gelişimi temel olarak benzerdir. İnsan dişleri ve rat/fare büyük azı dişleri sınırlı oranda büyümektedirler, bu durum türler arasındaki karşılaştırmayı mümkün kılmaktadır. İnsan dişlerinden farklı olarak, rat ve fare büyük azı dişleri tüberkül uçlarında mine oluşturmazlar ve rat azı dişleri, köklerinin etrafını saran daha kalın bir tabaka semente sahiptirler (37). Azı dişlerinin aksine, rat ve fare keser dişleri hayat boyu sürmeye devam etmektedir. Rat keser dişi, doğum sonrasındaki 16 gün içerisinde oklüzyona ulaşmakta ve dental yapı her 62 günde bir yenilenmektedir (37, 38).

Sınırlı büyüyen dişlere sahip, heterodont omurgalılar arasında yer alan insanlar ve diğer memeliler, süt ve daimi olmak üzere iki farklı dişlenmeye sahiptirler. Kemirgenler sadece bir grup dişlenmeye sahiptirler. Daimi dişler, süt dişlerinde olduğu gibi benzer dental laminadan gelişmektedirler. Daimi dişlerin gelişimi diş şekline bağlı olarak farklı yönlerde devam etmektedir (35).

2.2.2. Diş Gelişiminin Ana Hatları

Omurgalılarda diş gelişiminin başlangıcı, diş morfogenezisi ve dental hücrelerin farklılaşması, iki komşu doku (epitel ve mezenşim) arasındaki bir seri etkileşim ile yönlendirilmektedir (39-42). Bu etkileşim, bütün ana sinyal yollarını kapsayan, transforming growth factor beta (TGF β), fibroblast büyüme faktörü (FGF), kemik morfogenetik protein (BMP), sonik hedgehog (SHH) ve wingless (WNT) ile birlikte Ectodysplasin-A (EDA), Notch ve epidermal büyüme faktörü (EGF) sinyallerini içermekte ve yapılan çalışmalar, gelişimin kritik safhalarında eş zamanlı olarak gerekli olduklarını göstermektedir (43, 44). Gelişimin devam etmesiyle, diş oluşumunda görev alan sinyal kaynakları epitelden mezenşime yerini değiştirmektedir (45). Hücre farklılaşması tamamlandığında, mineyi oluşturan ameloblastlar, dentini oluşturan odontoblastlar ve sementi oluşturan sementoblastlar belirli bir dental matriksin oluşumuna ve mineralizasyonuna başlamaktadır (39, 40). Diş matriksinde, kemik içerisinde meydana gelen remodeling olmadığından, çeşitli hasarlara (genetik ve genetik olmayan) neden olan gelişimsel defektler kalıcı olmaktadır. Bu durum, normal ve normal olmayan gelişimin incelendiği çalışmalar için dişleri iyi bir model haline getirmektedir. Bütün omurgalılarda diş organogenezisinin temel basamakları benzer olduğundan, diş gelişiminin moleküler mekanizmasının anlaşılmasında genellikle fare modellerinden yararlanılmaktadır (46, 47).

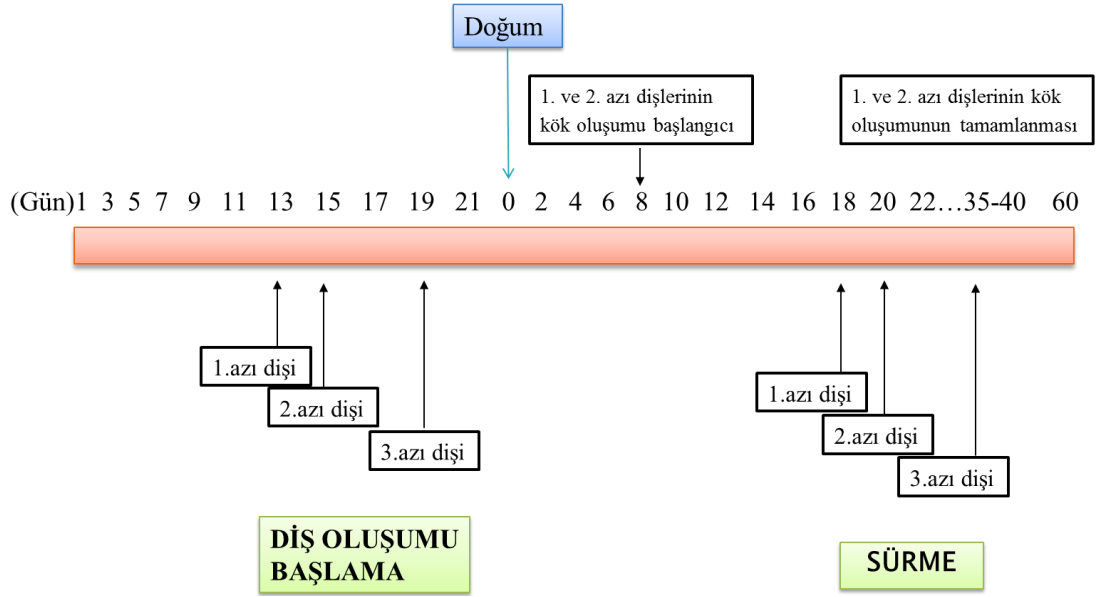
2.2.3. Diş Gelişiminin Başlangıç, Morfogenezis ve Farklılaşma Safhaları

Diş gelişimi, oral epitelyumun bölgesel olarak kalınlaşması ile başlamakta ve hücre farklılaşması, dental matriksin mineralizasyonu ve formasyonu için birbirini izleyen morfogenetik (tomurcuk, takke, çan) safhaların ilerlemesiyle devam etmektedir (35). Dental lamina olarak adlandırılan kalınlaşmış epitel tabaka gelecekteki dental arkı işaret etmektedir. Epitelyum altındaki mezenşim, embriyonal (E) 11 günlük farenin birinci azı dişi bölgesinde yoğunlaşmakta ve mezenşim içerisine doğru proliferen olan dental lamina hücreleri, tomurcuk şeklinde bir yapı oluşturmaktadır (tomurcuk safhası) (48).

E14 günlük farede, epitelyal tomurcuğun periferinde; ekvator bölgesinde hücre çoğalmasının hızlı, kutup bölgesinde ise yavaş olması sonucunda tomurcuk bir süre sonra takke (takke safhası) ve ardından çan şeklini (çan safhası) almaktadır (takke safhası). Epitel, servikal uzantılar olarak isimlendirilen yapıları oluşturmak için büyümeye devam ederken, tomurcuğun uç kısmında, mine düğümü olarak isimlendirilen, bölünmemiş hücreler meydana gelmektedir (44). BMP, FGF ve WNT ailelerinin birçok üyesi ile birlikte SHH ekspresyonundaki rolü ile sinyal merkezi olarak görev alan bu yapı (49, 50), farelerde ilk olarak erken tomurcuk safhasının başlangıcında görülmektedir (E11,5- E12) (48).

Erken çan safhası süresince, E16 günlük farelerin tüberkül şekilleri ortaya çıkmaya başlamaktadır (49). E18 günlük farelerde gelişim devam ederken, epitelyal hücreler ameloblastlara ve komşu mezenşimal hücreler de odontoblastlara farklılaşarak kutuplaşmaktadır (51). Diş morfogenezisine benzer olarak, dental hücrelerin farklılaşması epitelyal-mezenşimal etkileşimler yoluyla düzenlenmektedir. Tüberkül morfogenezi tamamlandığında diş sekresyon safhasına geçerek dental matriks salgılanmakta ve mineralize olmaktadır. Bu noktada kök gelişimi hala tamamlanmamış haldedir ve bu süreç diş oral kavite içerisine sürdükten sonraki döneme kadar devam etmektedir (44).

Genel olarak, ratlarda hamilelik süresi yaklaşık 21 gün sürmektedir. Ratlarda, alt birinci, ikinci ve üçüncü azı dişlerinin gelişimi, sırasıyla hamileliğin 13, 15 ve 20-21. günlerinde başlamaktadır. Mineralizasyon, birinci ve ikinci azı dişlerinde gelişim başlangıcından yaklaşık bir hafta sonra, üçüncü azılarda ise iki hafta sonra başlamaktadır. Azı dişleri, gelişim başlangıcından dört hafta sonra, üçüncü azı dişleri ise beş hafta sonra sürmektedir (Şekil 4). Ratların birinci, ikinci ve üçüncü azı dişleri, sırasıyla doğum sonrası 25, 28 ve 40. günlerde fonksiyonel olarak hazır hale gelmektedirler. Alt azı dişleri, üst dişlere göre bir gün daha erken gelişmektedir (37).



Şekil 4. Ratlarda diş gelişiminin kronolojisi (48)

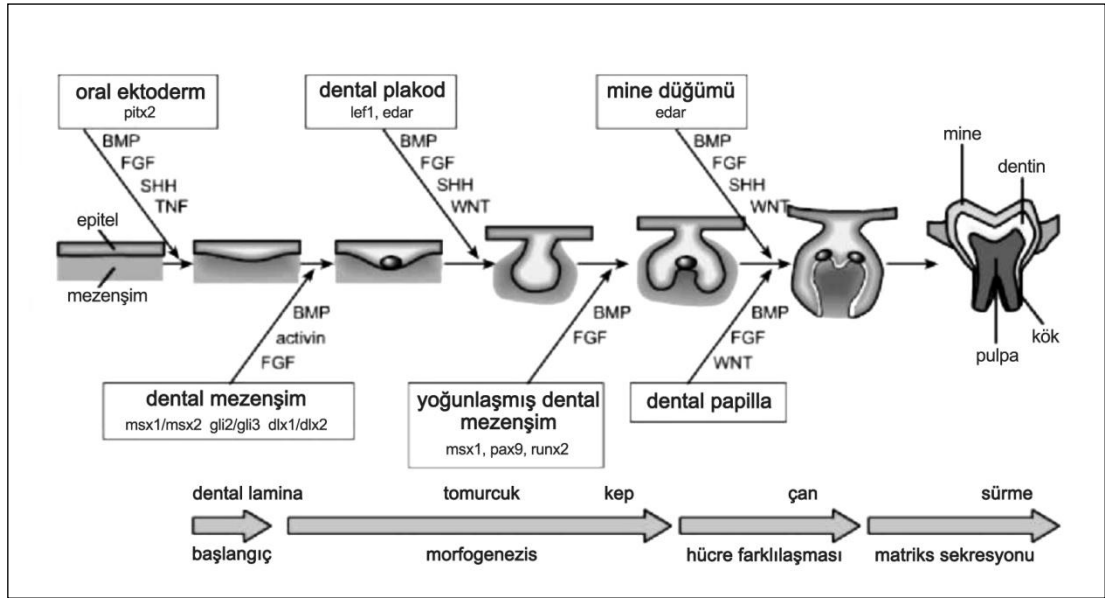
2.2.4. Diş Gelişimi ve Apoptozis

Organogenezis için sadece hücre çoğalmasının değil ayrıca programlı olarak hücre ölümlerinin ya da apoptozisin de olması gerekmektedir. Apoptozis, hücre dışı (ekstrinsik veya ölü reseptör yol) veya hücre içi (intrinsik veya mitokondriyel yol) olmak üzere farklı metabolik yollarla meydana gelmektedir. Her iki durumda da sinyaller, proteolitik kaskada yer alan kaspaz isimli sistemin proteaz ailesinin aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (52, 53). Hücre sayısı kontrolüne yardım eden doku modelingi ve apoptozis, sadece normal gelişimde değil (54) ayrıca çeşitli patolojik süreçlerde de büyük bir rol oynamaktadır (55).

Diş gelişiminde, özellikle erken morfogenezis olmak üzere dentinogenezis, amelogenezis ve diş sürmesini de içeren bütün safhalarda apoptozis görülmektedir (56). Dental apoptozis, dental laminanın indirgenmesinde ve sinyal merkezi olarak görev alan mine düğümünün eliminasyonunda, diş tomurcuk oluşumu ve morfogeneziste pasif ve aktif roller oynamaktadır (57). Apoptozis, ameloblastların farklılaşması ve olgunlaşması gibi mine gelişiminin farklı safhalarında da görülebilmektedir (58). Mine olgunlaşması sırasında, ameloblastların yaklaşık olarak %50'sinin yıkıma uğradığı bildirilmiştir (59, 60).

2.2.5. Diş Gelişiminde Moleküler Mekanizmalar

Genlerin transkripsiyonu, hücre içi moleküller içeren sinyal ağları tarafından düzenlenmektedir. Gelişmekte olan dişlerde, diğer organlarda da yer alan benzer sinyal mekanizmalar görev almaktadır, ancak fonksiyonları organlara göre farklılık göstermektedir. Sinyal molekülleri, büyüme faktörleri olarak da adlandırılan, hücre ve doku etkileşimlerine katılan küçük peptitlerdir. Hedef hücrenin yüzeyindeki özel reseptörlere bağlanmakta ve hücre içi sinyal ağı yoluyla çekirdek içerisindeki transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedirler. Transkripsiyon faktörleri, hücre içerisinde, hücre döngüsünün, hücre adezyonunun ve hücre yüzeyinde yeni reseptörlerin üretimini düzenlenmesinde birçok etkiye neden olabilmektedirler (61). Diş gelişiminde, epitelyal ve mezenşimal yapılar arasındaki etkileşimde yer alan sinyaller, transkripsiyon faktörleri ve moleküler olaylar şekil 5’de sunulmaktadır (62).



Şekil 5. Diş gelişiminde, epitelyal ve mezenşimal yapılar arasındaki etkileşimde yer alan sinyaller, transkripsiyon faktörleri ve moleküler olaylar. Theis (62)’den izin alınmış ve modifiye edilerek kullanılmıştır.

Birçok sinyal molekülü ailesinin memeli diş gelişiminde kritik roller oynadıkları gösterilmiştir (42). Diş gelişiminin başlangıcında, BMP, FGF ve WNT ailelerinin birçok üyesi ve SHH dental epitelyum içerisinde eksprese edilmektedir (63). Bu safhada, genetik olarak ya da dış faktörlerle, bu dört sinyal yolunun

engellenmesi, diş gelişiminin dental lamina ya da erken tomurcuk safhasında durmasına neden olmaktadır (49, 50). O'Connell ve ark. (64), WNT ve BMP'nin, diş gelişiminin erken dönemlerinde epitelyal-mezenşimal etkileşimin önemli iki mediatörü olduklarını, epitelyumda BMP4, SHH, FGF'ler ve WNT, mezenşimde ise FGF'ler, BMP4 ve Inhb'a'yı da içeren bütün büyük metabolik yollarda, sinyal moleküllerinin üretimini kontrol ettiklerini belirtmişlerdir (64).

Tomurcuk safhasından takke safhasına geçiş, BMP ve WNT sinyalleri ile birlikte, WNT hedef genlerinin ekspresyonunda yer alan lenfoid güçlendirici bağlayıcı faktörü-1 (LEF1) aracılık etmektedir (65). Takke safhasından çan safhasına geçiş ise büyük oranda farklı FGF aile üyeleri ile birlikte FGF sinyal ağına bağlı olarak gerçekleşmektedir (66). SHH sinyal yolu ise dental epitel ve mezenşimin her ikisinin proliferasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (67).

2.2.6. Diş Sert Dokuları

Mine, dentin ve sement, sırasıyla ameloblastlar, odontoblastlar ve sementoblastlar tarafından oluşturulan dişe özgü mineralize dokulardır. Epitelyal-mezenşimal etkileşimin bir sonucu olarak farklılaşan bu hücreler, post-mitotik ve salgısal hale gelmektedirler.

2.2.6.1. Minenin Oluşumu ve Yapısı

Mine, bilinen epitelyal kaynaklı en sert ve tek mineralize dokudur. Farklılaşmış ameloblastlar, uzun silindirik şekilli polarize hücrelerdir. Ameloblastların sekresyon alanından uzaklaşacak şekilde, doğrusal hareketlerinin eşlik ettiği, mevcut mine yüzeyi üzerinde mine proteinlerinin devam eden birikimi ile apozisyonel büyüme olmaktadır (68, 69). Matriks metalloproteinaz-20 (MMP-20) ve kallikrein-4, mine matriks proteinlerini indirgeyen başlıca proteinazlardır (70). Mine kristalleri son uzunluklarına (ve mine tabakası son kalınlığına) ulaştığında, mine kristalitlerini ayıran organik matriks yıkıma uğramakta ve geri emilmektedir. Sonraki aşamada, mine kristallerinin yan yüzeylerinde meydana gelen mineral depozisyonu ile mine tabakası olgunlaşmaktadır (68, 69). Olgunlaşmış minenin esas bileşeni hidroksiapatittir. Olgun minenin sadece %4'ü organik materyal ve su iken, geriye kalan %96'sı minerallerden oluşmaktadır (71).

2.2.6.2. Dentinin Oluşumu ve Yapısı

Yapısal karakteristik farklılıklarına rağmen, dentin ve pulpa sıkı bir anatomik ve fonksiyonel kompleks oluşturmaktadır. Ameloblastların aksine, dentin oluşturan odontoblastlar, dişin tüm hayatı boyunca fonksiyonelliklerini kaybetmemektedirler. Odontoblastlar ilk önce, mineye komşu alanda yer alan predentin tabakasını sentezlemekte ve dentinogenezis devam ettikçe ameloblastlardan uzaklaşmaktadırlar (72). Dentin, organik makromoleküller ve hidroksiapatit mineralinden oluşmaktadır. Olgun dentin, ağırlıkça yaklaşık %70 mineral içerik, %20 organik materyal ve %10 su içermektedir.

Dentinin kollojen olmayan ana proteinlerinden dentin fosfoprotein (DPP) ve dentin sialoprotein (DSP), dentin sialofosfoprotein geni (*Dspp*) tarafından kodlanan DSPP proteininin proteolitik olarak bölünmesi sonucu oluşmaktadır. MMP-20'nin bu bölünmede rol oynadığı ileri sürülmektedir (73). DPP'nin, dentin mineralizasyonunun kontrol ve nükleasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (74). Ayrıca, dentin mineralizasyonu devam ederken kristal büyümesinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu da bildirilmiştir (75, 76). İn vitro olarak, DSP'nin apatit oluşumu ve büyümesinde sınırlı bir etkisinin olduğu gösterilmiştir (77, 78). Temel dentin proteinlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar, esas olarak dentinde görülen kalıtsal gelişimsel defektlerin etiolojisinde anahtar rol oynamaktadır.

Çocuklarda, dişlerin çok sayıda gelişim aşamasından geçtiği görülmektedir. Süt dişlerinin gelişimi hamilelik döneminde meydana gelmesinden dolayı, bu dönemde meydana gelen kazanılmış defektleri kısmen yansıtmaktadırlar. Daimi dişler ise, gelişimlerinin bütün dönemlerinde sistemik veya lokal kaynaklı çevresel etkenlere karşı hassastırlar.

2.2.7. Diş Gelişiminde Sapmalar

Diş formasyonunun başlangıç safhaları, epitelyal-mezenşimal etkileşimler ve diş gelişimini durmasına neden olan kritik bileşenler ile ilişkilidir. Diş oluşumunun ilk dönemlerinde, bu sinyal verici sitemlerde fonksiyonel bir değişiklik, diş sayılarının fazla veya eksik olmasına neden olurken; sonraki basamaklarda doku etkileşimlerindeki problemler, diş gelişimini durdurmaktadır. Kuru formasyonunun

son safhaları ise, hücre dışı matriksin mineralizasyonu ile ilişkilidir. Kuron formasyonunu sağlayan fonksiyonel değişimlerin olmaması sonucu, dentin ve mine kalıplarında defektler ortaya çıkmakta ve mineralizasyonda kalıtsal defektler görülmektedir (79).

Dental defektler, yaygın olarak genetik ve genetik olmayan (çevresel) defektler olarak sınıflandırılmaktadır.

2.2.7.1. Genetik Sapmalar

Dişlerde yapısal değişikliklere neden olan genetik hastalıklar, dental dokularla sınırlı olabilmekte ya da sendrom veya geniş kapsamlı hastalıkların bir parçası olabilmektedirler. Mutasyon çalışmalarında farelerin kullanılması, diş gelişiminde yer alan genlerin her birinin rolünün araştırılabilmesine imkan sağlamaktadır.

En şiddetli dental defekt diş eksikliğidir. Sendromik olmayan diş eksikliği, esas olarak transkripsiyon faktörleri *MSX1*, *PAX9* ve *AXIN2*'deki baskın mutasyonlarla ilişkilendirilmektedir (80-83). *MSX1* veya *PAX9* genlerinden herhangi birinde eksiklik olan farelerde, diş gelişiminin tomurcuk safhasında durduğu görülmektedir (24,25).

Günümüzde, mine matriks proteinlerini kodlayan genlerde (69, 79, 84), mine olgunlaşması ile ilişkili matriks proteinlerinin yıkımında yer alan enzimlerde (85), dentin oluşumunda yer alan *DSPP* (86-88) ve *ADAMTS2* (74) genlerinde mutasyonlar tanımlanmıştır. Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, bu mutasyonlara bağlı olarak, mine ve dentinin kalınlık, sertlik ve düzgünlüğünde sapmalar görülebilmekte ve bu parametreler arasındaki farklılıklar, amelogenesis ve dentinogenesis sırasında meydana gelen problemlerin zamanlamasındaki farklılıkları yansıtmaktadır (69).

2.2.7.2. Çevresel Defektler

Kazanılmış defektler olarak da tanımlanan, çevresel etkenlere bağlı oluşan dental defektler, lokal ve sistemik defektler olarak ikiye ayrılabilir. Lokalize defektler, tek bir dişte veya asimetrik olarak birkaç dişte görülebilmektedir. Bu tip

bir defekt en yaygın olarak travma sonucu, dişlerde görülmektedir. Yüzü aşkın sistemik faktör veya durum, diş gelişiminde meydana gelen bozukluklarla ilişkilendirilmiştir. Bunların arasında, beslenme yetersizlikleri, hastalıklar, ilaçlar, çevresel atıkları da içeren kimyasallar, radyasyon ve benzeri kaynaklar yer almaktadır (89-91). İnsanlar üzerinde yapılan incelemelerde hamilelik döneminde maruz kalınan nikotinin (92, 93) ve kullanılan ThalidomideR (94) ve tetrasiklin (95, 96) gibi ilaçların diş sert doku oluşumu ve mineralizasyonunda problemlere yol açtığı bildirilmiştir.

Bunun yanında, genetik yapı ile birlikte çevresel etkenlerin diş gelişimi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaların çoğu kemirgenler üzerinde gerçekleştirilmekte ve farklı sonuçlar elde edilmektedir. Kansorejen bir madde olan dioksine maruziyetin ratlarda diş eksikliğine neden olabildiği bildirilmiştir (97-100). Osteoporosis ve metastatik kemik hastalıklarının tedavisinde kullanılan bifosfonatların, ratlarda diş oluşumunu ve sürmesini engellediği, ayrıca farklı dental anormalliklere de neden olduğu gösterilmiştir (101). Kanser kemoterapisinde ve immünsupresyonda kullanılan bir ajan olan siklofosfamidin, rat keser dişlerinde; dentin kalınlığında azalmaya, odontoblastlarda depolarizasyona, osteodentin bulunmasına ve dentin oyuklarına neden olabileceği bildirilmiştir (102, 103). Özellikle A vitamini olmak üzere, hamsterlerde vitamin eksikliğinin dentin oluşumunu geciktirdiği görülmüştür (104, 105). Bunun yanında örneğin flor gibi normal konsantrasyonlarda tedavi edici veya koruyucu özelliği olan bazı ajanların, yüksek konsantrasyonda dişlerde problemlere yol açtığı da bilinmektedir (106, 107). Kanser tedavisinde kullanılan radyasyonun da, laboratuvar hayvanlarının gelişmekte olan rat azı dişlerinde dentin oyuklarına neden olduğu rapor edilmiştir (108).

2.3. Diş Çürüğü

Diş çürüğü; mikroorganizmaların şeker içeren besinlerde bulunan monosakkarit ve disakkaritleri fermante etmesi sonucu oluşan asidik yan ürünlerin neden olduğu, kalsifiye dokuların yıkımı ve lokalize çözünmesi ile sonuçlanan multifaktoriyel, kronik, enfeksiyöz ve bulaşıcı bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (109, 110). Diş çürüğü okul çağı çocuklarının %60 - %90'ını, yetişkinlerin de büyük kısmını etkileyen önemli bir sağlık problemidir (111).

Günümüzde diş çürüğünün multifaktöriyel bir hastalık olduğu kanıtlanmıştır. Buna göre, çürük oluşabilmesi için dört ana faktörün bir arada bulunması gerektiği kabul edilmektedir. Bu faktörler; konak (diş sert dokuları), karyojenik mikroorganizmalar, diyet (işlenmiş karbonhidrat tüketimi) ve zamandır. Daha sonraki yıllarda, diş çürüğünün oluşumuna tükürük, vücut savunma sistemi, süre, genetik ve kültürel özellikler ve immünolojik faktörlerin de katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Sosyoekonomik durum, eğitim seviyesi ve flor kullanımının yanı sıra, davranışsal ve çevresel faktörler gibi birçok faktörün de rol oynadığı bildirilmiştir (112, 113).

Diş çürüğünün, dişin mineral yapısı ve oral mikrobiyal biyofilm arasındaki fizyolojik dengenin bozulması sonucu ortaya çıktığı bilinmektedir (114). Çürük oluşumu için karyojenik bakteriler esastır. Özellikle mutans streptokok (MS)'lar ve laktobasiller olarak adlandırılan iki major bakteri grubu, karbonhidraları fermente ederek laktik, asetik, formik ve propionik asit gibi organik asitler üretmektedirler (115). Asitler, normalde 7,0 olan pH değerinin, kritik pH değeri olan 5,5'in altına düşmesine neden olarak, hidroksiapatit kristallerini oluşturan kalsiyum ve fosfatın çözünmesi sonucunda, mineral kaybı (demineralizasyon) gerçekleşmektedir. Bu süreç devam ederse kaviteasyon meydana gelmektedir (116-119).

Diş çürüğünün yalnızca diş yüzeyinde biyofilm birikimi meydana geldiğinde oluşabildiği bildirilmiştir. Yalnızca biyofilmin varlığının da diş çürüğünün gelişimi için yeterli olmadığı, bunun yanında fermante olabilen karbonhidratların bulunması gerektiği de belirtilmiştir. Diş çürüğünün en önemli sebebinin şekere maruz kalma olduğu ve özellikle fazla sıklıkta alındığında etkisinin daha da arttığına inanılmaktadır (120).

2.3.1. Dental Plak

Diş yüzeyi tamamen temizlense dahi, çok kısa bir süre içerisinde glikoproteinler, asidik prolinlerden zengin proteinler, statherin ve fibrinonektin, müsinler, bakteriyel hücre debrisleri, alfa amilaz gibi dış ürünler ve sialik asitten zengin bir karışım ile kaplanmaktadır (121). Bu karışıma pelikül ismi verilmektedir. Bu film, yüzeyin serbest enerjisini ve yükünü değiştirmekte, bu da bakteri adezyonunun etkinliğini artırmaktadır. Bakteri bu örtülmüş katı yüzeylere değişken

bir şekilde tutunmaktadır. Ekstrasellüler polimerik maddeler ve fimbrialara (kamçı) sahip bazı bakteriler, pelikula kolaylıkla tutunabilirlerken, bu yapılara sahip olmayan bakterilerin tutunması için uzun süre gerekli olmaktadır (122). Pelikül oluşumunu takiben, diş yüzeyine ilk olarak gram pozitif koklar yapışmaktadır. Sonrasında gram pozitif çomak, gram negatif anaerobik kok ve fusiformlar yerleşmektedir (123). İlk kolonize olan bakteriler daha sonra üreyerek çevre koşullarını değiştirebilmektedirler. Bu ortam değişiklikleri sahayı daha zararlı bakterilerin kolonizasyonu için daha uygun hale getirmektedir. Bu geç kolonize olan bakteriler, koagregasyon ile daha önce tutunmuş olan bakterilere tutunarak, birden çok mikroorganizma türünün oluşturduğu belirli bir yapıya sahip bir biyofilm tabakası, başka bir deyişle dental plağı oluşturmaktadırlar (124).

Dental plak esas olarak mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Dental plağın çok sayıda asidojenik (organik asit üretebilen), asidürik (asidik ortamda yaşayabilen) ve bazik mikroorganizmalardan oluştuğu ve dişlenme dönemlerine göre dental plak bileşiminin farklılık gösterdiği bildirilmiştir (125).

Plağın bir gramı yaklaşık olarak 10^{11} bakteri içermektedir. Bununla birlikte tek diş yüzeyinde supragingival plakta bakterilerin sayısı 10^9 'u geçerken, dental plakta 500 den fazla mikrobiyal tür bulunabilmektedir (122).

Fazla miktarda ve sıklıkta karbonhidrat tüketimi; biyofilmin biyokimyasal ve mikrobiyolojik bileşimini değiştirebilmekte, patojenik türlerin oranını arttırmakta ve sağlıklı biyofilmi karyojenik biyofilme dönüştürmektedir (126). Bu karyojenik bakteriler; çabuk yer değiştirme, karbonhidratların organik asitlere fermentasyonu, ekstrasellüler ve intraselüler polisakkaritlerin sentezi ve çevresel streslere karşı karbonhidrat metabolizması gibi çok sayıda özelliğe sahiptirler (118).

2.3.2. Çürük Mikrobiyolojisi

Oral flora, anaerob, aerob, fakültatif mikroorganizmaların üremeleri için, 35-36 °C ısısı, nem, besin ve oksijen basıncıyla iyi bir etüv olarak kabul edilmektedir (127). Doğumda steril olarak kabul edilen oral florada, stafilokok, streptokok, koliform bakteri ve Gram pozitif çomakların bulunabildiği, doğumdan sonraki oral mikroflorada ise aerob ve fakültatif anaerobların bulunduğu bildirilmektedir. Dişlerin

sürmesi ile birlikte mikroorganizmaların üreyebileceği yeni yüzeyler oluşmakta ve *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguinis* ve *Actinomyces* türleri ağız ortamına katılmaktadır (128, 129). Bazı bakterilerin yerleşmesi belirli yaşlarda meydana gelmektedir. Özellikle, *S.mutans*'ın yoğun bir şekilde kolonize olduğu 19-31 aylar arasındaki dönem “infeksiyon penceresi” olarak tanımlanmaktadır (129). Bu dönemde önleyici stratejilerin geliştirilmesi, potansiyel karyojenik bakterilerin yerleşmesini önleyerek başlangıç çürüklerinin oluşmasını engellemektedir.

Ağız mikroflorasında çok sayıda ve değişik tipte mikroorganizma bulunmaktadır. Çürük lezyonuyla direkt ilişkisi olan MS'ler ve Laktobasillere ilaveten, *Actinomyces* ve *Veillonella* dental plaktan ve oral kavitenin farklı bölgelerinden izole edilebilmektedir (125, 130).

İnsanlarda ağız içi, 300'den fazla bakterinin yer aldığı kompleks bir ekosistem olarak düşünülmektedir (131). Ağız ekosisteminde; dil sırtı, ağız mukozası, dişeti sıvısı, dişler üzerinde lokalize pit, fissür ve bazı düz yüzeyler gibi farklı ekolojik ortamlar bulunmaktadır. Bu ekolojik ortamların özel çevre koşullarına sahip olduğu ve farklı mikroorganizma topluluklarını barındırdıkları belirtilmiştir (110).

2.3.2.1. Streptokoklar

Streptokoklar; gram pozitif, küresel ya da oval şekilli, 2 µm'den küçük, hareketsiz, sporsuz, çiftler halinde bulunan ya da, özellikle sıvı ortamda üretildiklerinde, zincir oluşturmaya eğilimli mikroorganizmalardır. Türlerin çoğu fakültatif anaerop olup, zorunlu anaeroptan kapnofilik koşullara kadar değişen atmosferlerde yaşayabilmektedirler. Streptokok cinsi içinde çok sayıda tür tanımlanmış olmakla birlikte, bunlardan bazıları saprofit, bazıları normal flora üyesi, bazıları da insan için önemli patojenler olarak karşımıza çıkmaktadır (132).

Streptokokların sınıflandırılmasında, son 10-15 yılda hücre duvarı kompozisyonu, metabolik ürünlerin analizi, DNA baz çifti kompozisyonu ve DNA-DNA hibridizasyonu gibi yeni teknolojilerin kullanımı ile birlikte yeni yaklaşımlar

yer almıştır. Güncel sınıflamaya göre 7 grup ve bu gruplar içinde yer alan en az 40 tür belirlenmiştir (A-11).

2.3.2.1.1. Mutans Streptokoklar

İlk kez 1924'te insan diş çürüklerinden izole edilmiş, kuvvetli asidojen bir bakteri türü olan MS'ler; yuvarlak veya oval şekilli, gram pozitif, katalaz negatif koklardır ve diş çürüğüne neden olduğu bilinen en önemli patojen mikroorganizmalardır (133, 134). DNA bazlı sınıflandırmada, benzer streptokoklar bir bütün olarak "Mutans Streptokoklar" olarak isimlendirilmiştir. Bu 7 tür, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus rattii*, *Streptococcus macacae* ve *Streptococcus downei*'dir (135, 136).

