

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**YAPAY ÇÜRÜK OLUŞTURULMUŞ MİNE YÜZEYLERİNDE
FARKLI REMİNERALİZASYON AJANLARININ ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: İN VİTRO ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ
Murat GÖKTÜRK

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Oya ŞEKER

HATAY- 2022

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**YAPAY ÇÜRÜK OLUŞTURULMUŞ MİNE YÜZEYLERİNDE
FARKLI REMİNERALİZASYON AJANLARININ ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: İN VİTRO ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ
Murat GÖKTÜRK

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Oya ŞEKER

Bu tez, Tez çalışması Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında, 21.DHU.005 proje numarası ile desteklenmiştir.

HATAY- 2022

Kabul ve Onay

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**YAPAY ÇÜRÜK OLUŞTURULMUŞ MİNE YÜZEYLERİNDE
FARKLI REMİNERALİZASYON AJANLARININ ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ: İN VİTRO ÇALIŞMA**

UZMANLIK TEZİ

Murat GÖKTÜRK

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından ... günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Juri başkanı : Doç Dr. Derya GÜRSEL SÜRMELİOĞLU

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Oya ŞEKER (Danışman)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Zuhal YILDIRIM BİLMEZ

Bu tez, Dekanlığımız Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

10/10/2022

Prof. Dr. Nizami DURAN

Diş Hekimliği Fakültesi Dekan V.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda ve uzmanlık eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Oya ŞEKER'e ve Dr. Öğr. Üyesi Zuhal YILDIRIM BİLMEZ' e

Klinikte çalışma arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Hazal DENİZ KÖSE, Arş. Gör. Cemil SEVİNİR ve Arş. Gör. Burcu ÖZYAŞAR' a

Eğitim-öğretim hayatım boyunca sevgileriyle bana her zaman destek olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Mine Dokusu	4
2.2. Diş Çürüğü	4
2.2.1. Yüzeyel tabaka	6
2.2.2. Lezyon gövdesi	7
2.2.3. Karanlık tabaka	7
2.2.4. Saydam tabaka	7
2.3. Demineralizasyon ve Remineralizasyon	8
2.4. Mine Çürüklerinde Kullanılan Remineralizasyon Ajanları	9
2.4.1. Florür	11
2.4.2. Gümüş İyonu	13
2.4.3. Demir İyonu	13
2.4.4. Ksilitol	14
2.4.5. İzomalt	14
2.4.6. Sorbitol	14
2.4.7. Kitosan	15
2.4.8. Galla Chinesis	15
2.4.9. Teobromin	15
2.4.10. Üzüm Çekirdeği Ekstresi (Polifenoller)	16
2.4.11. Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat (Biyoaktif Cam)	16
2.4.12. Trikalsiyum silikat	17
2.4.13. Nano hidroksiapatit	17
2.4.14. Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP)	18
2.4.15. Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum floro fosfat (CPP-ACFP)	18

2.4.16. Trikalsiyum fosfat (TCP)	19
2.4.17. Kendiliğinden birleşen peptitler	19
2.4.18. Dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD)	20
2.4.19. Kalsiyum fosforil oligosakkaritler	20
2.4.20. Kalsiyum karbonat (CaCO_3)	20
2.4.21. Sodyum trimetafosfat (sTMP)	20
2.4.22. Kalsiyum gliserofosfat (CaGP)	21
2.5. Yapay Çürük Modelleri	21
2.5.1. Biyolojik Model	21
2.5.2. Asit Tamponlarının Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli	22
2.5.3. pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon /Remineralizasyon Modeli	22
2.6. Mine Mineral Yapısının ve Yüzey Alanın Analiz Yöntemleri	22
2.6.1. EDS (Energy dispersive x-ray) analizi	23
2.6.2. SEM	24
2.6.3. Nanoindentasyon	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Çalışmamızda Kullanılan Materyaller	26
3.1.1. Çalışmamızda Kullanılan Remineralizasyon ajanları	26
3.1.1.1. Dharma Ionite Florür Jel	27
3.1.1.2. GC MI Paste Plus	27
3.1.1.3. ProShield Varnish	28
3.1.1.4. UltraEZ	29
3.1.2. Çalışmada Örneklerin Nanosertlik, Elastisite Modülü ve Yüzey Pürüzlülüğü Analizlerinin Yapılması İçin Kullanılan Cihaz	29
3.1.3. Çalışmada Örneklerin Yüzey Görüntülerinin Alınması ve Elementel Analizlerin Yapılması İçin Kullanılan Cihaz	31
3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	33
3.2.1. Çalışma planı	35
3.2.2. Çalışma grupları	36
3.3. Deneylerde Kullanılan Mine Örneklerinin Hazırlanması	36
3.4. Mine Yüzeylerinde Başlangıç Çürük Lezyonu Oluşturulması	36
3.5. Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden (pH) Döngüsünün Uygulanması	37
3.6. Araştırma Protokolü	37
3.7. İstatistiksel İncelemeler	38
4. BULGULAR	39

4.1.Nanoindentasyon Bulguları	39
4.1.1.Elastisite Modülü Bulguları	39
4.1.3. Pürüzlülük Bulguları	47
4.1.4.Deney Grupları Arası Nanoindentasyon Bulguları Değerlendirmesi	51
4.2.EDS Bulguları	52
4.2.1.Deney Grupları Arası EDS Bulguları Değerlendirmesi	63
4.3.Pozitif ve Negatif Kontrol Gruplarının Değerlendirilmesi	65
4.4.SEM Bulguları	66
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	80
7. KAYNAKLAR	82
EKLER	93
EK 1	93
ÖZGEŞMİŞ	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Stephan eğrisi	5
Şekil 2. 2. EDS analizinde mine yapısındaki eser elementler dahil histogram örneği	23
Şekil 2. 3. Aynı mine yüzeyinin sırasıyla 5000, 10000 ve 15000 büyütülmüş SEM görüntüleri	24
Şekil 3. 1. Dharma İonite Florür Jel / Dharma, ABD	27
Şekil 3. 2. GC MI Paste Plus / Recaldent, Melbourne, Australia	28
Şekil 3. 3. Proshield Varnish / President dental, Munich, Germany	28
Şekil 3. 4. UltraEZ / Ultradent, South Jordan, USA	29
Şekil 3. 5. Nanosertlik, elastisite modülü ve yüzey pürüzlülüğü analizlerinin yapıldığı cihaz, Hysitron TI 950 TriboIndenter (Hysitron, ABD)	31
Şekil 3. 6. Örneklerin yüzey görüntülerinin alındığı ve elementel analizlerin yapıldığı cihaz, Thermo Fisher Scientific Apreo S taramalı elektron mikroskobu	33
Şekil 3. 7. Thermo Fisher Scientific Apreo S cihazı çalışma kapasite aralıkları	33
Şekil 3. 8. Çalışmamızın gruplandırılması, çalışma sıralaması, metod ve yöntemlerinin açıklayıcı tablosu	34
Şekil 3.9A. Örneklerin cilalama öncesi görünümü	35
Şekil 3.9B. Örneklerin cilalama sonrası görünümü	35
Şekil 4. 1. Grup içi ve gruplar arası elastisite modülü değerlendirilmesi	43
Şekil 4. 2. Grup içi ve gruplar arası nanosertlik değerlendirilmesi	47
Şekil 4. 3. Grup içi ve gruplar arası pürüzlülük değerlendirilmesi	51
Şekil 4. 4. Grup içi ve gruplar arası fosfor değerlendirilmesi	56
Şekil 4. 5. Grup içi ve gruplar arası kalsiyum (Ca) değerlendirilmesi	59
Şekil 4. 6. Grup içi ve gruplar arası Ca/P değerlendirilmesi	63
Şekil 4. 7. Grup 1 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede	67
Şekil 4. 8. Grup 2 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede	67
Şekil 4. 9. Grup 3 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede	67
Şekil 4. 10. Grup 4 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede	68
Şekil 4. 11. Grup 5 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede	68
Şekil 4. 12. Grup 6 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede	68

ÇİZELGELER

Çizelge 3. 1. Çalışmamızda kullanılan Remineralizasyon ajanları	26
Çizelge 3. 2. Çalışmamızda kullanacağımız demineralizasyon jeli içeriği. ph: 4.7	37
Çizelge 4. 1. Grup içi ve gruplar arası elastisite modülü değerlendirilmesi	42
Çizelge 4.2. Grup içi ve gruplar arası nanosertlik değerlendirilmesi	46
Çizelge 4. 3. Grup içi ve gruplar arası pürüzlülük değerlendirilmesi	50
Çizelge 4. 4. Remineralizasyon ajanlarının örnekler üzerindeki sertlik, elastisite ve pürüzlülüğü değiştirme miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması.....	52
Çizelge 4. 5. Grup içi ve gruplar arası fosfor değerlendirilmesi.....	55
Çizelge 4. 6. Grup içi ve gruplar arası kalsiyum değerlendirilmesi	59
Çizelge 4. 7. Grup içi ve gruplar arası Ca/P değerlendirilmesi	62
Çizelge 4. 8. Remineralizasyon ajanlarının örnekler üzerindeki Ca, P ve Ca/P değiştirme miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması	64
Çizelge 4. 9. Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'nın sertlik, elastisite ve pürüzlülüğü değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması	65
Çizelge 4. 10. Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'nın P, Ca ve Ca/P değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

F	: Florür
CPP-ACP	: Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Fosfat
KNO₃	: Potasyum Nitrat
SEM	: Scanning Electron Microscopy
EDS	: Energy Dispersive X-ray Spektroskopy
HAP	: Hidroksiapatit
FHAP	: Florid Hidroksiapatit
FAP	: Floroapatit
Ca	: Kalsiyum
PO₄⁻³	: Fosfat
H⁺	: Hidrojen
µm	: Nanometre
DCPD	: Dikalsiyum Fosfat Dihidrat
CaCO₃	: Kalsiyum Karbonat
Ca₃PO₄	: Trikalsiyum Fosfat
STMP	: Sodyum Trimetafosfat
CAGP	: Kalsiyum Gliserofosfat
PPM	: Parts Per Million (milyonda bir)
CaF₂	: Kalsiyum Florid
DCPD	: Dikalsiyum Fosfat Dihidrat
CaCO₃	: Kalsiyum karbonat
AKM	: Atomik Kuvvet Mikroskop
Si₃N₄	: Silisyum Nitrür
µN	: Mikro Newton
NM/S	: Nanometre/Saniye
KV	: Kilovolt
CaCl₂	: Kalsiyum Klorür
KH₂PO₄	: Potasyum Fosfat
KCl	: Potasyum Klorür
NaH₂PO₄	: Monosodyum Fosfat

pH	: Power of Hydrogen (Hidrojen gücü)
M	: Mol
mM	: Mili Mol



ÖZET

YAPAY ÇÜRÜK OLUŞTURULMUŞ MİNE YÜZEYLERİNDE FARKLI REMİNERALİZASYON AJANLARININ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ: İN VİTRO ÇALIŞMA

Giriş ve Amaç: Bu çalışma farklı içerikli remineralizasyon ajanlarının, çekilmiş çürüksüz daimi molar ve premolar dişlerde oluşturulan yapay çürük lezyonları üzerinde remineralizasyon etkinliğinin in vitro koşullarda değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 42 adet çürüksüz, ağız ortamından etkilenmemiş 20-40 yaş arası gömülü 20 yaş dişi kullanılmıştır. 42 mine yüzü örneği 4 deney ve 2 kontrol (pozitif ve negatif) kontrol grubu olmak üzere 6 çalışma grubuna randomize ayrılmıştır. Her grupta 7 adet örnek olacak şekilde (n=7) çalışılmıştır. Çalışmamızdaki deney gruplarında demineralize mine yüzeylerine uygulanan remineralizasyon ajanları Dharma Ionite Flor Jel (USA), GC MI Paste Plus (Recaldent, Melbourne, Australia), ProShield Varnish (President dental, Münih, Germany) ve UltraEZ (Ultradent, South Jordan, USA) dir. Ağız ortamını taklit etmek için remineralizasyon ajanlarının uygulanacağı sürede demineralizasyon ve remineralizasyon siklüsüne devam edilmiştir. Tüm gruplardaki mine yüzeylerinde 3 ayrı zamanda SEM-EDS ve Nanoindentasyon analizleri yapıldı. SEM ve EDS için analizleri için Thermo Fisher Scientific (FEI) Apreo S Taramalı Elektron mikroskobu kullanılmıştır. Nanoindentation ölçümü için HYSITRON TI 950 TriboIndenter cihazı kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılmıştır. Analiz yapılırken veriler grup içi bağımlı, gruplar arası bağımsız olacak şekilde değerlendirildi. Bu analizlerde Oneway Anova testi, Mann Whitney U testi, paired sample t testi, Varyans Analizi ve Bonferroni Testi kullanılmıştır ($p<0,05$).

Bulgular: Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki elastisite değişim miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki sertlik artış miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p:0,013$; $p<0,05$). Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki pürüzlülük değişim miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arasında T2 zamanındaki Ca/P ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$).

Sonuç: Farklı içerikli remineralizasyon ajanlarının minenin fiziksel ve kimyasal özelliklere etki etmesinin remineralizasyon etkinlikleriyle orantılı olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmada kullandığımız tüm remineralizasyon ajanlarının örnekler üzerindeki yapay başlangıç mine çürüklerini farklı derecelerde olsa da remineralize ettiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Yapay Çürük, Remineralizasyon, SEM-EDS, Nanoindentasyon.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF DIFFERENT REMINERALIZATION AGENTS ON ARTIFICIAL CARNATION ENAMEL SURFACES: IN VITRO STUDY

Introduction and Aim: This study was carried out to evaluate the remineralization efficacy of remineralization agents with different contents on artificial caries lesions formed in extracted caries-free permanent molars and premolars under in vitro conditions.

Material and Methods: In our study, 42 caries-free, 20-year-old buried 20-year-old teeth, unaffected by the oral environment, were used. 42 enamel face specimens were randomized into 6 study groups, including 4 experimental and 2 control (positive and negative) control groups. Seven samples (n=7) were studied in each group. Remineralization agents applied to demineralized enamel surfaces in our study were Dharma Ionite Fluor Gel (USA), GC MI Paste Plus (Recaldent, Melbourne, Australia), ProShield Varnish (President dental, Munich, Germany) and UltraEZ (Ultradent, South Jordan, USA). . In order to mimic the oral environment, the demineralization and remineralization cycle was continued during the application of remineralization agents. SEM-EDS and Nanoindentation analyzes were performed on enamel surfaces in all groups at 3 separate times. Thermo Fisher Scientific (FEI) Apreo S Scanning Electron microscope was used for analysis for SEM and EDS. The HYSITRON TI 950 TriboIndenter device was used for nanoindentation measurement. IBM SPSS Statistics 22 program was used for statistical analysis. While performing the analysis, the data were evaluated as being dependent within the group and independent between the groups. Oneway Anova test, Mann Whitney U test, paired sample t test, Analysis of Variance and Bonferroni Test were used in these analyses($p<0,05$).

Results: There was no statistically significant difference between the groups in terms of the amount of change in elasticity at T2 time compared to T1 time ($p>0,05$). There was a statistically significant difference between the groups in terms of the amount of hardness increase at T2 time compared to T1 time ($p:0,013$; $p<0,05$). There was no statistically significant difference between the groups in terms of the amount of roughness change in T2 time compared to T1 time ($p>0,05$). There was a statistically significant difference between the groups in terms of Ca/P averages at T2 time ($p:0,000$; $p<0,05$).

Conclusion: In our study all the results show that the effect of remineralization agents with different contents on the physical and chemical properties of enamel is proportional to their remineralization efficiency. It was concluded that all the remineralization agents we used in the study remineralized the artificial initial enamel caries on the samples, although to varying degrees.

Keywords: Artificial Caries, Remineralization, SEM-EDS, Nanoindentation.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ağız ortamındaki karyojenik bakteriler, özellikle S.Mutans ve Laktobasillus türleri, karbonhidratları fermente ederek organik asitler ortaya çıkarmaktadırlar. Genel olarak bu organik asitlerin diş sert dokularında yıkıma sebep olması diş çürüğü olarak tanımlanmaktadır. Diş çürüğü temel olarak etyolojisinde mikroorganizmalar, besin, ortam ve zaman olan multifaktöriyel bir süreçtir.^{1,2} Çürük patolojisinde rol olan bakterilerin oluşturdukları asitler plak pH'ının demineralizasyon için kritik seviye olan 5,5 un altına düşmesine neden olur ve demineralizasyon başlar.³ Demineralizasyon süreciyle minerde mineral yapısında kayıplar olur. Böylece minenin mekanik ve optik özellikleri değişir. Yüzeydeki mine görüntüsü opaklaşır. Minede görülen bu opaklık, çürüğün ilk görüntüsü olan beyaz nokta lezyonu olarak ifade edilir.⁴

Diş çürüğü toplumda en sık rastlanan hastalıklardandır. Çok yaygın görülen çürük hastalığının ilerlemeden koruyucu uygulamalar ile tedavisi bu nedenle büyük önem arz etmektedir. Koruyucu diş hekimliği uygulamaları üzerine yapılan çalışmalarda pH seviyesinin kritik seviye olan 5,5' in üzerine çıkması ile döngünün demineralizasyondan remineralizasyona geçebildiği gösterilmiştir.⁴⁻⁶ Günümüzde remineralizasyon üzerine çalışmalarla pek çok remineralizasyon ajanı geliştirilmiş ve koruyucu yöntemler denenmiştir. Bu kapsamda florür (F) uygulamaları çürükle mücadelede etkili bir yöntemdir.⁶⁻⁸ Ancak yine de alternatif ürünlerin geliştirilmesi ve mevcut ürünlerin etkinliğinin artırılması gerekmektedir.

Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) remineralizasyon ajanlarında kullanılan bir üründür. CPP-ACP serbest kalsiyum ve fosfatı bir arada tutarak ortam için rezervuar görevi görür. Böylece demineralizasyonu engeller, remineralizasyon sağlar.⁹ Yapılmış bir çalışmada CPP-ACP'nin mikroorganizmaların büyümesine ve diş yüzeyine kolonize olmalarına negatif yönde etki ettiği böylece çürüğü engellediği gösterilmiştir.¹⁰ Bu içerik şekersiz sakızlar, nane şekerleri, içecekler gibi ürünlere eklenebildiği gibi dental kliniklerde topikal jel formunda ve cam iyonomerlerin içerisinde de uygulanabilir.¹¹ Ayrıca CPP-ACP ve florürün (F) kombine kullanımının sinerjik etki yaratarak daha yüksek remineralizasyon özelliği gösterdiği çalışmalar da mevcuttur.^{12,13}

Şeker alkollerinden olan ksilitol bakteriler tarafından metabolize edilemez ve bakterilerin mine yüzeyine yapışmasını engeller. Antibakteriyel olarak bilinir. Sakız, şeker, şurup, pastil, diş macunu, ağız gargaralarında bulunur.^{14,15}

Sodyum florür (NaF) topikal olarak uygulanan ilk florürlü bileşiktir. 1940'lardan bu yana piyasada çeşitli ürünlerde kullanılmaktadır. NaF diş macunlarında mililitresinde %0,2-1 miligram, gargaralarda %2 ve verniklerde %5 (22000 ppm) olarak bulunur.¹⁶ Birleşmiş Milletler Halk Sağlığı Servisi oral profilaksi sonrasında 3-4 dakika uygulanan %2 NaF solüsyonunu önermiştir ve bu en yaygın kullanım şeklidir.¹⁷ NaF içerikli preperatların normal şartlarda nötral ph ya sahip olduğu ifade edilmiştir.¹⁸

Potasyum nitrat (KNO_3) diş macunlarında ve profesyonel kullanım için hassasiyet giderici jellerin içeriğinde bulunmaktadır. Potasyum nitratın F ile kombine kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur.¹⁹ Potasyum içerikli ajanlar genel mekanizma olarak sinir fibrillerinin uyarımını düşürüp, hassasiyeti azaltarak etkili gösterirler.²⁰

Scanning Electron Microscopy-taramalı elektron mikroskobu (SEM) de incelenecek yüzeylerden büyütme yapılarak görüntüler alınır. Görüntü, yüzeye gönderilen elektron demetinden yansıyan elektronların sinyallerinin anlamlandırılması sonucu elde edilir. Bu görüntü ile sadece incelenecek yüzeyin morfolojisi yorumlanabilir, kimyasal yapı ile ilgili bilgi barındırmaz.^{21,22}

Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) incelenecek materyalin yapısındaki mineral miktarını ölçmek için kullanılan bir analiz yöntemidir. Bu analiz ile örneğin yapısındaki element ve minerallerin direk ölçümü yapılabilmektedir. Genellikle mühendislik ve kimya alanında kullanılmasına rağmen diş hekimliğinde de mine ve dentin mineral yapısı analizi için genellikle tercih edilir.^{23,24} Enerji yayımlı X ışını spektroskopisinde incelenecek yüzeye yüksek enerjili elektronlar yönlendirilir. Böylece atomik düzeyden elektron kopması sonucu ortaya çıkan X ışınının karakteristiğine ve kimliğine göre kopan elektronun hangi elementten yayıldığının tespiti yapılır. Bu x ışınları elektronik alıcılar tarafından algılanır ve veriler bilgisayar ekranında pikler oluşturur. Bu piklerin altında kalan alanlar ile elementel miktarlar orantılıdır ve elementel analizler sonuçlanır.^{25,26}

Nanoindentasyon analizi ile farklı materyallerin mekanik özellikleri değerlendirilir. Malzemelerin nanosertlik, pürüzlülük ve elastisite modülü kantitatif olarak ölçülür. Çalışma prensibi yüzeye uygulanan kuvvete karşı nano düzeyde malzemenin verdiği tepkinin ölçülmesidir. Uygulanan kuvvet ve penetrasyon derinliğine bağlı tüm yükleme ve geri yükleme boyunca sürekli kayıt yapılmaktadır. Yüzeyde istenilen bölgeden istenilen sayıda ölçüm yapılabilir. 1992 yılından beri bu analiz yaygın olarak kullanılmaktadır.²⁷

Geriye dönüdürebilme potansiyeli mevcut hastalık olan başlangıç mine çürüğü için çok fazla remineralizasyon ajanı mevcuttur. Bu tez çalışmamızda F (florür), CPP-ACP (kazeinfosopeptid-amorf kalsiyum fosfat), NaF (sodyum florür)-Ksilitol ve KNO₃ (potasyum nitrat) içerikli remineralizasyon ajanlarının in vitro ortamda başlangıç mine çürükleri üzerindeki etki ve etkinliklerini araştırmaktayız. Bu doğrultuda ve kliniklerde remineralizasyon amacıyla sıklıkla kullanılmaları yönüyle de Dharma Ionite Flor Jel, GC MI Paste Plus, Proshield Varnish ve UltraEz çalışmamıza dahil edilmiştir. Nanoindentasyon ve SEM-EDS analizleri mine mekanik yapısı, element analizi ve yüzey görüntüleri için bilgi vermektedir. Bu veriler araştırmacıya çürük ve/veya sağlam mine arasında karşılaştırma yapmada nicel veriler ve istenilen büyütmede görüntüler sağlamaktadır. Literatürde pek çok invitro demineralizasyon-remineralizasyon çalışması mevcuttur.^{18,19,24} Çalışmamız bu dört ajanı karşılaştırılmalı olarak Nanoindentasyon ve SEM-EDS analizleri ile incelemesi yönüyle ilktir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mine Dokusu

Mine, diş dokuları içerisinde tükürük ve tüketilen gıdalarla direkt temasta olundur. Kron yüzeyini kaplamaktadır. Kron yüzeyinde farklı bölgelerde farklı kalınlıktadır. Genellikle tüberkül tepelerinde en kalın, fissürler ve servikal bölgede ise ince yapıdadır. Mohs sertlik skalasına göre vücudun en sert tabakasını oluşturmaktadır.^{28,29} Mine yapısı %95-98 inorganik, %1 organik materyal ve %4 su içerir. İnorganik maddeler apatit kristalleri şeklindedirler. Apatit kristalleri kalsiyum karbonat ve kalsiyum hidroksitten meydana gelir. Minenin organik yapısı ise büyük oranda protein ve lipid ile birlikte karbonhidrat, sitrat ve laktozlar tarafından oluşmaktadır. Ayrıca su, alkol boyar madde ve çeşitli iyonlarda ihtiva etmektedir. Böylece inorganik yapı, organik matriks ile birleşerek minenin mineralize yapısını şekillendirmektedir.³⁰

2.2. Diş Çürüğü

Diş çürüğü ağız florasındaki karyojenik bakterilerin sayılarının artması sonucu biyolojik konak dengesinin bozulmasıyla oluşan multifaktöriyel ve bulaşıcı bir hastalıktır.³¹

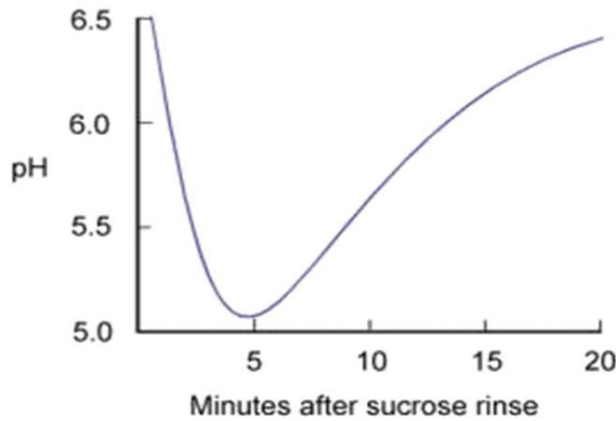
Diş çürüğü ile ilgili 3 farklı hipotez vardır. Bunlardan ilki ‘Nonspesifik plak hipotezi’ dir. Bu hipotezde plak komple patojen olarak ortaya konur ve plak birikimine karşı sürekli bir tedavi önerilmektedir. Bu yönüyle hipotez tutarlı değildir.³² İkincisi ‘Spesifik plak hipotezi’ dir. Burada plağın hastalıkla ilişkili olduğu anda patojen olduğu görüşü vardır. Streptococcus sobrinus ve Streptococcus mutans çürükten sorumlu bakteriler olarak ifade edilmiştir. Bu hipotezde plak organizasyonunu hastalık olmadığında normal kabul edilmiş plak içeriğindeki bakterilerden karyojenik olanların azaltılıp, nonkaryojenik olanların artırılması amaçlanmıştır.³³ Sonuncusu ise ‘Ekolojik plak hipotezi’ dir ve günümüzde en çok değer bulan plak hipotezidir. Bu hipotezde diyet, dentisyon, immün sistem, asit üretimi gibi faktörlerin değişmesinin çürük oluşumuna neden olduğu ifade edilir. Bireyin tükettiği karbonhidratlar ağızda sindirime uğramaktadır. Bakterilerin bu karbonhidratları fermente etmesi sonucunda meydana gelen asitler pH’ yı düşürmektedir. Böylece inorganik kalsiyum (Ca) ve fosfat (PO₄⁻³) kristalleri ile organik matriks arasındaki elektrostatik bağlantı

bozulmaktadır. Hidroksiapatit (HAP) kristallerini oluşturan Ca ve PO_4^{3-} ın çözünmesi sonucunda mineral kaybı oluşur. Bu demineralizasyon süreci kontrol edilmezse kaviteasyon ile sonuçlanabilir.³⁴

Diş çürüğü oluşmasında 4 ana faktör dediğimiz mikroorganizmalar, besin, konak ve zamanın yanında diş morfolojisi, tükürük kompozisyonu, bağışıklık sistemi, genetik, çevresel ve sosyoekonomik faktörler şeklinde çok sayıda yardımcı faktör de vardır.³⁵

Tükürük, ağız ortamından diş dokusuna ve diş dokusundan ağız ortamına iyon alışverişini sağlaması yönünden de önemlidir. Ağız ortamından florür, magnezyum, kalsiyum ve fosfat iyonları minenin yapısına girebilir. Bunun sonucunda yüzey sertliği artar ve mine çürüğe daha dayanıklı hale gelir. Ortalama günlük 500-1500 ml arasında tükürük salgılanmaktadır ve bu miktar kişiler arası farklılık gösterir. Tükürüğün pH'ı normal şartlarda 6,7-7,4 arasındadır ve tükürüğün akış hızının artması ile pH da yükselir.³⁶

Stephan eğrisi (Şekil 2.1.) olarak tanımladığımız grafikte tükürük ph sınır 5 e düşüp başlangıçtaki ph değerine döndüğü gösterilir. İlk kez Stephan tarafından yapılan deneyde ağzın glikoz solüsyonu ile çalkalanması sonucu tükürük ph sı 2-4 dakika arasında 5' e düşmüştür ve müdahale edilmeyen konağın tükürük ph sı 40 dakika içinde başlangıçtaki seviyesine gelmiştir. Genel ortam pH' ının 5,5 ve altına düştüğü koşullarda minenin yapısal çözülme yaşadığı izlenir. Bu nedenle 5,5 'kritik ph' olarak isimlendirilir. Sabit bir değer olmayan pH tükürüğün tamponlama kapasitesi, akış hızı ve asit tipinden etkilenir. Bu nedenle ağız ortamında sürekli bir pH değişimi olduğu söylenir.³⁷



Şekil 2. 1. Stephan eğrisi

Başlangıç çürük lezyonları, kavitasyon oluşmamış mine tabakası içinde mineral kaybıyla karakterize yüzeyel lezyonlar olarak tanımlanır. Mine 3-4 hafta süreyle karyojenik bir floraya sahip ortamda kaldığı takdirde mine yüzeyinde değişimler başlar yüzey pürüzlülüğü önemli oranda artar.³⁹ Başlangıç mine lezyonunun görüldüğü evrede minenin 10-100 mikrometre (μm) derinliğindeki dış yüzeyinde bir bozulma izlenmez. Bu bölgede demineralizasyon yoktur ve sert bir yapı gösterir. Mine tabakasının 10-100 μm derinliğe kadar bozulmadan kalabildiği bu erken dönemde görülen başlangıç çürük lezyonunun göz ile muayenede görülemediği bildirilmiştir.⁴⁰ Bu lezyonların radyografide de teşhisi zordur. Bu lezyonların düz yüzeylerdeki ilk belirtisi opak beyaz noktalar (white spot). Beyaz lezyonların görülmesi çürüğün daha ileri bir safhaya geçtiğini anlatır. Bu durumun nedeni ise bu beyaz lezyonların çürük ancak 300-500 μm derinliğe ulaştığında görülebilmesidir. Opak görüntünün oluşma nedeni çözünen iyonların yüzeyel tabakanın altında çökmesidir.⁴⁰

Başlangıç çürük lezyonlarının histolojik açıdan 4 katmandan oluştuğu polarize ışık mikroskobu altında izlenebilmektedir. Bu tabakalar en dıştan başlayarak sırayla; yüzeyel tabaka, lezyonun gövdesi, karanlık tabaka ve saydam tabakadır. Lezyonun gövdesi ve karanlık tabaka demineralizasyon alanları iken, yüzeyel tabaka ve saydam tabaka remineralizasyon alanlarıdır.⁴¹

2.2.1. Yüzeyel tabaka

Minerallerin yoğunlaştığı bu tabaka ağız ortamı ile doğrudan ilişkide olan en dış tabakadır. Buradaki mineral zenginliğine tükürüğün ve lezyon bölgesinden çözünen minerallerin burada birikmesinin katkı sağladığı düşünülmektedir. Bu tabaka remineralizasyon-demineralizasyon döngüsünde rol alan iyonların geçişine izin vererek difüzyon bariyeri rolü de oynar. Yüzeyel tabakada porlar normalden daha geniştir ve yapı yine sağlıklı mineye göre daha porözdür. Bu tabakadaki mineral kaybı %5-10 civarındadır. Asit ataklarından az etkilenen bu sert tabakada hipermineralize alanlara da rastlanabilir.^{42,43}

2.2.2. Lezyon gövdesi

Başlangıç çürük lezyonlarında en fazla mineral kaybının gözlendiği alan olan lezyonun gövdesi yüzeysel tabakanın altındadır. Yaklaşık %25 oranında mineral kaybı gözlenebilir. Karanlık tabaka ile birlikte demineralizasyon alanını oluşturur ve karanlık tabakaya göre daha geniştir. Bu alanda mineral kaybıyla birlikte su ve organik yapıda artma gözlenmektedir. Bunun tükürük ve bakteri girişine bağlı olduğu düşünülmektedir. Por hacimleri en geniş bölgedir. Transmisyon elektron mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu ile gözlem yapılırsa bu porlarda bakteri izlenebilir. İlerlemiş lezyonlarda mineral kaybına bağlı olarak bu tabaka radyografide izlenebilmektedir. Oldukça geniş demineralizasyon alanına sahip olsa da bu tabakada kristaller protein matriksi üzerindeki pozisyonunu korumaktadır.^{42,43}

2.2.3. Karanlık tabaka

Yüzeyden itibaren 3. tabaka olan karanlık tabaka porozite bakımından yüzeyel tabakaya göre yüksek, lezyon gövdesine göre ise daha az poroziteye sahiptir. Por hacmi toplam yüzey alanının yaklaşık %2-4 arasındadır. Demineralizasyon remineralizasyon döngüsünde mineral miktarının yaklaşık %6' sına kadar kayıp gözlenebilir . İçerdiği çok sayıda mikropor sayesinde kinolin boyasını kolayca absorbe edebilir ve polarize mikroskop görüntüsünde karanlık bir bölge şeklinde izlenir. Demineralizasyon miktarı saydam tabakaya göre yüksekken, lezyonun gövdesine göre azdır.^{42,44}

2.2.4. Saydam tabaka

Başlangıç çürüklerinde saydam tabakadan sonra artık sağlam doku gelmektedir. Minenin normal formasyonunda bulunan enine prizma çizgileri ve retzius çizgileri bu tabakada izlenememektedir. Mikroskop incelemesinde net görüntüler vermediği için böyle adlandırılmıştır. Porozitesi sağlam mineye göre 10 kat fazladır. Mineral kaybı bu alanda yaklaşık %1-2 civarındadır. En derinde olan saydam tabakanın lezyonunun ilerlemişliği ile ilgili bilgi verdiği belirtilmiştir.^{42,44}

Diş çürüğünün ilerlemesi, durdurulması ve geri döndürülmesinin mümkün olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur.^{5,45,46} Remineralizasyon ve demineralizasyon arasındaki

dengeye bağılı olan çürük süreci bu remineralizasyon veya demineralizasyon süreçlerine etki ederek kontrol edilebilir. Piyasada bu amaca yönelik çok sayıda remineralizasyon ajanı mevcuttur.⁴⁷⁻⁴⁹

2.3. Demineralizasyon ve Remineralizasyon

Ağız ortamında karyojenik koşullar oluştuğunda 7,0 olan pH düşmeye başlar ve kritik pH olan 5,5'in altına indiğinde mineden iyon kayıpları başlar.⁴ Bu süreç demineralizasyon olarak adlandırılır. Demineralizasyon süresince, hidrojen iyonlarının plaktan diş yüzeyine ve mineden çözünen minerallerin de plak ve tükürük içerisine geçişi söz konusudur. Mikrobiyal dental plak kalsiyum ve fosfat açısından zengindir.⁵⁰ Ortamın pH' sının düşmesi ile birlikte hidrojen iyonlarında meydana gelen hızlı artış, H⁺ iyonlarının HAP kristallerini çevreleyen gözeneklerdeki sıvıya doğru difüzyonuna sebep olur. Bunun sonucunda kalsiyum ve fosfat mine yüzeyine doğru yoğunlaşır. Burda yoğunlaşan kalsiyum ve fosfat biyofilm ve plak içine doğru çökelir ve demineralizasyon gerçekleşmiş olur.⁵¹ Böylece mine çözünürken plaktaki asit ile diş minesinde 20-50 µm derinliğinde mikro kanallar meydana gelir. Bu süreç klinik olarak optik değişikliklerle kendini gösterir. Normal mine translusent görünümde olmasına karşın demineralizasyon sonucunda beyaz opak bir lezyon izlenir. Diş yüzeyi kurutulduğunda, mikro kanallar yapısındaki su yerine hava geçer ve ışığın kırılma indeksi azalır daha opak görüntünün belirginliği artar. Bu lezyon çürüğün erken klinik görüntüsüdür ve 'beyaz opak lezyon' olarak isimlendirilir. Beyaz nokta lezyonları plak uzaklaştırıldığında, yeterli tükürük akışı ve remineralizasyona yardımcı ajanlar ile geri dönebilmektedir.^{40,52} Remineralizasyon ise kavitasyonsuz başlangıç çürük lezyonları için doğal onarım sürecidir. Bu süreçte öncelikle tükürükten veya topikal kaynaklardan gelen kalsiyum ve fosfat mine yapısına infiltre olur ve mevcut kristal kalıntıları üzerine çökerler. Oluşan yapılar tamir yapılarıdır.⁵³ Demineralizasyon sonrasında kalsiyum ve fosfattan doymun hale gelen mikrobiyal dental plak da remineralizasyon sürecinde gerekli iyonlar açısından temasta olduğu mine yüzeyi için yardımcı bir kaynaktır. Ekolojik denge tekrar oluştuğunda pH yükselmeye başlar ve H⁺ iyonunun itici gücü biter bu remineralizasyonun başlangıç sürecidir. Mine lezyonlarındaki yüzey altı kalsiyum ve fosfat iyonların konsantrasyonu ile tükürük ve plaktaki kalsiyum ve fosfat iyonlarının konsantrasyon farkı remineralizasyon için itici güç oluşturmaktadır. Ortamın kalsiyum ve

fosfata doyması lezyon bölgesine doğru pasif bir diffüzyon oluşturur. Bu şekilde tekrarlanan bu dinamik süreç bize karyojenik koşulların ortadan kaldırıldığında demineralizasyonun tersine dönebileceğini gösterir ve çürükten korunmanın mümkün olduğunu işaret eder.^{51,54} Demineralize minenin yapısının remineralizasyonunda ortamdaki kalsiyum ve fosfat konsantrasyonlarının aşırı fazla olması mineralizasyonu bozabilmektedir. Yüksek konsantrasyonda kalsiyum ve fosfat hızlı bir şekilde lezyonun gövdesine çökebilir ve pH nötrlendiği anda minerallerin lezyona diffüze olması sınırlanır. Mine lezyonlarının ideal remineralizasyonu için kalsiyum ve fosfat konsantrasyonlarının 1-2 mmol/l civarında olması gerekmektedir.⁵¹

Ortamda florür varlığı demineralizasyon açısından engelleyici bir faktördür. Ortamda bulunan florür HAP ve fluorlu HAP oluşumunu tetikler. Kalsiyum ve fosfat konsantrasyonlarında olduğu gibi florür de aynı etki ile aşırı yüksek konsantrasyonlarda minede hızlı bir mineral çökmesi oluşur. Bunun sonucunda demineralize lezyon bölgesine uzanan yüzeyel gözenekler tıkanır ve lezyonun gövdesinde remineralizasyon engellenir. Bu nedenle yüksek konsantrasyonlar yerine düşük konsantrasyonlar remineralizasyon açısından tercih edilmelidir.⁵⁵

Remineralizasyonda amaç, başlangıç çürük lezyonlarında minarallerin en fazla kaybolduğu lezyon gövdesine geri kazandırılmasıdır. Ancak yüksek dozlarda remineralize edici ajanlar uygulandığında, mineraller yüzeyde hızla çöker ve bunun sonucunda difüzyon kanalları tıkanır. Bu durumda lezyonda asıl beklenen iyileşme olmazken sadece yüzeysel kısımda hipermineralizasyon olmaktadır.⁵⁶

2.4. Mine Çürüklerinde Kullanılan Remineralizasyon Ajanları

Koruyucu diş hekimliği uygulamalarının önem kazanmasıyla minimal invaziv tedavi prosedürlerinin geliştirilmesine yönelik pek çok çalışma yapılmaktadır.⁵⁷⁻⁵⁹ Çürük teşhis ve tanısı, ilerlemesinin durdurulması hatta geri döndürülmesine yönelik çalışmalar güncelliğini korumaktadır. Bugüne kadar çok farklı remineralizasyon ajanı geliştirilmiştir ve rutinde çoğunluğu kullanılmaktadır. Bu ajanların en çok bilineni florür içerikliler olmuştur.^{6,60,61} Florür çürüklere karşı noninvaziv yöntemlerin temelini oluşturmaktadır. Dünya sağlık

örgütü (DSÖ) tarafından 1994 yılında diş çürüklerine karşı en etkili yöntemin florürlü diş macunları olduğu bildirilmiştir.⁶²

Remineralizasyon ajanlarının yaygın ve güncel şekilde aşağıdaki gibi sınıflanmak çok çeşitli olan ajanların anlaşılmasını kolaylaştırabilir: ⁶³

1.Mineral ve İyon Teknolojileri

1.1.Florür İyonu

1.2.Gümüş İyonu

1.3.Demir İyonu

2.Şeker Alkolleri

2.1.Ksilitol

2.2.İzomalt

2.3.Sorbitol

3.Bitkisel Kaynaklı Ajanlar

3.1.Kitosan

3.2.Galla Chinesis

3.3.Teobromin

3.4.Üzüm Çekirdeği Ekstresi (Polifenoller)

4.Biyoaktif Materyaller ve Nanoteknolojik Ürünler

4.1.Kalsiyum sodyum fosfosilikat

4.2.Trikalsiyum silikat

4.3.Nano hidroksiapatit

4.4.Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat

4.5.Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum floro fosfat

4.6.Trikalsiyum fosfat

4.7.Kendiliğinden birleşen peptidler

5.Diğer kalsiyum ve fosfat kaynaklı ajanlar

5.1.Dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD)

- 5.2.Kalsiyum fosforil oligosakkaritler
- 5.3.Kalsiyum karbonat (CaCO_3)
- 5.4.Sodyum trimetafosfat (sTMP)
- 5.5.Kalsiyum gliserofosfat (CAGP)

2.4.1. Florür

Dişlerin oluşum ve gelişim döneminde florürün sistemik yolla alınması, mine dokusunun sağlıklı gelişmesine ve mineralizasyonunun daha iyi olmasına yardımcı olmaktadır. Bu dönemde alınan florür, mine kristal yapısında çürüğe karşı daha sert ve dayanıklı yapı oluşturur. Bu sistemik etki yalnızca formasyon dönemine özgüdür ve dişlerin sürmesi ile sona erer. Dişler gelişimini tamamlayıp ağız içinde var olmaya başladıktan sonra dental florürün sadece topikal etkisinden yarar sağlanabilir. Yapılan araştırmalar göstermiştir ki topikal uygulamalar florürün sistemik etkilerine kıyasla hem daha güvenilir hemde çürük engellemede daha başarılıdır.^{64,65}

Temel etki olarak florür iyonu demineralizasyonun inhibisyonu ve remineralizasyonun aktive edilmesi şeklinde yarar sağlamaktadır ve bu sürece dahil olabilmeleri için biyofilm veya tükürük içinde, dişler şeker ile kontamine olduğunda veya dişler plaktan arındırdıktan hemen sonra bulunmaları gereklidir. Bu ortamda florürün ppm değerleri efektif dozun altında kalsa dahi etkisi olmaktadır. Yalnızca 0,03-0,08 ppm aralığındaki konsantrasyonunun bile başlangıç mine çürüklerinin remineralizasyonuna katkısı olduğu bildirilmiştir.⁶⁶

Demineralizasyon döngüsünde ortamda florürün bulunması Ca ve $\text{PO}_4\text{-3}$ iyonlarının çökmesini tetiklemektedir. Bu bir asit atağı sırasında normalden daha az mine kristalinin çözülmesini sağlar. Topikal florür ajanlarının uygulanması sonrası CaF_2 ve benzeri kristal yapılar oluşur, oluşan bu yapılar ‘gevşek bağlanmış florürler’ olarak tanımlanmıştır ve demineralizasyon sırasında asit atakları ile CaF_2 den elde edilen florür iyonları FHAP kristalleri meydana getirir ve ikinci bir asit atağında daha az çözünme beklenir.⁶⁷

Günümüzde florürün antikaryojenik etkisinin, dişlerin gelişimi ve mineralizasyonu esnasında sistemik olarak uygulanan fluoridden daha çok FHAP erüpsüyon sonrası dönemde topikal olarak uygulanan floridile ilişkili olduğu kabul edilmiştir.^{64,65}

Minenin yapısındaki florür iyonu stabil bir yapıdadır. Asit atakları ile birlikteki pH düşüşlerinde ortama salınmamaktadır. Ağız sıvılarında ve biyofilmde serbest halde bulunan florür ise asit atakları esnasında Ca^{+2} ile birlikte remineralizasyon sürecini asıl etkileyen iyonudur. Demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki dengenin tamire dönmesi ve başlangıç çürük lezyonlarının geri mineralizasyonunda klinik etkinliğe sahiplerdir. Çalışmalarda florürün ağız sıvılarında düşük konsantrasyonda ve sürekli bulunmasının antikaryojenik etkinliğinde önemli olduğu bildirilmiştir.⁶⁸

Topikal florürler remineralizasyonu arttırmada ve demineralizasyonu engellemede faaliyetlerini aşağıdaki mekanizmalarla gösterirler:³⁵

1. Bakterilerin içerisine girerler ve onların metabolik yollarını inhibe ederek antimikrobiyal etki gösterirler.
2. Bakterilerin mine yapısına tutunmasını engellerler ve böylece bakteriyel adezyonu bozarlar.
3. İndirekt olarak plak pH'sını yükseltirler ve karyojenik bakterilerin aktivitesini sınırlandırmış olurlar.
4. Gelişim döneminde maturasyona dahil olarak yapısal sağlamlılık sağlarlar.
5. Florür iyonları HAP yapısı içerisindeki OH^- iyonları ile yer değiştirip FHAP oluşturur. FHAP yapısındaki minenin, mineral çözünmesi için gerekli olan kritik pH daha düşüktür.