Bebeklerde MS'ler ile ilk karşılaşmanın ilk dişin sürmesi ile gerçekleştiği bildirilmiştir. Annenin çocukta bulunan mikroorganizmalar için ana kaynak olduğu düşünülmektedir. Bunun nedeni, benzer veya aynı genotipe sahip suşların anne ve çocuk arasında paylaşılmış olduğunun görülmesidir (119). MS'ler; insanlarda ve hayvanlarda özellikle ağız içinde yumuşak dokularda, üst solunum yolunda, yemek borusunda, genitoüriner bölgede ve deride gözlenmektedir (137, 138).

MS'ler, Laktobasillere benzer şekilde asit toleransı ve asidik plak ortamında asidojeniteleri nedeniyle plak mikroorganizmaları arasında, çok yüksek bir hiyerarşik durum sergilemektedirler. MS'ler diyet sükrözünden ekstrasellüler glukan sentezleme yeteneğine sahiptirler. Glukan sentezi bu mikroorganizmaların önemli bir virülans faktörüdür (125).

İnsanlarda, MS'lar ile çürük gelişimi arasında güçlü pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (139). Hayvan deneylerinde de, *S. ferus* haricinde tüm MS'lerin karyojenik özellik gösterdiği saptanmıştır. Bakterilerin patojenitelerindeki bu benzerlik tüm MS'lerin *S. mutans* ismi ile anılmasına neden olmaktadır (139, 140).

MS'lerin diş çürükleri üzerindeki rolü en az 4 faktöre bağlı olarak gerçekleşmektedir (141);

- ✓ MS'ler, çürük lezyonundan oldukça fazla sayıda izole edilmektedirler,
- ✓ Çürük bulunmayan ortamda oldukça nadir ya da hiç gözlemlenmemektedirler,

- ✓ In-vitro çalışmalarda MS'lerin oldukça asidojenik ve asidürik mikroorganizmalar oldukları kanıtlanmıştır,
- ✓ Hayvan çalışmalarında, MS'lerin oldukça karyojenik mikroorganizmalar oldukları doğrulanmıştır.

İnsanlarda diş çürüğünden en sık izole edilen MS'lerin; *S. mutans*, *S. sobrinus* olduğu ve *S. cricetus* ve *S. rattii*'nin oldukça nadir olarak bulunduğu bildirilmiştir. *S. mutans* ve *S. sobrinus*, insanlarda diş çürüklerinin başlamasına ve ilerlemesine neden olan en önemli etiyolojik faktörlerdendir (142). *S. mutans* ve *S. sobrinus* bakterilerinin asit üretebilme ve düşük pH seviyesine adapte olabilme yetenekleri, bu bakterilerin karyojenik potansiyelleri ile ilişkilidir. *S. mutans*'ın, *S. sobrinus*'a göre çürük lezyonundan daha sık izole edildiği bildirilmiştir. Ancak çok sayıda çalışmada *S. sobrinus*'un, *S. mutans* bakterisine göre daha karyojenik olduğu ve aktif çürük lezyonu oluşumunda daha etkili olduğu belirtilmiştir (141).

2.3.2.2. Laktobasiller

Laktobasiller (LB) düz, bazen kıvrık ve zincir oluşturabilen, küçük çomak şeklinde de görülebilen bakterilerdir. Laktobasil cinsinde bulunan bakterilerin büyük bir bölümü, zorunlu anaerop olmayan bakterilerdir. Fakat anaerop koşullarda ve düşük pH'da daha iyi üremektedirler ve kolonileri daha büyük olmaktadır. En sık rastlanan türleri *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus catenafarmeri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus jensenii* ve *Lactobacillus minutus*'dur (132).

Laktobasiller, fissürlerde, dişler arasında veya diş kuron yüzeylerinin bukkal/lingual yüzeylerindeki plakta, genelde düşük ya da ihmal edilebilir orandadırlar, aynı durum başlangıç çürüklerinde de geçerlidir (139, 143). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, laktobasillerin çürüklerin başlangıç aşamasında görev almadıkları, fakat kavite oluşmuş çürük lezyonlarında miktar ve görülme sıklıklarının daha fazla olduğu belirtilmiştir (139).

LB ve MS bakterilerinin çürük gelişimi üzerindeki etkileri, karbonhidrat tüketimine bağlıdır. Dental plak ve tükürük içindeki MS ve LB sayısı, diyet karbonhidratlara oldukça duyarlıdır. MS ve LB bakteri sayısı ve karbonhidrat

tüketimi arasındaki bağlantının, LB ve MS bakterilerinin diğer plak bakterilerinden daha yüksek düzeydeki asit tolerans özellikleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (144).

2.3.3. Diş Çürüğünün Karbonhidratlarla İlişkisi

Sükroz, fermente olabilmesi ve dental plak içinde ekstrasellüler polisakkarit (EPS) ve intrasellüler polisakkaritlerin (İPS) sentezinde substrat olarak yer alması nedeniyle en karyojenik karbonhidrattır (145). Sükroz, biyofilm oluşma sürecinde majör biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklere sebep olmaktadır. EPS, bakterinin dış yüzeyine tutunmasını sağlamakta (146) ve dental biyofilmin yapısal bütünlüğüne yardım etmektedir. Aynı şekilde, şekillenmiş biyofilmin porozitesini de artırmakta ve böylece şekerin biyofilmin en derin parçalarına difüzyonuna izin vermektedir. Bu da mikrobiyal katabolizmaya bağlı düşük plak pH'sı ile sonuçlanmaktadır (147). EPS'nin, sükroz varlığında oluşan dental biyofilm içinde kritik bir virülans faktör olduğu açıkça belirlenmiştir (145). İPS'lerin de, besin sınırlaması dönemlerinde asit üretimi için metabolize edilebildikleri ve biyofilmin karyojenitesinde önemli rol oynadıkları belirtilmiştir (148).

Sükrozun; glikoz, fruktoz ve nişasta ile karşılaştırıldığı çalışmalarda, karyojenik potansiyelini artırıcı ilave özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Glukoz ve fruktoz ile karşılaştırıldığında yüksek mine mineral kaybına, nişasta ile karşılaştırıldığında düşük pH değerlerine, biyofilmde yüksek MS düzeyine ve fazla mineral kaybına yol açtığı belirlenmiştir (149, 150).

2.3.4. Diş Çürüklerinden Korunma

Son yıllarda floridlerin yaygın kullanımına bağlı olarak çoğu endüstrileşmiş ülkede diş çürüğü yaygınlığı azalmıştır (5, 6). Ancak, hastalık hala büyük bir klinik problem olmaya devam etmektedir. Bu durum çürük önlenmesi ve tedavisinde yeni stratejiler keşfetmenin gerekliliğinin ortaya koymaktadır. Koruyucu önlemler olarak, çürük risk faktörlerinin kontrol edilmesinde, şeker alımının azaltılması ve ortam dengesinin sağlanması gibi diyet değişiklikleri tavsiye edilmektedir (151, 152). Çoğu araştırmada, diş çürükleri ile doğrudan ilişkili olmalarından dolayı MS üzerinde durulmaktadır. Bazı durumlarda, karyojenik mikrofloranın azaltılması için

antibakteriyel ajanlar uygulanmaktadır. Ancak, çürük ile ilişkili mikroorganizmaların tamamen elimine edilmesi zordur ve genellikle bunun sağlanması imkansızdır (153).

Oral hijyenin sağlanması ile birlikte floridlerin kullanımı ve şeker alım sıklığının kısıtlanması, diş çürüklerinin önlenmesinde temel unsurları oluşturmaktadır. Klorheksidin tedavisi, biyofilm kontrolünde kullanılmakta ve MS sayısında kanıtlanmış etkili bir azalma sağlamaktadır. Ancak bu azalma genellikle geçici olmakta, bakteriler yeniden kolonize olabilmektedirler (154).

20. yüzyılda antibiyotiklerin yaygınlaşması ile enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde büyük başarı sağlanmıştır. Antibiyotiklere karşı direnç gelişimi nedeniyle, hastalıkların tedavisinde antibiyotik kullanımı yerine araştırmacıların farklı yöntemlere başvurmuşlardır. Antibiyotik tedavisine alternatif olarak, bitkisel ilaçlar, çeşitli kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal peptitler ve probiyotiklerin kullanımı önerilmiştir (155) ve bunların diş hekimliği alanında da etkileri araştırılmaya devam etmektedir.

2.3.4.1. Probiyotikler

Yoğurt, peynir, kefir gibi fermante ürünleri kullananlarda bazı infeksiyon hastalıklarının daha az görüldüğüne ilişkin gözlemler, bilim adamlarını canlı mikroorganizmalar üzerinde çalışmaya teşvik etmiştir. İmmün sistemin gelişimi için bağırsak mikroflorası içeriğinin önemi ve bağırsak mikroflorası ile alerjik reaksiyonlar, atipik egzema ve obezite gibi hastalıklar arasındaki ilişki hakkındaki bilgilerimiz artmaktadır (156, 157). Vücudun patojenlerden korunmasında yerleşik mikrofloranın öneminin anlaşılmış olması da probiyotik tedavilerine olan ilgiyi arttırmıştır.

Probiyotik terimi, “pro” ve “biota” terimlerinin birleşmesi ile meydana gelmekte ve “yaşam için” anlamı taşımaktadır, bu terim ilk kez, 1965’de Lilli ve Stillwell tarafından antibiyotiklerin zıt anlamlısı olarak tanıtılmıştır (158). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Amerika Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından benimsenen tanıma göre probiyotikler, yeterli miktarda alındığı zaman konak üzerinde olumlu etkileri olan yaşayan mikroorganizmalardır. Literatürde probiyotik uygulamalar, bakteriyoterapi veya bakteriyel replasman (yerine koyma) tedavisi

olarak da tanımlanmaktadır (7, 159). Probiyotik bakterilerin düzenli olarak kullanılması, dünya genelindeki sağlık uzmanları tarafından, belirli oranda kullanıldığında güvenli olarak kabul edilmektedir (160).

Bakteriyoterapi, sindirim sistemdeki dirençli bakterilerin neden olduğu sağlık problemlerinin ortadan kaldırılmasında ve enfeksiyöz hastalıkların kontrolünde etkin bir yöntemdir (161, 162). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla probiyotiklerin, sadece sindirim sistemi değil, vücut fonksiyonlarını da etkilediği gösterilmiştir (163). Hayvan çalışmalarında ve insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin, mikrobiyal enfeksiyonların neden olduğu hastalıkları ve bazı kanser türlerini iyileştirici etkilerinin görüldüğü bildirilmiştir (164, 165).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların çoğu bakteriyel suşlardır, ayrıca bazı mantar suşları da kullanılabilir. Bunların arasında *Lactobacillus* spp, *Bifidobacterium* spp. ve mantar suşu *Saccharomyces* spp. en sık kullanılanlarıdır. Probiyotik olarak kullanılan bakteriler Tablo 2’de sunulmuştur (166-168).

Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların insan kaynaklı olması, patojenik olmaması, toksik olmaması ve kolay kültüre edilebilmesi istenilen özellikleri arasındadır. Bağırsak sağlığının geliştirilmesi amacıyla uygulanan probiyotik suşları incelendiğinde, asit direnci, konak epitel hücrelerine bağlanma ve patojenik mikroorganizmalarla rekabet gibi ilgi çekici özellikler gösterdikleri belirlenmiştir (169). Farklı probiyotik bakterilerin biyolojik aktiviteleri aynı tür içindeki suşlarda dahi farklılık göstermektedir (170).

2.3.4.1.1. Probiyotikler ve Ağız-Dış Sağlığı

Geçtiğimiz 15 yıl içerisinde, probiyotik bakterilerin oral kavitede etkileri üzerine çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar yapılmıştır. Oral probiyotik olarak kullanıldıklarında, bakterilerin tükürük içerisinde hayatta kalabilmeleri istenilen bir özelliktir ve Haukioja ve ark. (170) tarafından yapılan çalışmada farklı probiyotik bakteri suşlarının bu kabiliyete sahip oldukları gösterilmiştir. Bu çalışmanın klinik açıdan önemi, kullanılan probiyotik bakterilerin çoğunun, bağırsak mikroflorasına ve bağırsağın immünolojik cevabına dirençli olmaları ile ilişkilendirilmiştir. Bağırsak

mukozaına iyi bağlanmanın oral yüzeylere iyi bağlanma ile ilişkili olmadığı da gösterilmiştir (170).

Tablo 2. Probiyotik olarak kabul edilen bakteriler (166-168)

LAKTOBASİLLER	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>
	<i>Lactobacillus crispatus</i>
	<i>Lactobacillus fermentum</i>
	<i>Lactobacillus gasseri</i>
	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
	<i>Lactobacillus lactis</i>
	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	<i>Lactobacillus reuteri</i>
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>	
BİFİDOBAKTERLER	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
	<i>Bifidobacterium animalis</i>
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
	<i>Bifidobacterium breve</i>
	<i>Bifidobacterium infantis</i>
	<i>Bifidobacterium lactis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	
ENTEROKOKLAR	<i>Enterococcus faecalis</i>
	<i>Enterococcus faecium</i>
STREPTOKOKLAR	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	<i>Streptococcus salivarius</i>
MAYALAR	<i>Saccharomyces boulardii</i>
DİĞERLERİ	<i>Weissella cibaria</i>
	<i>Escherichia coli</i> Nissle
	<i>Bacillus cereus</i>
	<i>Clostridium butyricum</i>
	<i>Propionibacterium</i>
	<i>freundsreichii</i> subsp. <i>Shermani</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	

Bir probiyotik zincirin ağız içerisinde etkinlik gösterebilmesi için sahip olması gereken özellikler ise şu şekilde belirtilmiştir (171-173):

- ✓ Ağız dokularına tutunabilmeli, patojen bakterilerin yerleşim yerlerine yerleşerek biyofilmin bir parçası olmalı.
- ✓ Ağız içerisindeki patojen bakterilere karşı antimikrobiyal maddeler üretebilmeli, patojen bakterilerin çoğalmasını önlemeli.
- ✓ Ağız içerisinde oluşabilecek düşük pH değerlerine karşı dayanıklı olmalı ve pH'yı düşürmemeli.

- ✓ Gıdalardaki şekeri metabolize ettiğinde, asit üretimi düşük olmalı.

LB, karyojenik özelliklerinden dolayı uzun yıllardır dental araştırmaların ilgi odağı olmuştur. LB'in insan diş çürüklerinin etiolojisindeki rolüyle ilgili birçok çalışma yapılmasına karşın, ağız sağlığı üzerindeki yararlı etkileri hakkında az sayıda çalışma mevcuttur (9, 174-177). LB suşlarının bazılarının dentin çürüklerinde izole edilebildiği, dentin çürüklerinin ilerlemesinde rol oynadığı belirtilmiştir. *L. acidophilus* ve *L. casei shirota*'nın dental yüzeylere adezyon yeteneği sebebi ile dental çürüklerin ilerlemesinde rol oynadıkları düşünülmektedir (178).

Bütün laktobasil suşlarının dental çürük etkeni olmadığı, *L. paracasei* ve *L.rhamnosus* GG (LGG)'nin *S. sobrinus* üzerinde inhibe edici etkileri olduğu, LGG'nin sukrozu fermente edemediği, *L. fermentum* ve *Lactobacillus salivarius*' un *S. mutans* ve *Porphyromonas gingivalis* üzerine inhibitör etkileri olduğu bildirilmiştir (179). Sağlıklı gönüllülerin ağız florasından izole edilen 3790 adet laktik asit bakterisinin, *S.mutans*, *Actinomyces viscosus*, *P.gingivalis* ve *Candida albicans* gibi oral patojenlere karşı inhibitör etkisinin incelendiği bir çalışmada beş adet laktobasil izolatının, bu oral patojenlere karşı antimikrobiyal madde ürettiği gözlenmiştir. Bu laktobasil izolatlarından en güçlülerinin; *L.paracasei* ve *L.rhamnosus* olduğu belirtilmiştir (180). Proteinleri aminoasitler ve dipeptidlere hidrolize eden laktobasil içeren probiyotiklerin, streptokokların çoğalmasını uyardığı ve bunun sonucunda ağız ortamında pH düşüşüne neden olabileceği düşünülmüş ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda probiyotiklerin, MS'lerin ağız içinde yüksek seviyede olma riskini azalttığı ifade edilmiştir (9, 175-177). Deneysel ve klinik çalışmalar, laktobasiller ve bifidobakteriler gibi bazı sindirim sistemi bakterilerinin oral bölgedeki karyojenik mikroorganizmaların büyümesini kontrol edebildiğini göstermiştir. Probiyotiklerin oral bölgede karyojenik mikroorganizmalar üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda; LGG (8, 11, 170, 174, 175, 181), *L. casei* (174, 182), *L reuteri* ATCC 55730 (10, 170, 177, 183, 184), *L. acidophilus* (174, 178), *L. casei Shirota* (178, 182), *L. salivarius* WB21 (185, 186), *Weissella cibaria*'nın (185) karyojenik bakterilerin kolonizasyonunu engelleme potansiyelinin var olduğu ve böylece diş çürüğü oluşumunu önleyebileceği bildirilmiştir.

Probiyotikler ve oral sağlık üzerine yapılan klinik çalışmaların çoğu kısa sfireli olmakta ve MS miktarındaki değişikliklerin lulmesini hedeflemektedir. Sadece birkaç çalışmada probiyotiklerin diş urğu üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmalardan birinde LGG'nin kuk çocuklarda uruk insidansına azaltabildiği ileri sürülmüştür (175). *L. rhamnosus* LB21 ile yapılan başka bir çalışmada benzer etkiden bahsedilmiştir, ancak test ürününün içerisinde bulunan florun etkisinden bahsedilmemiştir (187). Ek olarak, yaşlılarda yapılan bir çalışmada *L. rhamnosus* LB21'in kök urğu gelişimi üzerine yararlı etkisinin olduğu gösterilmiştir (188).

Probiyotiklerin oral yolla alınmasının periodontal hastalıkların kontrolünde de etkili olduğu görülmüştür. Orta şiddetli ve çok şiddetli gingivitis vakalarında *L. reuteri* uygulanmasının plak seviyesini ve dişeti inflamasyonunu azalttığı bildirilmiştir (189). Kang ve ark. (190), probiyotik suş olarak kullandıkları *W. cibaria*'nın *Fusobacterium nucleatum* tarafından üretilen uçucu sülfür bileşiklerini azalttığını ve probiyotiklerin düzenli kullanımının ağız kokusunun kontrol edilmesinde yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir. *S. salivarius*'un da uçucu sülfür bileşikleri üreten mikroorganizmalarla kolonizasyon alanları için yarışa girerek etki ettiği bildirilmiştir (191).

Oral kavite içinde enfeksiyona neden olan diğer bir etken *C. albicans*' dır. Özellikle ilerleyen yaşlarda ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde daha sık görülmektedir. Hatakka ve ark. (186), LGG ve *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS alımından sonra *C. albicans* görülme sıklığında azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Koll ve ark. (192) ise laktobasil suşlarının çoğunun *C. albicans* gelişimini inhibe etmediğini bildirmişlerdir.

2.3.4.1.2. Probiyotiklerin Oral Kaviteye Adezyonu ve Kolonizasyonu

Gastrointestinal sistemdeki probiyotik bakteriler, bağışsak mukozasına tutunarak ve böylece patojen mikroorganizmaları inhibe ederek etkinlik gösterirler. Oral kavitede de benzer bir mekanizma olduğu belirtilmiştir. Doğum sırasında ve sonrasında, endojen floranın çeşitli türleri ağız içindeki epitelyal yüzeyle tutundukları ve patojen türlerin yerleşmesine engel oldukları gösterilmiştir (193, 194). Probiyotikler, oral kavitede biyofilmin bir parçası olarak, diş dokularına

tutunurlar ve karyojenik bakteriler veya periodontal patojenlerle yarışır (171). Diş yüzeyine tutunmada *L. rhamnosus* ve *S. sobrinus* arasındaki rekabetin gösterildiği in vitro bir çalışmada, *L. rhamnosus*'un *S. sobrinus*'u inhibe ettiği gösterilmiştir (179). Günlük ürünlerde probiyotik zincir olarak bulunan laktobasillerin ve bifidobakterilerin tükürük içerisinde canlı kalmasının ve oral dokulara tutunmasının araştırıldığı in vitro çalışmada, test edilen tüm zincirlerin tükürükte canlı kaldığı, ancak, diş sert dokularına ve oral mukozaya tutunma kapasitelerinin farklı olduğu bildirilmiştir. Laktobasil zincirlerinin oral dokulara tutunma kapasitesinin bifidobakterilerden çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (170).

Oral sağlık için kullanılan probiyotik suşlar, esas olarak gastrointestinal yararların sağlanması amacıyla kullanılan mikroorganizmalardır, bu nedenle bağırsak ortamından oldukça farklı olan ağız ortamı için ideal olmayabilirler. Ahola ve ark. (176) tarafından yapılan çalışmada, genç yetişkinlerde çürük ile ilişkili tükürük MS sayısında azalmaya neden olduğu rapor edilen LGG ve *L. rhamnosus* LC 705 içeren peynir tüketimi kısa süreli olarak değerlendirilmiştir. Ancak, LGG'nin oral kavitede kolonize olamadığı bildirilmiştir. Yazarlar bu durumu, *L. rhamnosus*'un oral kaynaklı olmamasına; bu nedenle ağız ortamına adapte olamamasına bağlamaktadır (11). Benzer şekilde, *L. rhamnosus* ve *L. reuteri*'nin oral kavitede kalıcı olarak kolonize olamadıklarının görüldüğü başka çalışmalar da mevcuttur (195, 196).

Yapılan bir çalışmada, yoğurt içerisinde verilen probiyotik suşların (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. bifidum*), in vitro olarak mine yüzeyine adezyonları ve in vivo olarak diş yüzeyine kolonizasyonları incelenmiştir. *L. acidophilus*'un *L. casei*'ye oranla daha güçlü adezyon gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, tükürüğünde ve diş ara yüzeylerinde laktobasile rastlanmayan denekler, günde 200 ml probiyotik içeren yoğurt tüketmiştir. 1 hafta sonunda deneklerin tükürük ve interproksimal plak örneklerinde laktobasile rastlanmamıştır. Bu çalışmada laktobasillerin, aktif laktobasilli diş yüzeyine sahip bireylerde bioyoğurt tüketimiyle ağız içine yüklenmelerinin mümkün olmadığı tezi savunulmuştur (174).

Probiyotiklerin, ağız içerisine küçük yaşlarda kolonize olması ile etkilerinin uzun dönem ve kalıcı olması arasında önemli bir ilişki olduğu düşünülmektedir, ancak bunu destekleyen az sayıda çalışma vardır. Probiyotik ürünler ve plak

arasındaki kısa süreli temasta daimi kolonizasyonun sağlanamadığı, sürekli etki için günlük ve uzun süreli alımın şart olduğu bildirilmiştir (174, 175, 179). Probiyotik bakterilerin daimi kolonizasyonunu belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, LGG içeren meyve suyunun günde 3 defa tüketilmesi ile geçici bir süre tükürükte LGG kolonizasyonu olduğu, ancak, kolonizasyonun daimi olmadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, atopik dermatit tedavisine destek amacıyla 1 yıl boyunca LGG içeren süt tüketen çocukta, kolonizasyonun devam ettiği gözlenmiştir (11).

Probiyotik kullanımından önce klorheksidin kullanımının laktobasillerin kolonizasyonu üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, Aminabadi ve ark. (197), LGG suşunun klorheksidin kullanımından sonra daha kararlı bir şekilde kolonize olduğunu bildirmişlerdir. Keller ve ark.'nın (198), probiyotik suş olarak *L. reuteri* DSM 17938 ve ATCC PTA 5289 kullandıkları çalışmada ise ilk hafta MS sayısının anlamlı bir şekilde düştüğü belirlenmesine rağmen sonraki haftalarda, MS'lerin tekrar büyümesinde gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür.

2.3.4.1.3. Probiyotik Bakteriler İçin Öne Sürülen Etki Mekanizmaları

Yapılan araştırmalar incelendiğinde, probiyotiklerin oral flora ya etki mekanizmasının şu şekilde olduğu bildirilmiştir (173, 180, 199-202):

1-Probiyotikler, ağız içerisinde, bakteriyosin adı verilen protein kaynaklı çeşitli antimikrobiyal maddeler üretirler. Bu antimikrobiyaller, asidik pH'da, alkali pH'ya göre daha etkilidirler. *L.salivarius*, salivacin 140; *L.plantarum*, plantaricin 423; *L.reuteri*, reuterin ve reutesilin ve *L.acidophilus* ise acidocin J1229 adı verilen bakteriyosinleri üretmektedirler.

2-Probiyotikler, dış yüzeyine kolonize olmak için patojen mikroorganizmalarla yarışır.

3-Probiyotikler, ortamdaki besin maddeleri için ağız içindeki patojenlerle yarışır.

4-Pelikül yapısında değişikliğe neden olurlar. *S.mutans*'ın dış yüzeyine bağlanmasında etkili olan tükürük aglütinin seviyesinde ve tükürükte antimikrobiyal etkinliği olan, peroksidaz seviyesinde azalmaya neden olurlar. Ağız içi pH ve oksidasyon-redüksiyon potansiyelinde değişikliğe neden olurlar.

5- Non-spesifik immün cevabı düzenleyerek enflamasyon cevabını azaltırlar, hümmoral ve hüccresel immün cevabı düzenlerler.

Bir probiyotik bakterisinin gösterdiği etkinin genellenemeyeceği, farklı suşların farklı etkiler gösterebileceği belirtilmektedir (203, 204).

2.3.5. Deneysel Diş Çürüğü Oluşumu

Karyojenite çalışmalarının çoğu ya in vitro ya da insan modellerindeki kısıtlamaları içermeyen hayvan modelleri ile yapılmaktadır. Hayvan modelleri içinde de insandaki karyojenik diyet ile benzer sonuçlar oluşturması nedeniyle, ratlar sıklıkla tercih edilmektedir (36).

İnsan ve rat dişlerinde çürük oluşumu ile ilgili benzerlikler şu şekilde sıralanmıştır (36, 205):

- ✓ Çürük, dişlerin kron ve köklerinde en sık da sulkuslarda, fermente olabilen karbonhidrat kullanımına bağlı olarak oluşmaktadır.
- ✓ Sorumlu en önemli karbonhidrat tipi sükkrozdur.
- ✓ *S. mutans*'ın ön planda olduğu bir oral flora varlığına bağlıdır.
- ✓ Çürük önleyici ajanlar ile önlenmesi ya da sayısının azaltılabilmesi mümkündür.
- ✓ Anneden yavruya oral floranın geçişiyle bulaşmaktadır.

Ratların kesici dişleri sürekli bir sürme ve aşınma peryodu içinde olduğundan, ayrıca düz yüzeyli olup çürükten nadir olarak etkilendiğinden, çürük çalışmalarında tercih edilmezler (206). Azı dişler ise oral kavitede çok daha uzun bir süre kalmakta ve diş çürüğünün başlayıp ilerleyebileceği pit ve fissürler içerdiğinden, ayrıca form ve fonksiyon olarak da insan azı dişlerine benzerliklerinden tercih edilmektedirler (207).

Rat azı dişlerinin bukkal yüzeylerinde plak birikimi ve çürük oluşumu, kuronun orta kısmından geçen dişeti kenarı boyunca meydana gelmektedir. Lingual yüzeyler bukkal yüzeylerden farklıdır, çünkü dişeti kenarı mine-dentin birleşimine yakın mesafeden geçmektedir. Bazı durumlarda, dişeti kenarı daha alçak pozisyonda konumlanmıştır ve kısmi olarak kök yüzeyi açıkta olabilmektedir. Özellikle alt çene

birinci azı dişinin mesial kökü için bu durum geçerli olmaktadır. Diş etinin konumu ve dilin yıkama fonksiyonundaki artış daha az lingual plak birikimine neden olmaktadır. Ancak bazı lingual lezyonlar mine-dentin sınırının daha üzerinde gelişebilmektedir (36).

Rat azı dişlerinin okluzal ya da çiğneyici yüzeyleri üzerinde bulunan tüberkül tepeleri mine ile kaplı değildir. Bu yüzeylerin morfolojik yapıları ve çiğneme fonksiyonu bu alanlarda plak birikimini önlemektedir, bu nedenle dentinin açıkta bulunduğu bu yüzeylerde çürük lezyonlarının görülmesi nadir bir durumdur.

Diş çürüğünün etiolojisinde konağa bağlı bazı ikincil faktörlerin de etkili olduğu bilinmektedir. Bunlardan yaş önemli bir faktördür. Ratların molar dişlerinin mineralizasyonunun ve maturasyonunun sürdükten sonra oluştuğunu ve genelde çürük ataklarına bu dönemde çok hassas oldukları bilinmektedir (208). Deney hayvanlarında deneysel diş çürüğü oluşturulmasında annenin soyu, yaşı, diyeti, çalışılan hayvanın yaşı ve cinsiyeti, enfeksiyon kaynağı ve diyetin uygulama süresi etkili olmaktadır (209).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 3334-D2-12 proje numarası ile desteklenen çalışmamız için Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (izin no: 26.10.2010-01). Çalışma, elektromanyetik alana maruz kalan ratlarda, diş ve çevre dokuların gelişimi ve çürük oluşumunun incelenmesi olmak üzere iki kısımda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması

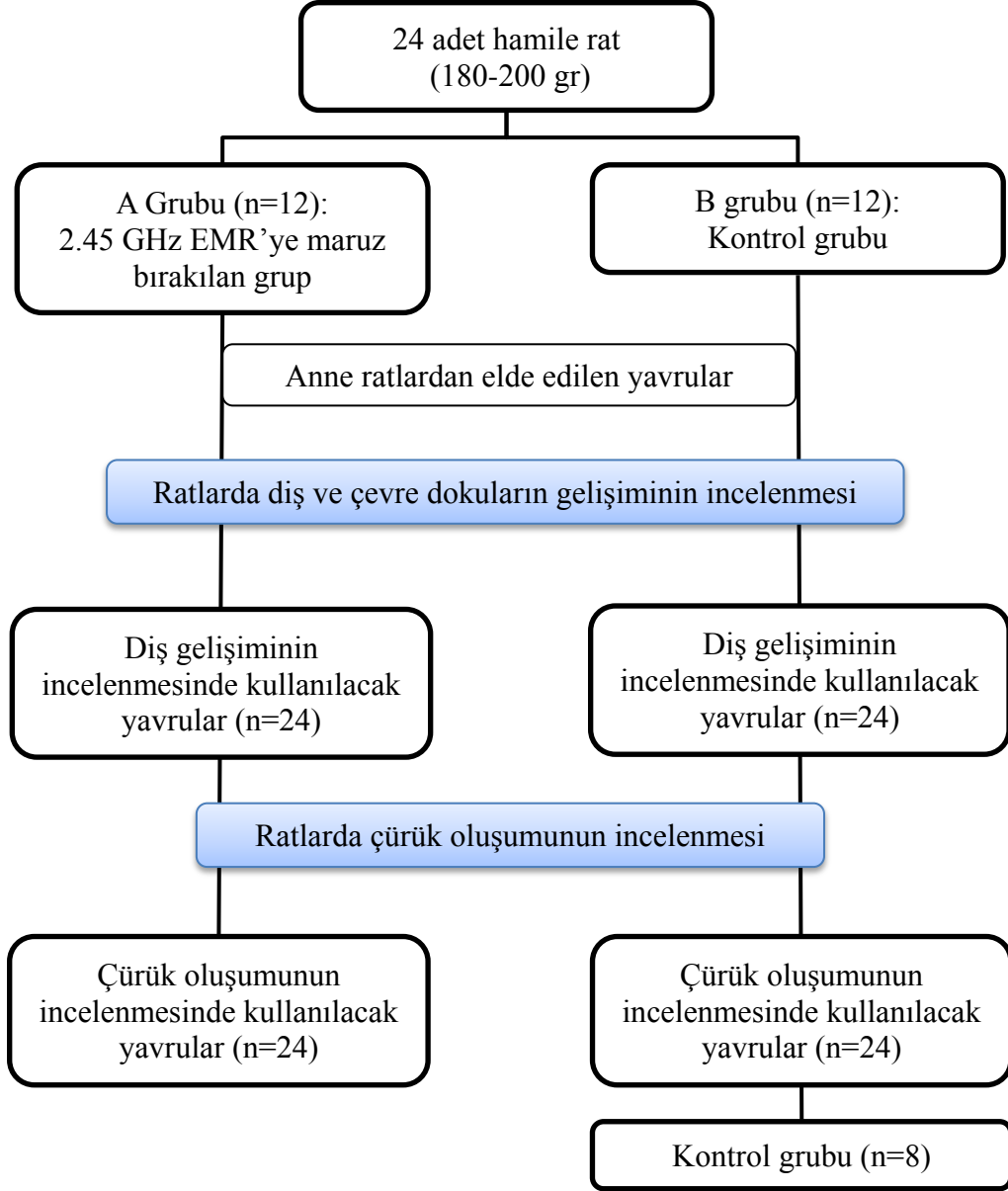
Çalışmamızda, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen, 10–12 haftalık 180-200 gram (gr) ağırlığında, 24 adet Wistar Albino türü hamile dişi rat kullanılmıştır (Resim 1).