Şeker alınması ile birlikte ağız ortamındaki fermentasyon faaliyetleri pH'yı düşürmeye başlamaktadır. 5,5'in altına düştüğünde HAP yapısında çözünmeler başlayıp minareller mine yapısından ağız ortamına hareket eder. Bu esnada ağız sıvıları içerisinde flor iyonu mevcutsa ve pH 4,5'ten düşük değilse mine yapısında HAP çözünürken aynı anda da FAP ve FHAP kristalleri oluşur. HAP yapıdan ayrılan kalsiyum ve fosfat iyonları yeni oluşan FHAP ve FAP yapılarına katılırlar ve sonuç beklenenden daha az çözülmeyle sonuçlanır. Yeni oluşmuş FHAP kristallerinin çapı HAP kristalleri çaplarından daha büyüktür ve kristal çapındaki bu artış yapının çözünürlüğünü azaltır. Oluşan yeni yapının kalsiyum ve fosfat iyonlarına doygunluğu daha fazladır. FHAP ve FAP'lar HAP'lara göre de daha yüzeyel tabakada depolanmaktadır. Tüm bunların sonucunda dişler çürüğe karşı daha dayanıklı hale gelmektedir.

2.4.2. Gümüş İyonu

Kullanım alanı çürük önleyici, kavite dezenfektanı ve hassasiyet giderici ajan şeklindedir. İlk olarak gümüş nitratin süt dişlerinde çürük insidansının azaltılması amacıyla kullanılmıştır.⁶⁹

Yapılan çalışmalardan örneklerle konu üzerinde durulduğunda; gümüş ve flor iyonlarının ayrı ayrı demineralize diş yüzeylerinde topikal olarak uygulandığında mineral depozisyonu sağladığı, birlikte uygulandıklarında ise remineralizasyon açısından anlamlı bir etki izlenmemiştir.⁶⁹

Mei ve arkadaşları %38'lik gümüş diamin florür solüsyonunun karyojenik bakteriler üzerine bakterisit etki göstererek demineralizasyonu engellediği ve mineral kaybını durdurduğunu bildirmişlerdir.^{70,71}

Primerlerin içinde gümüş iyonu kullanılması ile gümüş iyonu içermeyen kontrol gruplarına göre kavite içerisinde antibakteriyel özelliğin arttığı bildirilmiştir.^{71,72}

Bu çalışmalarla gümüş iyonunun çürük önlemede kullanılabileceği gösterilmiştir. Ancak dişler üzerinde oluşturabileceği renklemeler kullanımını kısıtlayan bir faktördür.⁷³

2.4.3. Demir İyonu

Demir iyonunun koruyucu diş hekimliği uygulamalarında antikaryojenik etkisi olduğu bildirilmiştir. Tek başına kullanımı mümkün olduğu gibi florürle kombine kullanımı da çürük engelleyici etki gösterir. Etki mekanizmasında asidik ortamlarda karyojenik özellikteki Streptococcus mutansın glikoziltransferaz enzim etkinliğini azaltması vardır. Oral streptokoklar üzerindeki bu etkisi ile kolonizasyonları bozmaktadır. Demir iyonunun etki mekanizmasında çürük engelleyici ve demineralizasyonu azaltıcı etki vardır. Demir iyonunun remineralize edici özelliği bulunmamaktadır.^{74,75} Demir içeren 18 mg/ml derişimindeki solüsyonların demineralizasyonu engellemede en başarılı derişim olduğu bildirilmiştir.⁷⁴ Dezavantajları olarak toksisite, renklenme ve tat bozuklukları söylenebilir.⁷⁶

2.4.4. Ksilitol

Diş hekimliğinde geniş kullanım alanı olan ksilitol 5 karbonlu bir şeker alkolüdür. Diş macunu, ilaç, ağız gargarası, jel veya sakız gibi birçok ürünün içerisine dâhil edilmektedir. Bu şeker alkolü ağız florası içindeki bakteriler tarafından metabolize edilemez. Bu durum *S. mutans* seviyelerinde ve asit ataklarında azalmalara sebep olur. Ksilitolün çürük önleyici etkisi hem patolojik bakteriler tarafından fermente edilememesine hem de antibakteriyel özelliklerine bağlanmaktadır.⁷⁷ Ksilitol ekstrasellüler polisakkarit miktarını azaltarak bakterilerin diş yüzeyine yapışmasını engeller.^{78,79} Ayrıca ksilitol tükürük akış hızını arttırarak ağız içi pH yı yükseltir ve tükürüğün tamponlama kapasitesini arttırır. Ksilitol içindeki hidroksil iyonlarının tükürük içindeki kalsiyum ve fosfat iyonları ile bağlanması ile tükürük ve ağızdaki kalsiyum seviyesinin de belirli bir düzeyde kalması sağlanır.⁷³

2.4.5. İzomalt

İzomalt şekerleme ve sakız gibi ürünlerde sık kullanılan bir şeker alkolüdür. Oral bakteriler tarafından fermente edilemez. Fermantasyonun yapılmaması ortamda asit oluşmamasına sebep olur ve pH stabil kalır. Nonkaryojenik ve nonasidojenik özellikleri vardır.³¹ Kalsiyum bağlama özelliği sayesinde çürük önlemede remineralizasyonu etkileyebilecek bir ürün olarak görülebilir.⁷⁸ İzomalt tek başına kullanılabileceği gibi flor ile kombine kullanımı da önerilmektedir.⁸⁰

2.4.6. Sorbitol

Sorbitol, oral bakteriler tarafından fermantasyona girebilen bir şeker alkol olmasına rağmen; fermantasyon sonucunda sukroz, glikoz ve fruktoz gibi diyet şekerlerinin tüketilmesi ile oluşan aside oranla anlamlı olacak düzeyde az asit oluşmaktadır bu nedenle nonasidojenik olarak belirtilir.^{48,81} Ancak yapay şekerlerden ksilitol ile kıyaslandığında ise ksilitolün çürük engellemede daha üstün olduğu bildirilmiştir.⁸²

2.4.7. Kitosan

Kitosan kitinin deasetilasyonu ile elde edilir. Kitin eklem bacaklılar tarafından dış iskeletin kurulmasında kullanılan ve mantarların hücre çeperini oluşturan karbonhidrata denir ve en önemli polisakkaritlerdendir. Bakteriyostatik ve bakterisid özellikleri nedeni ile diş çürüklerinin önlenmesinde kitosan kullanılmaktadır. Ağız boşluğundaki organik asitleri tamponlayabilmektedir ve biyofilm oluşumuyla bakterilerin diş yüzeyine adezyonunu azaltır. Biyoyumluğu ve toksik olmaması avantajlarındandır.⁸³⁻⁸⁵ Kitosanın tükürük akışını stimüle etme özelliği de vardır, tükürük salgısını arttırarak mine dekalsifikasyonun azalmasına sebep olur.⁸⁶⁻⁸⁸ %2'lik kitosan solüsyonunun, mutans streptokokları üzerinde en ideal inhibisyona sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.⁸⁹ Karboksimetil kitosan içeren deneysel rezin ürünlerin, dentinde remineralizasyon sağlayabildiği ve çürükten etkilenmiş dentinde iyileşme sağladığı bildirilmiştir.⁹⁰

2.4.8. Galla Chinesis

Geleneksel çin tıbbından literatürlere giren galla chinesis bitki ekstraktından elde edilir. Ekstarkt yapıdaki bitkisel özlü gallik asidin ağız ortamındaki asit ataklarından kaynaklı yapısal çözünmelere karşı kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Bu etkinlik ağız ortamındaki dinamik ph döngüsü koşullarıyla uygunluk gösterir.⁹¹

Galla chinensis, florürden farklı olarak, remineralize edici etkisini, lezyonun yüzeyindeki remineralizasyonu yavaşlatıp lezyon gövdesine iyon geçişini sağlanmasıyla gerçekleştirmektedir.^{92,93} Etkinliğini çürüğün yüzey altı tabakasını remineralize etmeye başlayarak gösterir ve üzerine çalışmalar devam etmektedir.

2.4.9. Teobromin

Teobromin kakao ve çay bitkisinden elde edilmektedir. Kristal yapıda ve suda çözünmeyen organik bir bileşiktir. Minenin sertliğini arttırarak mineyi yapısal çözülmeye daha dirençli hale getirdiği bildirilmiştir.^{94,95} Plak birikimine etki ederek karyojenik bakterilerin kolonizasyonunu bozması ve streptococcus mutansların sayısını azaltması etki gösterdiği şekildedir.⁹⁶ Ayrıca florür ile kıyaslanacak düzeyde remineralizasyon da sağlamaktadır.⁹⁷

Metilksantin sınıfında alkaloidlerden olan teobromin kimyasal yapısı kafeine benzer olmasına rağmen kafein dişteki kristalleri küçülterek asit ataklarına karşı çözünürlüğü artırır, teobromin ise daha büyük kristal oluşumu sağlayarak çözünmeyi azaltır.⁹⁸

2.4.10. Üzüm Çekirdeği Ekstresi (Polifenoller)

Proantosiyanid, üzüm çekirdeği ekstresinden elde edilen, antioksidan ve antienflamatuar etkinliği de olan bir polifenoldür. Amilaz ve glikoziltransferaz enzimlerini inhibe eder. Glikoziltransferaz enzim inhibisyonu mutans streptokoklarının glukan sentez blokajına sebep olur böylece çürük için şart olan mutans streptokoklarının diş yüzeyine tutunması gerçekleşmez.⁹⁹⁻¹⁰¹

Remineralizasyona lezyonun yüzeysel tabakasında mineral birikimi sağlayarak katkı sağlamaktadır.¹⁰² Üzüm çekirdeği ekstresi ile yapılan çalışmalarda çözünmeyen bu komplekslerin minenin mikrosertliğini anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir.^{103,104} Ayrıca remineralizasyonda en uygun konsantrasyonun %15 olduğu da bildirilmiştir.¹⁰⁵ Doğal olması, kolay ulaşılabilir olması ve maliyetinin düşüklüğü çürük lezyonlarına koruyucu uygulamalarda bu preparatın tercih sebebi olabilir.¹⁰⁶

2.4.11. Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat (Biyoaktif Cam)

Biyoaktif camlar diş hekimliğinde hassasiyet giderici tedaviler, kemik rejenerasyonu, vital tedaviler ve remineralizasyon ajanı olarak kullanımı gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Remineralizasyon ajanı olarak kullanıldığında tükürükle temas ederek faaliyet gösterir. Tükürükle temasta remineralizasyon için kullanılabilir olan sodyum, kalsiyum ve fosfat iyonlarının salınımı gerçekleşmektedir. Böylece minenin yapısını oluşturan hidroksiapatit kristallerine benzer hidroksikarbon apatit kristalleri oluşmaktadır.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

Novamin olarak da bilinen bu materyallerin partikül boyutları nano seviyededir. Böylece iyon difüzyonu hızlı gerçekleşmektedir ve biyoaktif özellik net olarak ortaya çıkmaktadır. Antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada materyalin mutans

streptokokların kolonizasyonunu anlamlı şekilde bozduğu gösterilmiştir ve oral bölgenin pH'sının yükseldiği bildirilmiştir.⁴⁹

2.4.12. Trikalsiyum silikat

Trikalsiyum silikat bir biyoaktif ajandır. Dos ve tükürük gibi vücut sıvıları ile etkileşimde apatit formasyonu oluştururlar. Bu nedenle trikalsiyum silikat üzerine remineralizasyon ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır.^{110,111}

Yapılan çalışmalardan trikalsiyum silikatın remineralizasyon mekanizması mine yüzeyinde Ca-P bileşik çökmesini indüklemesi şeklinde olduğu bildirilmiştir.¹¹² Tükürüğün organik bileşiklerinin de trikalsiyum silikat ile mine arasında adezyon kuvveti oluşturduğu ifade edilmiştir. Florür ile kombine kullanımının sinerjik etki gösterdiğini belirtilen çalışmalarda literatürde mevcuttur.¹¹⁰

2.4.13. Nano hidroksiapatit

Nano hidroksiapatit biyoyumlu, biyoaktif bir materyaldir. Son yıllarda diş hekimliğinde kullanım alanı bulmuştur. Diş minesine benzer yapısal özellikler göstermektedir. Ancak ilk üretilen mikro hidroksiapatitlerin kalsiyum ve fosfat iyonları ile çözünmesi yeterli düzeyde değildi. Bu nedenle bu çözünmenin artırılmasına yönelik çalışmalarla nano hidroksiapatitler geliştirilmiştir. Geliştirilen nano hidroksiapatitlerden salınan kalsiyum ve fosfat iyon oranlarının artması mine remineralizasyonuna pozitif etki sağlamıştır.^{73,113} Böylece nano hidroksiapatitin, mikro hidroksiapatite göre remineralizasyon açısından daha iyi potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Nano hidroksiapatitin asidik koşullarda remineralize etme gücü artmaktadır, nötral pH da bu etkide azalma görülür. pH düşmesi ile birlikte nano hidroksiapatitlerden kalsiyum ve fosfat iyonu salınımı artmaktadır ve böylece bu iyonların çürük lezyona geri alınması artmaktadır. %10 luk konsantrasyon oranındaki nano hidroksiapatitlerin de başlangıç mine lezyonları üzerine optimal etki gösterdiği bildirilmiştir.¹¹⁴

2.4.14. Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP)

İlk olarak 1998’ de remineralizasyon çalışmalarında kullanılan CPP-ACP’ ın ağırlığının %18’ ini kalsiyum ve %30’ unu ise fosfat iyonu oluşturur. Kazein süt ve süt ürünlerinde bulunan bir proteindir.⁹ Ancak kazeinin antikaryojenik özelliği için yüksek miktarda süt tüketimi ihtiyacı vardır. Böylece çalışmalar sütteki antikaryojenik faktörlere yoğunlaşmıştır. Sütteki koruyucu faktör olan kazein fosfopeptidi, kazeinin tripsin enzimi etkileşimi sonucu oluşur. CPP nin aminoasit dizisi Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu şeklindedir. Çoklu fosfoserin uzantıları ile aşırı doygun çözeltelerde ACP (amorf kalsiyum fosfat) bağlar, stabilize eder ve CPP-ACP kompleksi oluşmuş olur.¹¹⁵⁻¹¹⁷ CPP-ACP kompleksi de ağız ortamındaki serbest kalsiyum ve fosfat iyonlarını bağlayarak remineralizasyonda diş yüzeyi için rezervuar görevi görür. Bu demineralizasyonu inhibe edip remineralizasyonu desteklediğine işaretir.⁹

Bir diğer etkide CPP-ACP kompleksi özellikle S. mutans ve S. sobrinus bakterilerinin büyümesini engellemektir. Böylece bakterilerin diş yüzeyinde kolonize olmalarını engellerler, plak oluşumunu azaltırlar ve antikaryojenik etki gösterirler.¹¹⁸ Ayrıca CPP-ACP kompleksi supragingival plaktaki S.sanguinis ve sağlıklı ağız florasındaki diğer baskın türlerin sayısını arttırarak, prebiyotik etki gösterdiği de bildirilmiştir.¹¹⁹

Kazeinfosfopeptid amorfkalsiyumfosfatın topikal etkisinin ise doza bağımlı olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Çalışmada %0,1’lik CPP-ACP solüsyonunun başlangıç çürüklerini %14 azalttığı, %1 lik solüsyonun etkisinin ise %55 e kadar çıktığı bildirilmiştir.¹²⁰

Ayrıca CPP-ACP kompleksinin hipersensitivite üzerine tedavi edici etkinliği düşünülmektedir. Yapılan çalışmada dentin kollajen liflerinin fosforile edildiği ve üzerinde apatit formasyonu yoluyla dentinin biyomimetik remineralizasyonunu indüklediği belirtilmiştir.¹²¹

2.4.15. Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum florofosfat (CPP-ACFP)

Yapılan birçok çalışmada CPP-ACP ve florürün birlikte kullanımında sinerjik etki göstererek daha yüksek remineralizasyon sağladığı bildirilmiştir.^{12,13,120} %1’ lik CPP solüsyonu ile 500 ppm florür içeren solüsyon kombine kullanıldığında, florürün yaklaşık %50 sinin CPP-ACP ile bağ yaptığı görülmüştür ve CPP-ACFP’ ın daha yüksek remineralize

edici etkisinin olduğu bildirilmiştir.⁹. CPP-ACP, CPP-ACFP ve F içeren verniklerin remineralizasyon etkisinin lazer floresans yöntemi ile araştırıldığı bir başka çalışmada CPP-ACFP' ın remineralizasyonda diğer ajanlara göre daha etkili olduğu bildirilmiştir.⁴⁵

2.4.16. Trikalsiyum fosfat (TCP)

Kimyasal formülü Ca_3PO_4 olan trikalsiyum fosfatın alfa ve beta şeklinde 2 formu vardır. Alfa formu daha fazla çözündüğü için ağız içi fosfat seviyesini daha fazla arttırmaktadır ve remineralizasyon ajanlarında bu form tercih edilmektedir.¹²² Beta form olan β -TCP' nin ise nanopartiküller eklenmiş fissür sealentlerin incelendiği çalışmada mekanik özelliklere bir etki görülmezken, remineralizasyon etkinliğinin arttığı bildirilmiştir.¹²²

İn vitro yapılan bir başka çalışmada ise kalsiyum fosfat içerikli farklı remineralizasyon ajanlarının yapay başlangıç mine çürükleri üzerindeki etkisi incelenmiştir ve tüm ajanların remineralizasyonu sağladığı ancak TCP nin ajanının daha yüksek remineralizasyon potansiyelinde olduğu bildirilmiştir.⁵⁸ Ancak F vernik, CPP-ACP içerikli pat ve TCP içerikli diş macununun remineralizasyon kapasitelerinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada , TCP içerikli diş macununun ve CPP-ACP ve F vernikleri kadar güçlü remineralizasyon potansiyeli sergilemediği de bildirilmiştir.¹²³ Bu doğrultuda TCP nin remineralizasyon etkinliği göz önüne alındığında çürük önleyici ajan olarak tercih edilmeden önce daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.⁷³

2.4.17. Kendiliğinden birleşen peptitler

Diş sert dokuları üzerine iyonların çökmesi yoluyla iskelet oluşturan anyonik peptidler bu yolla remineralizasyona katkı sağlar.¹²⁴ Yapılan çalışmalarla yapay çürük lezyonlarına uygulanan bu anyonik peptidlerin lezyonun derin tabakalarındaki etkinliği sonucu mikrosertlik ölçümlerinde artış gözlenmiştir.¹²⁵ Florür ile kombine kullanıldığı çalışmalarda ,yalnızca florürün kullanıldığı gruplara göre daha yüksek performansta olduğu belirtilmiştir.¹²⁶

2.4.18. Dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD)

Diş macunlarının içerisinde katılarak kullanılan dikalsiyum fosfat dihidrat florür ile kombine kullanıldığında remineralizasyon etkinliği arttırmaktadır. DCPD kalsiyum ve fosfat salınımı yaptığı için ağız içerisinde serbest kalsiyum ve fosfat iyon seviyeleri artış gösterir. Artan iyon seviyeleri başlangıç lezyonlarından iyon salınımını inhibe edip demineralizasyonun ilerlemesini engler.¹²⁷

2.4.19. Kalsiyum fosforil oligosakkaritler

Kalsiyum fosforil oligosakkaritlerin (POs-Ca) yapısındaki kalsiyum kolay çözülebilir formdadır. Patates nişastasının enzimatik hidrolizi sonucu elde edilir ve şekersiz sakızlarda katkı maddesi olarak kullanılabilir.¹²⁸ Elma suyunun içerisine eklenip yapılan bir çalışmada tadın etkilenmediği ifade edilmiş ve mine erozyonunun anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir.¹²⁹

2.4.20. Kalsiyum karbonat (CaCO_3)

Özellikle diş macunlarında sık kullanılan kalsiyum karbonat (CaCO_3) tamponlama kapasitesine sahip alkali bir ajandır. Nötral pH da çözünürlükleri azdır. Fakat fırçalamadan saatler sonra bile mikrobiyal dental plakta depolanan kalsiyum karbonat ortam asidik hale geldiğinde plaktan çözünerek antikaryojenik özellik göstermekte ve florürün etkisini potansiyelize etmektedir.^{73,130}

2.4.21. Sodyum trimetafosfat (sTMP)

Florürlü diş macunlarının etkinliğini arttırmak için fosfat tuzları içeriklere katılmaktadır. İçinde sodyum ve fosfat barındıran sodyum trimetafosfat bu amaçla çok tercih edilen bir ajandır.⁷³ Yapılan çalışmalarda geleneksel diş macunlarına %3 konsantrasyonda nano partiküller olarak sTMP eklenmesi ile yapay çürük lezyonları üzerindeki remineralizasyon potansiyelin arttığı belirtilmiştir.¹³¹ Bir başka invitro çalışmada ise flor vernikle kombine kullanımının sTMP' nin remineralizasyon etkinliğini arttırdığı bildirilmiştir.¹³²

2.4.22. Kalsiyum gliserofosfat (CaGP)

Organik bir bileşik olan kalsiyum gliserofosfat antikaryojenik özelliktedir. Minedeki hidroksiapatit kristallerinin direncini arttırarak demineralizasyonu engelleme şeklinde etkisini göstermektedir.^{130,133} Yapılan çalışmalarda florür ile kombine kullanıldıklarında remineralizasyon etkinliğini arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca F içermeyen macun ile kombine CaGP' nin mineral kaybını %40 azalttığı gösterilmiştir.¹³⁴ Rezende ve ark.¹³⁵ farklı konsantrasyonlarda F içeren diş macunlarının %0,13 CaGP içeren ve içermeyen formlarını değerlendirdiği in vitro çalışmada, farklı F konsantrasyonuna sahip macunların demineralizasyon üzerindeki etkileri arasında fark bulunmazken, CaGP ilave edilmesi anlamlı derece demineralizasyonu azaltmıştır.¹³⁵

2.5. Yapay Çürük Modelleri

İnsan ağızda diş çürükleri ile ilgili in vivo çalışmalardaki etik problemler ağız şartlarını taklit eden laboratuvar modellerinin gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Diş hekimliğinde bu yönde kullanılan materyaller ve bunların etkileri (florür salınımı, remineralizasyon yeteneği vb.) ile ilgili bilgi elde etmek amacıyla çok sayıda yapay çürük modeli vardır. Kısıtlılıkların olmasına karşın, deney şartlarının kontrol edilebilmesi ve modifiye edilebilmesi in vitro modellerin ciddi bir avantajdır. Bu gibi modeller in vivo olarak yürütülmesi zor olan çalışmalara olanak tanır.¹³⁶

2.5.1. Biyolojik Model

Bu modelde demineralizasyon için bakteriler içeren ortamlar kullanılır. Çalışma için hazırlanan diş örnekleri bu bakteri ortamlarına konulur ve bakterilerin oluşturdukları asit ortam sayesinde çürük oluşumu beklenir. Diş çürüklerinin başlamasından ve ilerlemesinden sorumlu uygun bakteri türlerinin tespiti bu modeldeki en önemli unsurdur. S. mutanslar bu konudaki en önde gelen türdür. Tükürük bu modeldeki diğer önemli bir faktördür. Tükürüksüz mine yüzeyine bakterilerin yapışması zordur. Tükürük içindeki glikoproteinler bakterilerin mineye adezyonunu kolaylaştırmaktadır. Ortamda bakterilerin büyümesi için gerekli olan besin de olmalıdır. S.mutansların en iyi besin kaynakları süktrozdur. Bakterilerin süktrozu fermante etmesi ile asit oluşur ve bu asitin etkisi ile demineralizasyon beklenir.¹³⁷

2.5.2. Asit Tamponlarının Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli

Bu deney düzeneğinde kalsiyum ve fosfat iyonları kullanılarak asit ortam oluşturulur ve pH seviyesi araştırmacı tarafından kontrol edilebilir. En basit teknik olan bu model ile 1985 yılından sonra çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknik histolojik olarak doğal lezyonlara benzeyen yapay lezyonlar oluşturabilmektedir.¹³⁸

Bu model ile yapılan çalışmalarda solüsyonun içerdiği kalsiyum, fosfat ve florür yoğunluklarının bilinmesi ve pH derecesinin dikkatli bir şekilde ayarlanması çok önemlidir. Solüsyon pH'sının 4,5-5,0 olması gerekir. İşlemin sıcaklığının 37 °C olması tavsiye edilmiştir.¹³⁸

2.5.3. pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon /Remineralizasyon Modeli

Yapay çürük oluşturulması için çürük sürecinin iyi bir taklidini sağlayan pH siklus modelleri de geliştirilmiştir. İn vitro koşullarda yapay çürük üzerine çalışan araştırmacılar için sık kullanılan bir metot olmuştur. İlk olarak Koulourides (1980) tarafından çalışılan bu teknik sonraları Ten Cate ve Dujsters (1982) tarafından geliştirilmiştir.¹³⁷ pH siklus modelinde temel olarak ağız ortamı taklid amacı ile remineralizasyon-demineralizasyon döngüleri bulunmaktadır. Bu doğrultuda iki ayrı asidik ve bazik solüsyon hazırlanmaktadır. Diş mine örnekleri bu solüsyonlarda periyodik olarak bekletilmektedir.¹³⁶

İn vitro modeller ile çevre kontrolü kolay şekilde sağlanır ve sonuçların tekrarlanabilirliğine izin verir. Araştırmacı tarafından bu modelde deneyin gerçekleştiği ortamın pH' sını kontrol etmek ve araştırma için kararlı koşulları sağlamak daha kolaydır.¹³⁶

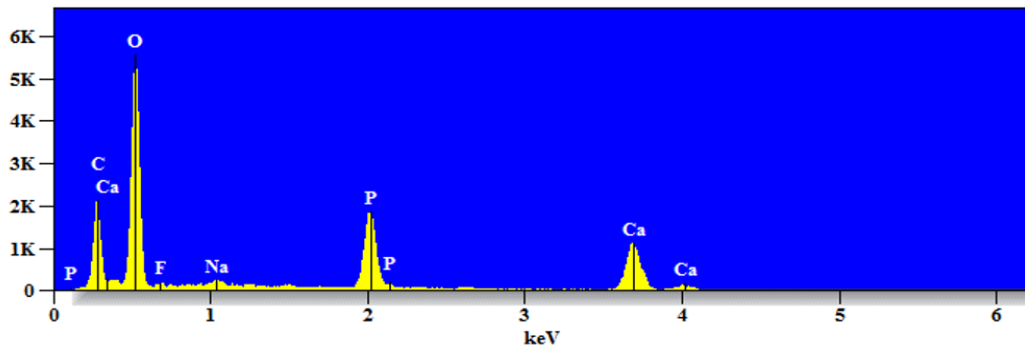
2.6. Mine Mineral Yapısının ve Yüzey Alanın Analiz Yöntemleri

Minede mineral yapının kompozisyon içeriği ve yüzey yapısı incelenmesi için kullanılan teknikler 2 ana başlık altında incelenebilirler. Bu teknikler; mine yüzeyinin görüntülenmesi ile pürüzlülüğün değerlendirilmesi gibi kalitatif değerlendirmeler ve mine yapısındaki mineral ve elementlerin rakamsal değerlendirildiği kantitatif ölçümlerdir.

2.6.1. EDS (Energy dispersive x-ray) analizi

Energy dispersive x-ray analizi ile örnekteki mineral miktarı kantitatif olarak ölçülür. Bu mikroanalitik bir tekniktir. EDS analizi bir görüntü kaydı analizi ve ya korelasyon ile yorumlama değildir ve içerikteki minerallerin direkt ölçümü sağlanır.¹³⁹ Bu yöntemde elementlerin tespiti spektrumdaki x-ışını dalga boyu ve enerjilerinin tablodan bulunması ile sonuçlanır. İncelenen örneğin yüzeyine yönlendirilen yüksek enerjili elektronlar atomik yapıdan elektron kopmasına sebep olur. Eğer elektronlar iç yörüngelerden kopmuşsa atomik kararlılığı sağlamak için bu boşluklara dış yörüngelerden elektronlar yerleşir. Dış yörüngedeki daha yüksek enerjiye sahip olan elektron fazla enerjisini ışıma yaparak kaybeder. Bunun sonucunda bir x-ışını meydana oluşur. Yayınlanan x-ışını karakteristiğine göre örneğin hangi element atomunu içerdiği algılanır.¹⁴⁰ Açığa çıkan x ışınları elektronik alıcılar tarafından algılandığında, elde edilen veriler bilgisayardaki bir program aracılığı ile bilgisayar ekranında pikler oluşturur ve EDS analizi elementsel yorumlanması sonuçlanmış olur. Elementlerin oluşturduğu pikler altlarındaki alanlarla da doğru orantılıdır.

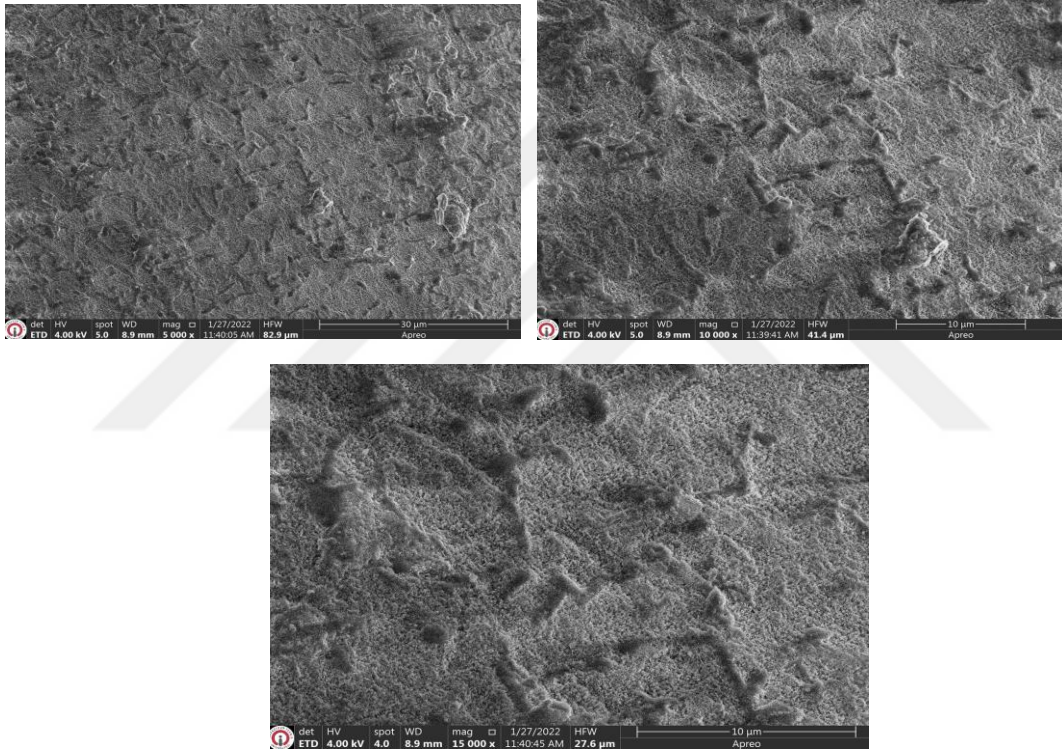
Bu analiz sayesinde mine kristal yapısı içerisinde bulunan Ca, P, O, F ve H gibi temel elementlerden başka Al, Na, Mg, Si ve C gibi eser miktardaki elementlere de bakılabilmektedir. Şekil 2.2.' de Eds analizi ile mine yüzeyinde bakılan eser elementler dahil histogram mevcuttur. Hidroksiapatit yapının temel bileşeni olan Ca ve P elementleri miktarları ve Ca/P oranı dişlerin mineralizasyon derecesinin bir göstergesidir. Ca, P miktarındaki ve Ca/P oranındaki azalma mekanik özelliklerde, yapısal kristalizasyon ve sertliğin azalması yönünde değerlendirmemize yardımcı olur. Özellikle remineralizasyon ajanı uygulaması sonrasında Ca, P ve Ca/P oranındaki değişikliklerin yorumlanması malzemelerin etkinliğinin tartışılmasına imkan tanımaktadır.¹⁴¹



Şekil 2. 2. EDS analizinde mine yapısındaki eser elementler dahil histogram örneği

2.6.2. SEM

Çok farklı alanlarda katı örneklerin karakteristik mikro yapılarının incelenmesinde ve analizinde sıklıkla kullanılan Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) çizgisel tarama modeli ile çalışır. İncelenen örneğin yüzeyi taranır ve cihazın kapasitesine göre istenilen oranda büyütmelemler ile görüntüler alınabilir. Şekil 2.3.' te görüldüğü gibi 1000x, 5000x, 10000x veya cihazın teknik kapasitesiyle orantılı olarak daha büyük büyütmelemlerde görüntüler alınabilir.



Şekil 2. 3. Aynı mine yüzeyinin sırasıyla 5000, 10000 ve 15000 büyütülmüş SEM görüntüleri

Taramalı elektron mikroskopisinde elde edilen görüntüler örnek üzerine gönderilen elektron demetinin örnek yüzeyine çarpması ve yansması sonucu oluşur. Görüntüler yansıyan sinyallerin algılanması esasına dayanır. Elektron lensleri sayesinde odaklanan elektron ışın demetleri örneğin üzerini tarar, yansıyan elektron sinyalleri görüntü olarak algılanır ve görüntü elde edilir. SEM tekniklerinin kullanılması görüntülerde net alan derinliği oluşturur ve morfolojiyi tanımlamada çok yararlıdır.²¹

Steromikroskoptan ayrılan temel fark; stereomikroskop görüntüyü büyötmek için ışık kullanırken, SEM' de elektron ışını kullanılmaktadır. Her ikisinde de çözünme gücü dalga boyuna bağılıdır. SEM' de oluşan görüntüler örneklerin vakum altında gözlenmesiyle oluşurken, stereomikroskopta sıvı ve katı örnekler atmosfer ortamında rahatlıkla gözlenir.

2.6.3. Nanoindentasyon

Nanoindentasyon incelencek örneğin elastik ve plastik deformasyonu veya kırılma direnci gibi streslere sayısal birim olarak tepkisini ölçme imkanı sunan bir analiz yöntemidir. Bu doğrultuda yüzeyde deformasyon oluşturmak için kontrollü bir kuvvet uygulaması vardır. Oluşan girintinin nicel olarak yorumlanması ile araştırmacıya sayısal veriler sunmaktadır. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM), en yaygın olarak bilinen yüzey analiz teknikleri arasında yer alır. Örnek yüzeyinin incelenmesi için silikon veya silisyum nitride (Si_3N_4) kaplanmış keskin bir iğne uç, piezo elektrik kontrol elemanlarıyla örneğin yüzeyinde üç boyutta (x,y,z eksenleri) hareket eder. Böylece örnek yüzeyinin üç boyutlu görüntüsü elde edilir. Topografik harita bilgisayar ekranına aktararak nanometre boyutunda incelenebilir.¹⁴²

Nanoindentasyon cihazı restoratif dental materyallerin seçiminde ve fiziksel-mekanik performanslarının karşılaştırılmasında yardımcı olabilir. Bu yöntem yükleme ve boşaltma sırasında kaybedilen yüzeyel girinti ile yük-yer değiştirme verilerinden elastisite modülü, nanosertlik ve yüzey pürüzlülüğünü ölçer.¹⁴²

Elastisite modülü ve nanosertlik dental örnek analizlerinde ölçülen en yaygın mekanik özelliklerdir. Sertlik, bir malzemenin girinti veya penetrasyona karşı olan yapısal sağlamlığıdır. Oklüzal yükleme gibi uygulanan kuvvetlere karşı, örneğin aşınma direnci hakkında bilgi vermektedir. Elastisite modülü ise malzemenin kuvvet altında elastik şekil değiştirmesinin ölçüsüdür. Burada ölçüt deformasyon olmadan esneme performansdır.^{143,144}

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmamızda Kullanılan Materyaller

3.1.1.Çalışmamızda Kullanılan Remineralizasyon ajanları

Etik onay Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu’ndan 17.06.2021-28 protokol numarasıyla alınmıştır (Ek1). Tez çalışması Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında, 21.DHU.005 proje numarası ile desteklenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan remineralizasyon materyalleri Çizelge 3.1’ de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Çalışmamızda kullanılan Remineralizasyon ajanları

Ürün Adı	Üretici	İçerik	LOT Numarası
Dharma Ionite Flor Jel	Dharma, USA	% 1.23 Florür, Vitamin E, Ksilitol	D210517
GC MI Paste Plus	Recaldent, Melbourne , Australia	Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)	201214C
ProShield Varnish	President dental, Munih, Germany	% 5 sodyumflorür, Ethanol, Xylitol , TCP ,Resin	VV6N61B0
UltraEZ	Ultradent, South Jordan ,USA	%3 Potasyum Nitrat, % 0,25 Sodyum Florür	BJ6XF

3.1.1.1. Dharma Ionite Florür Jel

Ürün tanımı: %1,23 florür iyonu içeren bu ürün asitli bir fosfat florürdür. Üretici ürünün düşük ph sı sayesinde 60 saniyeden daha kısa sürede maksimum florür salınımı sağladığını belirtmiştir. Mine ve interproksimal alanlarda etkinlik gösterir.

Ürünün adı: Dharma Ionite Florür Jel (Şekil 3.1.' de gösterilmiştir.)

Üretici: Dharma, ABD

İçerik: % 1,23 Florür, Vitamin E, Ksilitol



Şekil 3. 1. Dharma İonite Florür Jel / Dharma, ABD

3.1.1.2. GC MI Paste Plus

Ürün tanımı: Bu ürün özel bir süt türevinin içerisinde kazein fosfopeptid-amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) içermektedir. Minede dekalsifikasyonları önlemek ve remineralizasyon üzerinde kullanılması için üretilmiştir.

Ürünün adı: GC MI Paste Plus (Şekil 3.2.' de gösterilmiştir.)

Üretici: Recaldent, Melbourne, Australia

İçerik: Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)



Şekil 3. 2. GC MI Paste Plus / Recaldent, Melbourne, Australia

3.1.1.3. ProShield Varnish

Ürün tanımı: Bu ürün çürüğünün önlenmesinde ve hassasiyetin giderilmesinde kullanılabilir. Ürün paketlemesi tek kullanımlık şekildedir. Proshield Varnish' in tükürük ile temas ettiğinde diş yüzeyine yapışarak 6 ila 8 saat boyunca florür salınımı yaptığı bildirilmiştir.¹⁴⁵

Ürünün adı: Proshield Varnish (Şekil 3.3.'te gösterilmiştir.)

Üretici: President dental, Münih, Germany

İçerik: % 5 sodyumflorür, Ethanol, Xylitol, TCP, Resin



Şekil 3. 3. Proshield Varnish / President dental, Münih, Germany

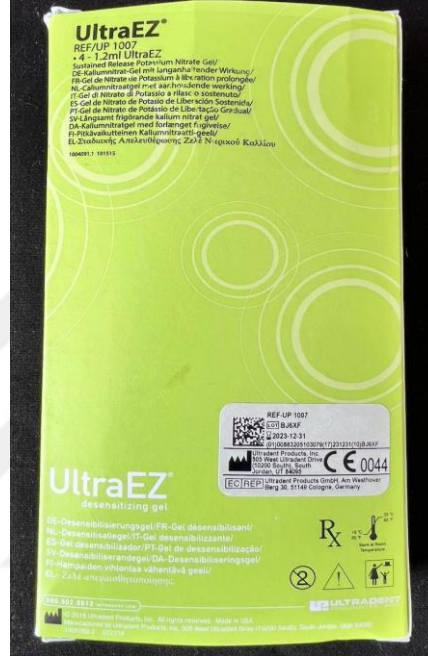
3.1.1.4. UltraEZ

Ürün tanımı: UltraEZ uzun süreli salımlı, florür içeren (%0,25 nötr NaF), %3 potasyum nitratlı hassasiyet azaltıcı bir jeldir.

Ürünün adı: UltraEZ (Şekil 3.4.' te gösterilmiştir.)

Üretici: Ultradent, South Jordan, USA

İçerik: %3 Potasyum Nitrat, % 0,25 Sodyum Florür



Şekil 3. 4. UltraEZ / Ultradent, South Jordan, USA

3.1.2. Çalışmada Örneklerin Nanosertlik, Elastisite Modülü ve Yüzey Pürüzlülüğü Analizlerinin Yapılması İçin Kullanılan Cihaz

Bu çalışmamızda bloklara yerleştirdiğimiz diş örneklerinin elastisite modülü, nanosertlik ve yüzey pürüzlülüğü analizleri için Hysitron TI 950 TriboIndenter (Hysitron, ABD) cihazı kullanılmıştır. Cihaz Şekil 3.5.' de gösterilmiştir. Hysitron TI 950 TriboIndenter nanoindenter cihazı, sayısız nanomekanik ve nanotribolojik karakterizasyon tekniklerini desteklemek için, yüksek verimli bir araç olarak geliştirilmiştir.