Resim 1. Kullanılan hamile ratların, çalışma öncesi toplu görüntüleri

Deney, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Ratlar, yaşam koşulları optimize edilerek, 23 ± 3 °C sabit ortam ısısında, 40 ± 10 % nem sağlanan, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde, yemin ve suyun *ad libitum* olarak verildiği, patojen bulunmayan koşullarda, paslanmaz çelik kafeslerde bakılmışlardır. Denekler; yeterli miktarda hayvansal ve bitkisel protein, vitamin ve mineral madde bulunduran standart kalın pellet yem ile beslenmiştir.

Deney hayvanları her grupta 12 anne rat bulunacak şekilde 2 ana gruba ayrılmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Çalışmada kullanılan ratların gruplandırılması

I. Grup: 2.45 GHz EMR'ye maruz bırakılan grup (n=12):

Manyetik alan maruziyetini sağlamak için monopol anten ve içine ancak bir ratın sığabileceği büyüklükteki pleksiglas kafes kullanılmıştır. Bu gruptaki ratlar, özel pleksiglas kafes içerisinde 0.1 W/kg gücündeki 2.45 GHz frekanslı manyetik alana eşit uzaklıkta, günde 2 saat olmak üzere hamilelik dönemi (21 gün) ve doğum

sonrası laktasyon dönemi (21 gün) süresince maruz bırakılmışlardır. Doğum sonrası anneler elektromanyetik radyasyon almaya devam ederken bu ratların yavruları, doğumdan sonraki 3-5 gün annelerinden ayrılmaları önerilmediğinden, ilk 5 gün kafes içerisinde, sonraki 16 gün süresince ise özel kafesler içerisinde manyetik alana maruz bırakılmıştır.

II. Grup: Kontrol grubu (n=12):

I. gruptaki ratların manyetik alana maruz bırakılması sırasında dar kafesin içerisine sokulmalarından dolayı stres yaşayacakları düşünülerek, kontrol grubundaki ratların da aynı stresi yaşamaması amacıyla, bu gruptaki ratlar da pleksiglas kafesin içerisine sokularak; aynı oda ve aynı süreyle kafesin içinde EMR almadan bekletilmişlerdir.

3.2. Maruziyet Sistemi ve Tasarımı

DeneySEL 2.45 GHz maruziyet için, 217 Hz darbeleri RF enerji kaynağı olan RF kaynağı (SET ELECO, Set Elektronik, İstanbul) cihazı ve bu cihaza ait monopol anten düzeneği kullanılmıştır. Bu cihaz ile yapılan ön çalışmalarda, antene çok yakın noktalarda (yakın alan bölgesinde) 45.5 V/m elektrik alan yoğunluğu oluşturabildiği ve bu durumda anten çıkış gücünün 1 watt olduğu görülmüştür. Ancak çalışmanın günlük hayata uyarlanabilir olması için hayvanın tüm vücut ortalama SAR değeri 0.1 W/kg olacak şekilde ve anten RF çıkış gücünün 0.8 Watt ile sınırlandırılması yapılmıştır (210). Maruziyet alacakları zaman hayvanlar Carousel tip düzeneğe yerleştirilmiş ve maruziyet sırasında kıpırdamadan duracakları, büyüklüklerine göre (anne ve yavruları) 2 ayrı boyda özel olarak yaptırılmış, EMR'yi tam olarak iletebilen, sabitleyici, pleksiglas kutularda tutulmuşlardır (Resim 2, 3). Maruziyet günde 120 dk ve her gün üst üste 11:30-13:30 saatleri arasında uygulanmıştır.



Resim 2. Anne deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüleri



Resim 3. Yavru deneklerin maruziyet esnasındaki görüntüleri

Deneyin, dış ortam radyasyonundan etkilenmemesi için, 1mm kalınlığındaki paslanmaz çelik topraklama levhaları ile kapatılmış olan (100 dB elektromanyetik ekranlama verimliliği ile) Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Laboratuvarının özel odası kullanılmıştır (Resim 4).



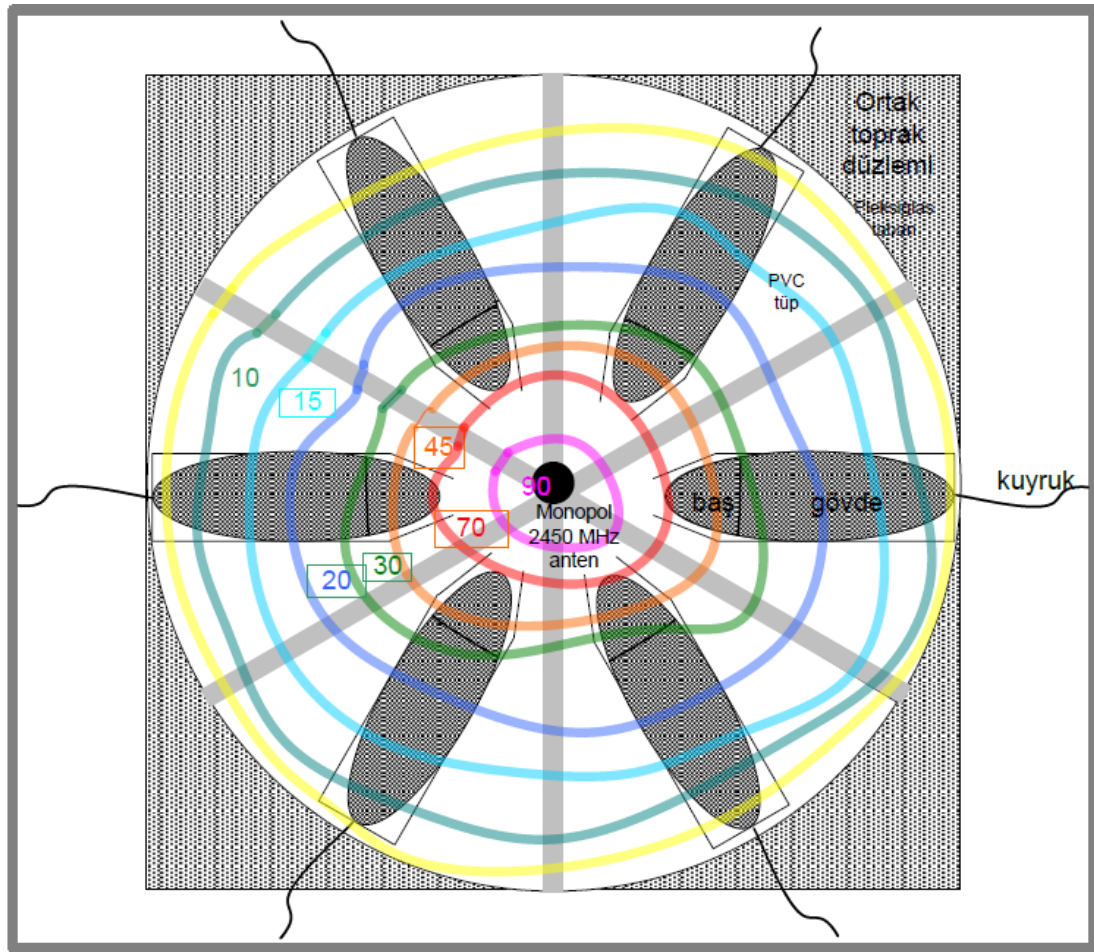
Resim 4. Çelik tabakalarla tamamen dış ortam radyasyonundan izole edilmiş çalışma odası ve RF oluşturan cihaz

Deney başlangıcında RF enerjinin kontrol edilmesi ve gözlenmesi amacıyla kullanılan teknik cihazlar Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bilim Laboratuvarlarından temin edilmiş ve teknik mühendislik desteği de bu Bilim Dalının öğretim üyelerinden alınmıştır. Darbe tekrarlama zamanı ve frekansın ölçülmesi için spektrum analizör (Promax, MC-877C, Barcelona, Spain) kullanılmıştır. Ortamda istenmeyen EMR'lerin gözlenmesi için, RF Portable Survey System (Holaday, HI-4417, Minnesota, USA) cihazı kullanılmıştır. Bu çalışmada, biyolojik dokularda emilen enerjinin hesabı için Zamanda Sonlu Farklar Metodundan yararlanılmıştır (211, 212). SAR hesabı için önce ortamda ölçülen elektrik alan, biyolojik dokunun antene olan uzaklığı ve dokunun 2.45 GHz'deki elektriksel parametreleri bulunmuş ve Zamanda Sonlu Farklar Metodu, MATLAB yazılımı ile hesaplanmıştır (212). Yapılan çalışmalar ile tüm vücut ortalama SAR değerinin 0.1 W/kg (Tam olarak 0.143 W/kg)'a ayarlanabildiği görülmüştür. Kablosuz haberleşme cihazlarının çalışma

koşullarına bağlı olarak ve genel olarak 0.1 W/kg SAR indükleyebildikleri bilinmektedir (213, 214).

3.2.1. SAR Hesabı

Antenden eşit uzaklıkta tutulan ve aynı anda maruz bırakılan 6 adet rat için maruziyet düzeneği, Şekil 7’de görülmektedir. Burada her ratın tüm vücut maruziyeti eşit olmaktadır. Çünkü anten tüm yönlere eşit yayılım sağlamaktadır ve düzenek tam simetriktir. Ratlar için tüm vücut ve vücudun değişik dokularında SAR değerlerinin hesaplanmasında antene olan mesafeler ve doku özellikleri önemlidir.



Şekil 7. Maruziyet düzeneği şeması

2.45 GHz’te rat dokuları için ϵ_r , iletkenlik; σ , özgül ağırlık; ρ değerleri bilimsel literatürde verilen tablolardan bulunmuştur (215).

Literatürden alınan doku özellikleri ile Zamanda Sonlu Farklar Metodu kullanan yazılım, ratlarda kafa bölgesi için ortalama SAR değerini 0.009 ± 0.002 W/kg olarak bulmuştur.

3.3. Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Ratlarda Diş ve Çevre Dokuların Gelişimi

Çalışmanın bu kısmında, EMR'ye maruz kalan ve kalmayan ratlarda, diş ve çevre dokuların gelişimi histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir.

Bu amaçla her iki gruptan 8 erkek yavru rat 7, 14 ve 21 günlük olduklarında anestezi altında dekapite edilmiştir (Resim 5).



Resim 5. 7 günlük yavru ratlar ve anneleri

3.3.1. Ratların Dekapitasyonu ve Çene Örneklerinin Alınması

Ratlar, deney sonunda Xylazine HCl 10 mg/kg + Ketamin HCl 90mg/kg intraperitoneal uygulamayla anestezi edildikten sonra dekapite edilmiştir. Daha sonra her bir ratın alt ve üst çeneleri çıkartılarak histolojik inceleme için %10'luk formaldehit içerisine konulmuştur.

3.3.2. Histolojik Çalışma

Her gruptan alınan çene örnekleri, sodyum sitrat ve %90'lık formik asit ile hazırlanmış özel bir solüsyonda dekalsifiye edilmiştir. Dekalsifiye olan dokular, nötral formaldehit solüsyonunda, immersiyon fiksasyon yöntemi uygulanarak tespit edilmiş ve dehidratasyon işleminden sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilmiştir (Tablo 3). Daha sonra dokular parafin bloklara gömülmüştür. Mikrotomda 5µm kesitler alınarak, Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyanmıştır. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskobunda (Olympus BX-50) incelenmiştir. Bütün gruplara ait preparatlar diş ve çevre doku gelişimleri açısından değerlendirilmiştir.

Tablo 3. Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%50 Alkol	1 saat
2	%70 Alkol	1 saat
3	%80 Alkol	1 saat
4	%90 Alkol	1 saat
5	%96 Alkol	1 saat
6	%100 Alkol	1 gece
7	Ksilol	5-15 dakika
8	Ksilol + parafin	15 dakika
9	Yumuşak parafin	1 saat
10	Sert parafin	4 saat

3.3.3. İmmünohistokimyasal Çalışma

Dekapitasyon işleminden sonra çıkarılan çene dokuları hazırlanan solüsyonda dekalsifiye edilmiştir. Rutin takiplerden sonra parafine gömülmüştür. Parafin bloklardaki çene örneklerinden 5µm kalınlığında kesitler alınarak, poly-L-lysine ile kaplı lamalar üzerine yerleştirilmiştir. Preparatlar deparafinizasyon işlemi için 3 seri ksilolde 15 dk, 3 seri alkolde 5'er dakika (dk) bekletilip distile sudan geçirilmiştir.

Antijen retrieval işlemi için kesitler sitrat buffer (X20'lik) içerisinde 700 nanometre dalga boyunda 5'er dk. 2 kez mikrodalga uygulaması yapılmıştır. Lamlar oda ısısında soğutulmuş ve 5 dk. %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) içerisinde bekletilmiştir. Distile suda yıkanan örnekler PBS (pH: 7,6) (Fosfat buffer Saline)'de 5 dk bekletilmiş ve protein blokta 10 dk. bekletilmiştir. Kesitler yıkanmadan primer antikor (Kaspaz-3) damlatılmış ve 1 gece (12-24 saat) buzdolabında inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra örnekler sırasıyla; PBS'de 5 dk., sekonder antikor olarak Biotinyloted Goat Anti-Polyvalent damlatılarak 30 dakika, PBS'de 5 dk., streptavidin peroxidase damlatılarak 30 dk., PBS'de 5 dk. bekletilmiş ve DAB kromojende 10 dk. renklendirme işlemi uygulanmıştır. Distile suda yıkanan örnekler hematoksilen ile zıt boyama yapılarak distile suda yıkanmıştır. Alkol serilerinden geçirilip kurutularak ksilene konulmuştur. Daha sonra entellan kullanılarak kapatma işlemi yapılmıştır.

Kesitler Olympus BX-50 araştırma mikroskobu ile değerlendirilmiştir. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde, boyanmanın şiddeti esas alınmıştır. Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti 0'dan +3'e kadar sayı ile semikantitatif olarak skorlanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Hafif
+2	Orta
+3	Şiddetli

3.4. Elektromanyetik Alana Maruz Kalan Ratlarda Çürük Oluşumunun İncelenmesi

Çalışmanın bu kısmında, EMR'ye maruziyetin ve/veya laktik asit bakterilerinin, yüksek karyojenik ortamda, *S. sobrinus* bakterisinin oral kolonizasyonu ve çürük oluşumu üzerine etkileri incelenmiştir.

Çalışma öncesinde, ratlarda çürük oluşum sürecinin değerlendirilmesi amacıyla, tez ana çalışmasına benzer patojen mikroorganizma ve karyojenik diyet kullanılarak, 4 rat üzerinde bir ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu ön çalışma ile çalışma şekli ve süresi belirlenmiştir.

3.4.1. Ratlarda Ağız Floralarının İncelenmesi ve Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmanın bu kısmı literatürde tarif edilen metotlara göre gerçekleştirilmiş (216) ve 24 anneden alınan 19 günlük toplam 56 yavru rat kullanılmıştır. EMR'ye maruz kalan ve kalmayan anne ve yavru ratlardan örnekler alınarak, ağız floraları incelenmiştir. Bunun için steril eküvyonlar, ratların her iki yanak boşluğunda 10'ar saniye bekletilmiştir. Hayvanlardan alınan oral sürüntü örnekleri kanlı agar ve streptomisinli mitis salivarius agara ekim yapılarak yerel MS açısından daha önceden tanımlanan yönteme göre incelenmiştir (217). Kanlı agar'da belirlenen bakteri türleri pasajlanarak otomatize sistemle (API rapid Strep) tiplendirmeleri yapılmıştır.

Daha sonra ratlar, her anneden en az bir rat olacak şekilde rastgele gruplara ayrılmıştır (Tablo 5).

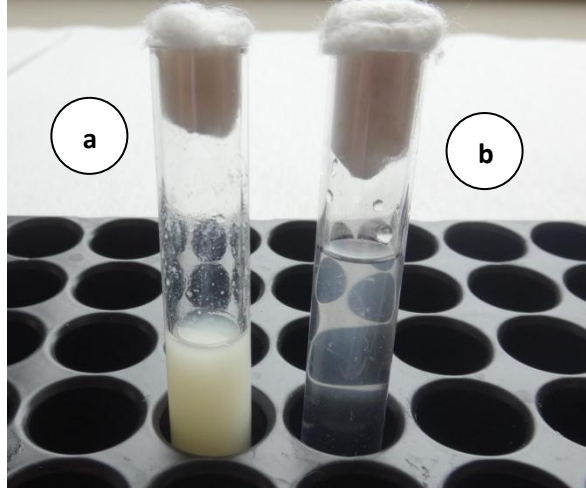
Tablo 5. EMR'ye maruziyet, *S. sobrinus* ve laktik asit bakterisi verilme durumu ve diyet tipine göre grupların oluşumu (n=8)

Grup	EMR	<i>S. sobrinus</i>	Laktik asit	Diyet	
			bakterisi		
A grubu	1	+	+	-	Karyojenik
	2	+	+	<i>L. plantarum</i>	Karyojenik
	3	+	+	<i>L. rhamnosus</i>	Karyojenik
B grubu	1	-	+	-	Karyojenik
	2	-	+	<i>L. plantarum</i>	Karyojenik
	3	-	+	<i>L. rhamnosus</i>	Karyojenik
	4	-	-	-	Normal

3.4.2. Probiyotik Preparatlarının Hazırlanması

Çürük oluşumunun sağlanması için karyojenik patojen olarak *S. sobrinus* 6715 kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak olan laktik asit bakterileri, Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genel Biyoloji AD öğretim üyesi Prof. Dr. Merih KIVANÇ'tan temin edilmiştir. Probiyotikler, dış yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterilerinden seçilmilerdir. Bunlardan *L. rhamnosus* M17-10.2 insan ağız florasından, *L. plantarum* 167. P6.5 ise fermente et ürününden izole

edilmiştir (218). Probiyotik solüsyonları, 24 saatlik kültür ve serum fizyolojik ile 10^8 Colony forming unite/mililitre (CFU/ml) yoğunlukta hazırlanmıştır (Resim 6).



Resim 6. Hazırlanan probiyotik solüsyonları. a, *L. rhamnosus* M17-10.2; b, *L. plantarum* 167. P6.5

3.4.3. Çürük Oluşturma Süreci ve Probiyotiklerin Uygulanması

B4 grubu dışındaki ratlar 21, 22 ve 23 günlük olduklarında, standardize 24 saatlik kültürden hazırlanmış 10^8 CFU/ml *S. sobrinus* içeren serum fizyolojik solüsyonuna batırılan pamuklu çubuklar kullanılarak, üç gün boyunca enfekte edilmiştir. Bir hafta beklendikten sonra, tekrar örnek alınarak streptomisinli mitis salivarius agar'a ekim yapılmış, üreme olduğu görülerek *S. sobrinus* sayımı yapılmıştır. Ratlar bu enfekte etme döneminde % 56 sükröz içeren diyetle ve % 10 sükröz içeren suyla alabildikleri kadar (*ad libitum*) beslenmiştir (219). Kariyojenik diyetin hazırlanmasında laktasyon döneminden sonra ratların beslenmesinde kullanılan kuru yem formülünden yararlanılmıştır (Tablo 6). Kuru yemin talaşları distile suyla nemlendirilip, içine % 56 oranında sükröz ilave edilmiş ve etüvde kurutularak yem formuna getirilmiştir (Resim 7). Ratlar deney süresince bu yemle *ad libitum* beslenmiştir.

Tablo 6. Araştırmada kullanılan kuru yem formülü

Madde	%	Madde	Miktar
Kuru madde (en az)	88,0	Vitamin A (en az)	15000 IÜ/kg
Ham protein (en az)	23,0	Vitamin D ₃ (en az)	3300 IÜ/kg
Ham selüloz (en çok)	5,0	Vitamin E (en az)	40 mg/kg
Ham kül (en çok)	8,0	Vitamin B ₂ (en az)	5 mg/kg
HCl’de çözünmeyen kül (en çok)	1,0	Vitamin B ₁₂ (en az)	20 mg/kg
Kalsiyum (en az- en çok)	1,0- 1,3	Vitamin K ₃ (en az)	5 mg/kg
Sodyum (en az- en çok)	0,5- 0,6		
Fosfor (en az)	0,9		
NaCl (en çok)	1,0		
Lizin (en az)	1,35		
Metiyonin (en az)	0,45		
Sistin (en az)	0,35		



Resim 7. Kuru yem talaşları ve % 56 oranında sükröz içeren, özel karyojenik diyetin etüvde kurutulurak hazırlanması

Ratlara probiyotik uygulaması, 2 ay boyunca sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez aynı saatte (8:30 ve 16:30), hazırlanan probiyotik solüsyonunun özel steril pipetlerle 1 damla (50 µl) verilmesi ile gerçekteştirilmiştir (Resim 8). Probiyotik uygulanması sonrası, streptokok sayımlarının tekrarlanması için ilk 1 ay

birer hafta aralıklarla, 2. ay ise iki hafta arayla olmak üzere toplamda 6 sefer ratlardan tükürük örnekleri alınarak tiyoglikolatlı buyyon içerisinde konulmuş ve – 20 °C’de saklanmıştır.



Resim 8. Ratlara, özel steril pipetlerle probiyotik solüsyonunun verilmesi

Tüm deney hayvanları deney süresince haftada bir tartılmış, ayrıca hayvanların feçes, cilt ve tüy bulguları gibi fiziksel bulguları da deney süresince kaydedilmiştir.

2 ay sonunda, mikrobiyolojik inceleme amacıyla ratların oral florasından sürüntü örnekleri alınmış ve sonrasında Xylazine HCl 10 mg/kg + Ketamin HCl 90mg/kg i.p. uygulamayla anestezi edildikten sonra dekapite edilerek çene alt ve üst çene olarak ikiye ayrılmış, %10’luk formalin içerisinde saklanmıştır.

3.4.4. Mikrobiyolojik Değerlendirme

S. sobrinus sayımı için, 90 gr mitis salivarius agar (Difco Laboratories, Detoit, Michigan, USA), 150 gr sakkaroz ve 1000 gr distile su ile karıştırılarak eritilmiştir. 121 °C’de 15 dk. otoklavda steril edilmiş ve 50 °C’ye kadar soğutulduktan sonra 1 ml %1’lik chapman tellürit solüsyonu ve 3.33 gr streptomisin ile karıştırılmıştır. Hazırlanan besiyeri steril koşullarda petrilere dağıtılmıştır.

S. sobrinus koloni sayımları için alınan tükürük örneklerinde 10 kat seri dilüsyon yapılmıştır. Uygun olan dilüsyonlardan (10^{-1} - 10^{-3}) mitis salivarius agara

drigalski spatülü ile 0,1 ml örnek yayılmıştır. Daha sonra 37 ± 2 °C’de 48 saat %5’lik CO₂’li etüvde bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası tipik *S. sobrinus* koloni sayımı makroskopik olarak CFU/ml cinsinden hesaplanmıştır (Resim 9).



Resim 9. *S. sobrinus* kolonilerinin streptomisin eklenmiş mitis salivarius agarda üremesi

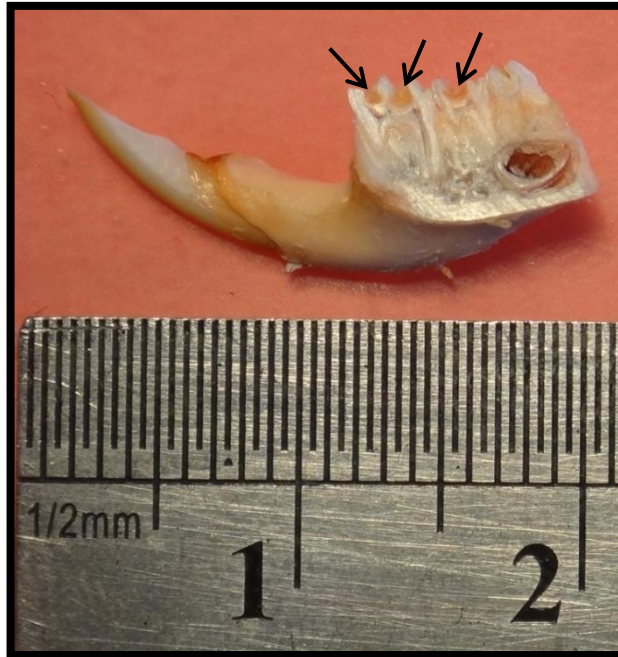
3.4.5. Dişlerde Çürük Tayini

Çürük tayini yapılmak üzere ayrılıp % 10 nötral formalinde saklanan çene örnekleri demineralize bölgelerin daha belirgin izlenebilmesi için % 70 etanol içerisinde % 0,06’lık mureksit bulunan solüsyonda karanlık ortamda 18-20 saat kadar bekletilmiştir. Bu solüsyondan çıkarılıp yıkanan dişler hava ile kurutulmuş ve düz yüzey çürükleri açısından değerlendirilmiştir (Resim 10).

Daha sonra aynı örnekler, sulkus çürüğü yönünden değerlendirilmek üzere elmas separe ile sagittal yönde bukkal ve lingual yüzeye eşit mesafeden olacak şekilde kesilerek değerlendirilmiştir (Resim 11).



Resim 10. Alt çene azı dişlerinin genel görünümü. Birinci azı dişinde düz yüzey çürüğü (oklar)



Resim 11. Alt çene azı dişlerinin genel görünümü. Azı dişlerinde sulkus çürükleri (oklar)

Çürük tayini, Larsen tarafından modifiye edilen Keyes skorlama sistemi (11) ile diseksiyon mikroskopunda X25 büyütmede yapılmıştır. Metoda ait sınıflandırma ve açıklamaları tablo 7'da gösterilmektedir.

Tablo 7. Çürük tayininde kullanılan skorlar

Skor	Kesilmemiş ve Boyanmamış Düz Yüzeylerde	Kesilmiş ve Boyanmış Sulkus Yüzeylerinde
E	Mine, opak beyaz görünüme sahiptir. Yüzeyde bozulma olmasına gerek yoktur.	Boyanma mine ile sınırlıdır.
D_s	Mine yüzeyi, kuru ve ufalanan bir görünüme sahiptir.	Pembe boyanma, mine-dentin birleşimine ve dentinin 1/3 derinliğine kadar penetre olmuştur
D_m	Dentin açılımı vardır.	Pembe boyanma dentinin 1/3 derinliğini geçmiştir.
D_x	Dentin yumuşaktır veya dentin kaybı mevcuttur. Koyu renkte olabilir.	Boyanma, yumuşak ya da kayıp görülen dentini tamamen kaplamıştır.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışma süresince tekrarlanan ağırlık ölçümleri Duncan testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. MS miktarının analizinde başlangıç bakteri sayımlarının, 1. ve 2. ay sonundaki sayımlara oranları hesaplanmıştır. Elde edilen veriler, grup içerisinde Wilcoxon testi ile gruplar arasında ise Kroskal Vallis testi kullanılarak analiz edilmiştir. Çürük skorlarının değerlendirilmesinde varyans analizinin (ANOVA) ardından Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Toplam mikroorganizma sayısı ile çürük skorları arasında, korelasyon analizi yapılarak doğrusal ilişkiye bakılmıştır. Bütün analizler SPSS yazılımı (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. EMR'ye Maruz Kalan Ratlarda Diş Gelişiminin İncelenmesi

Araştırmanın bu bölümünde, EMA'ya maruz kalan ve kalmayan ratlarda, kilo ölçümleri ve histolojik bulgular değerlendirilmiştir.

4.1.1. Kilo Ölçümlerine Ait Bulgular

Doğum sonrası 7. , 14. ve 21. günlere dekapite edilen kontrol ve deney gruplarına ait ratların kilo ölçümleri Tablo 8'de gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılık belirlenmemiştir ($p<0,05$).

Tablo 8. Diş gelişimlerinin incelenmesi amacıyla dekapite edilen ratların ağırlık ölçümleri (gr)

Deney Grupları	Gün	N	Ortalama \pm SS	Min-Max
A Grubu (EMR)	7. gün	8	11,35 \pm 0,74	10- 12,51
	14. gün	8	16,38 \pm 2,14	13,46- 19,41
	21. gün	8	25,12 \pm 3,76	21,24- 31,89
B Grubu (Kontrol)	7. gün	8	11,35 \pm 1,45	8,51- 13,28
	14. gün	8	18,49 \pm 2,66	15,7- 22,34
	21. gün	8	25,04 \pm 4,56	20,02- 32,3

4.1.2. Makroskopik Bulgular

Çene kemiklerinin makroskopik incelemesinde her hangi bir lezyon saptanmamıştır. Doğum sonrası 7 ve 14. günlerde dişlerin henüz sürmediği, 21. günde ise birinci ve ikinci azı dişlerinin sürmeye başladığı gözlenmiştir. Dişlerin sürmesinde ve sayısında makroskopik bir anormallik gözlenmemiştir (Resim 12a, b, c).



Resim 12. 7 (a), 14 (b) ve 21 (c) günlük ratlardan alınan çene örnekleri

4.1.3. Histolojik Bulgular

Histolojik olarak doğum sonrası 7. Günde, birinci ve ikinci azı dişlerinin ağız mukozası epitelyum tabakasının çok altında olduğu gözlenirken, 14. günde epitele yaklaştıkları görülmüştür. Birinci ve ikinci azı dişlerinin doğum sonrası 21. günde epitel tabakasının üzerinde, sürmüş oldukları belirlenmiştir. EMR verilen grup ile verilmeyen grup arasında dişlerin sürmesi ve tabakalanmalarda herhangi bir anormallik gözlenmemiştir. Mine ve dentin tabakaları ile lamellasyonlarda patolojik bulgu saptanmamıştır (Resim 15-20).

4.1.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

Caspase-3 açısından yapılan immunohistokimyasal boyamada ağız mukoza epitelinde hem EMR verilen, hem de verilmeyen grupta hafif bir kaspaz 3 reaksiyonu görülmüştür. Bu reaksiyonun ağız mukozasındaki hızlı değişim ile ilgili olabileceği düşünülmüştür. Odontoblastlarda ve ameloblastlarda her iki grupta da benzer şekilde

reaksiyon saptanmıştır. EMR uygulamasının diş gelişimi üzerine önemli bir etkisi görülmemiştir (Resim 21, 22).



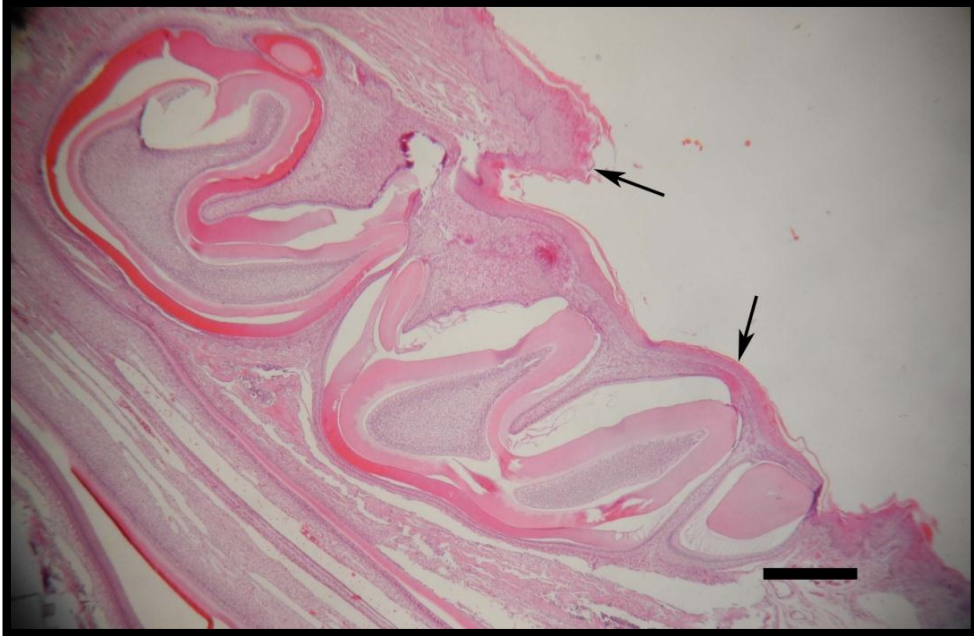
Resim 13. EMR verilen 7 günlük bir ratın diş gelişimi. Dişler sürmemiş ve epitel tabakasının (oklar) oldukça altında bulunuyor. Diş lamellasyonu normal görünümde. HE, Bar= 400 μ m.