Nanoindentasyon işleminde ölçüm hassasiyeti çok yüksektir. Bu sayede çalışma için doğruluk ve güvenilirlik sağlar. Bu avantajı sayesinde elektrostatik etkinleştirmede az akım

kullanarak verileri hızlıca elde edebilmektedir, tekrarlanabilirliğini ve doğruluğunu gerçekleştirmektedir.

Hysitron TI 950 TriboIndenter sahip olduğu mercekli optikler aracılığı ile örneklerin yüzeylerini yüksek büyütme altında inceleyebilir. Test konumları manuel olarak seçilebilmektedir. Prob uç yerleşimini yaklaşık 10 nm lik sınırlar dahilinde belirleyip hassas ölçümlere imkan vermektedir.

Hysitron TI 950 cihazında çift görüntüleme modu bulunmaktadır. Böylece çok sayıda yapılan uygulamalarda konumlamamanın doğruluğu hassas olmaktadır. Hysitron TI 950 TriboIndenter cihazı incelenen örneklerin nanosertliğini, elastisite modulünü, kırılma dayanımını ve diğer mekanik özellikleri nanoindentasyon yoluyla ölçmektedir. Probun hassas konumlandırılması ile yüzey topografisi çentikleyici uç vasıtasıyla incelenir. Yüzey topografisi ortaya çıkarıldığında örnek yüzeyinin pürüzlülüğü de değerlendirilmektedir.

Her gruptaki örneğe standart Berkovich testi maksimum 2 μN yük olacak şekilde 5 saniyelik yükleme ardından 2 saniyelik bekleme ve 5 saniyelik yük boşaltma uygulanarak ölçümler yapıldı. Her örnek yüzeyinden 5 noktadan ölçüm yapıldı. Her ölçümde yüzeye yaklaşma hızı 10 nm/s ve sürüklenme hızı 0,1385 nm/s olarak yapıldı. Yük yer değiştirme çözünürlükleri ise 1 μN ve 0,02 nm' dir.



Şekil 3. 5. Nanosertlik, elastisite modülü ve yüzey pürüzlülüğü analizlerinin yapıldığı cihaz, Hysitron TI 950 TriboIndenter (Hysitron, ABD)

3.1.3. Çalışmada Örneklerin Yüzey Görüntülerinin Alınması ve Elementel Analizlerin Yapılması İçin Kullanılan Cihaz

Bu çalışmamızda mine örneklerinin yüzeyinden SEM görüntüleri ve EDX elementel analiz için Thermo Fisher Scientific Apreo S cihaz kullanıldı. Şekil 3.6.' da cihaz gösterilmektedir. Thermo Fisher Scientific Apreo S taramalı elektron mikroskobu, alan emisyonlu elektron tabancasına sahip olup, 1 kV' da 1 nm görüntü çözünürlüğüne sahiptir. 0,2 – 30 kV aralığında çalışmaktadır. Şekil 3.7.' de cihazın çalışma kapasite aralıkları verilmiştir.

Taramalı elektron mikroskopisinde, elektron kaynağından koparılan elektronlar vakum altında bulunan bir kolonda toplayıcı mercekler yardımıyla numune üzerine düşürülmektedir. Numune yüzeyinde bulunan atomlarla elektron demetinin etkileşmesi sonucunda ortaya çıkan parçacıklar ve x-ışınları dedekte edilir. Bu yolla incelenmekte olan örneğin topoğrafyası ve kimyasal kompozisyonu hakkında veri alınır.

Yüzey atomlarından saçılan ikincil elektronlar örnek yüzeyi hakkında bilgi verirken, geri saçılan elektronlar farklı kimyasal kompozisyonlara sahip bölgeler arasındaki kontrast farkı vasıtasıyla örnek yüzeyindeki elementel farklılıkları tespit etmede kullanılırlar. Geri saçılan elektronlar ayrıca örneğin kristalografik yapısını belirlemede yardımcı olurlar. Örnekle elektron demetinin etkileşmesi sonucu ortaya çıkan x-ışınları ise bir EDS dedektörü tarafından toplanarak, Enerji-Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisinde kullanılır ve bu yolla EDS elementel analizi de yapılabilir.

Çalışmamızdaki örneklerin SEM görüntüleri 5-15 kV aralığında x5000, x10000 ve x15000 olmak üzere 3 farklı büyütmede Low Vacuum altında elde edilmiştir. EDS analizi için x10000 büyütmedeki veriler kullanılmıştır.



Şekil 3. 6. Örneklerin yüzey görüntülerinin alındığı ve elementel analizlerin yapıldığı cihaz, Thermo Fisher Scientific Apreo S taramalı elektron mikroskobu.

Elektron Demeti Çözünürlüğü (Optimum WD da)	
High vacuum	
30 kV	0,8 nm
15 kV	0,7 nm
1 kV	1,0 nm
1 kV (beam decel.)	0,8 nm
500 V (beam decel.)	0,9 nm
100 V (beam decel.)	1,8 nm
Low vacuum	
15 kV	1,0 nm
3 kV	1,8 nm

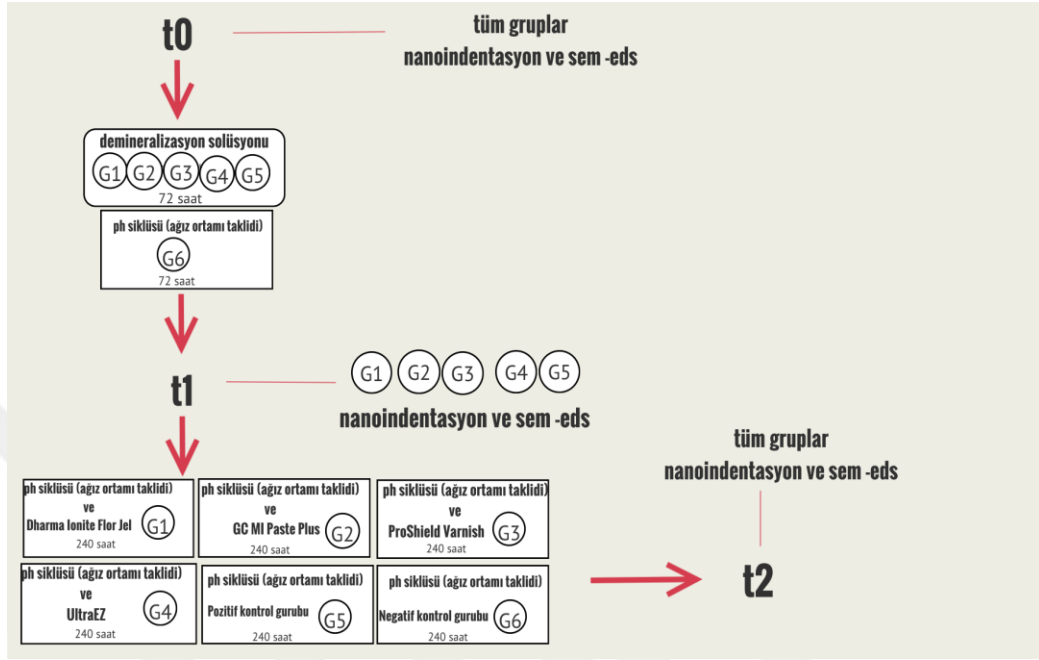
Elektron Demeti Parametreleri	
Demet Akım Aralığı	1 pA to 400 nA
Hızlandırma Voltaj Aralığı	200 V – 30 kV
İniş Enerji Aralığı	20 eV – 30 keV

Şekil 3. 7. Thermo Fisher Scientific Apreo S cihazı çalışma kapasite aralıkları

3.2. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızda kullanılan 42 diş örneğimiz rastgele 4 deney ve 2 kontrol (pozitif ve negatif kontrol grupları) grubu olmak üzere 6 çalışma grubuna ayrıldı ve her grupta 7 adet

örnek olacak şekilde çalışıldı. Çalışmamızın gruplandırılması, çalışma sıralaması, metod ve yöntemlerinin açıklayıcı özet tablosu Şekil 3.8.’ de gösterilmiştir.

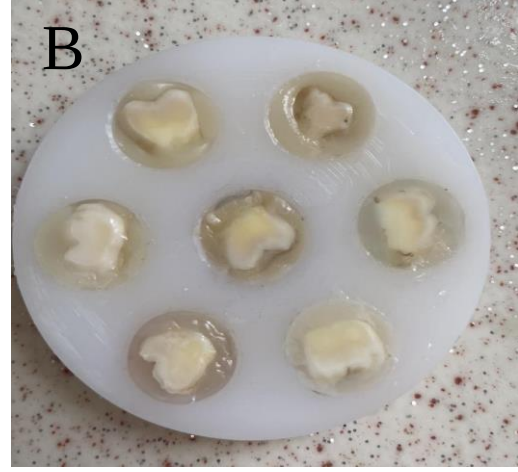


Şekil 3. 8. Çalışmamızın gruplandırılması, çalışma sıralaması, metod ve yöntemlerinin açıklayıcı tablosu.

Gruplanan her diş mesiodistal yönden 2’ ye bölünerek Sem-Eds ve Nanoindentasyon analiz cihazları ile 2 ayrı çalışma alanı tespit edildi. Nanoindentasyon ölçümleri için paralel bir zemin gerektiğinden çalışılacak mine yüzeyleri açıkta kalacak şekilde bakalit bloklar içerisine gömüldü. Bakalit blokların çapı 55 mm olarak kullanıldı. Örneklerin yerleştirildiği her bir delik 12 mm çapında ve 10 mm derinliğinde açıldı. Mine örnekleri deliklere kompozit rezin vasıtasıyla sabitlendi. Örnekler Şekil 3.9A.’ da gösterildiği gibi bloğa kompozitle sabitlendikten sonra Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Mikro-Nanomekanik Karakterizasyon Araştırma Laboratuvarı’nda Struers Labopol-5 (Pederstrupvej, Danimarka) otomatik cilalama ve parlatma cihazı ile su soğutması altında 800, 1200 ve 2500 grenli silikon karbid zımparalar kullanılarak cilalandı. Şekil 3.9B.’ de dişlerin cilalandıktan sonraki görünümü gösterilmektedir.



Şekil 3.9A. Örneklerin cilalama öncesi görünümü



Şekil 3.9B. Örneklerin Cilalama sonrası görünümü

3.2.1. Çalışma planı

Yapmış olduğumuz araştırmanın sırasıyla işlem listesi aşağıda verilmiştir ve aşama aşama anlatılmıştır.

- 1-Çalışmada kullanılacak dişlerin seçilmesi
- 2-Teflon blokların hazırlanması
- 3-Örneklerin hazırlanması
- 4-Deney gruplarının belirlenmesi (Negatif kontrol grubu, Pozitif kontrol grubu ve 4 deney grubu)
- 5-t0 zamanı tüm örneklerle demineralizasyon jelinde bekletme öncesi nanoindentasyon ve eds analizlerinin uygulanması
- 6-Deney grupları ve pozitif kontrol grubundaki örneklerin 72 saat demineralizasyon jelinde bekletilmesi
- 7- Deney grupları ve pozitif kontrol grubundaki örneklerle nanoindentasyon ve eds t1 zamanı analizlerinin yapılması
- 8-Deney gruplarına ağız ortamını taklit edecek ph siklüsü ile birlikte remineralizasyon ajanlarının uygulanması
- 9-Tüm örneklerle nanoindentasyon ve eds t2 zamanı analizlerinin yapılması
- 10-Sonuçların istatistiksel analizi
- 11-Tezin yazımı

3.2.2. Çalışma grupları

Çalışmamızda kullanılan diş örnekleri randomize olarak 6 gruba ayrıldı. Gruplardaki her örneğe çalışma süresince yaptığımız işlemler şu şekildedir:

-Grup 1: 72 saat demineralizasyon solüsyonu + 10 gün ph siklüsü (6 saat demineralizasyon ve 18 saat remineralizasyon) ile birlikte Ionite Flor Jel

-Grup 2: 72 saat demineralizasyon solüsyonu + 10 gün ph siklüsü (6 saat demineralizasyon ve 18 saat remineralizasyon) ile birlikte GC MI Paste Plus

-Grup 3: 72 saat demineralizasyon solüsyonu + 10 gün ph siklüsü (6 saat demineralizasyon ve 18 saat remineralizasyon) ile birlikte ProShield Varnish

-Grup 4: 72 saat demineralizasyon solüsyonu + 10 gün ph siklüsü (6 saat demineralizasyon ve 18 saat remineralizasyon) ile birlikte UltraEZ

-Grup 5: Pozitif kontrol grubu. 72 saat demineralizasyon solüsyonu + 10 gün ph siklüsü (6 saat demineralizasyon ve 18 saat remineralizasyon)

-Grup 6:Negatif Kontrol Grubu:10 gün ph siklüsü (6 saat demineralizasyon ve 18 saat remineralizasyon)

3.3. Deneylerde Kullanılan Mine Örneklerinin Hazırlanması

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde çekim kararı alınmış dişlerden 42 adet çürüksüz ağız ortamından etkilenmemiş 20-40 yaş arası gömülü 20 yaş dışı çalışmamızda kullanılmıştır. Çalışmamızın deney aşamasında kadar dişler % 0,1 lik timol solüsyonu içerisinde bekletilmiştir. Her bir dişin kökleri kesilip, mesiodistal yönde ikiye bölünerek her diştten 2 çalışma alanı elde edilerek 42 örnek hazırlandı. Diş üzerindeki ve pulpa odasındaki doku artıkları da kretuar ile temizlendi.

3.4. Mine Yüzeylerinde Başlangıç Çürük Lezyonu Oluşturulması

Çalışmamızdaki 4 deney grubu ve pozitif kontrol grubunda demineralizasyon solüsyonu ile yapay çürükler oluşturuldu. Pozitif kontrol grubunda yapay çürük sonrası remineralizasyon ajanı uygulaması yapılmayıp negatif kontrol grubundaki dişlere çalışma boyunca çürük oluşturma ve remineralizasyon ajanı uygulaması yapılmamıştır.

Çalışmamızda yapay çürük oluşturmak için P Gängler ve ark. kullandığı demineralizasyon solüsyonu kullanıldı. Bu solüsyon Çizelge 2' de verilen 1.5 mM CaCl₂, 0,9 mM KH₂PO₄, 150 mM KCl, 0,1 M sodyum asetat ve 30 mM asetat içerecek şekilde hidroksietil selülöz içerisinde jel formunda hazırlandı. Jelin ph sı 4,7 olarak ayarlandı. Demineralizasyon 72 saat olarak yapılmıştır. pH kontrolü 3 günlük uygulama öncesi ve sonrasında kontrol edilmiştir.¹⁴⁶

Çizelge 3. 2. Çalışmamızda kullanacağımız demineralizasyon jeli içeriği. ph: 4.7

-1.5 mM CaCl ₂
-0,9 mM KH ₂ PO ₄
-150 mM KCL
-0,1 M Sodyum Asetat
-30 mM Asetat
-Hidroksietil Selülöz

3.5. Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden (pH) Döngüsünün Uygulanması

Ağız ortamını taklit etmek için remineralizasyon ajanlarının uygulanacağı sürede demineralizasyon ve remineralizasyon siklüsüne devam edilmiştir. Bu pH siklüsünde kullanılacak kimyasal ajanlar Ten Cate ve ark.'nın çalışmasından yola çıkılarak hazırlanmıştır.¹⁴⁷ Bu siklus sırasında örnekler 6 saat demineralizasyon solüsyonunda, 18 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Demineralizasyon solüsyonun içeriği 1,5 mM CaCl₂, 0,9 mM KH₂PO₄ ve 50 mM asetik asit içermekte olup pH'sı 5,0' e ayarlanmıştır. Remineralizasyon solüsyonu içinse 1 lt distile su içine; 1,5 mM CaCl₂, 0,9 mM NaH₂PO₄, 0,15 M Potasyum klorür (KCl) eklenerek pH'ın 7,0 olması sağlanmıştır. pH siklüsüne 10 gün boyunca devam edilmiştir.¹⁴⁷

3.6. Araştırma Protokolü

Bu araştırma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Araştırmanın deneysel analizleri

İskenderun Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde tamamlandı. Etik onay Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 17.06.2021-28 protokol numarasıyla alındı (Ek1). Tez çalışması Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında, 21.DHU.005 proje numarası ile desteklendi.

3.7. İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 programı kullanılmıştır.¹⁰ Emamieh ve ark.¹⁰ yürüttükleri ve CPP-ACP ile ksilitolün S. mutanslar üzerinde etkilerini karşılaştırmalı olarak inceledikleri çalışmada da benzer istatistiksel analiz programı kullanılmıştır. Parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilks testleri ile değerlendirilmiştir. Analiz yapılırken veriler grup içi bağımlı, gruplar arası bağımsız olacak şekilde değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Oneway Anova testi ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde grupların varyansları homojen ise Tukey HDS testi, homojen değil ise Tamhane's T2 testi kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U test kullanılmıştır. Normal dağılım gösteren parametrelerin grup içi iki dönem karşılaştırmalarında paired sample t testi, ikiden fazla dönem karşılaştırmalarında Tekrarlayan Ölçümlerde Varyans Analizi, post hoc test olarak Bonferroni Testi kullanılmıştır. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1.Nanoindentasyon Bulguları

4.1.1.Elastisite Modülü Bulguları

Çalışmamızın istatistiksel veri analizi sonuçlarına göre; grupların grup içi T0 zamanında elastisite ortalamaları ve T1 zamanlarındaki elastisite ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.' de grup içi ve gruplar arası elastisite modülü ortalaması verileri mevcuttur.

Gruplar arasında T2 zamanındaki elastisite ortalamaları açısından ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Tukey HSD test sonucunda; Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in T2 zamanındaki elastisite ortalaması, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,000$), Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,000$), Grup 3 (ProShield Varnish) ($p:0,000$), Grup 4 (UltraEZ) ($p:0,000$) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan ($p:0,000$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Grup 3 (ProShield Varnish)'ün T2 zamanındaki elastisite ortalaması da, Grup 4 (UltraEZ)'ten ($p:0,003$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken elastisite modülün değişim sıralaması şu şekildedir: Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) .

Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)'de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki elastisite ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken elastisite modülünün anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Elastisite modülü ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken

anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan Dharma Ionite Flor Jel' in etkin olduğunu gösterir.

Grup 2 (GC MI Paste Plus)'de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki elastisite ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,002$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,001$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken elastisite modülünün anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Elastisite modülü ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan GC MI Paste Plus' ın etkin olduğunu gösterir.

Grup 3 (ProShield Varnish)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki elastisite ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,001$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 ($p:0,000$) ve T2 ($p:0,044$) zamanlarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,002$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken elastisite modülünün anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Elastisite modülü ortalamasının T0 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı düşüşü ve T1 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı artışı kullanılan ProShield Varnish' in etkin olduğunu fakat elastisite modülü ortalamasını başlangıç düzeyine çıkaramadığını gösterir.

Grup 4 (UltraEZ)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki elastisite ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken elastisite modülünün anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Elastisite modülü ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına

göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan UltraEz' in etkin olduğunu gösterir.

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki elastisite ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 ($p:0,000$) ve T2 ($p:0,000$) zamanlarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken elastisite modülünün anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T1 zamanından T2 zamanına geçerken elastisite modülü ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'da; T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,365$; $p>0,05$). Negatif kontrol grubunda T1 zamanında ölçüm yapılmamıştır. T0 zamanından T2 zamanına geçerken elastisite modülü ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Çizelge 4. 1. Grup içi ve gruplar arası elastisite modülü değerlendirilmesi

	T0	T1	T2	
Elastisite	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	² p
Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)	74,37±2,88 ^{A,a}	31,27±6,74 ^{A,b}	73,49±3,43 ^{AB,a}	0,000*
Grup 2 (GC MI Paste Plus)	75,40±7,38 ^{A,a}	30,74±12,14 ^{A,b}	75,25±5,38 ^{AB,a}	0,001*
Grup 3 (ProShield Varnish)	75,16±3,30 ^{A,a}	37,22±12,93 ^{A,b}	69,49±6,73 ^{A,c}	0,001*
Grup 4 (UltraEZ)	81,73±7,15 ^{A,a}	37,14±8,00 ^{A,b}	81,13±5,91 ^{B,a}	0,000*
Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)	77,21±5,74 ^{A,a}	34,76±5,93 ^{A,b}	33,92±4,74 ^{C,b}	0,000*
Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)	76,07±4,60 ^{A,a}	-	75,74±5,02 ^{AB,a}	⁺ 0,365
¹ p	0,168	0,575	0,000*	

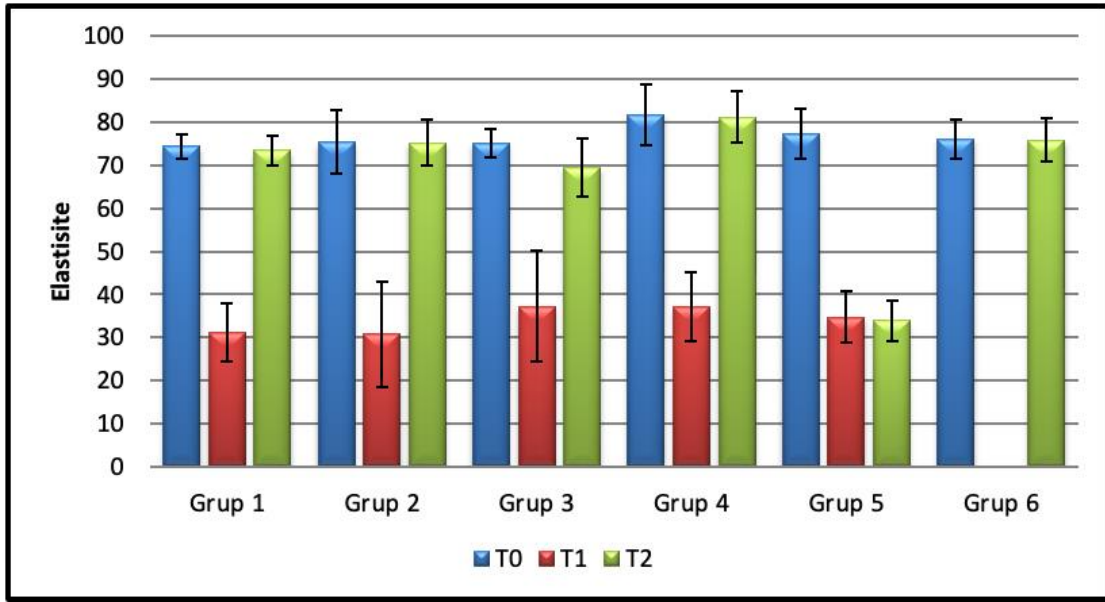
¹Oneway ANOVA Test

²Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi

⁺Paired samples t test

*p<0,05

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı, satırlardaki farklı küçük harfler zamanlar arası farklılığı göstermektedir.