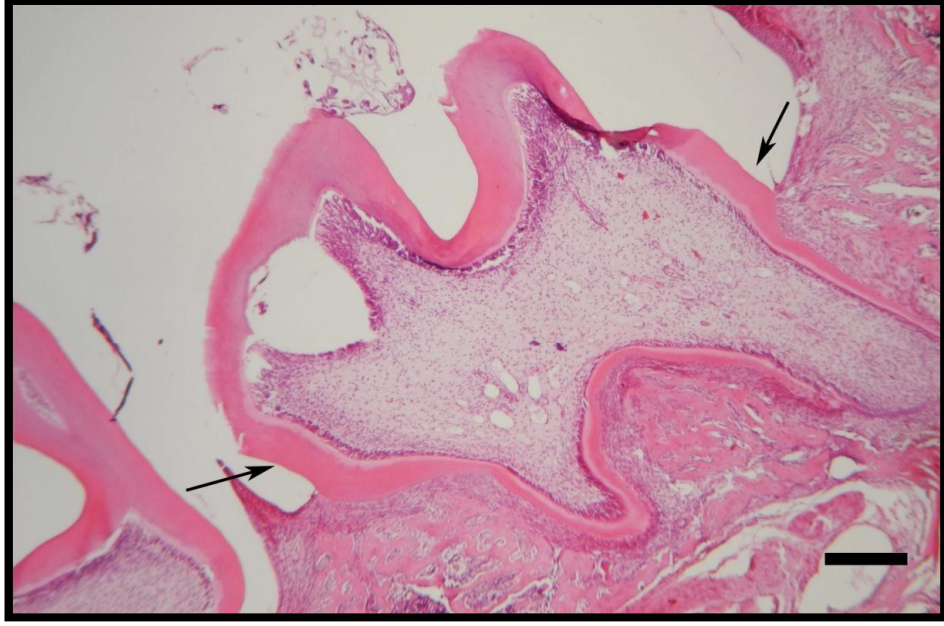
Resim 14. EMR verilmeyen 7 günlük bir ratın diş gelişimi. Dişler sürmemiş ve epitel tabakasının (oklar) oldukça altında bulunuyor. Diş lamellasyonu normal görünümde. HE, Bar= 400 μ m.



Resim 15. EMR verilen 14 günlük bir ratın diş gelişimi. Dişler sürmemiş ancak epitel tabakasının (oklar) hemen altında ve epiteli kabartmış şekilde görünüyor. Diş lamellasyonu normal görünümde. HE, Bar= 200 μ m.



Resim 16. EMR verilmeyen 14 günlük bir ratın diş gelişimi. Dişler sürmemiş ancak epitel tabakasının (oklar) hemen altında ve epiteli kabartmış şekilde görünüyor. Diş lamellasyonu normal görünümde. HE, Bar= 400 μ m.



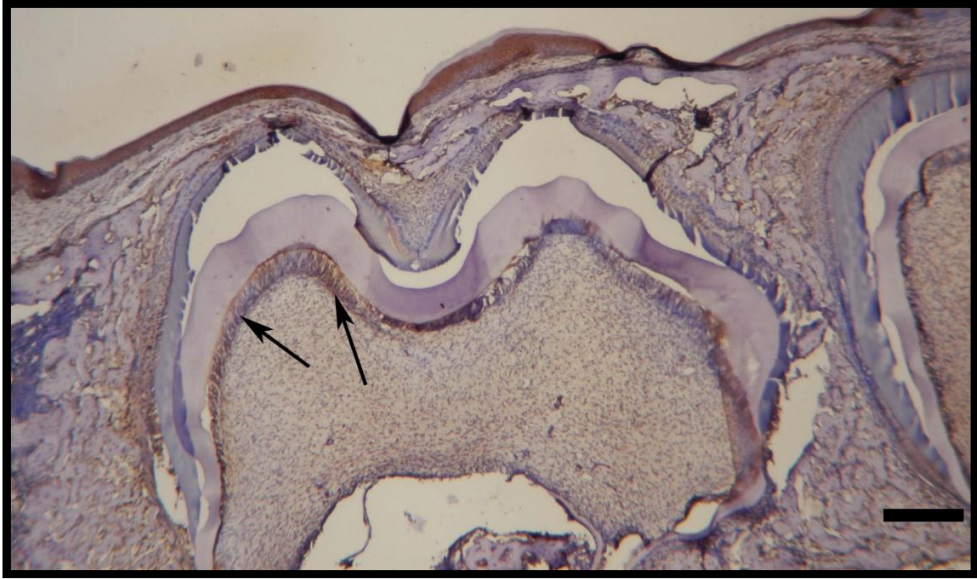
Resim 17. EMR verilen 21 günlük bir ratın diş gelişimi. Dişler tamamen sürmüştür (oklar) ve diş lamellasyonu normal görünümde. HE, Bar= 200 μ m.



Resim 18. EMR verilmeyen 21 günlük bir ratın diş gelişimi. Dişler tamamen sürmüştür (oklar) ve diş lamellasyonu normal görünümde. HE, Bar= 200 μ m.



Resim 19. EMR verilmeyen 7 günlük gruptaki bir ratın dişlerinin Kaspaz-3 reaksiyonu, epitelde pozitif reaksiyon (oklar), streptoavidin biotin metodu, Bar= 200 μ m.



Resim 20. EMR verilen 14 günlük gruptaki bir ratın dişlerinin odontoblastlarındaki (oklar) Kaspaz-3 reaksiyonu, streptoavidin biotin metodu, HE, Bar= 200 μ m.

4.2. EMR'ye Maruz Kalan Ratlarda Çürük Oluşumunun İncelenmesi

Çalışmanın bu kısmında, EMR'ye maruziyetin ve/veya laktik asit bakterilerinin, MS miktarı ve çürük oluşumu üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Çürük oluşturma işlemlerine başlamadan önce anne ve yavrulardan alınan sürüntü örneklerinin, ağız florasının değerlendirilmesi amacıyla kanlı agar'a, *S. sobrinus* varlığını değerlendirmek amacıyla da streptomisinli mitis salivarius agar'a ekimleri yapılmış ve 37 °C'de etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Kanlı agar'da belirlenen bakteri türleri pasajlanmış ve otomatize sistemle (API rapid Strep) tiplendirmeleri yapılmıştır. İzole edilerek tiplendirmeleri yapılan bakteriler tablo 9'de gösterilmiştir. Bu mikroorganizmaların normal ağız florasına ait bakteriler olduğu görülmüştür. Streptomisinli mitis salivarius agar'da üreme olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak çalışma başlangıcında ratların ağız floralarında patojen mikroorganizma bulunmadığı tespit edilmiştir.

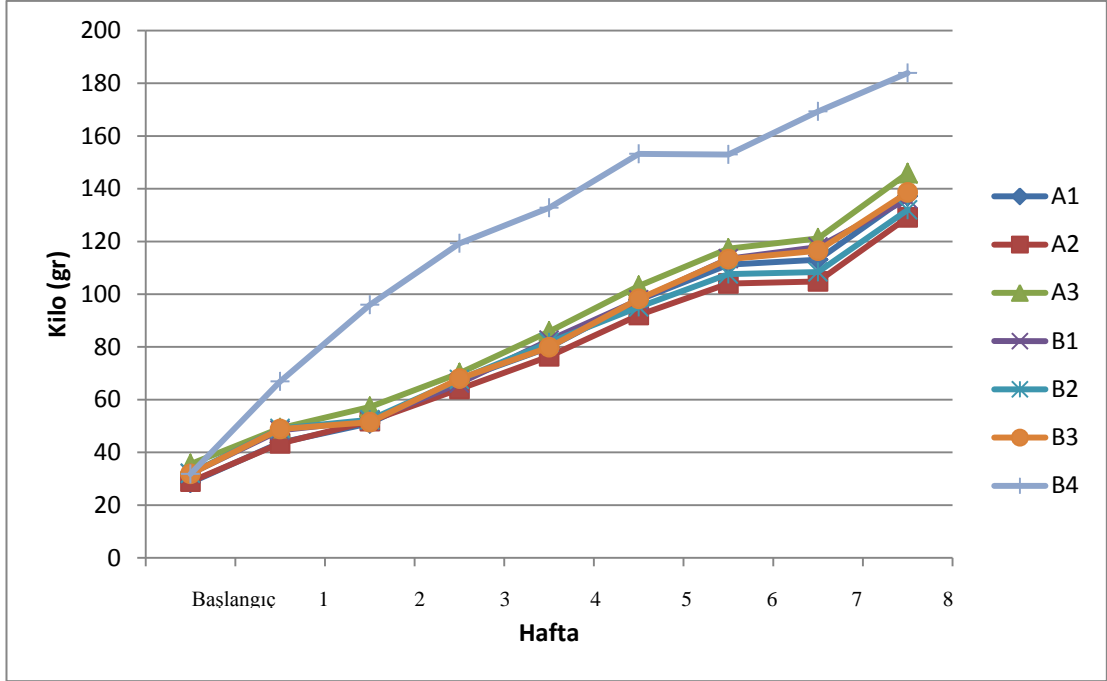
Tablo 9. Anne ve yavru ratların ağız floralarından izole edilmiş olan bakteriler.

İzole edilen bakteriler
Gram pozitif basil
Koagülaz negatif stafilokok
<i>Streptococcus ovis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Streptococcus pluranimalium</i>

Çalışma sürecinde, bütün hayvanlar başarılı bir şekilde *S. sobrinus* ile enfekte edilmiş olup, sağlık açısından her hangi bir problem görülmemiştir.

4.2.1. Gruplardaki Ağırlık Artışına İlişkin Bulgular

Kontrol ve deney gruplarında başlangıç kiloları ve haftalara göre ağırlık artışları grafik 1'de verilmiştir. Grupların deney süresinde düzenli olarak kilo artışı gösterdikleri görülmüştür. Normal diyet ile beslenen B4 grubunda, istatistiksel olarak diğer gruplara göre daha fazla kilo artışı olduğu belirlenmiştir. (p<0,05).



Grafik 1. Grupların başlangıç kiloları ve haftalara göre ağırlık artışları

4.2.2. Kontrol ve Deney Gruplarında Toplam MS Düzeyi Bulguları

Deney sürecinde kontrol ve deney gruplarından alınan sürüntü örneklerinde yapılan mutans streptokok koloni sayımları CFU/ml birimine dönüştürülerek hesaplanmış ve değerler tablo 10'da verilmiştir. Gruplar arasında, en fazla MS ölçümlerinde azalma *L. rhamnosus* verilen gruplarda görülmüştür. *L. plantarum* verilen gruplarda da kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha fazla düşüş olduğu görülmeye rağmen gruplar arasında önemli bir farklılık olmadığı saptanmıştır ($P < 0.05$).

Dördüncü ve sekinci hafta sonunda MS sayımlarının başlangıç sayımlarına oranları tablo 11'de gösterilmiştir. Bu oranlar, gruplar arasında birbirlerinden bağımsız olarak değerlendirildiğinde, bütün gruplarda azalma olduğu belirlenmiştir. İkinci ayın sonunda *L. rhamnosus* verilen gruplarda açık bir şekilde düşüş olduğu görülmüştür. Ancak, gruplar arasında önemli bir farklılık belirlenmemiştir ($P < 0.05$). Grupların kendi içlerinde, bu oranlar arasındaki değişim incelendiğinde, *L. rhamnosus* verilen gruplarda önemli ölçüde azalma olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Probiyotik mikroorganizma verilmeyen kontrol gruplarında, sekizinci hafta

sonundaki oranlar dördüncü hafta sonundaki oranlardan daha yüksektir, ancak, önemli bir farklılık saptanmamıştır ($P<0.05$).

Tablo 10. Kontrol ve deney gruplarına ait sürüntü örneklerinde MS düzeyleri

Grup	Bakteri sayısı (ortalama \pm ortalamanın standart sapması, CFU/ml)					
	Başlangıç	2. hafta	3. hafta	4. hafta	6. hafta	8. hafta
A1	2000 \pm 801,78	381,25 \pm 141,26	375 \pm 281,58	151,25 \pm 95,68	137,5 \pm 232,61	200 \pm 185,16
A2	2237,5 \pm 1462,81	418,75 \pm 201,67	472,5 \pm 468,79	255 \pm 149,47	133,75 \pm 199,57	160 \pm 215,01
A3	2050 \pm 907,11	205 \pm 118,56	287,5 \pm 335,68	142,5 \pm 106,47	8,75 \pm 18,08	15 \pm 16,9
B1	2550 \pm 1401,02	253,75 \pm 176,79	1212,5 \pm 505,5	318,75 \pm 235,94	7,5 \pm 7,07	403,75 \pm 672,03
B2	2685,7 \pm 1451,93	378,57 \pm 299,8	1200 \pm 1040,83	127,14 \pm 112,8	44,29 \pm 72,31	111,43 \pm 180,69
B3	2757,14 \pm 1716,45	357,14 \pm 250,71	757,14 \pm 512,7	132,86 \pm 82	14,29 \pm 16,18	17,14 \pm 28,11

Tablo 11. 4. ve 8. hafta MS düzeylerinin başlangıç sayımlarına oranları (CFU/ml)

Grup	Ortalama \pm ortalamanın standart sapması (%)	
	4. hafta	8. hafta
A1	7,62 \pm 3,64	8,58 \pm 6,03
A2	17,68 \pm 14,95	9,21 \pm 16,81
A3	7,85 \pm 5,67	0,83 \pm 1,03
B1	13,30 \pm 8,4	33,43 \pm 68,19
B2	9,02 \pm 15,44	4,93 \pm 9
B3	7,74 \pm 6,96	0,72 \pm 0,96

4.2.3. Diş Çürüğüne İlişkin Bulgular

Toplam MS sayısı ile çürük skorları arasındaki doğrusal ilişkiye bakıldığında, sulkus çürüğü skorları için önemli ölçüde ilişki olduğu görülmüştür ($R=0,507$).

Düz yüzey ve sulkus çürüğü toplam skorları tablo 12’de verilmiştir. Probiyotik uygulanmayan gruplar ile karşılaştırıldığında, A2 grubu dışında *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* uygulanan gruplarda düz yüzey çürüğü oranlarının daha

az olduğu görülmüştür. *L. plantarum* verilen A2 grubunun, probiyotik mikroorganizma verilen diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksek düz yüzey çürüğü miktarına sahip olduğu belirlenmiştir. ($P<0.05$). Sulkus çürüğü oranları değerlendirildiğinde, probiyotik uygulanan gruplarda çürük oranlarının daha az olduğu görülmüş, B1 grubu ile karşılaştırıldığında bu farklılığın *L. rhamnosus* uygulanan gruplarda anlamlı olduğu görülmüştür.

Tablo 12. Çürük skorlarının analizinde, sulkus ve düz yüzey çürük skorlarının olabilecek en yüksek skorlara oranları kullanılmıştır (sırasıyla 56 ve 124). Her bir özellik için, aynı harfi taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($P>0.05$).

Çürük lokalizasyonu	Gruplar	N	Ortalama	Standart sapma	Min.	Max.
Düz yüzey çürüğü	A1	8	8,59 ^{ab}	3,60	2,68	13,39
	A2	8	12,72 ^a	5,42	5,36	18,75
	A3	8	6,80 ^b	4,60	2,68	14,29
	B1	8	9,60 ^{ab}	4,52	2,68	15,18
	B2	8	6,76 ^b	2,35	3,57	10,71
	B3	8	7,78 ^b	3,52	4,46	14,29
	Toplam	48	8,77	4,45	2,68	18,75
Sulkus çürüğü	A1	8	17,63 ^{ab}	6,22	8,93	28,57
	A2	8	16,74 ^{ab}	8,43	10,71	33,93
	A3	8	11,16 ^b	3,27	5,36	14,29
	B1	8	24,33 ^a	10,54	16,07	48,21
	B2	8	16,07 ^{ab}	8,81	5,36	30,36
	B3	8	15,31 ^b	6,26	8,93	26,79
	Toplam	48	16,93	8,24	5,36	48,21

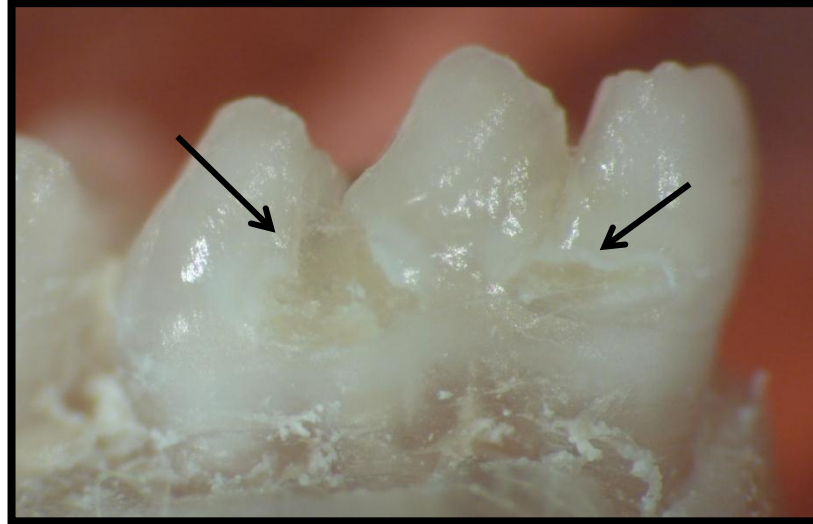
4.2.3.1. Düz Yüzey Çürüğü Şiddeti Bulguları

Düz yüzey çürüğü ile ilgili bulgular tablo 13’de özetlenmiştir.

Tablo 13. Kontrol ve deney gruplarında düz yüzey çürüğü şiddeti skorları (E, mine çürüğü; Ds, yüzeysel dentin çürüğü; Dm, Orta şiddette dentin çürüğü)

Grup	Düz yüzey çürüğü			
	TOPLAM	Şiddet		
		E	Ds	Dm
A1	9,63 ± 4,03	7,13 ± 2,7	2,5 ± 1,85	0
A2	14,25 ± 6,06	10 ± 3,29	3,75 ± 2,96	0,5 ± 1,07
A3	7,63 ± 5,15	6,63 ± 4,14	1 ± 1,51	0
B1	10,75 ± 5,06	8,25 ± 3,69	2,5 ± 1,77	0
B2	7,57 ± 2,64	6,29 ± 2,06	1,29 ± 1,11	0
B3	8,71 ± 3,95	7,14 ± 2,67	1,57 ± 1,51	0

Probiyotik verilen ve verilmeyen gruplar arasında çürük şiddetleri açısından anlamlı bir fark görülmemiştir ($P>0.05$). Gruplar arasında sadece A2 grubunda orta derinlikte dentin çürüğü görülürken, derin dentin çürüğü bulgularına rastlanılmamıştır (Resim 21).



Resim 21. Alt çene birinci azı dişindeki düz yüzey çürüğünün diseksiyon mikroskopundaki görüntüsü (oklar) (X28).

4.2.3.2. Sulkus Çürüğü Bulguları

Sulkus çürüğü ile ilgili bulgular tablo 14’de özetlenmiştir.

Tablo 14. Kontrol ve deney gruplarında sulkus çürüğü şiddeti skorları (E, mine çürüğü; Ds, yüzeysel dentin çürüğü; Dm, orta şiddette dentin çürüğü; Dx, derin dentin çürüğü)

Grup	Sulkus çürüğü				
	TOPLAM	Şiddet			
		E	Ds	Dm	Dx
A1	9,88 ± 3,48	5,13 ± 1,46	3,5 ± 1,51	1 ± 1,19	0,25 ± 0,46
A2	9,38 ± 4,72	4,63 ± 1,41	3,13 ± 1,36	1,13 ± 1,25	0,5 ± 1,07
A3	6,25 ± 1,83	3,5 ± 1,07	2,25 ± 0,71	0,5 ± 0,76	0
B1	13,63 ± 5,9	8,13 ± 2,03	3,63 ± 2,07	1,5 ± 2	0,38 ± 0,74
B2	9 ± 4,93	5,71 ± 1,8	2,57 ± 2,22	0,57 ± 1,13	0,14 ± 0,38
B3	8,57 ± 3,5	4,86 ± 1,21	3,29 ± 2,06	0,43 ± 0,53	0

Tüm probiyotik uygulanan gruplarda sulkus çürüğü oranlarının daha az olduğu görülmüştür. Ancak bu farklılık, sadece *L. rhamnosus* verilen A3 grubu ile probiyotik uygulanmayan B1 grubu arasında mine düzeyinde anlamlı olmuştur ($P<0.05$). Resim 22’de alt çene azı dişlerinde sulkus çürükleri görülmektedir.



Resim 22. Alt çene azı dişlerindeki sulkus çürüklerinin diseksiyon mikroskobundaki görüntüsü (oklar) (X25).

EMR’ye maruz kalan ve kalmayan gruplar arasında, mikroorganizma sayıları ve çürük skorları açısından önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür ($P<0.05$). B4

grubundaki ratlara ait çürük oranları ve şiddetlerinin, diğer gruplara göre istatistiksel olarak çok önemli ölçüde düşük olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$).

5. TARTIŞMA

Wi-Fi, iş merkezlerinde, evlerde ve kamuya mahsus alanlarda iletişim ve bilgi alışverişinde kablolu internete alternatif olarak günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. Wireless cihazları ile birlikte mikrodalga gibi günlük yaşantımızda sıkça kullandığımız cihazlardan kaynaklanan 2.45 GHz EMR, insan sağlığı üzerinde olası riskler oluşturmaktadır. Bu durum, özellikle Wi-Fi sinyallerine maruz kalmanın olası biyolojik etkilerini daha fazla araştırmayı gerekli kılmaktadır.

İnsanlar için kullanılması hedeflenen ürünlerin veya güvenlik testlerinin, insanlar üzerinde yapılmasının en gerçekçi sonucu vereceği bilinmektedir. Ancak insan üzerinde her tür çalışmanın etik açıdan yapılamayacağı da bilinmektedir. Fizyolojik ve anatomik olarak insana benzerliklerinden dolayı çalışmaların çoğunda hayvan modellerinden yararlanılmaktadır. Bununla birlikte, hayvan deneylerindeki “hayvanlardan insanlara uyarılama” kavramı anlaşılabilirliğini korumakta ve seçilecek türlerle elde edilecek verilerin, insanlara uyarlanabilirliğine, yani uygun olup olmadığına dikkat edilmesi gerektiği de belirtilmektedir. İn vitro yöntemlerle elde edilen sonuçların da, insanlara uyarlanmasının çok daha zor olduğu göz önünde bulundurulduğunda, uygulanacak kimyasalların ve çevresel faktörlerin insanlar üzerindeki etkisinin incelenmesinde hayvan deneylerinin önemi anlaşılmaktadır. İnsanlara benzerlikleri nedeniyle, EMR ile canlı organizmalar arasındaki etkileşimin anlaşılmasında hayvan modelinin kullanılmasının faydalı bilgiler sağlayabileceği belirtilmiştir (220). Çalışmamızda da, hamilelik ve laktasyon döneminde maruz kalınan EMR'nin diş ve çevre dokular üzerine muhtemel etkilerinin incelenmesinde hayvan modelinden yararlanılmıştır.

Hayvan modeli; normal biyoloji ya da davranışların çalışılabileceği, kendiliğinden ya da indüklenmiş bir patolojik durumun araştırılabileceği ve biyolojik işlev yönünden insan ya da diğer hayvan türlerine benzerlik gösteren hayvanların kullanıldığı model olarak tanımlanmakta ve büyük çoğunluğunu ratların da üyesi olduğu kemirgenler oluşturmaktadır. Bu hayvan grubunun biyomedikal araştırmalarda tercih edilme nedenlerinin, buldukları laboratuvar ortamına kolay uyum sağlamaları, bakımlarının kolay olması, fiziki yapılarının küçük olması ve kısa sürede çok sayıda üretilibilmeleri olduğu ortaya konulmuştur (221). Aynı zamanda

hamilelik (21 gün) ve laktasyon dönemlerinin (21 gün) de insanlara ve diğer hayvan gruplarına göre çok daha kısa olması nedeniyle, çalışmamızda hayvan modeli olarak ratların kullanılmasına karar verilmiştir.

Araştırmamızda, deney hayvanlarının yaşam koşullarının optimize edilmesine ve grup içi-gruplar arası standardizasyonun sağlanmasına çalışılmıştır. Beslenme şekli, cins, yaş, madde uygulama yolu-zamanı-miktarı, örnek alma yolu-hacmi-zamanı, mevsim, biyoloji gibi birçok özellik, deneyde kullanılan hayvanların çevresel ve deneysel koşullarının sabit tutulması amacıyla dikkatli bir şekilde yapılmıştır. Çevresel ortamın standardizasyonu için çalışmada, ratlar için optimal yaşam koşulları sağlanmaya çalışılmış; aydınlık/karanlık döngüsü olan, iyi havalandırılmış, %60 rölatif nem oranına ve 20-24 °C ortam sıcaklığına sahip odalarda barındırılmışlardır. Ratlar, gece aktif olan noktürnal hayvanlar olduklarından dolayı, doğal gece/gündüz döngüsünün bu hayvanların normal fizyolojik davranışları için çok önemli olduğu belirtilmektedir. Aydınlık/karanlık periyodunun, oksidatif strese yer alan enzim aktivitelerini etkileyebileceği gösterilmiştir (222). Ratların, normal yaşam koşulları dışındaki durumlarda strese girdikleri ve bunun sonucunda da hayvanların; ilaca yanıtının, infeksiyonlara olan duyarlılıklarının, üremesinin, yem ve su tüketiminin, büyümesinin, hematolojik parametrelerinin değişebildiği bildirilmiştir.

Önemli koşullardan bir diğeri de, hayvanların gürültüden olabildiğince uzak tutulmaya çalışılması gerekliliğidir. Gürültüden, özellikle gebe ve yeni doğurmuş hayvanların rahatsız olarak yavrularına zarar verebileceği, ayrıca oluşturacağı stres faktörlerinin de deney sonuçlarını etkileyebileceğinin bildirildiği çalışmalar (223) göz önünde bulundurularak, deneyde yer alan tüm ratlar, EMR uygulanması dışında da ayrı, sessiz özel bir odada barındırılmıştır.

Elektrik enerjisi ileten ya da bu enerjiyle çalışan her türlü araç ve gerecin, çalışma durumunda çevresinde bir elektromanyetik alan oluşturduğu bilinmektedir (1). Bu nedenle çalışmamızın ortam radyasyonundan etkilenmemesi için EMR uygulaması, çelik topraklama levhaları ile kapatılmış olan özel odada gerçekleştirilmiştir. Önerildiği şekilde (210), EMR maruziyetinin standardizasyonunun sağlanabilmesi amacıyla, bu düzenek, ratların antene mümkün

olduğunca yakın ve eşit uzaklıkta konumlandırılabilceği şekilde dzenlenmiş ve aynı anda 6 adet rat EMR'ye maruz bırakılmıştır.

EMR'nin canlı organizmalar üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmalarda, maruziyet sfireleri 15 dakika-24 saat arasında farklılıklar gstermektedir (224, 225). Ancak, mevcut çalışmaların çoğunda sfire olarak 60-120 dakika kullanıldığından, çalışmamızda maruziyet sfiresi gnde 120 dakika olarak belirlenmiştir (226-232).

Çalışmada elde edilen, hamilelik ve doğum sonrası maruz kalınan 2.45 GHz EMR'nin, yavru ratlarda diş ve evre dokuların gelişiminin incelendiği, histolojik ve immnohistokimyasal parametrelerin ve laktasyon periyodu sonrasında yksek karyojenik ortam altında yavru ratlarda, EMR'nin hazırlayıcı bir faktre olup olmadığının ve diş yzeyine iyi tutunum gsteren laktik asit bakterileri ile hazırlanan solyasyonların etkilerinin değerlendirildiği, MS ve uruk parametrelerinin daha iyi irdelenebilmesi amacıyla tartışma iki kısımda yurutlmüştur.

5.1. 2.45 GHz EMR, Diş Gelişimi

Gunumuzde insanlar, anne karnından başlayarak hayatının her dzeninde EMR'ye maruz kalmaktadır. EMR'nin etkileri, yaşla değerkenlik gstererebilmektedir. EMR'nin doz tespiti ve risk tayini ile ilgili olarak yaşla ilişkili değerlendirmeler yapılmış ve genç ratlarda dokuların elektriksel geçirgenlik ve iletkenliğinin erişkinlerden daha yksek olduğu saptanmıştır. Tm vucut ortalama SAR değerinin çocuklarda yetişkinlerden daha yksek olduğu belirtilmiştir (233, 234). Başın gvdeye gtre buyuk, cilt ve kafatasının ise daha ince olması, çocuklarda aynı EMR'ye maruz kalan erişkinlere gtre, daha yksek SAR değerleri saptanmasının başlıca sebeplerindendir. Çalışılan model ne kadar genç ise, yksek frekansta oluşan direnç etkisi ve bu etkinin oluşturduğu SAR değerleri de yksek olmaktadır. Conil ve ark. (235) alışmalarında ortalama direnç frekansını, yetişkinde 60 MHz, yaş kuculdüke 12, 8 ve 5 yaşlarında sırasıyla 80, 100 ve 120 MHz olarak bildirmiştir. Erişkinle kıyaslandığında, 12, 8 ve 5 yaşlarında tm vucut SAR değerleri sırasıyla %26, %38 ve %48 oranında artmaktadır. Ozellikle, anne karnından başlayarak maruz kalınan EMR'nin diş ve evre dokular üzerine olan etkileri ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Ulaşılabilen kaynaklarda, kablosuz ağlardan kaynaklanan 2.45 GHz EMR'un diş ve evre dokuların gelişimi ve bu dokularda muhtemel apoptozis oluşumu üzerine

etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. EMR'nin, buyme ve gelişim üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, iskelet gelişimini olumsuz etkilediğine dair farklı görüşler bulunmaktadır. Kemik dokusuna benzemesine rağmen, diş dokusunda kemik içerisinde meydana gelen remodeling görülmemektedir. Bu nedenle, genetik ve çevresel etkenlere bağlı olarak ortaya çıkabilen gelişimsel defektler kalıcı olmaktadır. Buradan yola çıkarak, EMR'nin gelişim üzerine etkilerinin incelenmesinde, dişlerin kullanılmasının faydalı bilgiler verebileceği düşünülmüş ve çalışmanın ilk kısmı bu şekilde planlanmıştır.

Vücut gelişiminin genel vücut ağırlığı ile paralellik gösterdiği bilinmektedir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada da, hamilelik ve laktasyon döneminde uygulanan 2.45 GHz EMR'nin, yavru ratların gelişmi üzerine etkisi değerlendirilmiştir. EMR'nin, kemirgenlerde gelişim üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Berman ve ark. (226), hamileliklerinin 6-14. günleri arasında günde 100 dakika süreyle 2.45 GHz EMR'ye maruz bıraktıkları hamsterlerin iskelet oluşumunu ve fetüs ağırlıklarını incelemişlerdir. Güç yoğunluğu 20 mW/cm²'ye ayarlandığında SAR değerinin 6 W/gr olduğunu ve hamile hamsterlerin rektal ısılarının 0,4 C arttığını bildirmişlerdir. Deney sonucunda, yeni doğan hamsterlerin iskelet gelişimleri ve doğum ağırlıkları arasında farklılık olmadığı grlmştir. Güç yoğunluğunu artırarak 30 mW/cm²'ye ayarladıklarında ise SAR değerinin 9 W/gr olduğunu ve hamile hamsterlerin rektal ısılarının 1,6 C arttığını belirtmişlerdir. Deney sonucunda, iskelet gelişiminin geri olduğunu ve yenidoğan vücut ağırlığının da daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. EMR'ye bağlı sıcaklık artışının kontrol edilmesi amacıyla SAR değerinin tüm vücutta 4 W/kg olacak şekilde ayarlandığı bir çalışmada, günde 1 saat 2.45 GHz EMR'nin ratlarda prenatal gelişimi etkilemediği, gruplar arasında ağırlıklar açısından farklılık olmadığı bulunmuştur (231). Benzer şekilde, SAR değerini; 0.08, 0.4 ve 4 W/kg olacak şekilde 2.45 GHz EMR'nin hamilelik dönemi ve doğum sonrası 35 gün süresince günde 2 saat uygulanmasının yavru ratlarda zararlı bir etkiye neden olmadığı gösterilmiştir (230). Gün içerisinde EMR'ye maruziyet süresinin çok daha uzun tutulduğu benzer bir çalışmada da, hamilelik ve laktasyon süresince günde 20 saat 2.14 GHz EMR'ye maruziyetin rat gelişimini etkilemediği grlmştir (236). Alam ve ark. (237), 2.45 GHz mikrodalga radyasyonunun hamster ovaryum hücrelerinde kromozomal

kırıklara neden olduğunu, ancak hipotermik (29 °C) koşullarda uygulama yapıldığında aynı sonuçların gözlenmediğini tespit etmişler ve elde ettikleri pozitif bulguların, mikrodalga radyasyonunun indüklediği sıcaklık artışından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Çalışma sonuçlarındaki farklılıklar, araştırmacıların belirttiği gibi uygulanan EMR'nin vücutta oluşturduğu ısı değişikliklerine bağlı olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda, sınır değerinin çok daha altındaki SAR değerinde (0.009 ± 0.002 W/kg) maruziyet sağlanmış ve bu iddiayı destekleyecek şekilde gruplar arasında; ağırlık, gelişimsel bulgular, çene gelişimi ve diş sürme zamanlaması açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Ancak bu düşüncenin aksine, Daşdağ ve ark. (238), SAR değerini 0,155 W/kg olarak ölçtükleri çalışmalarında, telefon kaynaklı EMR'nin (890-915 MHz) sıcaklık artışı olmaksızın doğum ağırlığında önemli düzeyde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuç, Songül ve ark. (223)'nin hayvan araştırmalarında, benzer çalışmaların farklı araştırma ortamlarında yapılmasının, çalışma sonuçlarında farklılıklara neden olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Bu çalışmalara ek olarak, DüNDAR ve ark. (225), hamilelik döneminde sürekli (24 saat) maruz kalınan çok düşük frekanstaki (50 Hz) EMR'nin yavru ratlar üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Doğum sonrası EMR'ye maruz kalan yavru ratların, kilolarının daha düşük olduğunu görmüşler ve yapılan histolojik inceleme sonucunda da hipotalamus, hipofiz ve ovaryumlarında doku hasarı tespit etmişlerdir. Benzer başka bir çalışmada da, hamilelik döneminde günde 8 saat uygulanan 50 Hz EMR'nin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yavru rat ağırlıklarının daha düşük olmasına ve hayvanların göz açılma ve diş sürme zamanlarında gecikmeye neden olduğu gösterilmiştir (239). Yüksek ve düşük frekanslı EMR'nin etkileri arasındaki bu farklılıklar, Özen (240) tarafından şu şekilde açıklanmıştır: "Enerji nüfuz etme derinliği frekanstaki yükselmeye bağlı olarak azalır. Bu nedenle elektromanyetik alanlardan kaynaklanan enerjinin çoğunluğu yüzeye yakın soğurulur. Alçak frekanslar yüksek frekanslara göre çok daha derinlere ulaşabilmektedir". Bu nedenle yüksek frekanstaki elektromanyetik dalgaların fetüs ya da çene içerisine yerleşmiş diş germeleri gibi derindeki yapıları çok az etkilediği veya hiç etkilemediği sonucuna ulaşılabilir. Fareden izole edilmiş embriyo gelişimi üzerine, 2 GHz'lik üçüncü nesil cep telefonunun oluşturduğu manyetik alanın etkilerinin incelendiği çalışma da, bu

tezi desteklemektedir. Yüksek frekanstaki EMR'nin, izole embriyo üzerine doğrudan uygulandığında, gelişimde gecikmeye neden olduğu rapor edilmiştir (4).