Şekil 4. 1. Grup içi ve gruplar arası elastisite modülü değerlendirilmesi

4.1.2. Nanosertlik Bulguları

Çalışmamızın istatistiksel veri analizi sonuçlarına göre; grupların grup içi T0 zamanında nanosertlik değerleri ortalamaları ve T1 zamanlarındaki nanosertlik değerleri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.' de grup içi ve gruplar arası nanosertlik ortalaması verileri mevcuttur.

Gruplar arasında T2 zamanındaki nanosertlik ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Tukey HSD test sonucunda; Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in T2 zamanındaki nanosertlik ortalaması, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,000$), Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,000$), Grup 4 (UltraEZ) ($p:0,000$) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan ($p:0,000$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Grup 3 (ProShield Varnish)'ün T2 zamanındaki nanosertlik ortalaması, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,015$) ve Grup 2 (GC MI Paste Plus)'den ($p:0,028$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki nanosertlik değişim sıralaması şu şekildedir : Grup 1

(Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu).

Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)’de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki nanosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,290$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,001$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin nanosertlik ortalamalarının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Nanosertlik ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan Dharma Ionite Flor Jel’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 2 (GC MI Paste Plus)’de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki nanosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,959$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin nanosertlik ortalamalarının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Nanosertlik ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan GC MI Paste Plus’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 3 (ProShield Varnish)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki nanosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 ($p:0,000$) ve T2 ($p:0,003$) zamanlarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,003$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken nanosertliğin anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Nanosertlik ortalamasının T0 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı düşüşü ve T1 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı artışı kullanılan ProShield Varnish’ in etkin olduğunu fakat nanosertlik ortalamasını başlangıç düzeyine çıkaramadığını gösterir.

Grup 4 (UltraEZ)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki nanosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,731$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin nanosertlik ortalamalarının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Nanosertlik ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan UltraEZ’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki nanosertlik ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 ($p:0,000$) ve T2 ($p:0,000$) zamanlarında görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken nanosertlik ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T1 zamanından T2 zamanına geçerken nanosertlik ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması da çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)’da; T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,336$; $p>0,05$). T0 zamanından T2 zamanına geçerken nanosertlik ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Çizelge 4.2.Grup içi ve gruplar arası nanosertlik değerlendirilmesi

	T0	T1	T2	
Nanosertlik	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	² p
Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)	4,14±0,60 ^{A,a}	1,78±0,52 ^{A,b}	4,02±0,71 ^{A,a}	0,000*
Grup 2 (GC MI Paste Plus)	4,06±0,20 ^{A,a}	1,92±0,46 ^{AB,b}	3,97±0,31 ^{A,a}	0,000*
Grup 3 (ProShield Varnish)	4,12±0,35 ^{A,a}	2,00±0,46 ^{AB,b}	3,18±0,42 ^{BC,c}	0,000*
Grup 4 (UltraEZ)	3,76±0,39 ^{A,a}	1,65±0,37 ^{A,b}	3,66±0,45 ^{AB,a}	0,000*
Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)	3,70±0,30 ^{A,a}	2,05±0,38 ^{AB,b}	2,04±0,30 ^{C,b}	0,000*
Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)	3,91±0,22 ^{A,a}	-	3,81±0,38 ^{AB,a}	⁺ 0,336
¹ p	0,139	0,007*	0,000*	

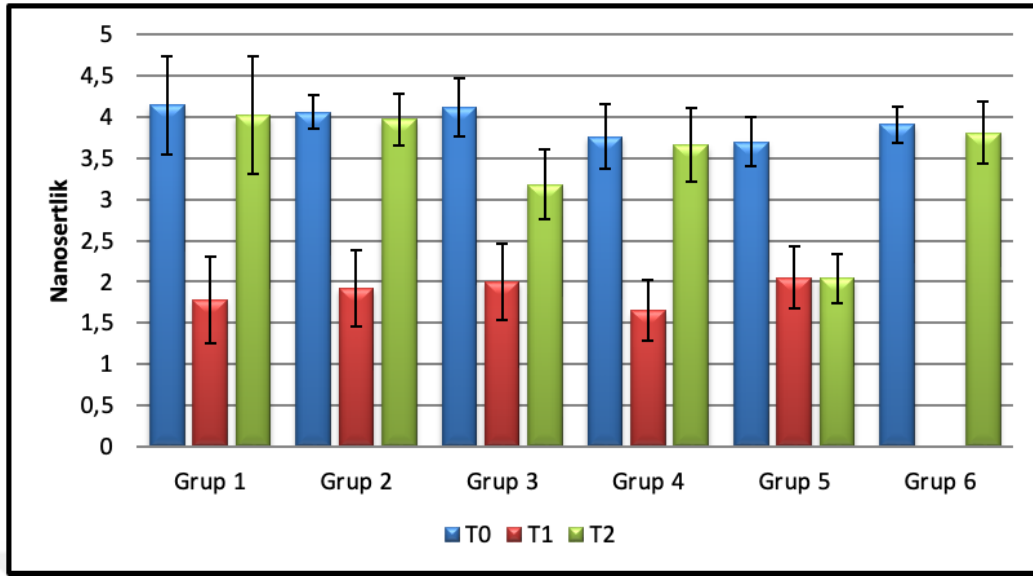
¹Oneway ANOVA Test

²Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi

⁺Paired samples t test

*p<0,05

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı, satırlardaki farklı küçük harfler zamanlar arası farklılığı göstermektedir.



Şekil 4. 2. Grup içi ve gruplar arası nanosertlik değerlendirilmesi

4.1.3. Pürüzlülük Bulguları

Çalışmamızın istatistiksel veri analizi sonuçlarına göre; grupların grup içi T0 zamanında pürüzlülük değerleri ortalamaları ve T1 zamanlarındaki pürüzlülük değerleri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Çizelge 4.3. ve Şekil 4.3.' de grup içi ve gruplar arası pürüzlülük ortalaması verileri mevcuttur.

Gruplar arasında T2 zamanındaki pürüzlülük ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Tukey HSD test sonucunda; Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in T2 zamanındaki pürüzlülük ortalaması, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,000$), Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,000$), Grup 3 (ProShield Varnish) ($p:0,000$), Grup 4 (UltraEZ) ($p:0,000$) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan ($p:0,000$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki pürüzlülük değerleri ortalamaları değişim sıralaması şu şekildedir : Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) .

Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)’de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki pürüzlülük ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,244$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin pürüzlülük ortalamalarının anlamlı şekilde yükselmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Pürüzlülük ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan Dharma Ionite Flor Jel’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 2 (GC MI Paste Plus)’de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki pürüzlülük ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,002$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,001$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,190$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,001$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin pürüzlülük ortalamalarının anlamlı şekilde yükselmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Pürüzlülük ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan GC MI Paste Plus’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 3 (ProShield Varnish)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki pürüzlülük ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,743$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin pürüzlülük ortalamalarının anlamlı şekilde yükselmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Pürüzlülük ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan ProShield Varnish’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 4 (UltraEZ)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki pürüzlülük ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,001$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin pürüzlülük ortalamalarının anlamlı şekilde yükselmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Pürüzlülük ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan UltraEz’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki pürüzlülük ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 ($p:0,000$) ve T2 ($p:0,000$) zamanlarında görülen artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,166$; $p>0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken pürüzlülük ortalamasının anlamlı şekilde yükselmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T1 zamanından T2 zamanına geçerken pürüzlülük ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması da çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)’da; T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,199$; $p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken pürüzlülük ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Çizelge 4. 3. Grup içi ve gruplar arası pürüzlülük değerlendirilmesi

	T0	T1	T2	
Pürüzlülük	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	² p
Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)	92,68±6,27 ^{A,a}	183,98±18,69 ^{A,b}	96,32±6,64 ^{A,a}	0,000*
Grup 2 (GC MI Paste Plus)	97,36±8,61 ^{A,a}	193,15±37,21 ^{A,b}	100,98±5,67 ^{A,a}	0,002*
Grup 3 (ProShield Varnish)	90,9±11,14 ^{A,a}	187,77±18,90 ^{A,b}	93,59±8,08 ^{A,a}	0,000*
Grup 4 (UltraEZ)	90,22±16,60 ^{A,a}	209,97±31,79 ^{A,b}	91,11±14,45 ^{A,a}	0,000*
Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)	104,44±8,44 ^{A,a}	198,85±16,72 ^{A,b}	192,62±11,43 ^{B,b}	0,000*
Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)	93,15±15,04 ^A	-	97,11±9,62 ^A	⁺ 0,199
¹ p	0,220	0,386	0,000*	

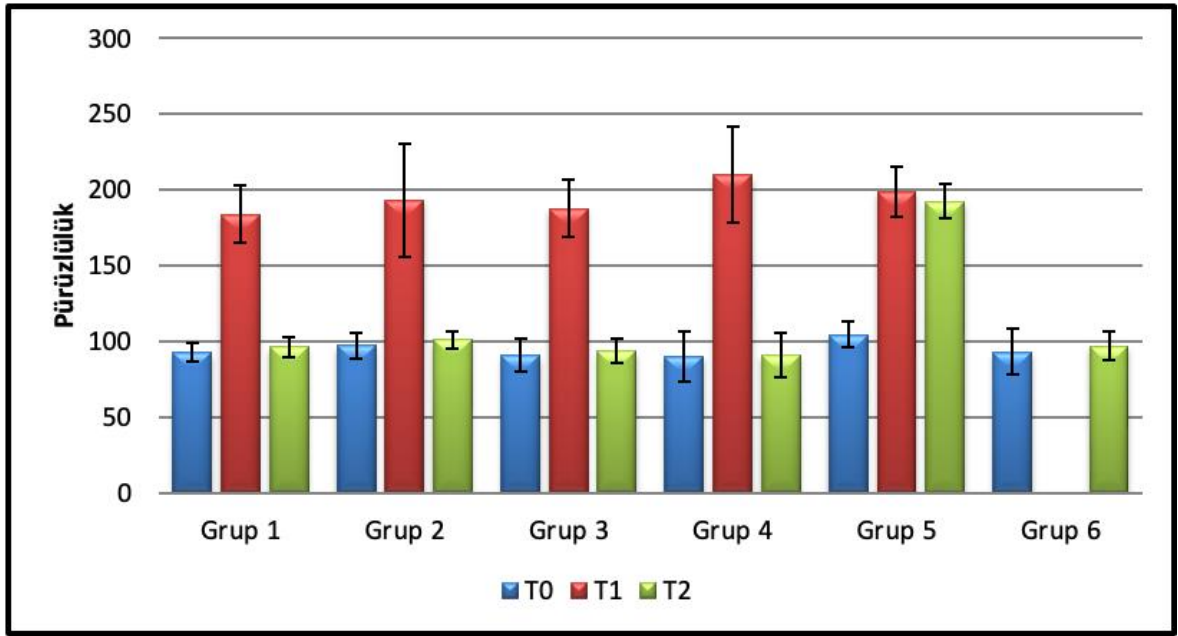
¹Oneway ANOVA Test

²Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi

⁺Paired samples t test

*p<0,05

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı, satırlardaki farklı küçük harfler zamanlar arası farklılığı göstermektedir.



Şekil 4. 3. Grup içi ve gruplar arası pürüzlülük değerlendirilmesi

4.1.4. Deney Grupları Arası Nanoindentasyon Bulguları Değerlendirmesi

Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki elastisite değişim miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Çizelge 4.4.'de deney grupları arası nanoindentasyon verileri mevcuttur. T1 zamanından T2 zamanına geçerken elastisite modülün değişim sıralaması ise şu şekildedir: Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 3 (ProShield Varnish).

Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki sertlik artış miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,013$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Dunn's test sonucunda; Grup 3 (ProShield Varnish)'ün sertlik artış miktarı, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,004$), Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,012$) ve Grup 4 (UltraEZ)'ten ($p:0,008$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken nanosertlik değişim sıralaması ise şu şekildedir : Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish).

Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki pürüzlülük değişim miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki pürüzlülük değerleri ortalamaları değişim sıralaması ise şu şekildedir: Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)

Çizelge 4. 4. Remineralizasyon ajanlarının örnekler üzerindeki sertlik, elastisite ve pürüzlülüğü değiştirme miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması

	Elastisite değişimi (T2-T1)	Sertlik değişimi (T2-T1)	Pürüzlülük Değişimi (T2-T1)
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)	42,21±8,36 (42,1) ^A	2,25±0,77 (2,1) ^A	-87,67±19,63 (-93,2) ^A
Grup 2 (GC MI Paste Plus)	44,51±15,6 (49,9) ^A	2,05±0,45 (2,1) ^A	-92,17±34,84 (-76,1) ^A
Grup 3 (ProShield Varnish)	32,27±13,08 (32,5) ^A	1,19±0,51 (1,3) ^B	-94,18±19,82 (-92,3) ^A
Grup 4 (UltraEZ)	44,0±3,28 (44,4) ^A	2,01±0,40 (2,1) ^A	-118,85±36,62 (-113) ^A
p	0,177	0,013*	0,239

Kruskal Wallis Test

* $p<0,05$

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir.

4.2.EDS Bulguları

Çalışmamızda EDS verilerinden Kalsiyum (Ca), Fosfor (P) ve Ca/P oran değişimi analizleri yapılmıştır.

Fosfor (P) Değerlendirmesi: Çalışmamızın istatistiksel veri analizi sonuçlarına göre; grupların grup içi T0 zamanında P değerleri ortalamaları ve T1 zamanlarındaki P değerleri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır

($p>0,05$). Çizelge 4.5.' de ve Şekil 4.4.' de grup içi ve gruplar arası P değerleri ortalaması verileri mevcuttur.

Gruplar arasında T2 zamanındaki P ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Tukey HSD test sonucunda; Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'nın T2 zamanındaki P ortalaması, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,023$), Grup 3 (ProShield Varnish) ($p:0,016$) ve Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'ten ($p:0,000$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Grup 2 (GC MI Paste Plus)'nin T2 zamanındaki P ortalaması, Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'ten ($p:0,036$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki P değerleri ortalamaları değişim sıralaması şu şekildedir : Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) .

Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)'de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,149$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,032$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin P ortalamalarının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. P ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan Dharma Ionite Flor Jel' in remineralizasyonda etkin olduğunu gösterir.

Grup 2 (GC MI Paste Plus)'de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,003$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,001$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,737$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,003$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken gruptaki örneklerin P ortalamalarının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu

göstermektedir. P ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan GC MI Paste Plus' ın remineralizasyonda etkin olduğunu gösterir.

Grup 3 (ProShield Varnish)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,000$) ve T2 zamanında ($p:0,005$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$).T0 dan T1 zamanına geçerken P ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. P ortalamasının T0 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı düşüşü ve T1 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı artışı kullanılan ProShield Varnish' in etkin olduğunu fakat P ortalamasını başlangıç düzeyine çıkaramadığını gösterir.

Grup 4 (UltraEZ)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,003$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,001$) ve T2 zamanında ($p:0,020$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,060$; $p>0,05$).T0 dan T1 zamanına geçerken P ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. P ortalamasının T0 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı düşüşü ve T1 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı artışı kullanılan Ultra EZ' in etkin olduğunu fakat P ortalamasını başlangıç düzeyine çıkaramadığını gösterir.

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,002$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,001$) ve T2 zamanında ($p:0,001$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken P ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T1 zamanından T2 zamanına geçerken P ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması da çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)’da; T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,296$; $p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken P ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Çizelge 4. 5. Grup içi ve gruplar arası fosfor değerlendirilmesi

	T0	T1	T2	
Fosfor (P)	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	² p
Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)	17,59±0,66 ^{A,a}	15,22±0,57 ^{A,b}	16,57±1,06 ^{AC,a}	0,000*
Grup 2 (GC MI Paste Plus)	17,73±1,79 ^{A,a}	15,38±2,00 ^{A,b}	17,53±1,68 ^{CD,a}	0,003*
Grup 3 (ProShield Varnish)	17,61±1,03 ^{A,a}	15,59±1,20 ^{A,b}	16,47±1,25 ^{AC,c}	0,000*
Grup 4 (UltraEZ)	18,08±0,78 ^{A,a}	15,77±1,23 ^{A,b}	16,87±0,72 ^{ABC,b}	0,003*
Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)	17,28±1,05 ^{A,a}	15,15±0,84 ^{A,b}	15,14±0,82 ^{AB,b}	0,002*
Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)	18,99±2,22 ^{A,a}	-	19,10±2,32 ^{BD,a}	¹ 0,296
¹ p	0,272	0,884	0,000*	

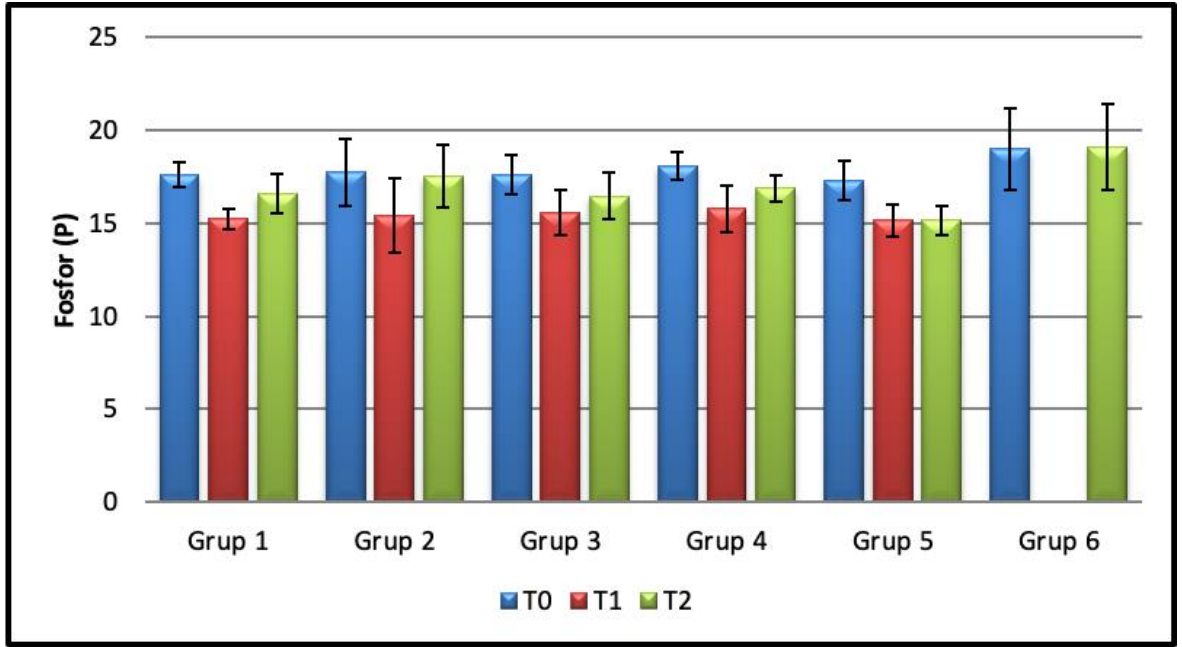
¹Oneway ANOVA Test

²Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi

³Paired samples t test

* $p<0,05$

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı, satırlardaki farklı küçük harfler zamanlar arası farklılığı göstermektedir.



Şekil 4. 4.Grup içi ve gruplar arası fosfor değerlendirilmesi

Kalsiyum (Ca) Değerlendirmesi: Çalışmamızın istatistiksel veri analizi sonuçlarına göre; grupların grup içi T0 zamanında Ca değerleri ortalamaları ve T1 zamanlarındaki Ca değerleri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Çizelge 4.6.' da ve şekil 4.5.' de grup içi ve gruplar arası P değerleri ortalaması verileri mevcuttur.

Gruplar arasında T2 zamanındaki Ca ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Tamhane's T2 test sonucunda; Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in T2 zamanındaki Ca ortalaması, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,023$), Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,000$), Grup 4 (UltraEZ) ($p:0,001$) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan ($p:0,001$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Grup 3 (ProShield Varnish)'ün T2 zamanındaki Ca ortalaması, Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,005$), Grup 4 (UltraEZ) ($p:0,045$) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan ($p:0,007$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki Ca değerleri ortalamaları değişim sıralaması şu şekildedir :

Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) .

Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)’de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,716$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Ca ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan Dharma Ionite Flor Jel’ in etkin olduğunu gösterir.

Grup 2 (GC MI Paste Plus)’de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,000$) görülen düşüş ve T2 zamanında ($p:0,003$) görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T0 ve T1 zamanına göre T2 zamanında görülen Ca ortalamasındaki anlamlı artış kullanılan GC MI Paste Plus’ ın etkin olduğunu ve Ca ortalamasını başlangıç durumuna göre daha yüksek düzeye çıkardığını gösterir.

Grup 3 (ProShield Varnish)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,000$) ve T2 zamanında ($p:0,001$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Ca ortalamasının T0 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı düşüşü ve T1 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı artışı kullanılan ProShield Varnish in etkin olduğunu fakat Ca ortalamasını başlangıç düzeyine çıkaramadığını gösterir.

Grup 4 (UltraEZ)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,000$) ve T2 zamanında ($p:0,018$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Ca ortalamasının T0 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı düşüşü ve T1 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı artışı kullanılan UltraEZ’ in etkin olduğunu fakat Ca ortalamasını başlangıç düzeyine çıkaramadığını gösterir.

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)’te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,001$) ve T2 zamanında ($p:0,000$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1,000$; $p>0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T1 zamanından T2 zamanına geçerken Ca ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)’da; T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,124$; $p>0,05$). T0 zamanından T2 zamanına geçerken Ca ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklüsünün nötr etkide olduğunu gösterir.

Çizelge 4. 6. Grup içi ve gruplar arası kalsiyum değerlendirilmesi

	T0	T1	T2	
Kalsiyum (Ca)	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	² p
Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)	31,67±3,79 ^{A,a}	23,35±1,96 ^{A,b}	31,40±3,88 ^{AC,a}	0,000*
Grup 2 (GC MI Paste Plus)	31,05±3,04 ^{A,a}	24,04±2,97 ^{A,b}	32,62±2,52 ^{A,c}	0,000*
Grup 3 (ProShield Varnish)	30,87±2,09 ^{A,a}	23,90±1,35 ^{A,b}	26,61±1,45 ^{BC,c}	0,000*
Grup 4 (UltraEZ)	32,05±1,98 ^{A,a}	24,57±2,08 ^{A,b}	30,08±1,96 ^{A,c}	0,000*
Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)	30,73±2,34 ^{A,a}	23,77±1,31 ^{A,b}	23,93±1,58 ^{B,b}	0,000*
Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)	34,36±3,20 ^{A,a}	-	34,11±3,25 ^{A,a}	⁺ 0,124
¹ p	0,178	0,851	0,000*	

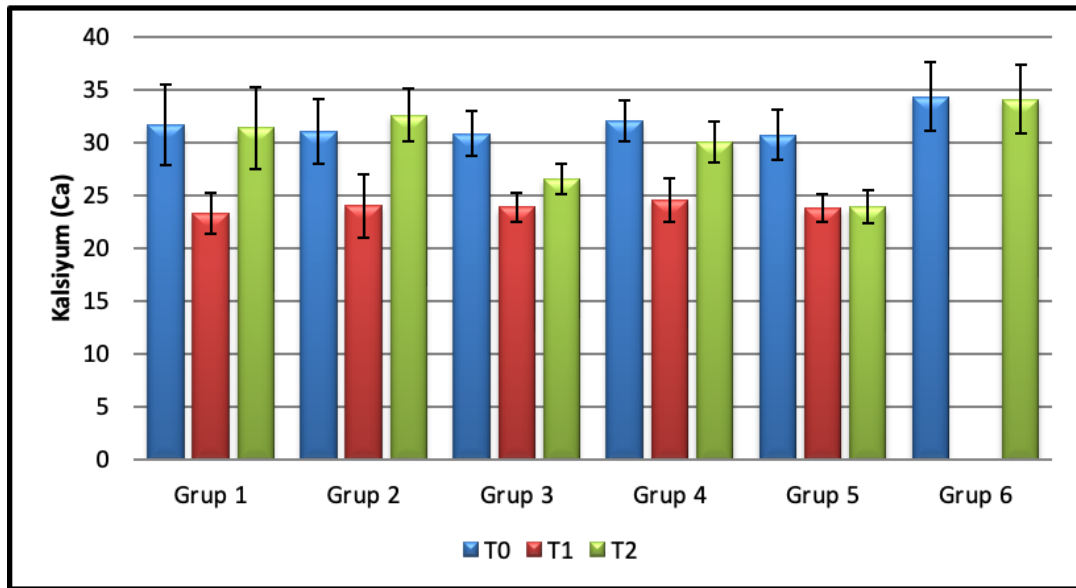
¹Oneway ANOVA Test

²Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi

⁺Paired samples t test

*p<0,05

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı, satırlardaki farklı küçük harfler zamanlar arası farklılığı göstermektedir.



Şekil 4. 5. Grup içi ve gruplar arası Kalsiyum (Ca) değerlendirilmesi

Kalsiyum/Fosfor (Ca/P) Değerlendirmesi: Çalışmamızın istatistiksel veri analizi sonuçlarına göre; grupların grup içi T0 zamanında Ca/P ortalamaları ve T1 zamanlarındaki Ca/P değerleri ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). Çizelge 4.7.' de ve şekil 4.6.'da grup içi ve gruplar arası Ca/P değerleri ortalaması verileri mevcuttur.

Gruplar arasında T2 zamanındaki Ca/P ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Tamhane's T2 test sonucunda; Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'ün T2 zamanındaki Ca/P ortalaması, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,030$), Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,000$) ve Grup 4 (UltraEZ)'ten ($p:0,001$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Grup 3 (ProShield Varnish)'ün T2 zamanındaki Ca/P ortalaması, Grup 2 (GC MI Paste Plus) ($p:0,000$) ve Grup 4 (UltraEZ)'ten ($p:0,004$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki Ca/P değerleri ortalamaları değişim sıralaması şu şekildedir : Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) .

Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)'de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca/P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,003$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,003$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,160$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,001$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken elastisite modülünün anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Ca/P ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan Dharma Ionite Flor Jel' in etkin olduğunu gösterir.

Grup 2 (GC MI Paste Plus)'de; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca/P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,006$) görülen düşüş ve T2 zamanında ($p:0,003$) görülen

artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca/P ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T0 ve T1 zamanına göre T2 zamanında görülen Ca/P ortalamasındaki anlamlı artış kullanılan GC MI Paste Plus' ın etkin olduğunu ve Ca/P ortalamasını başlangıç durumuna göre daha yüksek düzeye çıkardığını gösterir.

Grup 3 (ProShield Varnish)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca/P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,000$) ve T2 zamanında ($p:0,008$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca/P ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Ca/P ortalamasının T0 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı düşüşü ve T1 zamanına göre T2 zamanındaki anlamlı artışı kullanılan ProShield Varnish in etkin olduğunu fakat Ca/P ortalamasını başlangıç düzeyine çıkaramadığını gösterir.

Grup 4 (UltraEZ)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca/P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında görülen düşüş istatistiksel olarak anlamlı iken ($p:0,000$; $p<0,05$), T0 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında görülen artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,000$; $p<0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca/P ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. Ca/P ortalamasındaki T1 zamanından T2 zamanına geçerken anlamlılık ve T0 zamanına göre T2 zamanında anlamlı değişiklik olmaması kullanılan UltraEZ' in etkin olduğunu gösterir.

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'te; T0, T1 ve T2 zamanlarındaki Ca/P ölçüm ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,021$; $p<0,05$). T0 zamanına göre T1 zamanında ($p:0,010$) ve T2 zamanında ($p:0,016$) görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:1.000$; $p>0,05$). T0 dan T1 zamanına geçerken Ca/P

ortalamasının anlamlı şekilde düşmesi kullanılan demineralizasyon ajanının etkin olduğunu göstermektedir. T1 zamanından T2 zamanına geçerken Ca/P ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklusunun nötr etkide olduğunu gösterir.

Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)’da; T1 zamanına göre T2 zamanında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p:0,067$; $p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken Ca/P ortalamasında anlamlı bir değişim olmaması çalışmamızda ağız ortamı taklidi amacıyla düzenlenen pH siklusunun nötr etkide olduğunu gösterir.

Çizelge 4. 7. Grup içi ve gruplar arası Ca/P değerlendirilmesi

	T0	T1	T2	
Ca/P	Ort±SS	Ort±SS	Ort±SS	² p
Grup 1	1,80±0,20 ^{A,a}	1,53±0,09 ^{A,b}	1,89±0,17 ^{AB,a}	0,003*
Grup 2	1,75±0,06 ^{A,a}	1,57±0,07 ^{A,b}	1,86±0,07 ^{A,c}	0,000*
Grup 3	1,75±0,09 ^{A,a}	1,54±0,04 ^{A,b}	1,62±0,04 ^{BC,c}	0,000*
Grup 4	1,77±0,07 ^{A,a}	1,56±0,02 ^{A,b}	1,78±0,07 ^{A,a}	0,000*
Grup 5	1,78±0,13 ^{A,a}	1,57±0,03 ^{A,b}	1,58±0,06 ^{C,b}	0,021*
Grup 6	1,82±0,14 ^{A,a}	-	1,79±0,14 ^{AC,a}	⁺ 0,067
¹ p	0,912	0,648	0,000*	

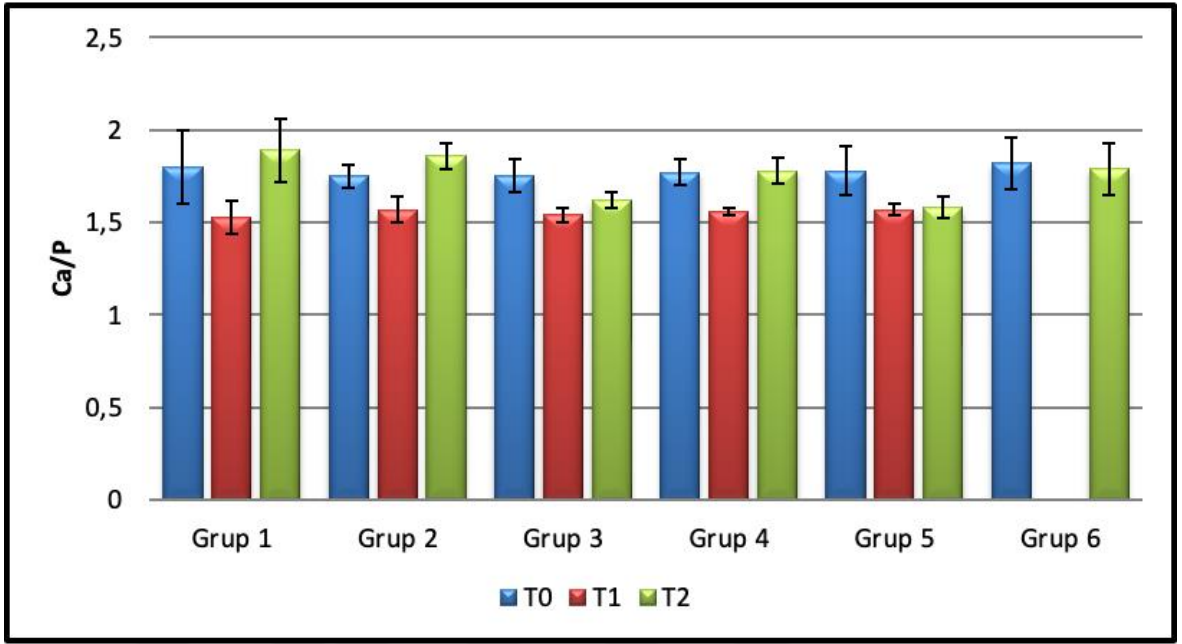
¹Oneway ANOVA Test

²Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi

⁺Paired samples t test

* $p<0,05$

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı, satırlardaki farklı küçük harfler zamanlar arası farklılığı göstermektedir.



Şekil 4. 6. Grup içi ve gruplar arası Ca/P değerlendirilmesi

4.2.1. Deney Grupları Arası EDS Bulguları Değerlendirmesi

EDS verilerinden deney grupları arası Kalsiyum (Ca) ,Fosfor (P) ve Ca/P oran değişimi analizlerinin verileri mevcuttur. Bu veriler çizelge 4.8.' de verilmiştir.

Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki P artış miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p:0,000$; $p>0,05$)T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki P değerleri ortalamaları değişim sıralaması ise şu şekildedir: Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish).

Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki Ca artış miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Dunn's test sonucunda; Grup 3 (ProShield Varnish)'ün kalsiyum artış miktarı, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,002$) ve Grup 2 (GC MI Paste Plus)'den ($p:0,000$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki Ca değerleri

ortalamaları değişim sıralaması ise şu şekildedir : Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish).

Gruplar arasında T1 zamanına göre T2 zamanındaki Ca/P artış miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p:0,000$; $p<0,05$). Anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığının tespiti için yapılan post hoc Dunn's test sonucunda; Grup 3 (ProShield Varnish)'ün Ca/P artış miktarı, Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) ($p:0,000$) ve Grup 2 (GC MI Paste Plus)'den ($p:0,006$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0,05$). T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki Ca/P değerleri ortalamarı değişim sıralaması ise şu şekildedir : Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish).

Çizelge 4. 8. Remineralizasyon ajanlarının örnekler üzerindeki Ca, P ve Ca/P değiştirme miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması

	P değişimi (T2-T1)	Ca değişimi (T2-T1)	Ca/P Değişimi (T2-T1)
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel)	1,35±0,98 (1,7) ^A	8,06±2,18 (6,9) ^A	0,36±0,13 (0,4) ^A
Grup 2 (GC MI Paste Plus)	2,15±0,97 (2) ^A	8,57±1,68 (8,4) ^A	0,30±0,09 (0,3) ^A
Grup 3 (ProShield Varnish)	0,88±0,18 (0,9) ^A	2,71±0,36 (2,7) ^B	0,08±0,02 (0,1) ^B
Grup 4 (UltraEZ)	1,11±0,93 (0,7) ^A	5,51±1,25 (5,6) ^{AB}	0,22±0,05 (0,2) ^{AB}
P	0,086	0,000*	0,000*

Kruskal Wallis Test

* $p<0,05$

NOT: Sütunlardaki farklı büyük harfler gruplar arası farklılığı göstermektedir

4.3.Pozitif ve Negatif Kontrol Gruplarının Değerlendirilmesi

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in elastisite modülü değişim miktarı, Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,002; p<0,05).

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in nanosertlik değişim miktarı, Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,002; p<0,05).

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in pürüzlülük değişim miktarı, Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,002; p<0,05).

Çizelge 4.9.' da Grup 5 ve Grup 6'nın nanosertlik, elastisite modülü ve pürüzlülük değişim miktarlarının verileri bulunmaktadır.

Çizelge 4. 9. Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'nın sertlik, elastisite ve pürüzlülüğü değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması

	Elastisite değişimi (T2-T0)	Sertlik değişimi (T2-T0)	Pürüzlülük Değişimi (T2-T0)
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)	-43,29±5,76 (-43,1)	-1,2±0,34 (-1,2)	88,17±17,93 (88,6)
Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)	-0,34±0,9 (-0,8)	-0,1±0,26 (-0,1)	3,97±7,27 (4,4)
P	0,002*	0,002*	0,002*
Mann Whitney U Test *p<0,05			

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in fosfor değişim miktarı, Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,002; p<0,05).

Çizelge 4.10.' da Grup 5 ve Grup 6'nın P, Ca ve Ca/P değişim miktarlarının verileri bulunmaktadır.

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in kalsiyum değişim miktarı, Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,002; p<0,05).

Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)'in Ca/P değişim miktarı, Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)'dan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p:0,004; p<0,05).

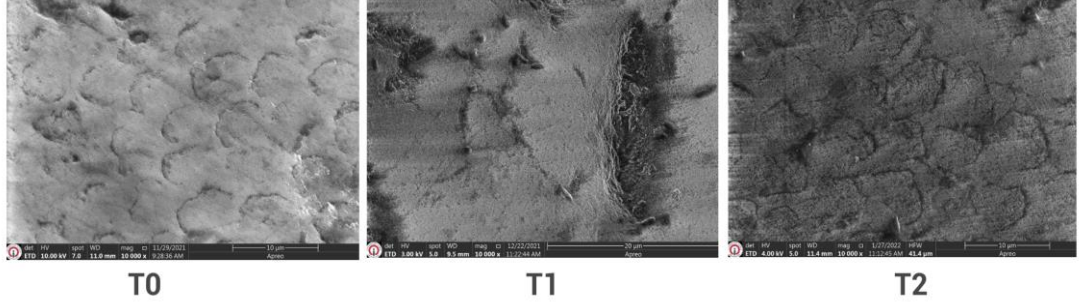
Çizelge 4. 10. Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu) ve Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)’nın P, Ca ve Ca/P değişim miktarlarının gruplar arası karşılaştırılması

	P değişimi (T2-T0)	Ca değişimi (T2-T0)	Ca/P Değişimi (T2-T0)
	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)	Ort±SS (medyan)
Grup 5 (Pozitif Kontrol Grubu)	-2,15±0,73 (-2)	-6,80±1,64 (-7,3)	-0,20±0,12 (-0,2)
Grup 6 (Negatif Kontrol Grubu)	0,11±0,24 (0,2)	-0,24±0,36 (-0,2)	-0,02±0,03 (0)
P	0,002*	0,002*	0,004*
Mann Whitney U Test		*p<0,05	

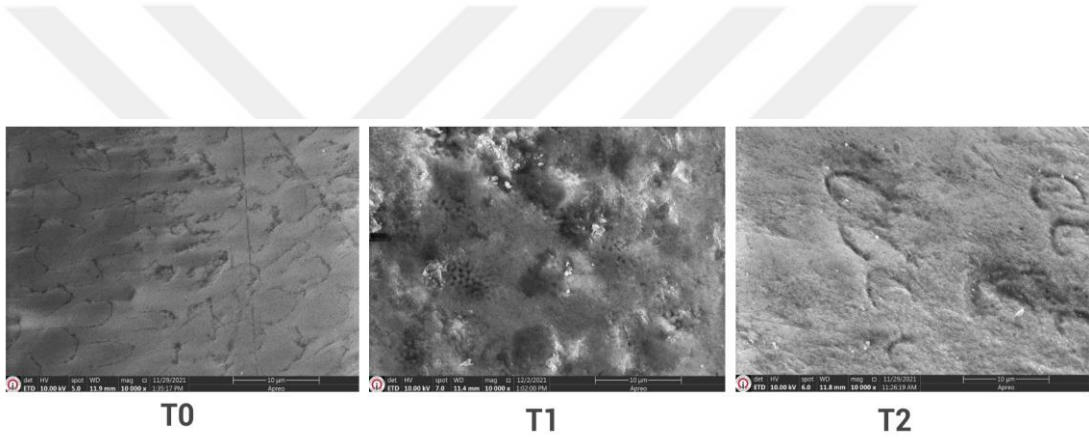
4.4.SEM Bulguları

Bu tez çalışmasındaki başlangıç (T0), demineralize edilmiş (T1) ve remineralize ajanı uygulandıktan sonraki (T2) minenin SEM ile taranmış x10000 büyütmedeki topografik görüntü incelemeleri Şekil 4.7.-4.12. arasında verilmiştir. Numunelerin SEM ile değerlendirilmesi sonucunda; başlangıçta (T0) sağlam mine yüzeyinin bütünlüğünün bozulmamış olduğu, mine prizmalarının ise “anahtar deliği” şeklinde dizilen bir yapı gösterdiği görülmüştür. Örneklerde pH siklusu ile yapay başlangıç çürükleri oluşturulduktan sonra (T1) alınan SEM görüntülerinde ise yapısal bir bozulma olduğu düz yüzeylerin yerini pürüzlü yüzeylere bıraktığı ve mine yüzeyinde heterojen düzensizliklerin ortaya çıktığı izlenmiştir. Demineralizasyondan sonra farklı büyüklüklerde çukurcuklar izlenmiştir. Başlangıç çürüğü lezyonlarının remineralizasyon ajanları uygulamaları sonrası (T2) SEM görüntülemesinde ise başlangıç (T0) zamanına yakın yüzey görüntüleri izlense de, bazı mine yüzeylerinde homojen yapıda olmayan globüller şekiller bazı mikroporların yüzeylerinde

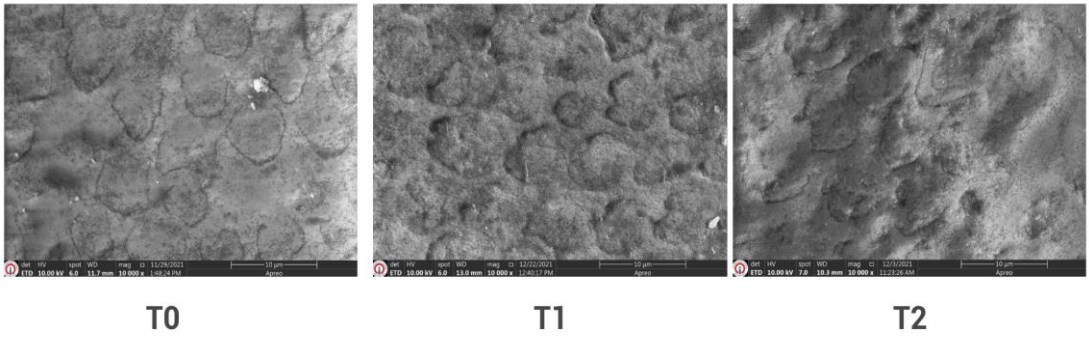
boşlukların olduğu da görüldü. Bölgesel düz yüzeylerin oluştuğu remineralize alanlar görüntülerde izlendi.