EMR kaynaklı doku hasarının patofizyolojisinde, oksidatif stresin önemli olduğu bildirilmiştir (232, 241). Mitokondriyal respirasyon ve fagositik immün savunma yolları gibi hücrel fizyolojik fonksiyonlar sırasında meydana gelen serbest radikaller, serbest radikal zincir reaksiyonları tarafından üretilen çok reaktif ve kararsız maddeler olarak tanımlanmaktadır. Birçok normal biyokimyasal reaksiyon sonucunda oluşmakla birlikte, oksidatif stres oluşturarak potansiyel olarak zararlı oldukları gösterilmiştir (232). Oksidatif stresin sebep olduğu doku hasarını önleyen, hücre içi enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemleri gibi, serbest radikallerin etkilerini önleyen çeşitli mekanizmalar mevcuttur. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin, serbest radikal oluşumundaki artış ya da antioksidanların azalması ile bozulabileceği ve sonuçta oluşan oksidatif stresin, zararlı biyokimyasal reaksiyonlara sebep olabileceği bildirilmiştir (227). EMR'nin oksidan/antioksidan denge üzerindeki etkisi, yapılan hayvan deneylerinde gösterilmiştir (210, 232, 242, 243). MA, elektronların enerji düzeylerini ve spin oryantasyonlarını değiştirebilir. Sonuç olarak, serbest radikallerinin aktivasyon ve konsantrasyonunu artırarak ömrünü uzatır. Çeşitli raporlarda EMR'nin, özellikle hidrojen peroksitin, mitokondrideki oksidatif solunumun bir ürünü olan ve çok toksik etkiye sahip serbest hidroksil radikaline dönüştüğü, katalitik bir süreç olan Fenton tepkimesi yoluyla hücre içi serbest radikallerini artırdığı tespit edilmiştir (244). Bununla birlikte, EMR'ye maruziyet neticesinde antioksidan mekanizmalarının etkinliğini yitirdiği ve mitokondriyal elektron transfer zincirinin de değişime uğradığı bildirilmiştir. Bu sayede, EMR serbest radikal bileşiklerinin ortadan kaldırılma hızlarını azaltarak, daha uzun süre etki etmelerine ve muhtemel zararlı etkilerini daha uzun süre ve daha kesin olarak gerçekleştirebilmelerine neden olmaktadır (245, 246).

Gümral ve ark. (210) ratlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında, 4 hafta boyunca günde 1 saat uygulanan 2.45 GHz EMR'nin, kanda oksidatif strese neden olduğunu göstermişlerdir. Aweda ve ark. (247) 2.45 GHz EMR'ye 8 hafta boyunca maruz kalan ratlarda, eritrosit oksidatif stres göstergelerinden lipid peroksidasyonunun anlamlı olarak artırdığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Mi-Ji Kim ve ark. (224) yaptıkları çalışmada, 2.45 GHz EMR'ye maruziyetin, rat

kalbindeki oksidan ve antioksidan sistem üzerine etkilerini incelemişlerdir. 2.45 GHz EMR'ye 6 gün süreyle günde 15 dakika maruz kalan ratların, kalp dokusunda serbest radikallerin arttığı, antioksidan sistemin zayıfladığını tespit etmişlerdir. On gün süreyle günde 30 dakika 900 MHz EMR uygulanan ratların deri örneklerinde, lipid peroksidasyonunda ve fibrozisde artma gözlenmiştir (241). Nazıroğlu ve ark. (228) 2.45 GHz EMR'ye maruziyet sonrası sıçan beyin dokusunda, oluşabilecek oksidatif stresi değerlendirdikleri çalışmalarında, 28 gün boyunca günde 1 saat EMR'ye maruz kalan ratlarda lipid peroksidasyon seviyesinde anlamlı bir artış gözlemezken, antioksidan vitaminlerden A, C ve E konsantrasyonlarının anlamlı olarak azaldığını gözlemlemişlerdir. Avendano ve ark. (248) da 60 gün boyunca günde 2 saat 2.45 GHz EMR'ye maruziyetin, melatonin de yer aldığı antioksidan düzeylerinde düşmeye neden olduğunu göstermişlerdir. Melatoninin, insan ve fare diş germlerinde, odontojenik hücrelerin hücresel fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alarak, diş gelişiminde ve büyümesinde fizyolojik bir rol oynadığı belirtilmiştir (249). Özellikle A ve C vitaminlerinin de diş gelişiminde hasara neden olduğu bildirilmesine rağmen (104, 105, 250, 251), çalışmamızda diş gelişimi ile ilgili herhangi bir bulguya rastlanmamıştır.

Hormonlar üzerinde de EMR'nin etkisi olduğu bilinmektedir. Serbest radikallerin oranının ve etkinliklerinin artması ile hücre yapısı ve organ fonksiyonlarında yan etkilerin ve organ hasarlarının görüldüğü bildirilmiştir. Araştırmalar, biyokimyasal parametrelerdeki değişimin, organ hasarın neticesinde gerçekleştiğini göstermektedir (252, 253). Aynı zamanda çevresel koşullar ve stresin de hormon seviyelerinde değişime neden olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda kontrol grubunu oluşturan ratlar, deney grubu ile aynı düzeneğe konulmuşlar ancak EMR'ye maruz bırakılmamışlardır. Diş gelişiminde hormonların da görev aldığı farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Mazhuga ve ark. (254), kortizolün, rat keser ve azı dişlerinde, protein ve glikoprotein sentezinin inhibisyonu ve çoğalan hücre miktarının azalması ile, diş ve kök büyümesinde gecikmeye neden olduğunu bildirmişlerdir. İşleri gereği farklı seviyelerde EMR'ye maruz kalan işçilerin, serum hormon seviyelerinin incelendiği bir çalışmada, yüksek seviyedeki EMR'nin kortizol ve adrenalın oranını önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (255). Yapılan bu çalışma insanlar üzerinde ve iş ortamında gerçekleştirildiğinden, standardizasyonun

sağlanması güçtür ve incelenen stres hormonlarının özellikle çevresel durumlara hassas olduğu da bilinmektedir. Koyu ve ark. (256)'nın ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 4 hafta boyunca haftada 5 gün, günde 30 dk 900 MHz manyetik alan uygulaması ile serum kortizol miktarında önemli artış gözlemiş ve bu değişimi EMR'ye bağlı ısı artışına bağlamışlardır. Aynı şekilde, 1.29 GHz EMR'ye maruziyet sonucu rektal sıcaklıkta, ortalama 1,7 °C ısı artışı olduğu tespit edilen maymunlarda da serum kortizol seviyesinde artış gözlenmiştir (257). 0,5 ve 0,7 °C ısı artışı olan maymunlarda ise serum kortizol seviyelerinde farklılık görülmemiştir. Diş gelişiminin tomurcuk ve çan safhalarının her ikisinde de rol aldığı ve doğrudan etkisi olduğu belirtilen (258, 259) serotonin hormonun da EMR'den etkilendiği bildirilmiştir. Aboul Ezz ve ark. (260), 1.8 GHz EMR'nin rat beyninin farklı bölgelerinde serotonin hormonu seviyelerinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmaların aksine, büyüme hormonu, kortizol, melatonin ve seratonin de yer aldığı hormon seviyelerinde, 435 MHz veya 900 MHz EMR'nin değişime neden olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (261, 262). Çalışma başlangıcında, diş gelişimini etkileyebilen belirli hormonların incelenmesi planlanmıştır. Çalışmamızda incelenen 7, 14 ve 21 günlük ratların kilo ortalamaları sırasıyla yaklaşık olarak 11, 17 ve 25 gr olarak ölçülmüştür. Ratlarda kan volümünün, ağırlıklarının yaklaşık 1/20'si olduğu belirtildiğinden, analiz yapılabilmesi için gerekli olan en az 3 cc'lik kan 7 ve 14 günlük ratlardan alınamamıştır. 21 günlük ratlardan alınan kan miktarı ise yeterli olmayıp, gruplar arasından karşılaştırma mümkün olamayacağından çalışma dışında bırakılmıştır.

Diş gelişiminde dental epitelyum ve mezenşim arasındaki etkileşimin önemini gösterilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, fare embriyosu diş germinden epitel ya da mezenşim izole edildiğinde, iki dokuda da hücresel değişimlerin gözlenmediği belirtilmiştir. Ancak, epitelyum ve mezenşim miliporlar içeren bir filtre ile fiziksel olarak ayrıldığında, dokularda hücresel değişimler görülebilmektedir (263). Diş gelişiminde yer alan epitel ve mezenşim arasındaki etkileşimin önemli olduğu ve bu etkileşimin yayılabilir sinyal yolları ile sağlandığı bu çalışma ile gösterilmiştir. Deneysel embriyolojik müdahaleler ve genetik yapısı değiştirilmiş fareler üzerinde yapılan çalışmalar, diş organogenezinde önemli sinyal yollarının her birinin rolünün araştırılmasına imkân sağlamaktadır. Bu sinyal yollarından BMP,

FGF, WNT, SHH ve EGFR'nin; dişin oluşacağı bölgenin ve diş şeklinin belirlenmesinde, hücre proliferasyonunda, diş gelişiminin lamina, tomurcuk, kep ve çan safhalarına geçişinde, terminal farklılaşmada ve diş erüpsiyonunda yer aldıkları gösterilmiştir (264-269).

Diş gelişiminde görev alan bu sinyal moleküllerinde, reseptörlerinde veya transkripsiyon kontrol sistemlerinde, genetik veya çevresel faktörler nedeniyle oluşan problemlerin, diş gelişimini olumsuz etkilediği belirtilmektedir. FGF reseptörü mutant farelerde, dental epitelyumun, kalınlaşması sırasında durduğu gösterilmiştir (266, 270). BMP, WNT veya SHH sinyallerindeki bozulma sonucunda ise, diş gelişiminin tomurcuk/kep safhasında durduğu gösterilmiştir (271-274). Çevresel atıklarda bulunan ve toksik olduğu kabul edilen dioksinin, EGFR sinyal molekülü reseptörlerinin eksprese edilmesini durdurduğu ve bağlanma kapasitesini veya yoğunluğunu azalttığı gösterilmiştir. Bu yol ile hücre gelişimini tomurcuk safhasında durdurduğu belirtilmiştir (275). Yapılan çalışmalarda, farelerde dioksine kronik olarak maruziyetin sürekli bir oksidatif stres cevabına neden olduğu (276) ve bu durumun diş gelişiminde yer alan gen transkripsiyonunu baskılayabileceği (277) bildirilmiştir. Dioksin gibi oksidatif strese neden olan EMR'nin de, diş gelişiminde etkili olabileceğini düşündüğümüz çalışmamızda, kontrol ve deney grupları arasında histolojik olarak farklılık olmadığı görülmüştür. *Porntaveetus* ve ark. (278), FGF ailesine ait sinyal moleküllerinden birinin eksikliğinin, bir diğer aile üyesi tarafından kompanse edildiğini ve normal diş gelişiminin devam ettiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde EMR'ye bağlı olarak, sinyal moleküllerinde oluşan hasarın şiddetli olmadığı ve bu hasarın diğer sinyal ağları ile kompanse edildiği düşünülebilir. Gruplar arasında farklılık görülmemesinin bir nedeni de, ratlarda diş gelişiminin insanlarla kıyaslandığında çok hızlı olması olabilir. Ratlardaki diş gelişimine bağlı olarak hayvanlar 40 gün süresince EMR'ye maruz bırakılmışlardır. Bu diş gelişim sürecinin insanlarda yaklaşık 10 yıl sürdüğü göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda kullanılan maruziyet süresinin çok kısa olduğu açıkça görülebilmektedir.

Diş gelişiminde etkili olan BMP sinyal molekülünün eksprese edilmesinin, dokuya serbest radikal olan H₂O₂ eklenmesi ile önemli düzeyde arttığı gösterilmiştir (279). Yapılan bir diğer çalışmada, serbest radikallere hassas transkripsiyon faktörlerinin, FGF ekspresyonunun indüklenmesinin düzenlenmesinde önemli bir rol

oynadığı gösterilmiştir (280). Ratlarda, ilerleyen yaş veya insülin direnci gibi durumlara bağlı olarak serbest radikallerde artışın, FoxO aktivasyonu ile kemik formasyonunun bozulmasına ve WNT sinyal yolunun azalmasına neden olduğu ve kemik rezorpsiyonunu desteklediği bildirilmiştir (281). NO veya reaktif nitro türlerinin de matriks metalloproteinazların pro-metastatik ve pro-anjiyolitik ailesinin sentezi ve aktivasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (282, 283). Martinez ve ark. (284) yaptıkları çalışmada embriyonik gelişim sırasında hayati bir rol oynadığı belirtilen SHH ile serbest oksijen radikalleri arasında bir ilişki olduğunu göstermişler. Serbest radikaller ve oksidatif stresin, diş yapısında yer alan birçok sinyal molekülünü etkilediği göz önüne alındığında, EMR'nin diş gelişiminin tüm safhalarında etkili olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda, diş ve çevre doku gelişiminin EMR'den etkilenmemesi, Peyman ve ark. (215)'nin gösterdiği gibi, aynı frekanstaki diğer dokulara göre diş dokusunu çevreleyen kemik dokusu elektriksel iletkenliğinin daha düşük olmasına bağlı olabilir. Araştırmacılar, dokunun elektriksel iletkenliğinin, içerdiği su oranı ile doğrudan ilişkili olduğunu ve bu nedenle kemik dokusu elektriksel iletkenliğinin daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Ratlarda diş gelişiminin farklı dönemleri, immünohistokimyasal olarak incelendiğinde de, benzer sonuçla karşılaşılmış, dokular arasında farklılık olmadığı görülmüştür.

Programlı hücre ölümü olan apoptozis sürecine, kaspaz isimli spesifik proteinazların aracılık ettiği bilinmektedir (285, 286). Yaptığımız immünohistokimyasal çalışmamızda da Kaspaz-3 reaksiyonu incelenmiştir. EMR kaynaklı oksidatif stresin, kaspaz aktivasyonu sonucu mitokondriyel yol ile apoptozisi başlattığı bilinmektedir (287, 288). Palumbo ve ark. (289) yapmış oldukları çalışmalarında telefon kaynaklı 900 MHz EMR'un lenfositlerde kaspaz-3 aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir. Üreme sistemi üzerinde de 2.45 GHz EMR'un apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (229, 290). Agustino ve ark. (291) ise aynı frekanstaki (2.45 GHz) EMR'un troit bezinde hücresel stres seviyelerinde değişim meydana getirmesine rağmen, apoptozis görülmediğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, EMR'nin apoptozisi indüklemeye kabiliyetinin hücre ve doku tipine bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Programlı hücre ölümü ile hücre proliferasyonu arasındaki zamansal ve mekansal dengenin normal organogenezis için de gerekli olduğu bilinmektedir. Diş

gelişiminde, özellikle erken morfogenezis dönemi olmak üzere dentinogenezis, amelogenezis ve diş sürmesini de içeren bütün safhalarda apoptozis görülmektedir (56). Diş gelişiminde görülen dental apoptoziste, kaspaz-3 enziminin görev almasından dolayı (57), gelişmekte olan azı dişlerinde EMR-kaynaklı apoptozisin bu metabolik yolla ilerlemesi muhtemeldir. Çalışmamızda, hamilelik ve laktasyon döneminde yaklaşık 6 haftada 7 gün ve günde 2 saat 3.21 W/kg gücünde 2.45 GHz dalga frekansında EMR'a maruz bırakılan ratların, diş ve çevre dokularında hücrel apoptozis, immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır. Apoptozis, kontrol ve manyetik alan grubunda, kaspaz-3 enziminin reaksiyonunu karşılaştırılmasıyla değerlendirilmiş ve anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Her iki grupta da diş ve çevre dokularda kaspaz-3 aktivitesi olduğunu görmemize rağmen, bu durumun normal büyüme/gelişim ile ilişkili olduğu düşünülmüştür.

Deney grubu ile kontrol grubu arasında, yapılan incelemeler sonucunda bir farklılık görülmemiş olması, günde iki saat 2.45 Ghz manyetik alana maruz kalmanın diş ve çevre dokuların gelişimi üzerine etkisinin olmadığını göstermektedir. Ancak elektromanyetik alana bağlı etkiler, kimyasal ve çevresel ajanlar gibi anlık değil birikimden oluşan kümülatif etkileşimlerdir. Enerji nakil hatları, elektrikli trenler, televizyon, bilgisayar ekranları, radyo, televizyon ve telsiz verici istasyonlarının antenleri, uydu iletişim sistemleri, mikrodalga fırınlar, GSM haberleşme sistemi (temel baz istasyonu anteni ve cep telefonu anteni), kablosuz haberleşme ağları, elektromanyetik dalga yayan sistem ve aletlerin bir kısmıdır (1). Görüldüğü gibi çok çeşitli kaynaklardan EMR yayılmaktadır. Dolayısı ile çalışmamızda uyguladığımız gibi izole bir ortamda yaşamın mümkün olmadığı günlük yaşantımızda, çalışmamızda kullandığımız frekanstan çok daha yüksek frekansta EMR'lere maruz kalındığı göz önünde bulundurulmalıdır.

5.2. 2.45 GHz EMR, Laktik Asit Bakterileri, MS ve Çürük Oluşumu

Çalışmamızda, EMR'nin konakçı üzerinde yapmış olduğu zararlı etkiye bağlı olarak, MS miktarı ve çürük oluşumu üzerine etkisi olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle 2.45 GHz EMR sadece dişlerin oluşum döneminde uygulanmıştır. Karyojenik bakteri olarak çalışmada *S. sobrinus* suşu kullanılmış ve bu suşun inokülasyonu sırasında ve sonrasında ratlar, EMR'ye maruz bırakılmamıştır.

EMR'ye maruziyet sonrası diş yapılarının bozularak, çürük oluşumuna yatkınlık sağlayabileceği öngörülse de, uyguladığımız EMR şiddeti ve süresinin diş yapılarında her hangi bir değişikliğe neden olmadığı, çalışmamızın birinci kısmında histolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde görülmüştür. Aynı şekilde, karyojenik bakterilerin daha hızlı inoküle olmaları ve çürük oluşumunun da, hızlı ve şiddetli olabileceğinin düşünüldüğü çalışmamızın ikinci kısmında, MS miktarı ve çürük oluşumu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

İnsanlarda en sık görülen oral enfeksiyon olan diş çürükleri, çürük yapıcı bakteriler, karbonhidratlardan zengin beslenme ve konakçı ile ilgili faktörlerin belirli bir zaman boyunca etki etmesiyle gelişmektedir (292). MS'ler, diş çürüğü etiolojisinde önemli bir role sahiptirler. *S. sobrinus* ve *S. mutans* türleri, insan diş plağında en sık bulunan MS'lerdir (125, 293). Chestnutt ve ark. (294) oral streptokokların kariyojenik potansiyellerini karşılaştırdıkları *in vitro* bir çalışmada, *E. faecalis*, *S. gordonii* ve *S. sanguis*'in kariyojenik potansiyelini düşük, *S. vestibularis*, *S. mutans* ve *S. sobrinus*'un kariyojenik potansiyelini yüksek bulmuşlardır. De Soet ve ark. (295) oral streptokokların farklı pH değerlerinde asit üretme kapasitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında ise, *S. sobrinus*'un *S. mutans*'dan daha asidojenik olduğu sonucuna varmışlardır. Bu bulguyu destekler nitelikte, ratlarda *S. sobrinus*'un taze izolatlarının, *S. mutans*'tan daha kariyojenik olduğu da bildirilmiştir (293). *S. sobrinus*'un, büyük miktarlarda asit üretebildiği, özellikle düşük pH değerlerinde, *S. mutans*'a oranla glukozdan daha hızlı ve fazla asit ürettiği ve ortamdaki şekerlerin büyük bir kısmını intrasellüler polisakkarit oluşturmaktan ziyade, asit üretimi için kullandıkları gösterilmiştir (293, 295). Bu nedenle çalışmamızda, ratlarda çürük oluşturmak amacıyla patojen mikroorganizma olarak *S. sobrinus* suşu kullanılmıştır.

Yapılan hayvan çalışmalarında, test bakterisinin inokülasyon biçimi ve süresi kariyojenite çalışmalarında farklılıklar göstermektedir. Skartveit ve ark. (296) deneyin başında tüm ratları oral olarak inoküle ettikten sonra, inokülasyona deneyin sonuna kadar, haftada iki kez olacak şekilde devam etmişlerdir. İkeno ve ark. (297) yedi gün boyunca, günde bir kere ratların içme sularına bakteri kültürü vererek inokülasyonu sağlamışlardır. Çalışmaların birçoğunda ise inokülasyon, deneyin ilk

iki veya üç günü boyunca, 24 saatlik karyojenik bakteri kültürü ratların içme sularına katılarak veya pamuk çubuklarla ratların oral kavitelerine sürülerek gerçekleştirilmiştir (298-300). Çalışmamızda da, inokülasyon pamuk çubuklar kullanılarak 24 saatlik bakteri kültürünün ratların oral kavitelerine ard arda üç gün sürülmesi ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ilk inokülasyon işleminden bir hafta sonra enfeksiyonun devam ettiği alınan örneklerle kontrol edilerek inokülasyonun sağlanmış olduğu belirlenmiştir.

Yiyecek tüketiminin, dişler üzerinde karyojenik floranın oluşması, devamı ve patofizyolojisinde önemli bir etken olduğu da bilinmektedir. Yiyecek tipi ve yiyecek alım şeklinin, çürüğün oluşmasında belirleyici faktör olduğu gösterilmiştir (301). Çalışmamızda, kısa süreli karyojenite çalışmalarında, daha çok tercih edilen % 56 sükröz içeren yem kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, diyetdeki sükrözün dişlerde *S. mutans*'ın kolonizasyonu için önemli olduğu belirtilmiştir (302). Frostell ve ark. (303), yaptıkları çalışmalarında çeşitli şeker ve karbonhidratların rat dişlerinde oluşturduğu çürük lezyonlarını ve dental plak miktarını incelemişlerdir. Çalışmada, ratlar gruplara ayrılarak sükröz, fruktoz, dekstroz, fruktoz ve dekstroz, maltoz, patates nişastası, sükröz ve patates nişastası içeren yemlerle beslenmişlerdir ve oral kavitelerine 'çürük yapıcı streptokok' inokule edilmiştir. Araştırmanın sonucunda, en fazla sayıda çürük lezyonu görülen ve en yoğun dental plak bulunan grubun, sükröz grubu olduğu belirtilmiştir. Huxley (302) diğer karbonhidratların sükröz yerine kullanılmasının ya da sükröz alımının kısıtlanmasının hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda *S. mutans*'ın implantasyonunu ve sonuçta çürük insidansını azalttığını ve sükrözün, glikoz ve nişastadan daha fazla plakta *S. mutans*'ın çoğalmasını desteklediğini belirtmiştir. Hayvanlarda ve çocuklarda fruktoz ve glukoz karışımının sükrözden daha az karyojenik olduğu da gösterilmiştir. McDonald ve Stookey (304) hamster ve ratlarda % 1,5 ve % 13,9 sükröz içeren tahıl gevreklerinin karyojeniteleri açısından bir fark bulamamışlardır. van Houte ve ark. (305) % 1-56 oranında sükröz içeren diyetle beslenen ratlarda, *S. mutans* 6715 kolonizasyonun gerçekleştiğini göstermişlerdir. Etkili en düşük inokulum miktarı tek seferde ağızdan 10^5 CFU/ml olarak bulunmuştur. Yüksek glikoz içeren diyetle beslenen ratlarda daha sık ve yaklaşık 5×10^8 CFU/ml düzeyinde mikroorganizma gerekli olduğunu ve 10^7 CFU/ml

den daha az inokülasyon yapıldığı zaman mikroorganizmaların dişlerden yavaş yavaş elimine olduğunu belirtmişlerdir.

Sükrozlu gıdaların tüketilme sıklığı, fiziksel formu ve mikroorganizmalarla ağızda bulunduğu toplam sürenin diyetin karyojenitesini belirlediği gösterilmiştir (302). İn vitro testlerde sağlanamayan koşullar ancak insan ve hayvan modellerinde sağlanabilmektedir. İnsan modellerinden elde edilen verilerin tüm insanlara doğrudan uygulanabilir olma özelliği vardır. Etik olarak, insanları karyojenik olduğu bilinen gıdalarla beslemek uygun değildir. Bunun yanı sıra, beslenme periyotları yapay olarak yönlendirilememektedir. Hayvan modellerinde ise bu kısıtlamalar yoktur. Ratlarda diş çürüğü oluşturmak üzere yapılan deneylerde, sulkus veya düz yüzey çürükleri oluşturmak için farklı şeker konsantrasyonlarını içeren birçok diyet formülasyonu geliştirilmiştir. Günümüzde çoğunlukla %56 oranında sükroz içeren diyet 2000 kullanılmaktadır. Bu diyetin, artan deney süresi ile, ratların ve hamsterlerin azı dişlerinde büyük lezyonlar oluşturdukları gösterilmiştir (306). Çalışmamızda, rat yemi talaşları kullanarak diyet 2000'e benzer oranda sükroz (%56) içeren yem hazırlanmıştır. Ratların kemirerek yiyebilmeleri için hazırlanan yemin sertleştirilmesi, besin değerleri göz önüne alınarak 50 °C'nin altındaki ısılarda etüvde yapılmıştır.

Çalışmamızda, kontrol ve deney gruplarındaki ratlar yemleri *ad libitum* olarak tüketmiştir. Deney süresince deney hayvanlarının diyet tüketimiyle birlikte ağırlıklarında olan değişiklikler önemlidir. Gruplar arasında homojen ve birbirine yakın artışların izlenmesi, belli hayvanlarda ani ağırlık düşüşü veya artışlarının dikkatle kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada grup içinde ve gruplar arasında düzenli ve birbirine paralel ağırlık artışları kaydedilmiştir. *Ad libitum* beslenme sağlanan çalışmalarda, aynı oranda kilo alan hayvanların benzer beslenme biçimine sahip oldukları ve deney sonuçlarının karşılaştırılabilir olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında, aynı çalışmada benzer diyetleri tüketen ve benzer kilo artışı gösteren hayvanların aynı diş çürüğü skorlarını göstermedikleri de saptanmıştır (301). Deney hayvanlarında diş çürüğü aktivitesi deney hayvanının cinsiyetine, yaşına, annenin yaşı ve diyetine, uygulanan suşa, enfeksiyon kaynağına ve deney süresinin uzunluğuna bağlı olarak farklılık gösterebildiği gibi deney

hayvanlarının yeme ve içme paternini etkileyebilecek bu faktörler kadar, diyetin besleyici ve fiziksel özelliklerinin de önemli olduğu bildirilmiştir (209).

Günümüze, diş çürüklerini tedavi etmek amacıyla, etken olan bakterilerin baskılanması veya yok edilmesi için; antibiyotik, flor, klorheksidin, CPP-ACP, ksilitol ve diğer yapay tatlandırıcılar, nano materyal içeren ağız bakım ürünleri, çay ağacı özü, misvak, nane, yeşil çay, manuka balı gibi çeşitli materyaller kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır (307, 308). Ancak, bu uygulamaların uzun süre kullanımları bazı istenmeyen etkilerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle, ağız florasında bulunan patojenik bakterilerle yer değiştirerek çürük önlemede probiyotik kullanımı, oral hastalıkların önlenmesinde etkili ve alternatif bir yaklaşım olarak düşünülmekte ve son yıllarda yapılan oral çalışmaların sayısı hızla artmaktadır.

Probiyozis, bakterioterapi ya da bakteriyel replasman tedavileri, patojen olmayan bakterilerin patojen mikroorganizmalar ile yer değiştirmesinin sağlanması ile enfeksiyonlarla mücadelede kullanılabilir potansiyel alternatiflerdir. Özellikle, bu amaçla kullanılan Laktobasillerin, diğer bakteriyolojik üyelerle etkileşimi sayesinde mikroflora dengesine katkıda bulunması, bu mikroorganizmaların çeşitli ekosistemler için önemli olduğunu düşündürmektedir (164, 309, 310).

Laktobasiller son zamanlarda oral sağlığın iyileştirilmesinde de önerilmektedir. Birçok çalışmada Laktobasillerin MS'ye ve periodontal patojenlere karşı inhibitör etki gösterdikleri rapor edilmiştir (311-315). Çalışmamızda, 2.45 GHz EMR'nin diş gelişimi üzerine etkisi olabileceği ve diş yapısını değiştirebileceği düşünülmüştür. Diş yapısındaki olası değişikliklerin, dişleri, çürük oluşumuna yatkın hale getirebileceğinin öngörüldüğü çalışmamızda, farklı ortamlardan izole edilmiş laktik asit bakterilerinin, inoküle edilen karyojenik mikroorganizmalara ve oluşturulacak deneysel diş çürüğüne karşı koruyucu etkilerinin değerlendirilmesi planlanmıştır. Çalışmamızın birinci kısmında, çalışmada kullandığımız histolojik ve immünohistokimyasal yöntemler sonucunda EMR'nin diş gelişimi üzerine bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Ancak bu durum, diş yapısında hiçbir değişimin olmadığı anlamına gelmemektedir. Çalışmamızın ikinci kısmında ise, kontrol ve deney grubu ratlarında, probiyotik suşlar *L. plantarum* 167. P6.5 ve *L. rhamnosus*

M17-10.2'nin, karyojenik mikroorganizmalar ve çürük oluşumu üzerine muhtemel etkileri incelenmiştir.

Probiyotiklerin, konak üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber lokal veya sistemik olarak konağın immün sistemini etkilediği düşünülmektedir (316). Probiyotik mikroorganizmalar yenidoğanlardan itibaren yaşlılara kadar tüm yaş gruplarında kullanılabilir; bazı GİS hastalıklarında, ürogenital hastalıklarda, solunum sistemi rahatsızlıklarında, alerjik hastalıklarda ve kanser tedavisinde destekleyici etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (317-319). Probiyotik mikroorganizmaların, diş çürüğü, periodontal hastalıklar, oral mukozal lezyonlar ve ağız kokusu gibi ağız hastalıklarına karşı yararlı etkiler gösterdiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (165, 177, 183, 189, 320). Metabolik aktivite (321), ko-agregasyon (322), büyüme inhibisyonu (323) ve bakteriosin üretimi (320) üzerine yapılan çalışmalarda, tüm oral mikrobiyal ekolojinin düzenlenmesinde probiyotik bakterilerin potansiyel rolü olduğu bildirilmiştir. Probiyotik bakterilerin, oral patojenlere karşı en önemli etki mekanizmalarını oral yapılara bağlanma ve tükürük-biofilm formasyonunu değiştirmeleri ile gerçekleştirdikleri düşünülmektedir (324). Diş yüzeyindeki pelikül yapısında bakterilerin bağlanmaları için özel reseptörlerin bulunduğu ve probiyotik bakterilerin pelikül yapısında bazı değişiklikler meydana getirerek bu reseptörlere bağlanan bakteri türlerinin değiştiği ileri sürülmüştür. *S.mutans*'ın pelikula bağlanması için gerekli olan esas protein, bir tükürük proteini olan aglütinin gp340'tır. Probiyotik bakterilerin bu proteine bağlanmasının veya bu proteinin miktarında azalmaya yol açmasının, diş yüzeyine *S.mutans* tutunumunu azalttığı gösterilmiştir (202). Probiyotiklerin, patojenlere karşı etki mekanizmalarında, oral yapılara bağlanabilme özelliklerinin önemli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle son yıllarda yapılan çalışmalarda da, probiyotik bakterilerin tutunumu konusuna ağırlık verilmektedir.

Hidrofobik olan bağırsak mukozası ile hidrofobik bakteriyel yüzey arasındaki etkileşim, bakteri tutunumunun meydana gelmesinde önemlidir. Bağırsak mukozasının hidrofobik olmasının nedeni olan mukus, aynı zamanda tükürükte de bulunduğu için, oral dokulara tutunumda da aynı mekanizmanın rol alabileceği ileri sürülmüştür (325). Bakterilerin, mikroorganizma ve konak arasındaki temasın ilk biyolojik ögesi olan ve tüm ağız içi yüzeylerde pelikül oluşturan tükürüğe

bağlanabilmeleri önemlidir. Tükürük pelikülüne iyi bağlanabilen probiyotik bakterisinin, oral kavite içerisine kolonize olabileceği düşünülmektedir (181). Çalışmamızda kullandığımız, *L. rhamnosus*'un tükürük ile kaplı diş yüzeylerine en iyi tutunum gösterdiği, *L. plantarum*'un ise tükürük bulunmayan diş yüzeylerine en iyi tutunum gösterdikleri belirlenmiştir. Bu nedenle, probiyotik bakterilerin MS'lara ve diş çürüğü oluşumuna karşı etkilerinin incelendiği çalışmamızda, bu iki probiyotik suşu kullanılmıştır.

Laktik asit bakterilerinin, ağızdaki yumuşak ve sert dokulara tutunumunda bakteriye özel ve özel olmayan mekanizmaların rol oynadığı bildirilmiştir (326). Laktobasillerin, tükürük proteinlerine bağlanarak, epitelyum hücrelerine tutunarak veya tutunacakları bölgede bulunan diğer bakterilere bağlanarak oral dokulara tutundukları gösterilmiştir (327). Diş yüzeyine tutunumda, fiziksel etkileşimler gibi kimyasal etkileşimlerin de rol aldığı öne sürülmektedir. Mine yapısındaki hidroksiapatitin, Ca^{+2} iyonları ile bakteri hücre yüzeyindeki negatif iyonlar arasında meydana gelen etkileşim, diş yüzeyine tutunmayı kolaylaştırmaktadır (328). Ayrıca, aynı kolonizasyon bölgesi için, bakterilerin rekabete girmesinin de bakteri tutunumunu arttırıcı etkiye neden olduğu belirtilmektedir. Yapay olarak oluşturulan ağız ortamında, *L.rhamnosus* ve *L.plantarum*'un tek başına oral dokulara düşük düzeyde tutunduğu, ortama *Actinomyces* türleri eklendiğinde, tutunmanın *L.rhamnosus*'ta 7- 20 kat ve *L.plantarum*'da ise 4-7 kat arttığı, ortama ilave edilen *S.mutans*'ın da tutunmayı arttırıcı etkisinin olduğu, ancak *V.parvula*'nın tutunmayı etkilemediği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (329).

Biyofilm oluşumunda diğer bakterilere tutunabilen bakterilerin, diğer bakterilere göre uzaklaştırılabilirlik yönünden daha avantajlı oldukları bilinmektedir (330). MS'ın oral mikrofloradan uzaklaştırılmasında, normal mikroflorada herhangi bir değişim meydana getirmeden, MS ve probiyotik suşlar arasındaki seçici etkileşimin de etkili olduğu ileri sürülmektedir (331). Sekiz laktobasil suşunun ko-agregasyon yeteneklerinin incelendiği çalışmada, bütün probiyotik suşların farklı MS suşlarına bağlanabilme yeteneği olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız *L. plantarum* ve *L. rhamnosus* suşlarının orta düzeyde ko-agregasyon gösterdikleri belirtilmiştir. Ancak çalışmada kullanılan probiyotik suşlar bağırsak florasından izole edilmiştir (332). Diş yüzeyine en iyi tutunum gösteren laktik asit bakterisini

belirlemek amacıyla yaptığımız önceki çalışmamızda da (218), oral kaviteden izole edilen *L. rhamnosus*'un, diğer laktik asit bakterilerine göre *S.mutans*'ın tutunumunu inhibe ederek kendisinin yüksek düzeyde bağlandığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda, MS'ler üzerinde en fazla inhibisyon etkisini normal ağız florasından izole edilen *L. rhamnosus* göstermiştir. Fermente et ürününden izole edilen *L. plantarum* verilen gruplarda MS sayımlarında daha az bir düşüş görülmüştür. Probiyotik olarak kullanılan iki laktobasil türü arasında görülen bu farklılığın, izole edildikleri ortama bağlı olduğu düşünülebilir. Bu konuda yapılan çalışma sayısı az olmasına rağmen, önceki çalışmalarda da benzer bulgular görülmüştür. Çalışmalarda, çocukların oral kavitesinden izole edilen laktobasil suşlarının, fermente et ürününden izole edilen suşlara göre diş yüzeyine daha yüksek seviyelerde bağlandığı gösterilmiştir (218). Bu görüşü destekleyen başka araştırmacılar da mevcuttur (195, 196). Simark-Mattsson ve ark. (312), oral laktobasillerin (*L. rhamnosus*, *L. paracasei* ve *L. plantarum*) sağlıklı genç bireylerde *S. mutans*'ı doğal olarak inhibe edebildiğini göstermişlerdir. Oral kaviteden izole edilen laktobasil suşlarının, insanlarda enflamatuar sitokinlerden tümör nekroz faktörünü aktive ederek bağışıklık sistemini düzenleyici etki gösterdikleri de bildirilmiştir (333, 334). İnhibisyon etkisinin belirli suşlara özgü olabileceği de belirtilmektedir (312). Comelli ve ark. (171), yirmi üç tanesi süt ürünlerinden ve 5 tanesi oral kaviteden izole edilmiş olan laktik asit bakterilerinin tükürükle kaplı hidroksiapatite bağlanmasını incelemişler ve *S.thermophilus* NCC1561 ve *Lactococcus lactis* NCC2211'in tükürükle kaplı hidroksiapatite yüksek düzeyde bağlandığını ve bağlanma bölgeleri ve besin maddesi için *V.dispar* ve *A.naeslundii* ile rekabete girerek bu mikroorganizmaları inhibe ettiklerini göstermişlerdir. Diğer yandan, *L. lactis* NCC2211'in biyofilmdeki diğer mikroorganizmaları modifiye ettiği, özellikle *S.sobrinus* ve *S.oralis*'in yoğunluğunu azalttığı bildirilmiştir. *L. lactis* NCC2211'in, özellikle ağız içerisine ilk kolonize olan türler arasında yer alan *S.sobrinus*'un bağlanma bölgelerine bağlanması ile bu iki bakterinin tükürük reseptörlerinin aynı olabileceği düşünülmüştür.

Geçmişten günümüze kadar yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin ağızdan uygulanmasında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Probiyotik bakteriler, yiyecek ve içeceklere ilave edilerek, emzik, pipet aracılığı ile tablet, kapsül, toz formunda veya

damla şeklinde uygulanabilmektedir (9, 177). Sıcaklık, nem ve hava ile temas etmeleri halinde canlılıklarını kaybetme tehlikesi ile karşı karşıya kalan laktik asit bakterilerinin, soğuk ve havasız ortamda saklanan süt ürünlerine ilavesi, canlılıklarını tehdit etmeyen bir saklama ortamı oluşturmaktadır. Çiğneme sırasında tükürük akışını uyardığı bilinen peynirin, içeriğindeki kalsiyum, fosfor ve kazeinfosfopeptidler nedeniyle de diş çürüğünü önleme özelliği olduğu bilinmektedir (216). Peynirin, ağız içerisinden daha uzun sürede temizlendiği için probiyotik ilavesi için süttten daha uygun bir gıda maddesi olduğu düşünülmüştür. Bunun yanında dondurmanın soğuk ortamda muhafaza edilmesinin, probiyotik kültürlerin canlılığını korumada avantaj sağlayacağı da belirtilmiştir (10). Çalışmamızda, ratların *ad libitum* beslenme yapmaları nedeni ile yemlerine veya sularına probiyotik bakteri eklenmesi durumunda alınan miktarın kontrol edilemeyeceği düşünülerek, her ratın aynı miktarda probiyotik bakterisi aldığından emin olmak için, probiyotik bakteriler sıvı formda damlatılarak uygulanmıştır. Bununla birlikte, çalışmamızda kullandığımız probiyotik solüsyonlar, günlük olarak taze pasajlanmış suşlardan hazırlanmıştır. Böylece, çevresel faktörler nedeniyle bakteri canlılığında meydana gelebilecek riskler en az düzeye indirilmiştir.

Sağlığa yararlı bir probiyotik bakterisi olarak bilinen *L. rhamnosus*, sü krozu fermente etmemesine rağmen sü kroz eklenmiş besiyerinde sü kroz eklenmemiş besiyerine göre daha çok üremektedir. Düşük pH'nın *L. rhamnosus*'un üremesini ve mikrokozmların içine kurulumunu düzenlediği gösterilmiştir. LGG, doğrudan diğer bakterilerin yapışmasını/üremesini baskılayabilmektedir (202, 335) ve zararlı bakterilerle konakçı için yarışabilmektedir (336). *L. rhamnosus* ile birlikte, *L. plantarum*'un da düşük pH ortamda antimikrobiyal içerik ürettikleri bilinmektedir (337). LGG suşunun çürük yapıcı bakteriler üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, LGG'nin sü krozu fermente etmediği ve bu sebeple çürüğe neden olmadığı ve pH 5'in altında *S.sobrinus* üzerinde inhibe edici olduğu bildirilmiştir (179). Nase ve ark. (175), LGG ATCC53103 bakterisi içeren sütlerin çocuklarda diş çürükleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak LGG'nin çürük önleyici etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu etkilerin sebepleri olarak, LGG'nin sü kroz ve laktozu fermente edememesi, plaktaki Ca miktarını artırması ve çürük yapıcı bakterilerle yarışması gösterilmiştir. Ahola ve ark. (176), genç yetişkin deneklerin, LGG ATCC

53103 ve *L. rhamnosus* LC 705 içeren peynirlerin kısa dönem tüketimi sonrası tükürükteki mikrobiyal değişimlerini incelemişlerdir. LGG' nin pH 5'te *S. sobrinus* üzerinde inhibe edici etkisi olduğu ve LGG' nin sücrozu fermente edemediği için çürüğe neden olmadığı bildirilmiştir. Wei ve ark. (338), tükürükle kaplı hidroksiapatit yapının üzerine LGG' nin tutunabildiğini ve bu sayede çürükleri engelleyebildiğini belirtmişlerdir. Probiyotik bakterilerin etki gösterebilmesi için, bu bakterilerin ağız içindeki yüzeylere tutunması ve biyofilm yapısına girmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Doğal ağız florasından izole edilen laktobasillerin, streptokokları inhibe etme durumlarının, in vitro olarak değerlendirildiği bir çalışmada, en sık izole edilen laktobasil türlerinin *L.plantarum*, *L.paracasei* ve *L.rhamnosus* olduğu belirlenmiştir. *S.mutans* inhibisyonunda etkili olan laktobasiller arasında etkinlik sırasına göre *L.paracasei*, *L.palantarum* ve *L.rhamnosus*'un ilk üçü paylaşmakta olduğu bildirilmiştir (312). Petersson ve ark. (188), *L. rhamnosus* LB21 ve flor içeren sütlerin kök çürükleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Hem flor hem probiyotik içeren sütlerin yumuşamış çürük yapısını daha etkili bir şekilde tersine çevirebildiğini bildirmişlerdir. Florun çürük önleyici özelliği bütün diş hekimleri tarafından bilinmektedir. Ancak doz miktarı arttığında özellikle çocuklar için istenmeyen etkilere neden olduğu da görülmektedir. Buna karşın, probiyotiklerin yenidoğanlardan itibaren verilmesinin pozitif etkileri olduğundan ve bu konudaki çalışma sayısı az olduğundan, çalışmamızda flor tercih edilmemiş, probiyotik kullanılması tercih edilmiştir. Keller ve ark. (323), *L. plantarum* 299v, *L. plantarum* 931, LGG, *L. rhamnosus* LB21, *L. paracasei* F19, *L. reuteri* PTA5289, *L. reuteri* DSM17938, *L. acidophilus* La5 suşlarının *S. mutans* ile etkileşimini in vitro olarak incelemişlerdir. Sonuç olarak, tüm probiyotik bakterilerin *S. mutans* sayısını azalttığı görülmüştür. Ancak, her bir probiyotik suşunun etkisinin farklı olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışma sonuçlarımızda da bu bulgularla uyumlu olarak *L. rhamnosus* verilen gruplarda zaman içerisinde MS sayılarının açık bir şekilde azaldığı görülmüştür. Benzer olarak, *L. plantarum* verilen gruplarda da kontrol gruplarına göre daha fazla azalma olduğu belirlenmiştir. Aylık azalma oranlarına bakıldığında da *L. rhamnosus* verilen gruplarda önemli ölçüde azalma olurken, kontrol gruplarında bu oranlar beklenildiği gibi artmıştır. Özellikle bu farklılığın 8. hafta sonunda görülmüş olması, probiyotiklerin uzun sürede etkinlik gösterdiklerini düşündürmektedir. Gruplar

arasında MS sayım sonuçları arasında istatistiki bir sonuç çıkmamış olması, daha geniş denek gruplarıyla çalışılarak, bunun daha net ortaya konulabileceğini düşündürmüştür.

Araştırmacılar, peynir içerisine LGG ATCC 53103 ve *L.rhamnosus* LC 705 ilave etmişler ve bu peynirin tüketimi ile *S.mutans*, maya ve *lactobacillus* miktarındaki değişimi incelemişlerdir (176). Çalışma, deney ve kontrol grubu olarak iki gruba ayrılan, 18-35 yaş aralığında 74 katılımcı ile hazırlık, uygulama ve tedavi sonrası olmak üzere, her biri 3 haftadan oluşan üç periyotta tamamlanmıştır. Her periyotta katılımcılardan tükürük örnekleri alınarak değerlendirmeler yapılmıştır. Deney grubuna 15 gr deney peyniri ve kontrol grubuna plasebo peynir günde 5 defa verilmiştir. Uygulama döneminde deney grubunda *S.mutans* miktarında azalma olduğu ancak bu azalmanın anlamlı olmadığı bildirilmiştir. Uygulama periyodunun bitmesinden 3 hafta sonra alınan tükürük örneklerinde ise, deney grubunda *S.mutans* düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar, 3 hafta gibi kısa bir sürede, iki grup arasında *S.mutans* miktarında belirlenen farklılığın yanıtıcı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bu çalışmaya benzer bir çalışmada da katılımcılara, *L.paracasei* GMNL-33 içeren tabletler, 2 hafta boyunca günde 3 defa verilmiş ve tükürükteki *S.mutans* ve laktobasil sayısı ile tükürüğün tamponlama kapasitesindeki değişiklikler başlangıçta, uygulama döneminin sonunda ve uygulama döneminden 2 hafta sonra değerlendirilmiştir. Uygulama döneminin sonunda, deney grubunda *S.mutans* seviyesinde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, uygulamanın bitmesinden 2 hafta sonra alınan tükürük örneklerinde *S.mutans* seviyesinde anlamlı bir azalma olduğu belirtilmiştir (339). Önceki çalışmamızda, bu çalışmalardan farklı olarak uygulama periyodunun ortası olan 5. ve 6. günlerde ve son günde katılımcılardan tükürük örnekleri alınmış, *S.mutans* miktarındaki değişiklik belirlenerek yorumlanmış ve hem çalışmanın ortasında hem de sonunda çalışma grubunda *S.mutans* miktarında anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Bu sonucun, çalışma grubunun, floranın daha kısa sürede etkilendiği bir yaş grubundan oluşması ve probiyotik ürünün düzenli olarak uygulanmasına bağlı olduğu düşünülmüştür (218). Çalışma süresince MS sayımı düzenli olarak yapılan çalışmamızda da, özellikle 8 hafta sonunda probiyotik bakteri uygulanan ratlarda MS oranındaki düşüşün belirgin olduğu görülmüştür. Bu bulgu

probiyotik bakterilerin etkinliğinin zamanla arttığı gösterildiği çalışmalarını desteklemektedir. Ancak çalışmamızda laktik asit bakterilerinin çürük gelişimi üzerindeki etkisinin de değerlendirilmesi amaçlandığından, çalışma 8. haftada sonlandırılmış ve bu nedenle daha uzun dönem etkileri incelenmemiştir. Probiyotik solüsyonlarının günlük uygulanması nedeniyle yanıtıcı sonuçlar vereceği düşünülerek çalışma süresince laktobasil sayımlarının yapılamamış olması çalışmanın bir eksikliği olarak görülebilir.

Deney hayvanlarında diş çürüğü verilerini değerlendirirken, birçok skorlama metodu geliştirilmiştir. Bunlar farklı terimlerle kavitsiyon miktarını açıklamakla kalmayıp, ayrıca farklı parametreleri de ölçmektedir. Green ve Hartles (340) ratların dişlerinde çürüğü değerlendirmek için önce rat çenelerini formol-salin (% 10 formalin, % 0,9 NaCL) karışımında fikse etmişler daha sonra kesit alıp Schiff boyası ile boyayarak çürük skorlamasını yapmışlardır. Rat dişlerinde çürük skorlamasında kullanılan en yaygın metotlardan birisi ise Keyes skorlama metodudur (219). Bu sistem, lezyonların bir düzlemdeki çürük uzanımını mikroskop altında gözle değerlendirme ve penetrasyon derinliğini de mine, yüzeysel dentin, orta derecede dentin ve derin dentin lezyonları şeklinde dört başlık altında kaydetmeye dayanmaktadır. Ayrıca mine ve dentindeki lezyonların genişliğinin tahmininde en standardize metot olmuştur. 1981 yılında Larson (36), Keyes metodunun kısa süreli çalışmalarda uygun olmadığını ileri sürerek modifiye etmiştir. Günümüzde, modifiye edilen bu metot her yerde uygulanabilen, en çok kullanılan, masrafsız ve en standardize metotlardan biri olarak kullanılmaya devam etmektedir. Bu çalışmada da bu nedenle Larson tarafından modifiye edilen Keyes skorlaması kullanılmıştır.

İnsanlar üzerinde yapılan değerlendirmelerde, MS enfeksiyon seviyesi ile çürük miktarı ve derinliği arasında önemli düzeyde bir ilişki olduğu belirtilmiştir (341-343). Hayvan deneyleri sonuçlarında da diğer tüm koşullar standardize edildiğinde bu ilişki açık bir şekilde görülmektedir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde MS miktarı ile sulkus çürüğü arasında önemli düzeyde bir korelasyon olduğu görülmüştür. Fakat düz yüzey çürüğü ile MS düzeyi arasında doğrusal bir ilişki belirlenmemiştir. Bu durum, önceki çalışmalarda da öne sürüldüğü gibi düz yüzey çürüklerinin hatalı yorumlanmış olmasına bağlı olabilir (344).

Bu çalışmada, kullanılan laktik asit bakterilerinin çürük oluşumu üzeri etkileri incelendiğinde; probiyotik uygulanmayan gruplara göre, A2 grubu dışında *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* uygulanan gruplarda düz yüzey çürüğü oranlarının daha az olduğu görülmüştür. Düz yüzey çürüğü şiddetleri açısından da benzer bir durum söz konusudur. Düz yüzeyde sadece A2 grubuna ait iki ratta Dm düzeyinde çürüğe rastlanırken, Dx düzeyinde çürüğe rastlanmamıştır. Bu durum literatürde belirtildiği gibi karyojenite çalışmalarında düz yüzey çürüklerinin çok az izlenmesine bağlı olabilir (345). Bunun yanında sulkus çürüğü oranları değerlendirildiğinde, probiyotik uygulanan gruplarda çürük oranlarının daha az olduğu görülmüş, B1 grubu ile karşılaştırıldığında bu farklılığın *L. rhamnosus* uygulanan gruplarda anlamlı olduğu görülmüştür. Probiyotik verilen ve verilmeyen gruplar arasında çürük şiddetleri açısından da benzer bir durum söz konusu iken, çürük şiddeti skorlarındaki bu farklılık sadece *L. rhamnosus* verilen A3 grubu ile B1 grubu arasında mine düzeyinde anlamlı olmuştur. Bu farklılığın sadece mine düzeyinde görülmesinin, sürenin sınırlı tutulmasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. İki farklı kaynaktan elde edilen laktobasillerin, ratlarda diş çürüğünde azalma üzerine etkilerinin aynı olmadığı görülmektedir. Özellikle *L. rhamnosus*'un sulkus çürüklerinde belirgin bir azalmaya neden olması, MS sayım sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

Probiyotik bakterilerinin, çürük gelişimi üzerine etkilerinin değerlendirildiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (187, 188, 346). MS üzerine etkilerinin in vivo olarak incelendiği çalışmaların çoğunda da çalışma sürelerinin kısa olduğu görülmektedir. Bu çalışmalardan birinde, probiyotiklerin erken dönemde uygulanmasının MS'nin oral kolonizasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır ve olumlu yönde etkisinin olduğu belirtilmiştir (346). Bir başka çalışmada da bebeklere emzirme döneminde (4-13 aylar arası) *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* F19 suşu verilmiş ve çocuklar 3, 6 ve 9 yaşlarında çürük açısından değerlendirilmiştir. Gruplar arasında çürük prevalansının etkilenmediği görülmüştür (332). Erken infant döneminde probiyotik bakteriyel maruziyetin daha etkili ve faydalı olduğu (hayatın ileri dönemlerinde maruziyete göre) kavramı hala diş hekimliğinde tam olarak ele alınmış bir konu değildir. Çürük ile ilişkili mikroorganizmalara, oral florada daimi olarak kolonize olmadan önce müdahale etmenin daha kolay olabileceği belirtilmiştir. Bu nedenle probiyotik uygulamalarının erken dönemde

uygulanmasının daha faydalı olabileceği bildirilmiştir (10). Özbey (347), probiyotik suş olarak *L. reuteri* kullandıkları çalışmada, *S. mutans* inokülasyonundan önce ya da sonra probiyotik inokülasyonunun *S. mutans* sayısında ve *L. reuteri*'nin kolonizasyonunda anlamlı bir farklılık oluşturmadığını göstermiştir. Bu çalışma, Tahmourespour ve ark. (348)'nın ve Comelli ve ark. (171)'nin yapmış oldukları çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda da, süttten yeni kesilmiş yavru ratlarda, MS ile ilk karşılaşılın bu dönem taklit edilmeye çalışılmış ve yüksek karyojenik diyet altında MS ve çürük oluşumu üzerine laktik asit bakterilerinin etkileri değerlendirilmiştir.

Ratlarda, özellikle deney ve kontrol grubuna ait hayvanlara uygulanan işlem farkları minimal olduğunda, çürük lezyonlarının gösterilmesinin bazen 200 güne kadar uzayabileceği, parotis bezi kanalının ligatürlenmesi ve diğer büyük tükürük bezlerinin çıkarılması sonucu deney süresinin yalnızca üç haftaya inebileceği belirtilmiştir (349). Larson (36), hayvanlar üzerinde yapılan karyojenite çalışmalarında gereksiz yere hayvan ölümlerinin önüne geçilmesi amacıyla ön çalışma yapılarak deney süresinin belirlenmesini önermiştir. Araştıracının önerdiği gibi biz de bir ön çalışma yaparak, farklı sürelerde dekapite edilen ratlarda çürük oluşumunu değerlendirdik. Çalışmamızda, yapmış olduğumuz ön çalışma sonuçları göz önüne alınmış ve çalışmamızın ikinci kısmında deney süresi sekiz hafta olarak uygulanmıştır.

Çalışma sonuçlarımız, kullanılan laktobasillerin ve özellikle ağız mukozasından izole edilen *L. rhamnosus*'un, in vivo olarak zamanla MS sayısında azalmaya neden olduğunu ve ratlarda diş çürüğü gelişimini baskıladığını göstermektedir. Probiyotik bakterilerin oral kavitede kalıcı olarak kolonize olamadıkları göz önünde bulundurulduğunda, düzenli olarak, sıklıkla günlük probiyotik alınmasının diş çürüğü gelişiminin durdurulmasında etkili bir seçenek olduğu görülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

6.1. Birinci Bölüm; EMR ve Gelişim

1. Çalışmamızda elektromanyetik alana maruz kalan ratlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, makroskopik olarak gelişimsel herhangi bir farklılık görülmemiştir.

2. Çalışmada kullandığımız histolojik ve immünohistokimyasal yöntemler sonucunda, EMR'nin diş ve çevre dokuların gelişimi üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür.

3. Bu çalışma bize, hamilelik ve laktasyon döneminde, günde iki saat 2.45 GHz manyetik alana maruz kalmanın, ratlarda diş ve çevre dokuların gelişimi üzerine etkisinin olmadığını göstermektedir. Ancak bu sonuç, kullanmış olduğumuz çalışma dizaynı (EMR süresi, şiddeti) ve analiz yöntemlerinden elde edilmiş olup, günlük yaşantımızda maruz kaldığımız EMR'nin tamamen zararsız olduğu anlamına gelmemektedir.

4. İnsanların manyetik alanlardan tamamen korunabilmeleri günümüz koşullarında çok kolay olmamaktadır. Günümüzde kablosuz ağ kullanımının da artmış olması ve kullanım süreleri göz önüne alındığında daha uzun süreli benzer çalışmaların sayılarının arttırılması gerektiği görülmektedir. Toplum bu etkiler hakkında aydınlatılmalıdır.

6.2. İkinci Bölüm; EMR, Laktik Asit Bakterileri, Mutans Streptokoklar ve Çürük oluşumu

1. Patojen mikroorganizma ve karyojenik diyet verilmeyen grup haricinde, EMR'ye maruz kalan ve kalmayan gruplar arasında mikroorganizma sayısı ve çürük skorları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

2. Doğal ağız florasından izole edilen *L. rhamnosus* ve fermente et ürününden izole edilen *L. plantarum* bakteri suşlarının, mutans streptokoklar üzerine etkilerinin değerlendirildiği çalışmamızda, kontrol grubuna göre her iki probiyotik suşunun da, mutans streptokok sayımlarında daha fazla düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. En fazla düşüş, ağız florasından izole edilen probiyotik suş gruplarında görülmüştür.

3. *L. rhamnosus* uygulanan tüm gruplarda, 8 hafta sonunda ölçülen mutans streptokok oranlarının, 4 hafta sonundaki oranlara göre önemli derecede düşük olduğu görülmüştür.

4. Ratlarda, toplam mutans streptokok sayımları ile düzyüzey çürükleri arasında ilişki bulunmazken, sulkus çürüğü arasında güçlü pozitif bir ilişki olduğu görülmüştür.

5. Mutans streptokok sayım sonuçlarına benzer olarak, rat azı dişlerinde en az çürük, *L. rhamnosus* uygulanan gruplarda görülmüştür, ancak istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır.

6. Çalışma sonuçlarımız, özellikle doğal ağız florasından izole edilen laktik asit bakterilerinin, mutans streptokoklar ve çürük oluşumu üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermektedir. Probiyotik bakterilerin etkilerini zamanla gösterdikleri sonucuna da varılmaktadır.

7. Ağız ve diş sağlığı üzerine, doğal ağız florasından izole edilen ve bu çalışmada da etkinliğinin daha fazla olduğu görülen probiyotik suş gruplarıyla yapılacak çok sayıdaki yeni çalışmalarla, çocuklara zarar vermeyecek ve mutans streptokok sayılarını düşürecek yeni ürünleri önermek mümkün olabilecektir.

ÖZET

2.45 GHz Elektromanyetik Radyasyonun, Diş Gelişimi ve Çürük Oluşumuna Yatkınlık Üzerine Etkisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Koruyuculuğunun İncelenmesi

Bu çalışmanın amacı, doğum öncesi ve sonrası dönemde maruz kalınan 2.45 GHz elektromanyetik radyasyonun (EMR), ratlarda diş gelişimi ve çürük oluşumuna yatkınlık üzerine etkisinin araştırılması ve laktik asit bakterilerinin mutans streptokoklara (MS) ve çürük oluşumuna karşı koruyuculuğunun incelenmesidir.

Çalışmamızda, 24 adet hamile wistar albino rat, deney ve kontrol grubu olarak ayrılmıştır. Deney grubu, hamilelik dönemi ve bu ratlardan elde yavrular ile birlikte laktasyon dönemi süresince 2.45 GHz EMR'ye maruz bırakılmıştır. Her iki gruba ait 8 yavru rattan; 7, 14 ve 21 günlük olduklarında çene örnekleri alınarak, dişlerin gelişimi, histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Takiben, kalan yavrular 7 gruba ayrılmıştır: A1 ve B1 grubu, karyojenik diyet; A2 ve B2 karyojenik diyet ve *L. plantarum* 167.P6.5; A3 ve B3, karyojenik diyet ve *L. rhamnosus* M17-10.2; ve B4, normal diyet. B4 grubu dışındaki yavrular, *Streptococcus sobrinus* suşu ile enfekte edilmişlerdir. 8 haftalık çalışma süresince, MS sayımları gerçekleştirilmiş ve çalışma sonunda çürük lezyonları değerlendirilmiştir.

Çalışma sonuçlarında; makroskobik, mikroskobik ve immünohistokimyasal olarak incelenen çene örneklerinde, gelişim ve apoptotik aktivite açısından önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür.

L. rhamnosus uygulanan tüm gruplarda, MS oranlarının düşük olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). MS miktarı ile sulkus çürüğü skorları arasında güçlü pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir ($r = 0.507$). B4 grubu haricinde, gruplar arasında mikroorganizma sayısı ve çürük skorları açısından farklılık görülmemiştir ($p > 0.05$).

Sonuç olarak, günde iki saat 2.45 GHz EMR'ye maruz kalmanın, ratlarda diş gelişimi ve çürük oluşumu üzerine etkisinin olmadığı, özellikle doğal ağız florasından izole edilen laktik asit bakterilerinin, MS ve çürük oluşumunu azalttığı gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: 2.45 GHz EMR, diş gelişimi, diş çürüğü, laktik asit bakterileri, mutans streptokoklar, probiyotikler

ABSTRACT

Effects of 2.45 GHz Electromagnetic Radiation on Development of Teeth and Predisposition to Caries Formation and Investigation of Protective Effects of Lactic Acid Bacteria

The aim of this study is to evaluate developmental effects of prenatal and postnatal exposure of 2.45 GHz electromagnetic radiation (EMR) on teeth and predisposition to caries formation and protection of lactic acid bacteria on mutans streptococci (MS) and caries formation.

24 pregnant wistar albino rats were divided into two groups as experiment and control. Experiment group was exposed to 2.45 GHz EMR at pregnancy and lactation period with offspring of these dams. Jaw samples were taken from 8 offsprings from each two groups when they were 7, 14 and 21 days old and teeth development were examined histologically and immunohistochemically. Subsequently, the offsprings were divided into seven groups: group A1 and B1, sugar-rich diet; A2 and B2, sugar-rich diet and *L. plantarum* 167.P6.5; A3 and B3, sugar-rich diet and *L. rhamnosus* M17-10.2; and B4, normal diet. The offsprings were infected with *Streptococcus sobrinus*, excluding those in the B4 group. MS counts were determined during the 8 weeks of study period, and carious lesions were determined at the end of the study.

In samples which examined macroscopic, microscopic and immunohistochemical, there were no significant differences in terms of development and apoptotic activity.

The MS count ratios were lower in all groups administered *L. rhamnosus* ($p < 0.05$). A strong correlation was found between the total MS count and sulcal caries scores ($r = 0.507$). No difference was observed between groups in terms of microorganism count and caries scores excluding those in the B4 group ($p > 0.05$).

As a result, exposition to 2.45 GHz EMR 2 hours in a day does not interfere with development of teeth and caries formation. Lactic acid bacteria especially which have been isolated from the natural oral flora, decreases the number of MS and caries formation.

Key words: 2.45 GHz EMR, tooth development, tooth decay, lactic acid bacteria, mutans streptococci, probiotics.

KAYNAKLAR

1. İnce T, Yurdakök K. Elektromanyetik kirlilik ve çocuk sağlığı. *Katkı Pediatri Dergisi*. 2008; 30(4): 519-544.
2. Black DR, Heynick LN. Radiofrequency (RF) effects on blood cells, cardiac, endocrine, and immunological functions. *Bioelectromagnetics* 2003; Suppl 6: 187-195.
3. Çetin T, Penceresi Ş, Uçar N. Yüksek Frekanslı (100 KHz- 300 GHz) Elektromanyetik Alanlara Maruz Kalma İle İlgili Biyolojik Etkiler ve Sağlık Sonuçları, ICNIRP 2009 Yılı Raporu. 2009.
4. Gürlek N. Cep telefonunun oluşturduğu manyetik alanın in vitro embriyo gelişimi üzerine etkileri. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, (Doç.Dr.Harun Ülger), 2009.
5. Marthaler TM. Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 2004; 38(3): 173-181.
6. Steckslen-Blicks C, Sunnegardh K, Borssen E. Caries experience and background factors in 4-year-old children: time trends 1967-2002. *Caries Res* 2004; 38(2): 149-155.
7. Tagg JR, Dierksen KP. Bacterial replacement therapy: adapting 'germ warfare' to infection prevention. *Trends Biotechnol* 2003; 21(5): 217-223.
8. Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH, et al. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly--a randomized controlled trial. *J Dent Res* 2007; 86(2): 125-130.
9. Caglar E, Kuscu OO, Cildir SK, Kuvvetli SS, Sandalli N. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Int J Paediatr Dent* 2008; 18(1): 35-39.
10. Caglar E, Kuscu OO, Selvi Kuvvetli S, Kavaloglu Cildir S, Sandalli N, Twetman S. Short-term effect of ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Acta Odontol Scand* 2008; 66(3): 154-158.
11. Yli-Knuuttila H, Snall J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(2): 129-131.
12. Atahan L, Berk U, Bilir N, Onaran L, Sanalan Y, Saylı BS, et al. *Radyasyon ve Sağlık*. Ankara, 1994: p. 1-20.
13. Şeker S, Çerezci O. *Çevremizdeki Radyasyon ve Korunma Yöntemleri*. İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Yayınları, 1997.
14. Şeker S, Çerezci O. *Elektromanyetik Alanların Biyolojik Etkileri Güvenlik Standartları ve Korunma Yöntemleri*. İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Yayınları, 1991: p. 95-127.

15. Atasü T, Öçer F. Gebelikte Fetusa ve Yenidoğana Zararlı Etkenler. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000.
16. Upton AC. Radiation Injury. In: Cecil Medicine. Goldmann LW, Auisello DA, Eds. 23rd Ed., Philadelphia: WB Saunders Elsevier, 2008: p. 90-96.
17. http://ec.europa.eu/health/archive/ph_determinants/environment/emf/brochure_en.pdf. [erişim 2014].
18. http://www.who.int/peh-emf/project/mapnatreps/report_to_afsse_on_mob_telephony_and_health.pdf. [erişim 2014].
19. Öztürk E. WLAN kablosuz yerel alan ağları (wireless local area networks) teknolojisinin incelenmesi, mevcut düzenlemelerin değerlendirilmesi ve ülkemize yönelik düzenleme önerisi. Telekomünikasyon Kurumu, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2004.
20. Stuchly MA. Health effects of exposure to electromagnetic fields. IEEE Aerospace Applications Conference Proceeding 1995: p. 351-368.
21. Penafiel LM, Litovitz T, Krause D, Desta A, Mullins JM. Role of modulation on the effect of microwaves on ornithine decarboxylase activity in L929 cells. Bioelectromagnetics 1997; 18(2): 132-141.
22. Robison JG, Pendleton AR, Monson KO, Murray BK, O'Neill KL. Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. Bioelectromagnetics 2002; 23(2): 106-112.
23. Moulder JE, Foster KR. Biological effects of power-frequency fields as they relate to carcinogenesis. Proc Soc Exp Biol Med 1995; 209(4): 309-324.
24. Imaida K, Kuzutani K, Wang J, Fujiwara O, Ogiso T, Kato K, et al. Lack of promotion of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-initiated mouse skin carcinogenesis by 1.5 GHz electromagnetic near fields. Carcinogenesis. 2001; 22(11): 1837-1841.
25. London SJ, Thomas DC, Bowman JD, Sobel E, Cheng TC, Peters JM. Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. Am J Epidemiol 1991; 134(9): 923-937.
26. Hertz J. Comment on the ICNIRP guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz). Health Phys 1998; 75(5): 535.
27. International Commission on Non-Ionizing Radiation P. ICNIRP statement on the "Guidelines for limiting exposure to time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300 GHz)". Health Phys 2009; 97(3): 257-258.
28. IRPA. Guidelines on limits of exposure to radiofrequency electromagnetic fields in the frequency range from 100 kHz to 300 GHz. International Non-Ionizing Radiation Committee of the International Radiation Protection Association. Health Phys 1988; 54(1): 115-123.

29. Adey WR. ELF Magnetic Fields and Promotion of Cancer: Experimental Studies. In: Interaction of Low-Level Electromagnetic Fields in Living Systems. Norden B, Ramel C, Eds. New York: Oxford University Press, 1992: p. 23-47.
30. Walleczek J. Electromagnetic field effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. *FASEB J* 1992; 6(13): 3177-3185.
31. Marinelli F, La Sala D, Ciccotti G, Cattini L, Trimarchi C, Putti S, et al. Exposure to 900 MHz electromagnetic field induces an unbalance between pro-apoptotic and pro-survival signals in T-lymphoblastoid leukemia CCRF-CEM cells. *J Cell Physiol* 2004; 198(2): 324-332.
32. Velizarov S, Raskmark P, Kwee S. The effects of radiofrequency fields on cell proliferation are non-thermal. *Bioelectrochem Bioenerg* 1999; 48(1): 177-180.
33. Anderson V, Rowley J. Measurements of skin surface temperature during mobile phone use. *Bioelectromagnetics* 2007; 28(2): 159-162.
34. Flyckt VM, Raaymakers BW, Kroeze H, Lagendijk JJ. Calculation of SAR and temperature rise in a high-resolution vascularized model of the human eye and orbit when exposed to a dipole antenna at 900, 1500 and 1800 MHz. *Phys Med Biol* 2007; 52(10): 2691-2701.
35. Ten Cate AR, Sharpe P, Roy S, Nanci A. Development of the Tooth and Its Supporting Tissues. In: Ten Cate's Oral Histology. Nanci A, Eds. USA: Mosby, 2003: p. 79-110.
36. Larson R. Merits and Modifications of Scoring Rat Dental Caries by Keyes Method. In: Animal Models in Cariology Sp supp microbiology abstracts. Tanzer J, Eds. Washington, DC: IRL Press, 1981: p. 195-203.
37. Shellis P, Berkovits BK. Comparative Anatomy of Dentition. In: Dental Anatomy and Biology JW O, Eds. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications, 1981: p. 432-439.
38. Madhukar BV, Brewster DW, Matsumura F. Effects of in vivo-administered 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on receptor binding of epidermal growth factor in the hepatic plasma membrane of rat, guinea pig, mouse, and hamster. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81(23): 7407-7411.
39. Kollar EJ, Baird GR. Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. I. Reorganization of the dental epithelium during tooth-germ reconstruction. *J Embryol Exp Morphol* 1970; 24(1): 159-171.
40. Kollar EJ, Baird GR. Tissue interactions in embryonic mouse tooth germs. II. The inductive role of the dental papilla. *J Embryol Exp Morphol* 1970; 24(1): 173-186.
41. Lumsden AG. Spatial organization of the epithelium and the role of neural crest cells in the initiation of the mammalian tooth germ. *Development* 1988; 103 Suppl: 155-169.
42. Thesleff I, Vaahtokari A, Kettunen P, Aberg T. Epithelial-mesenchymal signaling during tooth development. *Connect Tissue Res* 1995; 32(1-4): 9-15.

43. Miletich I, Sharpe PT. Normal and abnormal dental development. *Hum Mol Genet* 2003; 12(1): 69-73.
44. Nieminen P. Molecular genetics of tooth agenesis. University of Helsinki Faculty of Biosciences, Finland, 2007.
45. Mina M, Kollar EJ. The induction of odontogenesis in non-dental mesenchyme combined with early murine mandibular arch epithelium. *Arch Oral Biol* 1987; 32(2): 123-127.
46. Fraser GJ, Bloomquist RF, Streelman JT. Common developmental pathways link tooth shape to regeneration. *Dev Biol* 2013; 377(2): 399-414.
47. Jernvall J, Thesleff I. Tooth shape formation and tooth renewal: evolving with the same signals. *Development* 2012; 139(19): 3487-3497.
48. Zhang YD, Chen Z, Song YQ, Liu C, Chen YP. Making a tooth: growth factors, transcription factors, and stem cells. *Cell Res* 2005; 15(5): 301-316.
49. Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech Dev* 2000; 92(1): 19-29.
50. Jussila M, Thesleff I. Signaling networks regulating tooth organogenesis and regeneration, and the specification of dental mesenchymal and epithelial cell lineages. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2012; 4(4): a008425.
51. Thesleff I, Hurmerinta K. Tissue interactions in tooth development. *Differentiation* 1981; 18(2): 75-88.
52. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem* 1999; 68: 383-424.
53. Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. *Mol Cell* 2002; 9(3): 459-470.
54. Vaux DL, Korsmeyer SJ. Cell death in development. *Cell* 1999; 96(2): 245-254.
55. Rich T, Allen RL, Wyllie AH. Defying death after DNA damage. *Nature* 2000; 407(6805): 777-783.
56. Matalova E, Tucker AS, Sharpe PT. Death in the life of a tooth. *J Dent Res* 2004; 83(1): 11-16.
57. Matalova E, Sharpe PT, Lakhani SA, Roth KA, Flavell RA, Setkova J, et al. Molar tooth development in caspase-3 deficient mice. *Int J Dev Biol* 2006; 50(5): 491-497.
58. Bronckers AL, Goei SW, Dumont E, Lyaruu DM, Woltgens JH, van Heerde WL, et al. In situ detection of apoptosis in dental and periodontal tissues of the adult mouse using annexin-V-biotin. *Histochem Cell Biol*. 2000; 113(4): 293-301.
59. Smith CE, Warshawsky H. Quantitative analysis of cell turnover in the enamel organ of the rat incisor. Evidence for ameloblast death immediately after enamel matrix secretion. *Anat Rec* 1977; 187(1): 63-98.

60. Joseph BK, Harbrow DJ, Sugeran PB, Smid JR, Savage NW, Young WG. Ameloblast apoptosis and IGF-1 receptor expression in the continuously erupting rat incisor model. *Apoptosis* 1999; 4(6): 441-447.
61. Thesleff I, Mikkola M. The role of growth factors in tooth development. *Int Rev Cytol* 2002; 217: 93-135.
62. Thesleff I. The genetic basis of tooth development and dental defects. *Am J Med Genet A* 2006; 140(23): 2530-2535.
63. Sarkar L, Sharpe PT. Expression of Wnt signalling pathway genes during tooth development. *Mech Dev* 1999; 85(1-2): 197-200.
64. O'Connell DJ, Ho JW, Mammoto T, Turbe-Doan A, O'Connell JT, Haseley PS, et al. A Wnt-bmp feedback circuit controls intertissue signaling dynamics in tooth organogenesis. *Sci Signal* 2012; 5(206): ra4.
65. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17(1): 9-26.
66. Haara O, Harjunmaa E, Lindfors PH, Huh SH, Fliniaux I, Aberg T, et al. Ectodysplasin regulates activator-inhibitor balance in murine tooth development through Fgf20 signaling. *Development* 2012; 139(17): 3189-3199.
67. Gritli-Linde A, Bei M, Maas R, Zhang XM, Linde A, McMahon AP. Shh signaling within the dental epithelium is necessary for cell proliferation, growth and polarization. *Development* 2002; 129(23): 5323-5337.
68. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ* 2001; 65(9): 896-905.
69. Hu JC, Chun YH, Al Hazzazi T, Simmer JP. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs* 2007; 186(1): 78-85.
70. Hu JC, Sun X, Zhang C, Liu S, Bartlett JD, Simmer JP. Enamelysin and kallikrein-4 mRNA expression in developing mouse molars. *Eur J Oral Sci* 2002; 110(4): 307-315.
71. Sarkar S, Roychowdhury P. Chemical analysis of sound and carious enamel of permanent tooth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 1997; 15(4): 121-123.
72. Nanci A. Dentin-pulp complex. In: Ten Cate's Oral Histology. Nanci A, Eds. PA, USA: Mosby, 2003: p. 192-239.
73. Begue-Kirn C, Krebsbach PH, Bartlett JD, Butler WT. Dentin sialoprotein, dentin phosphoprotein, enamelysin and ameloblastin: tooth-specific molecules that are distinctively expressed during murine dental differentiation. *Eur J Oral Sci* 1998; 106(5): 963-970.
74. Hart PS, Hart TC. Disorders of human dentin. *Cells Tissues Organs* 2007; 186(1): 70-77.
75. Butler WT, Ritchie H. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. *Int J Dev Biol* 1995; 39(1): 169-179.
76. Butler WT. Dentin matrix proteins. *Eur J Oral Sci* 1998; 106 Suppl 1: 204-210.

77. Boskey A, Spevak L, Tan M, Doty SB, Butler WT. Dentin sialoprotein (DSP) has limited effects on in vitro apatite formation and growth. *Calcif Tissue Int* 2000; 67(6): 472-478.
78. Butler WT, Brunn JC, Qin C. Dentin extracellular matrix (ECM) proteins: comparison to bone ECM and contribution to dynamics of dentinogenesis. *Connect Tissue Res* 2003; 44 Suppl 1: 171-178.
79. Hu JC, Simmer JP. Developmental biology and genetics of dental malformations. *Orthod Craniofac Res* 2007; 10(2): 45-52.
80. Vastardis H, Karimbux N, Guthua SW, Seidman JG, Seidman CE. A human MSX1 homeodomain missense mutation causes selective tooth agenesis. *Nat Genet* 1996; 13(4): 417-421.
81. Stockton DW, Das P, Goldenberg M, D'Souza RN, Patel PI. Mutation of PAX9 is associated with oligodontia. *Nat Genet* 2000; 24(1): 18-19.
82. Nieminen P, Arte S, Tanner D, Paulin L, Alaluusua S, Thesleff I, et al. Identification of a nonsense mutation in the PAX9 gene in molar oligodontia. *Eur J Hum Genet* 2001; 9(10): 743-746.
83. Lammi L, Arte S, Somer M, Jarvinen H, Lahermo P, Thesleff I, et al. Mutations in AXIN2 cause familial tooth agenesis and predispose to colorectal cancer. *Am J Hum Genet* 2004; 74(5): 1043-1050.
84. Bailleul-Forestier I, Molla M, Verloes A, Berdal A. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 1: clinical and molecular aspects of non-syndromic dental disorders. *Eur J Med Genet* 2008; 51(4): 273-291.
85. Ozdemir D, Hart PS, Ryu OH, Choi SJ, Ozdemir-Karatas M, Firatli E, et al. MMP20 active-site mutation in hypomaturation amelogenesis imperfecta. *J Dent Res* 2005; 84(11): 1031-1035.
86. Barron MJ, McDonnell ST, Mackie I, Dixon MJ. Hereditary dentine disorders: dentinogenesis imperfecta and dentine dysplasia. *Orphanet J Rare Dis* 2008; 3: 31.
87. McKnight DA, Simmer JP, Hart PS, Hart TC, Fisher LW. Overlapping DSPP mutations cause dentin dysplasia and dentinogenesis imperfecta. *J Dent Res* 2008; 87(12): 1108-1111.
88. Lee SK, Lee KE, Jeon D, Lee G, Lee H, Shin CU, et al. A novel mutation in the DSPP gene associated with dentinogenesis imperfecta type II. *J Dent Res* 2009; 88(1): 51-55.
89. Pindborg JJ. Aetiology of developmental enamel defects not related to fluorosis. *Int Dent J* 1982; 32(2): 123-134.
90. Alaluusua S, Lukinmaa PL, Koskimies M, Pirinen S, Holtta P, Kallio M, et al. Developmental dental defects associated with long breast feeding. *Eur J Oral Sci* 1996; 104(5-6): 493-497.
91. Alaluusua S, Lukinmaa PL, Torppa J, Tuomisto J, Vartiainen T. Developing teeth as biomarker of dioxin exposure. *Lancet* 1999; 353(9148): 206.

92. Heikkinen T, Alvesalo L, Osborne RH, Pirttiniemi P. Maternal smoking and tooth formation in the foetus. I. Tooth crown size in the deciduous dentition. *Early Hum Dev* 1992; 30(1): 49-59.
93. Heikkinen T, Alvesalo L, Osborne RH, Tienari J. Maternal smoking and tooth formation in the foetus. II. Tooth crown size in the permanent dentition. *Early Hum Dev* 1994; 40(1): 73-86.
94. Axrup K, D'Avignon M, Hellgren K, Herikson CO, Juhlin IM, Larsson KS, et al. Children with Thalidomide Emrryopathy: Odontological Observations and Aspects. *Acta Odontol Scand* 1966; 24: 3-21.
95. Genot MT, Golan HP, Porter PJ, Kass EH. Effect of administration of tetracycline in pregnancy on the primary dentition of the offspring. *J Oral Med* 1970; 25(3): 75-79.
96. Omnell KA, Lofgren CG, Nylen MU. Tetracycline-induced enamel defects in the rat incisor. A microroentgenographic and fluorescence microscopic study. *Arch Oral Biol* 1970; 15(7): 645-661.
97. Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL. Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: cross-species comparisons. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23(3): 283-335.
98. Miettinen HM, Alaluusua S, Tuomisto J, Viluksela M. Effect of in utero and lactational 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure on rat molar development: the role of exposure time. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002; 184(1): 57-66.
99. Kattainen H, Tuukkanen J, Simanainen U, Tuomisto JT, Kovero O, Lukinmaa PL, et al. In utero/lactational 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure impairs molar tooth development in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 174(3): 216-224.
100. Lukinmaa PL, Sahlberg C, Leppaniemi A, Partanen AM, Kovero O, Pohjanvirta R, et al. Arrest of rat molar tooth development by lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 173(1): 38-47.
101. Hiraga T, Ninomiya T, Hosoya A, Nakamura H. Administration of the bisphosphonate zoledronic acid during tooth development inhibits tooth eruption and formation and induces dental abnormalities in rats. *Calcif Tissue Int* 2010; 86(6): 502-510.
102. Koppang HS. Histomorphologic investigations on the effect of cyclophosphamide on dentinogenesis of the rat incisor. *Scand J Dent Res* 1973; 81(5): 383-396.
103. Nasman M, Hammarstrom L. Influence of the antineoplastic agent cyclophosphamide on dental development in rat molars. *Acta Odontol Scand* 1996; 54(5): 287-294.
104. Navia JM, Snider C, Punyasingh J, Harris SS. Organ culture study of effect of vitamin-A-deficiency on rat third molar development. *Arch Oral Biol* 1984; 29(11): 911-920.

105. McDowell EM, Shores RL, Spangler EF, Wenk ML, De Luca LM. Anomalous growth of rat incisor teeth during chronic intermittent vitamin A deficiency. *J Nutr* 1987; 117(7): 1265-1274.
106. Bronckers AL, Lyaruu DM, Bervoets TJ, Woltgens JH. Fluoride enhances intracellular degradation of amelogenins during secretory phase of amelogenesis of hamster teeth in organ culture. *Connect Tissue Res* 2002; 43(2-3): 456-465.
107. Robinson C, Connell S, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC, Smith AM. The effect of fluoride on the developing tooth. *Caries Res* 2004; 38(3): 268-276.
108. Adkins KF. The effect of 1200 R of x-radiation on dentinogenesis in the mandibular teeth of rats. *Arch Oral Biol* 1967; 12(12): 1569-1576.
109. Nguyen DH, Martin JT. Common dental infections in the primary care setting. *Am Fam Physician* 2008; 77(6): 797-802.
110. Roberson T, Heyman H, Swift E. Introduction to Art and Science of Operative Dentistry. St. Louis: Mosby Co, 2011: p. 67-134.
111. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994; 8(2): 263-271.
112. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. *Int Dent J* 1999; 49(1): 15-26.
113. Haris N, Gorcia-Goday F. Primary preventive Dentistry. 6th Ed. New Jersey: Prentice Hall, 2004: p. 46-72.
114. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007;369(9555):51-9.
115. Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J* 2008; 53(3): 286-291.
116. Silverstone LM. Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev* 1973; 3: 100-160.
117. Caufield PW, Li Y, Dasanayake A. Dental caries: an infectious and transmissible disease. *Compend Contin Educ Dent* 2005; 26(5 Suppl 1): 10-16.
118. Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc* 2008; 139 Suppl: 25-34.
119. Matsui R, Cvitkovitch D. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol* 2010; 5(3): 403-417.
120. Tenuta LM, Cury JA. Fluoride: its role in dentistry. *Braz Oral Res* 2010; 24 Suppl 1: 9-17.
121. ten Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology* 2006; 94(1): 1-9.
122. Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 10th Ed., St. Louse-Missoure: Saunders Elsevier, 2006. p. 134-169.

123. Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol* 2003; 30 Suppl 5: 7-9.
124. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17 Suppl 2: 68-81.
125. van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994; 73(3): 672-681.
126. Ccahuana-Vasquez RA, Cury JA. S. mutans biofilm model to evaluate antimicrobial substances and enamel demineralization. *Braz Oral Res* 2010; 24(2): 135-141.
127. Çalıkocaoğlu S, Koçak G, Güvener Z, Ang I. Protez kullanmaya başlayan hastaların aerop ağız florasının incelenmesi. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 1975:9.
128. Anuğ Ö. Ağız Mikrobiyolojisi. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 1977.
129. Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 1993; 72(1): 37-45.
130. Hardie JM. Oral microbiology: current concepts in the microbiology of dental caries and periodontal disease. *Br Dent J* 1992; 172(7): 271-278.
131. Smiech-Slomkowska G, Jablonska-Zrobek J. The effect of oral health education on dental plaque development and the level of caries-related *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. *Eur J Orthod* 2007; 29(2): 157-160.
132. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. 2. Cilt. 3. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2008: p. 2019-2339.
133. Yoshida A, Kuramitsu HK. Multiple *Streptococcus mutans* Genes Are Involved in Biofilm Formation. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68(12): 6283-6291.
134. Nakano K, Nomura R, Matsumoto M, Ooshima T. Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases--from molecular mechanisms to clinical cases: Cell-surface structures of novel serotype k *Streptococcus mutans* strains and their correlation to virulence. *J Pharmacol Sci* 2010; 113(2): 120-125.
135. Bothwell MR, Smith AL, Phillips T. Recalcitrant otorrhea due to *Pseudomonas* biofilm. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129(5): 599-601.
136. Law V, Seow WK, Townsend G. Factors influencing oral colonization of mutans streptococci in young children. *Aust Dent J* 2007; 52(2): 93-100.
137. Hardie JM, Whiley RA. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 1997; 26: 1S-11S.
138. Nobbs AH, Lamont RJ, Jenkinson HF. *Streptococcus* adherence and colonization. *Microbiol Mol Biol Rev* 2009; 73(3): 407-450.

139. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986; 50(4): 353-380.
140. Burne RA. Oral streptococci... products of their environment. *J Dent Res* 1998; 77(3): 445-452.
141. Martinez AR, Abranches J, Kajfasz JK, Lemos JA. Characterization of the *Streptococcus sobrinus* acid-stress response by interspecies microarrays and proteomics. *Mol Oral Microbiol* 2010; 25(5): 331-342.
142. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(4): 613-630.
143. van Houte J. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. *Int Dent J* 1980; 30(4): 305-326.
144. Houte J. Microbiological Predictors of caries risk. *Adv Dent Res* 1993; 7(2): 87-96.
145. Bowen WH. Do we need to be concerned about dental caries in the coming millennium? *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2): 126-131.
146. Schilling KM, Bowen WH. Glucans synthesized in situ in experimental salivary pellicle function as specific binding sites for *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 1992; 60(1): 284-295.
147. Zero DT, van Houte J, Russo J. The intra-oral effect on enamel demineralization of extracellular matrix material synthesized from sucrose by *Streptococcus mutans*. *J Dent Res* 1986; 65(6): 918-923.
148. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J Dent Res* 2006; 85(10): 878-887.
149. Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP. Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res* 2000; 34(6): 491-497.
150. Ribeiro CC, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Rosalen PL, Cury JA. Effect of starch on the cariogenic potential of sucrose. *Br J Nutr* 2005; 94(1): 44-50.
151. Petersen PE, Lennon MA. Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach. *Community Dent Oral Epidemiol* 2004; 32(5): 319-321.
152. Milgrom P, Soderling EM, Nelson S, Chi DL, Nakai Y. Clinical evidence for polyol efficacy. *Adv Dent Res* 2012; 24(2): 112-116.
153. Zero DT. Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. *BMC Oral Health* 2006; 6 Suppl 1: S9.
154. Twetman S. Antimicrobials in future caries control? A review with special reference to chlorhexidine treatment. *Caries Res* 2004; 38(3): 223-229.
155. Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocins - a viable alternative to antibiotics? *Nat Rev Microbiol* 2013; 11(2): 95-105.

156. Holt PG, Sly PD, Bjorksten B. Atopic versus infectious diseases in childhood: a question of balance? *Pediatr Allergy Immunol* 1997; 8(2): 53-58.
157. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444(7122): 1022-1023.
158. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science* 1965; 147(3659): 747-748.
159. Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR. A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol* 2006; 100(4): 754-764.
160. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, et al. Demonstration of safety of probiotics -- a review. *Int J Food Microbiol* 1998; 44(1-2): 93-106.
161. Huovinen P. Bacteriotherapy: the time has come. *BMJ* 2001; 323(7309): 353-354.
162. Carson CF, Riley TV. Non-antibiotic therapies for infectious diseases. *Commun Dis Intell Q Rep* 2003; 27 Suppl: S143-146.
163. Gorbach SL. Probiotics in the third millennium. *Dig Liver Dis* 2002; 34 Suppl 2: S2-7.
164. Perdigon G, Fuller R, Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system. *Curr Issues Intest Microbiol* 2001; 2(1): 27-42.
165. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci* 2005; 113(3): 188-196.
166. Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(12): 958-966.
167. Santosa S, Farnworth E, Jones PJ. Probiotics and their potential health claims. *Nutr Rev* 2006; 64(6): 265-274.
168. Doron S, Gorbach SL. Probiotics: their role in the treatment and prevention of disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006; 4(2): 261-275.
169. Dunne C, O'Mahony L, Murphy L, Thornton G, Morrissey D, O'Halloran S, et al. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2 Suppl): 386S-392S.
170. Haukioja A, Yli-Knuutila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH, et al. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(5): 326-332.
171. Comelli EM, Guggenheim B, Stingle F, Neeser JR. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci* 2002; 110(3): 218-224.
172. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis* 2007; 13(5): 443-451.
173. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc* 2009; 75(8): 585-590.

174. Busscher HJ, Mulder AF, van der Mei HC. In vitro adhesion to enamel and in vivo colonization of tooth surfaces by Lactobacilli from a bio-yoghurt. *Caries Res* 1999; 33(5): 403-404.
175. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res* 2001; 35(6): 412-420.
176. Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom A, Meurman JH, et al. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol* 2002; 47(11): 799-804.
177. Caglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand* 2006; 64(5): 314-318.
178. Lima LM, Motisuki C, Spolidorio DM, Santos-Pinto L. In vitro evaluation of probiotics microorganisms adhesion to an artificial caries model. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59(7): 884-886.
179. Meurman JH, Antila H, Korhonen A, Salminen S. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103) on the growth of *Streptococcus sobrinus* in vitro. *Eur J Oral Sci* 1995; 103(4): 253-258.
180. Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J Appl Microbiol* 2001; 90(2): 172-179.
181. Stamatova I, Kari K, Vladimirov S, Meurman JH. In vitro evaluation of yoghurt starter lactobacilli and *Lactobacillus rhamnosus* GG adhesion to saliva-coated surfaces. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24(3): 218-223.
182. Staab B, Eick S, Knofler G, Jentsch H. The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study. *J Clin Periodontol* 2009; 36(10): 850-856.
183. Caglar E, Kavaloglu SC, Kuscu OO, Sandalli N, Holgerson PL, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clin Oral Investig* 2007; 11(4): 425-429.
184. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, et al. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *Eur J Orthod* 2009; 31(4): 407-411.
185. Kang MS, Na HS, Oh JS. Coaggregation ability of *Weissella cibaria* isolates with *Fusobacterium nucleatum* and their adhesiveness to epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 253(2): 323-329.
186. Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S, Hirata H, Sakamoto M, Benno Y, et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2009; 36(6): 506-513.

187. Steckslen-Blicks C, Sjoström I, Twetman S. Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. *Caries Res* 2009; 43(5): 374-381.
188. Petersson LG, Magnusson K, Hakestam U, Baigi A, Twetman S. Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic lactobacilli in older adults. *Acta Odontol Scand* 2011; 69(6): 321-327.
189. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J* 2006; 30(2): 55-60.
190. Kang MS, Kim BG, Chung J, Lee HC, Oh JS. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol* 2006; 33(3): 226-232.
191. Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR. The rationale and potential for the reduction of oral malodour using *Streptococcus salivarius* probiotics. *Oral Dis* 2005; 11 Suppl 1: 29-31.
192. Koll P, Mandar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarström L. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23(2): 139-147.
193. Cole MF, Bryan S, Evans MK, Pearce CL, Sheridan MJ, Sura PA, et al. Humoral immunity to commensal oral bacteria in human infants: salivary antibodies reactive with *Actinomyces naeslundii* genospecies 1 and 2 during colonization. *Infect Immun* 1998; 66(9): 4283-4289.
194. Kononen E, Kanervo A, Takala A, Asikainen S, Jousimies-Somer H. Establishment of oral anaerobes during the first year of life. *J Dent Res* 1999; 78(10): 1634-1639.
195. Caglar E, Topcuoglu N, Cildir SK, Sandalli N, Kulekci G. Oral colonization by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 after exposure to probiotics. *Int J Paediatr Dent* 2009; 19(5): 377-381.
196. Saxelin M, Lassig A, Karjalainen H, Tynkkynen S, Surakka A, Vapaatalo H, et al. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int J Food Microbiol* 2010; 144(2): 293-300.
197. Aminabadi NA, Erfanparast L, Ebrahimi A, Oskouei SG. Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of salivary lactobacilli probiotic in six- to twelve-year-old children: a randomized controlled trial. *Caries Res* 2011; 45(2): 148-154.
198. Keller MK, Hasslöf P, Dahlen G, Steckslen-Blicks C, Twetman S. Probiotic supplements (*Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and ATCC PTA 5289) do not affect regrowth of mutans streptococci after full-mouth disinfection with chlorhexidine: a randomized controlled multicenter trial. *Caries Res* 2012; 46(2): 140-146.

199. Erickson KL, Hubbard NE. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J Nutr* 2000; 130(2S Suppl): 403S-409S.
200. Hillman JD. Genetically modified *Streptococcus mutans* for the prevention of dental caries. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002; 82(1-4): 361-366.
201. Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(4): 658-672.
202. Haukioja A, Loimaranta V, Tenovuo J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23(4): 336-343.
203. Ezendam J, van Loveren H. Probiotics: immunomodulation and evaluation of safety and efficacy. *Nutr Rev* 2006; 64(1): 1-14.
204. Minocha A. Probiotics for preventive health. *Nutr Clin Pract* 2009; 24(2): 227-241.
205. Anderson MH, Molvar MP, Powell LV. Treating dental caries as an infectious disease. *Oper Dent* 1991; 16(1): 21-28.
206. Inghlish J. *Introduction to Laboratory Animals Science and Technology*. New York: Pergaman Press, 1980: p. 118-20.
207. Rinehimer LA, Tanzer JM. Statistical relationship of morsal to bucco-lingual, approximal and sulcal caries in rats. *J Dent Res* 1980; 59(4): 745-748.
208. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* 1980; 44(2): 331-384.
209. Larson RH, Amsbaugh SM, Navia JM, Rosen S, Schuster GS, Shaw JH. Collaborative evaluation of a rat caries model in six laboratories. *J Dent Res* 1977; 56(8): 1007-1012.
210. Gumral N, Naziroglu M, Koyu A, Ongel K, Celik O, Saygin M, et al. Effects of selenium and L-carnitine on oxidative stress in blood of rat induced by 2.45-GHz radiation from wireless devices. *Biol Trace Elem Res* 2009; 132(1-3): 153-163.
211. Gajsek P, Ziriak JM, Hurt WD, Walters TJ, Mason PA. Predicted SAR in Sprague-Dawley rat as a function of permittivity values. *Bioelectromagnetics* 2001; 22(6): 384-400.
212. Gajsek P, Walters TJ, Hurt WD, Ziriak JM, Nelson DA, Mason PA. Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling. *Bioelectromagnetics* 2002; 23(1): 37-48.
213. Pinto R, Lopresto V, Galloni P, Marino C, Mancini S, Lodato R, et al. Dosimetry of a set-up for the exposure of newborn mice to 2.45-GHZ WiFi frequencies. *Radiat Prot Dosimetry* 2010; 140(4): 326-332.
214. Findlay RP, Dimbylow PJ. SAR in a child voxel phantom from exposure to wireless computer networks (Wi-Fi). *Phys Med Biol* 2010; 55(15): N405-411.

215. Peyman A, Rezazadeh AA, Gabriel C. Changes in the dielectric properties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies. *Phys Med Biol* 2001; 46(6): 1617-1629.
216. Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, et al. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995; 74(6): 1272-1279.
217. Bowen WH, Madison KM, Pearson SK. Influence of desalivation in rats on incidence of caries in intact cagemates. *J Dent Res* 1988; 67(10): 1316-1318.
218. Gungor OE, Kirzioglu Z, Dincer E, Kivanc M. Who will win the race in childrens' oral cavities? *Streptococcus mutans* or beneficial lactic acid bacteria? *Benef Microbes* 2013; 4(3): 237-245.
219. Keyes PH. Dental caries in the molar teeth of rats. I. Distribution of lesions induced by high-carbohydrate low-fat diets. *J Dent Res* 1958; 37(6): 1077-1087.
220. Pournalis AF. Reproductive and developmental effects of EMF in vertebrate animal models. *Pathophysiology* 2009; 16(2-3): 179-189.
221. İde T, Mülazımoğlu B. Ratlarda Bakım ve Beslenme. İçinde: Küçük Deney Hayvanlarından Rat. Yücel O, Editör. Ankara: Matris Tanıtım, 2012: p. 45-47.
222. Faith R, Hessler J. Housing and Environment. In: *The laboratory rat*. Suckow M, Weisbroth S, Franklin C, Eds. USA: Academic Press, 2006: p. 314-315.
223. Güneli E, Ateş M, Gümüştekin M. Deneysel Hayvan Araştırmalarının Planlamasında Dikkat Edilecek Hususlar. İçinde: Küçük Deney Hayvanlarından Rat. Yücel O, Editör. Ankara: Matris Tanıtım, 2012: p. 5-9.
224. Kim MJ, Rhee SJ. Green tea catechins protect rats from microwave-induced oxidative damage to heart tissue. *J Med Food* 2004; 7(3): 299-304.
225. Dundar B, Cesur G, Comlekci S, Songur A, Gokcimen A, Sahin O, et al. The effect of the prenatal and post-natal long-term exposure to 50 Hz electric field on growth, pubertal development and IGF-1 levels in female Wistar rats. *Toxicol Ind Health* 2009; 25(7): 479-487.
226. Berman E, Carter HB, House D. Observations of Syrian hamster fetuses after exposure to 2450-MHz microwaves. *J Microw Power* 1982; 17(2): 107-112.
227. Moustafa YM, Moustafa RM, Belacy A, Abou-El-Ela SH, Ali FM. Effects of acute exposure to the radiofrequency fields of cellular phones on plasma lipid peroxide and antioxidase activities in human erythrocytes. *J Pharm Biomed Anal* 2001; 26(4): 605-608.
228. Naziroglu M, Gumral N. Modulator effects of L-carnitine and selenium on wireless devices (2.45 GHz)-induced oxidative stress and electroencephalography records in brain of rat. *Int J Radiat Biol* 2009; 85(8): 680-689.
229. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz A. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. 2011; 27(5): 455-463.

230. Ait-Aissa S, Billaudel B, Poullietier de Gannes F, Ruffie G, Duleu S, Hurtier A, et al. In utero and early-life exposure of rats to a Wi-Fi signal: screening of immune markers in sera and gestational outcome. *Bioelectromagnetics* 2012; 33(5): 410-420.
231. Poullietier de Gannes F, Billaudel B, Haro E, Taxile M, Le Montagner L, Hurtier A, et al. Rat fertility and embryo fetal development: influence of exposure to the Wi-Fi signal. *Reprod Toxicol* 2013; 36: 1-5.
232. Ozorak A, Naziroglu M, Celik O, Yuksel M, Ozcelik D, Ozkaya MO, et al. Wi-Fi (2.45 GHz)- and mobile phone (900 and 1800 MHz)-induced risks on oxidative stress and elements in kidney and testis of rats during pregnancy and the development of offspring. *Biol Trace Elem Res* 2013; 156(1-3): 221-229.
233. Uusitupa T, Laakso I, Ilvonen S, Nikoskinen K. SAR variation study from 300 to 5000 MHz for 15 voxel models including different postures. *Phys Med Biol* 2010; 55(4): 1157-1176.
234. Dimbylow P, Findlay R. The effects of body posture, anatomy, age and pregnancy on the calculation of induced current densities at 50 Hz. *Radiat Prot Dosimetry* 2010; 139(4): 532-538.
235. Conil E, Hadjem A, Lacroux F, Wong MF, Wiart J. Variability analysis of SAR from 20 MHz to 2.4 GHz for different adult and child models using finite-difference time-domain. *Phys Med Biol* 2008; 53(6): 1511-1525.
236. Takahashi S, Imai N, Nabae K, Wake K, Kawai H, Wang J, et al. Lack of adverse effects of whole-body exposure to a mobile telecommunication electromagnetic field on the rat fetus. *Radiat Res* 2010; 173(3): 362-372.
237. Alam MT, Barthakur N, Lambert NG, Kasatiya SS. Cytological effects of microwave radiation in Chinese hamster cells in vitro. *Can J Genet Cytol* 1978; 20(1): 23-30.
238. Daşdağ S, Akdağ M, Ayyıldız O, Demirtaş Ö, Yayla M, Sert C. Do cellüler phones alter blood parameters and birth weight of rats? *Electromagnetic Biology and Medicine* 2000; 19(1): 107-113.
239. Cao YN, Zhang Y, Liu Y. [Effects of exposure to extremely low frequency electromagnetic fields on reproduction of female mice and development of offsprings]. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 2006; 24(8): 468-470.
240. Özen Ş. Mikrodalga frekanslı EM radyasyona maruz kalan biyolojik dokularda oluşan ısı etkinin teorik ve deneysel incelenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Sakarya, (Prof.Dr.Osman Çerezci), 2003.
241. Ayata A, Mollaoglu H, Yilmaz HR, Akturk O, Ozguner F, Altuntas I. Oxidative stress-mediated skin damage in an experimental mobile phone model can be prevented by melatonin. *J Dermatol* 2004; 31(11): 878-883.
242. Koyu A, Ozguner F, Yilmaz H, Uz E, Cesur G, Ozcelik N. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on oxidative stress in rat liver exposed to the 900 MHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health* 2009; 25(6): 429-434.

243. La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Effects of the exposure to mobile phones on male reproduction: a review of the literature. *J Androl* 2012; 33(3): 350-356.
244. Thomas C, Mackey MM, Diaz AA, Cox DP. Hydroxyl radical is produced via the Fenton reaction in submitochondrial particles under oxidative stress: implications for diseases associated with iron accumulation. *Redox Rep* 2009; 14(3): 102-108.
245. Roy S, Noda Y, Eckert V, Traber MG, Mori A, Liburdy R, et al. The phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)-induced oxidative burst in rat peritoneal neutrophils is increased by a 0.1 mT (60 Hz) magnetic field. *FEBS Lett* 1995; 376(3): 164-166.
246. Prato FS, Kavaliers M, Carson JJ. Behavioural evidence that magnetic field effects in the land snail, *Cepaea nemoralis*, might not depend on magnetite or induced electric currents. *Bioelectromagnetics* 1996; 17(2): 123-130.
247. Aweda MA, Gbenebitse S, Meidinyo RO. Effects of 2.45 GHz microwave exposures on the peroxidation status in Wistar rats. *Niger Postgrad Med J* 2003; 10(4): 243-246.
248. Avendano C, Mata A, Sanchez Sarmiento CA, Doncel GF. Use of laptop computers connected to internet through Wi-Fi decreases human sperm motility and increases sperm DNA fragmentation. *Fertil Steril* 2012; 97(1): 39-45.
249. Kumasaka S, Shimosuma M, Kawamoto T, Mishima K, Tokuyama R, Kamiya Y, et al. Possible involvement of melatonin in tooth development: expression of melatonin 1a receptor in human and mouse tooth germs. *Histochem Cell Biol* 2010; 133(5): 577-584.
250. Hemrika-Wagner AM, Bronckers AL, Woltgens JH. Ultrastructural changes in developing hamster molars during vitamin C deficiency in vitro. *J Biol Buccale* 1982; 10(2): 163-173.
251. Bronckers AL, Zorge JA, Woltgens JH. Histological and biochemical studies of vitamin C requirements of hamster molars during development in vitro. *J Biol Buccale* 1982; 10(4): 263-269.
252. Amara S, Abdelmelek H, Salem M, Abidi R, Sakly M. Effects of static magnetic field exposure on hematological and biochemical parameters in rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 2006; 49(6): 889-895.
253. Hashish AH, El-Missiry MA, Abdelkader HI, Abou-Saleh RH. Assessment of biological changes of continuous whole body exposure to static magnetic field and extremely low frequency electromagnetic fields in mice. *Ecotoxicol Environ Saf* 2008; 71(3): 895-902.
254. Mazhuga PM, Kabak KS, Zhitnikov A, Kalion PT. [Reproduction and differentiation of cells in the tissues of growing rat teeth in response to parathyroid hormone and hydrocortisone]. *Arkh Anat Gistol Embriol* 1987; 92(5): 57-62.

255. Vangelova KK, Israel MS. Variations of melatonin and stress hormones under extended shifts and radiofrequency electromagnetic radiation. *Rev Environ Health* 2005; 20(2): 151-161.
256. Koyu A, Cesur G, Özgüner F, Elmas O. Cep telefonlarından yayılan 900 MHz elektromanyetik alanın serum kortizol ve testosteron hormonu üzerine etkisi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2005; 12(1): 52-56.
257. Lotz WG, Podgorski RP. Temperature and adrenocortical responses in rhesus monkeys exposed to microwaves. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 1982; 53(6): 1565-1571.
258. Moiseiwitsch JR, Lauder JM. Stimulation of murine tooth development in organotypic culture by the neurotransmitter serotonin. *Arch Oral Biol* 1996; 41(2):161-165.
259. Moiseiwitsch JR, Raymond JR, Tamir H, Lauder JM. Regulation by serotonin of tooth-germ morphogenesis and gene expression in mouse mandibular explant cultures. *Arch Oral Biol* 1998; 43(10): 789-800.
260. Aboul Ezz HS, Khadrawy YA, Ahmed NA, Radwan NM, El Bakry MM. The effect of pulsed electromagnetic radiation from mobile phone on the levels of monoamine neurotransmitters in four different areas of rat brain. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013; 17(13): 1782-1788.
261. Bonasera S, Toler J, Popovic V. Long-term study of 435 MHz radio-frequency radiation on blood-borne end points in cannulated rats. Part I: Engineering considerations. *J Microw Power Electromagn Energy* 1988; 23(2): 95-104.
262. Vollrath L, Spessert R, Kratzsch T, Keiner M, Hollmann H. No short-term effects of high-frequency electromagnetic fields on the mammalian pineal gland. *Bioelectromagnetics* 1997; 18(5): 376-387.
263. Koch WE. In vitro differentiation of tooth rudiments of embryonic mice. I. Transfilter interaction of embryonic incisor tissues. *J Exp Zool* 1967; 165(2): 155-170.
264. Tucker AS, Matthews KL, Sharpe PT. Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling. *Science* 1998; 282(5391): 1136-1138.
265. Zhao X, Zhang Z, Song Y, Zhang X, Zhang Y, Hu Y, et al. Transgenically ectopic expression of Bmp4 to the Msx1 mutant dental mesenchyme restores downstream gene expression but represses Shh and Bmp2 in the enamel knot of wild type tooth germ. *Mech Dev* 2000; 99(1-2): 29-38.
266. Hosokawa R, Deng X, Takamori K, Xu X, Urata M, Bringas P, Jr., et al. Epithelial-specific requirement of FGFR2 signaling during tooth and palate development. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 2009; 312B(4): 343-350.
267. Yao S, Prpic V, Pan F, Wise GE. TNF-alpha upregulates expression of BMP-2 and BMP-3 genes in the rat dental follicle--implications for tooth eruption. *Connect Tissue Res* 2010; 51(1): 59-66.
268. Handrigan GR, Richman JM. Autocrine and paracrine Shh signaling are necessary for tooth morphogenesis, but not tooth replacement in snakes and lizards (Squamata). *Dev Biol* 2010; 337(1): 171-186.

269. Wang Y, Li L, Zheng Y, Yuan G, Yang G, He F, et al. BMP activity is required for tooth development from the lamina to bud stage. 2012; 91(7): 690-695.
270. De Moerlooze L, Spencer-Dene B, Revest JM, Hajihosseini M, Rosewell I, Dickson C. An important role for the IIIb isoform of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in mesenchymal-epithelial signalling during mouse organogenesis. *Development* 2000; 127(3): 483-492.
271. Liu W, Sun X, Braut A, Mishina Y, Behringer RR, Mina M, et al. Distinct functions for Bmp signaling in lip and palate fusion in mice. *Development* 2005; 132(6): 1453-1461.
272. Liu F, Chu EY, Watt B, Zhang Y, Gallant NM, Andl T, et al. Wnt/beta-catenin signaling directs multiple stages of tooth morphogenesis. *Dev Biol* 2008; 313(1): 210-224.
273. Ahn Y, Sanderson BW, Klein OD, Krumlauf R. Inhibition of Wnt signaling by Wise (Sostdc1) and negative feedback from Shh controls tooth number and patterning. *Development* 2010; 137(19): 3221-3231.
274. Li L, Lin M, Wang Y, Cserjesi P, Chen Z, Chen Y. Bmpr1a is required in mesenchymal tissue and has limited redundant function with Bmpr1b in tooth and palate development. *Dev Biol* 2011; 349(2): 451-461.
275. Kiukkonen A. Toxicity of dioxin to developing teeth and salivary glands. Helsinki University, Academic Dissertation, Helsinki, 2006.
276. Slezak BP, Hatch GE, DeVito MJ, Diliberto JJ, Slade R, Crissman K, et al. Oxidative stress in female B6C3F1 mice following acute and subchronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Toxicol Sci* 2000; 54(2): 390-398.
277. Barouki R, Morel Y. Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. *Biochem Pharmacol* 2001; 61(5): 511-516.
278. Porntaveetus T, Otsuka-Tanaka Y, Basson MA, Moon AM, Sharpe PT, Ohazama A. Expression of fibroblast growth factors (Fgfs) in murine tooth development. *J Anat* 2011; 218(5): 534-543.
279. Kamiya N, Shafer S, Oxendine I, Mortlock DP, Chandler RL, Oxburgh L, et al. Acute BMP2 upregulation following induction of ischemic osteonecrosis in immature femoral head. *Bone* 2013; 53(1): 239-247.
280. Black SM, DeVol JM, Wedgwood S. Regulation of fibroblast growth factor-2 expression in pulmonary arterial smooth muscle cells involves increased reactive oxygen species generation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294(1):C345-354.
281. Galli C, Passeri G, Macaluso GM. FoxOs, Wnts and oxidative stress-induced bone loss: new players in the periodontitis arena? *J Periodontal Res* 2011; 46(4): 397-406.

282. Okamoto T, Akaike T, Nagano T, Miyajima S, Suga M, Ando M, et al. Activation of human neutrophil procollagenase by nitrogen dioxide and peroxy nitrite: a novel mechanism for procollagenase activation involving nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1997; 342(2): 261-274.
283. Zaragoza C, Soria E, Lopez E, Browning D, Balbin M, Lopez-Otin C, et al. Activation of the mitogen activated protein kinase extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 by the nitric oxide-cGMP-cGMP-dependent protein kinase axis regulates the expression of matrix metalloproteinase 13 in vascular endothelial cells. *Mol Pharmacol* 2002; 62(4): 927-935.
284. Al-Ayadhi LY. Relationship between Sonic hedgehog protein, brain-derived neurotrophic factor and oxidative stress in autism spectrum disorders. *Neurochem Res* 2012; 37(2): 394-400.
285. Shi Y. Apoptosome: the cellular engine for the activation of caspase-9. *Structure* 2002; 10(3): 285-288.
286. Espino J, Bejarano I, Paredes SD, Barriga C, Rodriguez AB, Pariente JA. Protective effect of melatonin against human leukocyte apoptosis induced by intracellular calcium overload: relation with its antioxidant actions. *J Pineal Res* 2011; 51(2): 195-206.
287. Conejo-Garcia A, Nunez MC, Marchal JA, Rodriguez-Serrano F, Aranega A, Gallo MA, et al. Regiospecific microwave-assisted synthesis and cytotoxic activity against human breast cancer cells of (RS)-6-substituted-7- or 9-(2,3-dihydro-5H-1,4-benzodioxepin-3-yl)-7H- or -9H-purines. *Eur J Med Chem* 2008; 43(8): 1742-1748.
288. Yoon J, Cho J, Kim N, Kim DD, Lee E, Cheon C, et al. High-frequency microwave ablation method for enhanced cancer treatment with minimized collateral damage. *Int J Cancer* 2011; 129(8): 1970-1978.
289. Palumbo R, Brescia F, Capasso D, Sannino A, Sarti M, Capri M, et al. Exposure to 900 MHz radiofrequency radiation induces caspase 3 activation in proliferating human lymphocytes. *Radiat Res* 2008; 170(3): 327-334.
290. Kumar S, Kesari KK, Behari J. Influence of microwave exposure on fertility of male rats. *Fertil Steril* 2011; 95(4): 1500-1502.
291. Misa Agustino MJ, Leiro JM, Jorge Mora MT, Rodriguez-Gonzalez JA, Jorge Barreiro FJ, Ares-Pena FJ, et al. Electromagnetic fields at 2.45 GHz trigger changes in heat shock proteins 90 and 70 without altering apoptotic activity in rat thyroid gland. *Biol Open* 2012; 1(9): 831-838.
292. Campus G, Cagetti MG, Sacco G, Solinas G, Mastroberardino S, Lingstrom P. Six months of daily high-dose xylitol in high-risk schoolchildren: a randomized clinical trial on plaque pH and salivary mutans streptococci. *Caries Res* 2009; 43(6): 455-461.
293. de Soet JJ, van Loveren C, Lammens AJ, Pavicic MJ, Homburg CH, ten Cate JM, et al. Differences in cariogenicity between fresh isolates of *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 1991; 25(2): 116-22.

294. Chestnutt IG, MacFarlane TW, Stephen KW. An in vitro investigation of the cariogenic potential of oral streptococci. *A Arch Oral Biol* 1994; 39(7): 589-593.
295. de Soet JJ, Toors FA, de Graaff J. Acidogenesis by oral streptococci at different pH values. *Caries Res* 1989; 23(1): 14-17.
296. Skartveit L, Spak CJ, Tveit AB, Selvig KA. Caries-inhibitory effect of titanium tetrafluoride in rats. *Acta Odontol Scand* 1991; 49(2): 85-88.
297. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res* 1991; 25(5): 347-351.
298. Zdanowicz JA, Mundorff SA, Featherstone JD, Proskin HM. Inhibitory effect of barium on caries formation in rats. *Caries Res* 1989; 23(2): 65-69.
299. Hayacibara MF, Koo H, Rosalen PL, Duarte S, Franco EM, Bowen WH, et al. In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *J Ethnopharmacol* 2005; 101(1-3): 110-115.
300. Peres RC, Coppi LC, Volpato MC, Groppo FC, Cury JA, Rosalen PL. Cariogenic potential of cows', human and infant formula milks and effect of fluoride supplementation. *Br J Nutr* 2009; 101(3): 376-382.
301. Bowen WH, Amsbaugh SM, Monell-Torrens S, Brunelle J. Effects of varying intervals between meals on dental caries in rats. *Caries Res* 1983; 17(5): 466-471.
302. Huxley HG. The effect of the dietary carbohydrate upon the colonization of plaque by *Streptococcus mutans* in rats. *Arch Oral Biol* 1974; 19(10): 941-946.
303. Frostell G, Keyes PH, Larson RH. Effect of various sugars and sugar substitutes on dental caries in hamsters and rats. *J Nutr* 1967; 93(1): 65-76.
304. McDonald JL, Jr., Stookey GK. Animal studies concerning the cariogenicity of dry breakfast cereals. *J Dent Res* 1977; 56(8): 1001-1006.
305. Van Houte J, Upeslasis VN, Jordan HV, Skobe Z, Green DB. Role of sucrose in colonization of *Streptococcus mutans* in conventional Sprague-Dawley rats. *J Dent Res* 1976; 55(2): 202-215.
306. Havenaar R, Huis in 't Veld JH, de Stoppelaar JD, Dirks OB. A purified cariogenic diet for rats to test sugar substitutes with special emphasis on general health. *Caries Res* 1983; 17(4): 340-352.
307. Zero DT, Fontana M, Martinez-Mier EA, Ferreira-Zandona A, Ando M, Gonzalez-Cabezas C, et al. The biology, prevention, diagnosis and treatment of dental caries: scientific advances in the United States. *J Am Dent Assoc* 2009; 140 Suppl 1: 25S-34S.
308. Makinen KK. Sugar alcohols, caries incidence, and remineralization of caries lesions: a literature review. *Int J Dent* 2010; 2010: 981072.
309. McFarland L. Normal flora: diversity and functions. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2000; 12: 193-207.

310. Galdeano CM, Perdigon G. The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. *Clin Vaccine Immunol* 2006; 13(2): 219-226.
311. Koll-Klais P, Mandar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarstrom L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20(6): 354-361.
312. Simark-Mattsson C, Emilson CG, Hakansson EG, Jacobsson C, Roos K, Holm S. *Lactobacillus*-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. *Eur J Oral Sci* 2007; 115(4): 308-314.
313. Strahinic I, Busarcevic M, Pavlica D, Milasin J, Golic N, Topisirovic L. Molecular and biochemical characterizations of human oral lactobacilli as putative probiotic candidates. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(2): 111-117.
314. Ishikawa H, Aiba Y, Nakanishi M, Oh-hashii Y, Koga Y. Suppression of periodontal pathogenic bacteria in the saliva of humans by the administration of *Lactobacillus salivarius* TI 2711. *Journal of the Japanese Society of Periodontology* 2003; 45: 105-112.
315. Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K, et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 2008; 35(10): 897-905.
316. Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T, Stecksens-Blicks C. Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand* 2009; 67(1): 19-24.
317. Fuller R, Gibson GR. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1997; 222: 28-31.
318. Reid G, Devillard E. Probiotics for mother and child. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38(6 Suppl): S94-101.
319. Gill H, Prasad J. Probiotics, immunomodulation, and health benefits. *Adv Exp Med Biol* 2008; 606: 423-454.
320. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol* 2008; 48: 111-147.
321. Hedberg M, Hasslof P, Sjostrom I, Twetman S, Stecksens-Blicks C. Sugar fermentation in probiotic bacteria--an in vitro study. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23(6): 482-485.
322. Twetman L, Larsen U, Fiehn NE, Stecksens-Blicks C, Twetman S. Coaggregation between probiotic bacteria and caries-associated strains: an in vitro study. *Acta Odontol Scand* 2009; 67(5): 284-288.
323. Keller MK, Hasslof P, Stecksens-Blicks C, Twetman S. Co-aggregation and growth inhibition of probiotic lactobacilli and clinical isolates of mutans streptococci: an in vitro study. *Acta Odontol Scand* 2011; 69(5): 263-268.

324. Soderling EM, Marttinen AM, Haukioja AL. Probiotic lactobacilli interfere with *Streptococcus mutans* biofilm formation in vitro. *Curr Microbiol* 2011; 62(2): 618-622.
325. He F, Ouwehand AC, Isolauri E, Hosoda M, Benno Y, Salminen S. Differences in composition and mucosal adhesion of bifidobacteria isolated from healthy adults and healthy seniors. *Curr Microbiol* 2001; 43(5): 351-354.
326. Gibbons RJ. Role of adhesion in microbial colonization of host tissues: a contribution of oral microbiology. *J Dent Res* 1996; 75(3): 866-870.
327. Stamatova I, Meurman JH. Probiotics: health benefits in the mouth. *Am J Dent* 2009; 22(6): 329-338.
328. Carlen A, Olsson J, Ramberg P. Saliva mediated adherence, aggregation and prevalence in dental plaque of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces* spp, in young and elderly humans. *Arch Oral Biol* 1996; 41(12): 1133-1140.
329. Filoche SK, Anderson SA, Sissons CH. Biofilm growth of *Lactobacillus* species is promoted by *Actinomyces* species and *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19(5): 322-326.
330. Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. Measurement of aggregation properties between probiotics and pathogens: in vitro evaluation of different methods. *J Microbiol Methods* 2007; 71(1): 71-74.
331. Lang C, Bottner M, Holz C, Veen M, Ryser M, Reindl A, et al. Specific *Lactobacillus/Mutans Streptococcus* co-aggregation. *J Dent Res* 2010; 89(2): 175-179.
332. HÅsslöf P. Probiotic Lactobacilli in the context of dental caries as a biofilm-mediated disease. Umeå University, Sweden, 2013.
333. Egervarn M, Danielsen M, Roos S, Lindmark H, Lindgren S. Antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus fermentum*. *J Food Prot* 2007; 70(2): 412-418.
334. Jones SE, Versalovic J. Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. *BMC Microbiol* 2009; 9: 35.
335. Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol* 1999; 276(4 Pt 1): G941-950.
336. Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, Yang PC, Ngan BY, McKay DM, et al. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut* 2006; 55(11): 1553-1560.
337. Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31(8): 1231-1233.

338. Wei H, Loimaranta V, Tenovuo J, Rokka S, Syvaöja EL, Korhonen H, et al. Stability and activity of specific antibodies against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* strain GG or treated at ultra-high temperature. *Oral Microbiol Immunol* 2002; 17(1): 9-15.
339. Chuang LC, Huang CS, Ou-Yang LW, Lin SY. Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. *Clin Oral Investig* 2011; 15(4): 471-476.
340. Green RM, Hartles RL. The effect of differing high-carbohydrate diets on dental caries in the albino rat. *Br J Nutr* 1966; 20(2): 317-323.
341. Twetman S, Frostner N. Salivary mutans streptococci and caries prevalence in 8-year-old Swedish schoolchildren. *Swed Dent J* 1991; 15(3): 145-151.
342. Thibodeau EA, O'Sullivan DM, Tinanoff N. Mutans streptococci and caries prevalence in preschool children. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993; 21(5): 288-291.
343. Beighton D, Adamson A, Rugg-Gunn A. Associations between dietary intake, dental caries experience and salivary bacterial levels in 12-year-old English schoolchildren. *Arch Oral Biol* 1996; 41(3): 271-280.
344. Liu GX, Xu QA, Jin J, Li YH, Jia R, Guo JH, et al. Mucosal and systemic immunization with targeted fusion anti-caries DNA plasmid in young rats. *Vaccine* 2009; 27(22): 2940-2947.
345. Rosen S, Elvin-Lewis M, Beck FM, Beck EX. Anticariogenic effects of tea in rats. *J Dent Res* 1984; 63(5): 658-660.
346. Taipale T, Pienihakkinen K, Isolauri E, Larsen C, Brockmann E, Alanen P, et al. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in reducing the risk of infections in infancy. *Br J Nutr* 2011; 105(3): 409-416.
347. Özbey H. *Lactobacillus Reuteri*'nin oral kolonizasyonunun hayvan modeli üzerinde incelenmesi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, (Prof. Dr. Nüket Sandallı), 2013.
348. Tahmourespour A, Kermanshahi RK. The effect of a probiotic strain (*Lactobacillus acidophilus*) on the plaque formation of oral *Streptococci*. *Bosn J Basic Med Sci* 2011; 11(1): 37-40.
349. Blackmore DK, Green RM. The use of germ-free and specific pathogen-free rats in short-term experiments for the assessment of potentially cariogenic organisms. *Arch Oral Biol* 1970; 15(12): 1149-1155.

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ
Doğum Tarihi : 19-02-1984
Doğum Yeri : Beyşehir/KONYA
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti (TC)
Email : zzahitciftci@gmail.com

Eğitim Düzeyi

Lise/mezuniyet tarihi: Süleyman Demirel Fen Lisesi/2002
Lisans/mezuniyet tarihi: Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği
Fakültesi/2007
Doktora/giriş: SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Pedodonti AD/2008 –

Yabancı Diller

Yabancı Dil/Katıldığı sınav/Puan: İngilizce/ ÜDS/ 72,5

Yayın ve Bildiriler

Hakemli Dergilerde Yayımlanan Teknik Not, Editöre Mektup, Tartışma, Vaka Takdimi ve Özet Türünden Yayınlar Dışındaki Makaleler

1. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ Z. Diş Yapısı ile İlişkili Genetik Malformasyonlar [The Genetic Malformations Related with Tooth Structure]. SDÜ Diş Hek Fak Derg 2009;1(1):21-30.
2. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ ZZ, KARAYILMAZ H. Çocuk ve Genç Bireylerde Tükürük Bezi Hastalıkları. Dicle Diş Hek Fak Derg 2012;13(2):149-155.

SCI, SSCI ve AHCI Dışındaki İndeks ve Özler Tarafından Taranan Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. KIRZIOĞLU Z, GÜNGÖR ÖE, ÇİFTÇİ ZZ. Evaluation of the restoration success of endodontic therapy of the primary molars. European J Dent Oct 2011;5:415-422.

SCI, SSCI ve AHCI Tarafından Taranan Dergilerde Yayımlanan Teknik Not, Editöre Mektup, Tartışma, Vaka Takdimi ve Özet Türünden Yayınlar

1. ÇİFTÇİ ZZ, KIRZIOĞLU Z, SARITEKİN A, YETİŞ CÇ. Development of permanent maxillary canines, second premolars and molars in early mixed dentition. Int Dent J 2013;63(SUPPL.1):337.

Özet Metin Olarak Yayımlanan Bildiriler

1. KIRZIOĞLU Z, CEYHAN D, ÇİFTÇİ Z. Diş eksikliği olan bireylerde mental foremenin yeri. 9. Ege Bölgesi Diş Hekimleri Odaları Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi, İzmir, 16-18 Mayıs 2008.
2. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ Z, CEYHAN D. Dens invaginatuslu bir üst lateral kesici dişte internal rezorbsiyon. 1. Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Kongresi, Diyarbakır, 8-12 Ekim 2008.
3. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ Z, SAĞLAM AA. Travmatik dental yaralanmalarda geç başvurunun sonuçları: Olgu sunumu. 1. Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Kongresi, Diyarbakır, 8-12 Ekim 2008.
4. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ Z, ŞENTUT TK. Lezyonlu 6 yaş dişlerine'hemisection: Olgu Sunumu. 1. Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Kongresi, Diyarbakır, 8-12 Ekim 2008.
5. KIRZIOĞLU Z, CEYHAN D, ERDOĞAN Y, ÇİFTÇİ ZZ. Batı Akdeniz Bölgesi çocuklarında, farklı diş yaşı belirleme metotlarının geçerliliği. 16. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, İzmir, 21-24 Mayıs 2009.
6. KIRZIOĞLU Z, GÜNGÖR ÖE, ÇİFTÇİ Z. Süt azı dişlerine yapılan amputasyonların uzun dönem başarısı. 16. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, İzmir, 21-24 Mayıs 2009.

7. Kırzioğlu Z, Calapoğlu N, Koruk D, Çiftçi Z. 49,XXXXY Sendromu-MSX1 Geninin Rolü. 17. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, Mardin, 20-23 Mayıs 2010.
8. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ Z. 7 Nolu dişin kuruunu tamamlanmış, 8 nolu diş ne durumda? İnönü Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 1. Uluslararası Kongresi, Malatya, 26-28 Nisan 2012.
9. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ ZZ, ÖZMEN Ö. Effects of 2.45 GHz electromagnetic field on development of teeth and surrounding tissues. 2nd International Conference and Exhibition on Dental and Oral Health, Dubai, UAE, 21-23 Nisan 2014.
10. KIRZIOĞLU Z, ÇİFTÇİ ZZ. Reattachment of Coronal Fractures: The Natural Restoration. IADT 18th World Congress on Dental Traumatology, İstanbul, 19-21 Haziran 2014.

Ulusal Toplantıda Sunularak Özet Metin Olarak Yayımlanan Bildiri

Alanında Ulusal Bilimsel Nitelikli Ödül

1. KIRZIOĞLU Z, CEYHAN D, ÇİFTÇİ Z. Ege Bölgesi D.O. 9. Uluslararası Bilimsel Kongre ve Sergisi. Poster 1.lik ödülü.

EKLER

ETİK KURUL İZİNİ

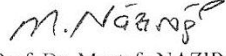
T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
ISPARTA

SAYI : 11815311034682600 / 131
KONU: Etik Kurul Kararı

26/10/2010

SAYIN
Prof. Dr. Zuhal KIRZIOĞLU
(SDÜ Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.)

“Ratlarda, diş, dişeti ve çene kemiği gelişimi üzerine 2.45 GHz elektromanyetik radyasyonun etkileri” konulu projeniz Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 26 EKİM 2010 tarih ve 01 sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNV. HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI





TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
26.10.2010	31	01

SDÜ. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 26 EKİM 2010 tarihinde Saat 15.00'de toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

01-Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.Prof. Dr. Zuhal KIRZIOĞLU'nun yürütücüsü olduğu Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU, Dt. Z.Zahit ÇİFTÇİ, Arş. Gör. Yıldırım ERDOĞAN, Arş. Gör. Ömer ÇELİK, Öğr. Gör. Dilek BAYRAM' ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Ratlarda, diş, dişeti ve çene kemiği gelişimi üzerine 2.45 GHz elektromanyetik radyasyonun etkileri." konulu çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Wistar Albino	Dişi	24	12 Haftalık

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Mustafa NAZIROĞLU BAŞKAN	Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN ÜYE	Prof. Dr. Münire ÇAKIR ÜYE
KATILMADI		
Doç. Dr. Sema BİRCAN ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Efkan UZ ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Bilge ÇADIR ÜYE
		KATILMADI
Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE	Vet. Hekim İshak Suat ÖVEY ÜYE
KATILMADI	KATILMADI	