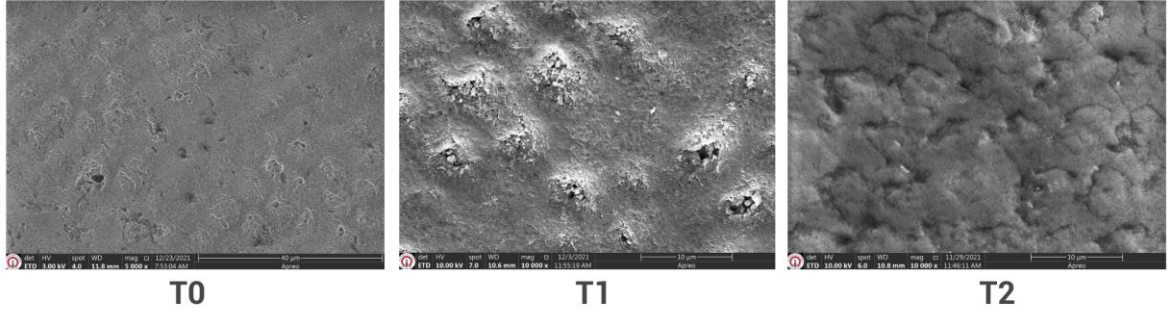
Şekil 4. 7. Grup 1 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede



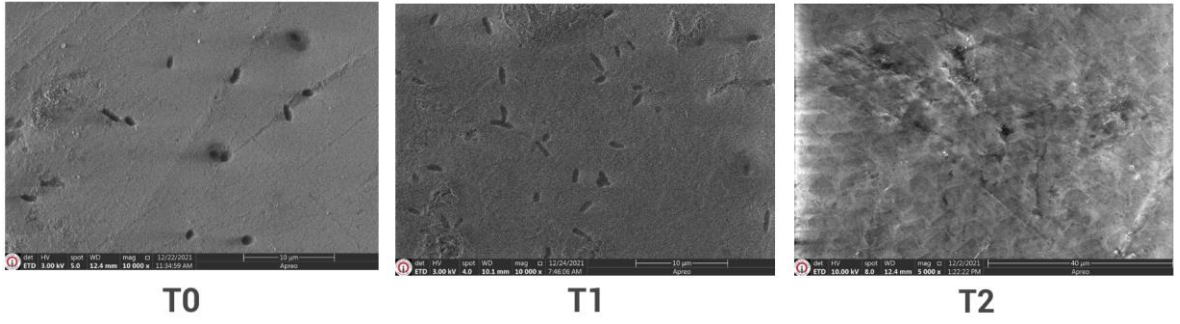
Şekil 4. 8. Grup 2 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede



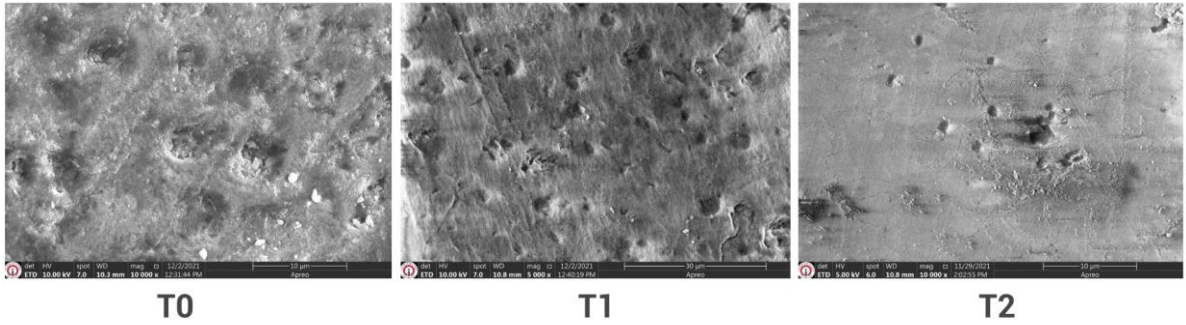
Şekil 4. 9. Grup 3 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede



Şekil 4. 10. Grup 4 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede



Şekil 4. 11. Grup 5 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede



Şekil 4. 12. Grup 6 SEM görüntü örnekleri 10000x büyütmede

5. TARTIŞMA

Diş çürüğünün tanımı bakteriyel metabolizmalar sonucu açığa çıkan asitlerin, diş sert dokularında mineral çözünmesine neden olduğu bulaşıcı bir hastalık olarak ifade edilmektedir. Bu hastalık önceleri geri dönüşü olmayan süreçte yalnızca demineralizasyonun rol aldığı şeklinde düşünülmüştür. Ancak pek çok çalışma hastalığın, tek yönlü bir süreç olmadığı ve birbirini takip eden döngü ile demineralizasyon-remineralizasyon şeklinde olduğunu¹⁴⁸⁻¹⁵⁰

Bu bilgiler doğrultusunda; *in vitro* tez çalışmamız deneysel pH siklus modeli kullanılarak oluşturulan demineralizasyon-remineralizasyon süreçlerince Florür, Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat, Potasyum Nitrat, Sodyum Florür içerikli 4 farklı remineralizasyon ajanının mine başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralize edici etkisini değerlendirmek amacıyla planlanmış ve uygulanmıştır. Test edilen hipotez; *in vitro* olarak başlangıç çürük lezyonu oluşturulan dişlerde farklı içeriklere sahip remineralizasyon ajanlarının remineralizasyon etkilerinin ve bu ajanların aralarındaki etkinliklerinin değerlendirilmesidir.

Başlangıç çürük lezyonları ile ilgili tedavilerin araştırıldığı çalışmalarda uygulanan tedavilerin karşılaştırıldığı çalışmalarda sıklıkla üç çeşit deney modeli kullanılmaktadır. Bunlar *in vivo*¹⁵¹⁻¹⁵³, *in vitro*^{154,155} ve *in situ*^{46,156} dür. Konu çürük tedavisi olduğu için, *in vivo* çalışmalarda etik problemlerle birlikte, hasta kooperasyonu, tükürük kompozisyonu ve diyet içerikleri gibi konularda standardizasyonun sağlanmasının zorluğu ve deney sonrası yapılacak ölçümler için cihazların ağız ortamından ölçüm yapmaya uygun olmaması bu deney metodunun dezavantajlarıdır.^{157,158} *In situ* modeller ağız ortamında başlayan çalışmanın ağız dışında devam ettiği süreci kapsamaktadır. Bu modelde de *in vivo* çalışmalardaki kısıtlılıklar mevcuttur.¹⁵⁹ *In vitro* modellerde ise ağız ortamındaki şartların taklit edilmesi ve deney sonrası kullanılan tedavi malzemelerinin sonuçlarını incelemek için analiz yöntemlerinin uygulanması mümkündür. Uygun şartlar hazırlanarak tüm değişkenlerde standardizasyon sağlanıp tek bir değişkenin etkisi *in vitro* çalışmalarda test edilebilmektedir. Bu sebeple *in vitro* modellerle yapılan çalışmalarda remineralizasyon ajanlarının klinik performansını yansıtabilecek verilerin elde edilmesi çok önemlidir.¹⁶⁰ Literatürde çalışmamıza benzer remineralizasyon ajanlarının *in vitro* şartlarda

değerlendirildiği farklı çalışmalar da vardır.¹⁶¹⁻¹⁶⁶ Bizde çalışmamızda, farklı remineralizasyon ajanlarının başlangıç çürük lezyonları üzerindeki etkilerini in vitro şartlarda değerlendirdik.

İn vitro demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarının çekilmiş insan dişleri veya sığır dişleri kullanılarak yapıldığı bildirilerde mevcuttur.¹⁶⁷⁻¹⁶⁹ Daha kolay bulunabilmeleri ve büyük yapıya sahip olmaları sığır dişlerinin tercih sebebi olabilmesine rağmen sığır dişlerinden elde edilen örneklerin daha yumuşak ve daha poröz olduğu, bu nedenle minerallerin çok hızlı difüzyona uğradığı ve devamlı deney periyotlarında mine yapısının korumanın güç olduğu bildirilmiştir.¹⁷⁰ Gömülü 3. molar dişlerin çekimi diğer dişlere oranla daha fazla gerçekleşmektedir. Ağız ortamı ile ilişkilerinin de olmaması asidik etkenlerden uzak kalmasına sebep olmaktadır ve bu tarz çalışmalarda daha çok tercih edilmektedir.^{9,171,172} Bu sebeplerle sunulan bu çalışmada bizde 42 adet çürüksüz ağız ortamından etkilenmemiş 20-40 yaş arası gömülü 20 yaş dişi kullandık.

In vitro demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında; deney aşamasına kadar diş örneklerinin dehidratasyonu önlemek için çeşitli solüsyonlarda bekletildiği görülmüştür. Saklama solüsyonunun çalışma sonuçlarına etki etmemesi de önemlidir. Formaldehit, sodyum hipoklorit, kloramin T, gluteraldehit, ve timol gibi birçok antibakteriyel madde distile su ve salin solüsyona eklenip kullanılabilmektedir.¹⁷³ Moura ve ark.'nın¹⁷⁴ pH siklusu ile çalıştıkları ve demineralizasyon üzerine depolama solüsyonunun etkisini inceledikleri bir çalışma sonucunda; formolün solüsyonunun mine direncini arttırdığı, timol kullanımında ise herhangi bir etki bulunmamıştır. Maranhao ve ark.¹⁷⁵ ise yaptıkları çalışmada distile suyun en popüler saklama solüsyonu olduğunu fakat minenin alt tabakalarında değişiklik yaptığını, yapay tükürük ve salinin mine yüzeyinde kalsiyum ve tuz çökeltisi oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada timolün ise mineda parlak, cilalı bir yüzey görünümü oluşturduğu bildirilse de yüzey mikro yapısında herhangi bir farklılık yaratmadığı gözlemlenmiştir. Bu bilgilerle bizde çalışmamızda kullanacağımız dişleri %0,1'lik timol içeren distile su solüsyonu içerisinde deney süresine kadar +4 °C' de beklettik.

Yapay başlangıç mine çürüğü çalışmalarında dişlerde uygun çalışma standardını yakalamak için diskler ve zımparalar ile yüzey aşındırma, polisaj veya cilalama işlemleri yapılmıştır.^{167,176-179} Poggio ve ark. yaptıkları CPP-AC' ın dentin ve mine üzerindeki

etkinliğini inceledikleri invitro çalışmada mine yüzeyel alanlarının daha derin tabakalara göre daha çok prizmatik yapı gösterdiği ve mineralize olduğu bildirilmiştir. Ancak ağız ortamına sürmüş bir dişte bu yüzeyel alanların fonksiyon görme, erozyon veya çürük yolu ile zamanla kaybı sonucu prizmatik alanların ağız ortamı ile ilişkiye girdiği belirtilmiştir.¹⁷⁸ Adebayo ve ark.¹⁷⁹ dişlerin farklı bölgelerindeki yüzey farklılıklarını standardize edilmesi gerekliliğini karbamid peroksit ve CPP-ACP' in dişler üzerindeki mikroshear bağlanma kuvvetine etkisini inceledikleri in vitro çalışmada bildirmişlerdir. Mine yüzeylerinin cilalanmasında Moura ve ark.¹⁷⁴ tarafından yapılan çalışmada 320, 600, 1200 grid' lik aliminyum oksit disklerle zımparalanmıştır. Poggio ve ark.¹⁶⁷ tarafından yapılan çalışmada 600-1200 grade' lik silikon karbid zımparalar kullanılmıştır. Bizde bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda bakalit bloklara gömülü diş mine örneklerini düz yüzeyler elde edebilmek amacıyla 800, 1200 ve 2500 grenli silikon karbid zımparalar kullanarak cilaladık.

Diş çürüğü oluşma süresince pH değeri ortamda kritik değer olan 5,5'in altına düştüğünde, mine dokusunda Ca^{2+} ve PO_4^{3-} hidroksiapatit kristallerden çözülmeye başlar ve mineral kaybına (demineralizasyon) neden olur. Azalan pH değerinin tekrar yükselmesi çözünen Ca^{2+} , PO_4^{3-} in ve diğer iyonların mine yüzey yapısına tekrar katılmasına (remineralizasyon) sebep olur. Bulunan ortam ile mine yüzeyi arasındaki bu denge döngüyü dinamik tutar. Ağız içinde gerçekleşen demineralizasyon ve remineralizasyon dinamiğini in vitro çalışmalarda taklit edebilmek için çeşitli modeller bulunmaktadır. Bunlar bakteri kültürlerinin kullanıldığı modeller, asit tamponların kullanıldığı modeller ve pH siklusu modelleridir. Antimikrobiyal ajanların çürük süreci üzerine etkilerini değerlendirmek için bakteri kültürlerinin kullanıldığı modeller kullanılır.¹⁸⁰ Asit tamponlarının kullanıldığı kimyasal modellerde, örnekler pH'sı 4.4-5.0 arasında olan laktat veya asetat içeren jellerde tutulur.¹⁸¹ Bu yöntemin detayları yapılacak çalışmaya göre hedeflenen lezyon büyüklüğüne göre değişebilmektedir.¹⁷⁰ Sürekli asidik ortama maruz kalma, hem doğal demineralizasyon remineralizasyon döngüsünü taklit etmeyeceği hem de yüzeyden direkt madde kaybına sebep olacağı için tercih edilmemiştir. Biz çalışmamızda ağız ortamını en iyi taklit edebilen pH siklusunu tercih edildi. Ağız ortamında olduğu gibi remineralizasyon ajanlarının uygulanacağı sürede demineralizasyon ve remineralizasyon siklüsüne de devam edilmiştir. Bu pH siklüsünde kullanılacak kimyasal ajanlar Ten Cate ve ark.¹⁴⁷ in çalışmasından yola çıkılarak hazırlanmıştır. Bu siklus sırasında örnekler 6 saat demineralizasyon solüsyonunda, 18 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Demineralizasyon solüsyonunun içeriği

1,5 mM CaCl_2 , 0,9 mM KH_2PO_4 ve 50 mM asetik asit içermekte olup pH'sı 5,0' e ayarlanmıştır. Remineralizasyon solüsyonu içinse 1 lt distile su içine; 1,5 mM CaCl_2 , 0,9 mM NaH_2PO_4 , 0,15 M KCl eklenerek pH'ın 7,0 olması sağlanmıştır. pH siklüsümüz 10 gün boyunca devam etmiştir.

Birincil koruma uygulamaları ve remineralizasyon beklentilerinde yöntem ve ürünün etkin olması kadar, yaygın, uygulaması kolay ve maliyetinin düşük olması da gerekmektedir. Bu aşamada florür içeren remineralizasyon ajanları ön plana çıkmaktadır. Demineralizasyon lezyonlarının remineralizasyonunda hala en etkili ajanın florür olduğu kabul edilmektedir. Florürün topikal olarak uygulanması ile, plak ve tükürük içerisinde florürün depolandığı, mine kristal yapısına girdiği, kendisi ile benzer yarıçaplı hidroksil iyonu ile yer değiştirip asitler karşısında daha dayanıklı olan florapatit kristalini ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) oluşturduğu bildirilmiştir.¹⁵⁰ Bununla birlikte, florürün florapatit kristalini oluşturması için 2 flor, 10 kalsiyum ve 6 fosfat gibi çeşitli iyonunlara da ihtiyaç vardır.^{150,182} Songsiripradubboon ve ark.'nın¹⁸³ florür içeren ürünlerin farklı kullanımlarını inceledikleri çalışmalarında, en etkili ve kabul gören flor uygulama yöntemi günde 2 kez topikal uygulama olarak bulunmuştur. Bu yüzden sunulan bu çalışmada, % 1,23 florür içerikli ve % 5 sodyumflorür (NAF) içerikli florür içeren iki ayrı remineralizasyon ajanı kullanılmıştır.

Lokal veya sistemik uygulamalarda kronik şekilde düşük dozda flora maruz kalındığında solunum, gastrointestinal ve genitoüriner sistem rahatsızlıklarının olduğu bildirilmiştir.¹⁸⁴ Toksik etkisinin olması kullanım alanlarını ve miktarını kısıtlamaktadır. Diş çürüğünden korunmada en etkili ajan hala florür olsada bu kısıtlılıklar doğrultusunda yeni remineralizasyon ajanları üzerine çalışmalar önem göstermektedir. Bu doğrultuda çoğunlukla dentin hassasiyeti üzerine pozitif etki ettiği gösterdiği bildirilen Potasyum Nitrat (KNO_3) içerikli yeni bir ajan olan UltraEZ tercih edilmiştir. Potasyum tuzları, tübül içerisine penetre olarak sinir fibrillerinin membran potansiyelini düşürüp, uyarılabilirliklerini azaltarak etki gösterdiği bildirilmiştir.²⁰ Bu mekanizması bilinse de mine yüzey yapısı, fiziksel özellikler ve mineral kompozisyonuna ne yönde etki ettiği araştırılmak üzere dahil edilmiştir.

Diş hekimliğinde son yıllarda florürün yanında CPP-ACP'ın içeren remineralizasyon ajanları dikkat çekmeye başlamıştır. Reynolds ve ark.¹²⁰ yaptıkları in-vitro çalışmada, başlangıç mine lezyonlarına 10 günlük CPP-ACP uygulaması ile %72,3 remineralizasyon

sağlandığı sonucu bildirilmiştir. Kargül ve ark. nın¹⁸⁵ yaptığı ve çalışmamıza benzer ürünlerin kullanılan CPP-ACP ve NaF etkinliğinin incelendiği çalışmada yüzey mikro sertliğini arttırmada aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış ve her iki ajanın da remineralizasyon sağladığı belirtmiştir. Poggio ve ark.¹⁸⁶ ve Srinivasan ve ark.⁹ yaptıkları çalışmalarında CPP-ACP içeren GC Tooth Mousse' u tercih etmişlerdir. Remineralizasyon konusunda gittikçe popülerleşen CPP-ACP' ın remineralizasyon etkisi göz önünde bulundurarak, biz de klinikte rutinde kullanılan remineralizasyon ajanlarının etkinliklerini değerlendirmek için CPP-ACP içeren GC Tooth Mousse' u da çalışmamızda tercih ettik.

Nanoindentasyon Bulguları Tartışması

Başlangıç mine lezyonlarının seviyesi ve remineralizasyon ajanlarının etkinliklerinin değerlendirilmesinde mine yüzeyinde mekanik özelliklerin incelenmesi önemli bir parametredir.^{187,188} Bu yönde yüzey sertliğinin belirlenebilmesi için farklı analiz yöntemleri mevcuttur. Bu testlerden bazıları; Vickers, Knoop, Brinell, Mohs, Barcol, Shore, Rockwell ve Nanoindentasyondur.¹⁸⁹ Nanoindentasyon tekniği, örnek üzerinde girinti yük-yer değiştirme eğrisinden örnek ile ilgili lokal mekanik özelliklerin belirlenmesine yardımcı olur. Sistem küçük bir girintiyle yük-yer değiştirmeyi sürekli olarak kaydeder. Nanoindentasyon test yöntemi, geleneksel test yöntemlerinden dört faktör açısından üstündür.¹⁹⁰ Bunlar, prob örnek üzerindeyken, gerilim/gerilme ilişkisinin hesaplanmasını sağlayan girinti ucunun yükü ve yer değiştirmesi sürekli olarak nicel verilerle izlenebilmektedir. Örnek hazırlama için küçük miktarlarda malzeme yeterlidir. Kullanılacak örnek için uygun girinti ucu seçimi, uygulanan yük ve zamanın optimizasyonu gibi deneysel parametrelerin kontrol edilmesine izin verir. Son olarak da tek bir yük-boşaltma test sürecinde çok çeşitli mekanik özelliklerin hesaplanmasını ve toplanmasını sağlar.¹⁹¹ Bu doğrultuda çalışmamızda analiz yaptığımız üç zamanda her örnekten nanoindentasyon ile mekanik özellikleri test ettik. Bunlar elastisite modülü, nanosertlik ve yüzey pürüzlülüğü analizleridir. Bu Nanoindentasyon testleri için Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Teknoloji ve Ar-Ge Uygulama Merkezi'ndeki Hysitron TI 950 TriboIndenter (Hysitron, ABD) cihazını kullandık. Nanoindentasyon ölçümünde kullanılan yükün önemli olduğu, fazla yük uygulandığında örneklerin yüzeylerinde çatlamalar oluşabileceği ve bu durumun yanlış sonuçlar alınmasına sebep olabileceği de bildirilmiştir.¹⁹² Bu sebeple, çalışmamızda 5s / 2s/

5s olarak tanımlanan yük fonksiyonu ile her bir örneğin 5 farklı noktasından 6000 μ N'luk uygun kuvvet seçilip uygulanmıştır.

Diş çürüğü oluşum süresince demineralizasyon-remineralizasyon döngüsünde yüzeysel mine tabakasındaki mineral değişiklikleri doğrudan mikrosertlik, elastisite modülü ve yüzeyin pürüzlülüğü gibi mekanik özelliklere etki etmektedir. Kullandığımız remineralizasyon ajanlarından % 1,23 florür içerikli Dharma Ionite Flor Jel (Grup 1) ve % 5 sodyumflorür (NAF) içerikli ProShield Varnish (Grup 4) in uygulanması ile T1 zamanından T2 zamanına geçişte mine örneklerinin elastisite modülü ve nanosertlik değerlerini anlamlı düzeyde arttırdığı, pürüzlülük değerlerini ise anlamlı düzeyde azalttığı sonucunu elde ettik. Son zamanlarda Shahmoradi ve ark.¹⁹³ yaptıkları çalışmada da kalsiyum ve fosfat kompleksi içeren çeşitli flor verniklerinin (Clinpro, Duraphat, MI Vernik, Duraphat Single Dose flor vernik) mine örneklerinin nanomekanik özelliklerinin korunmasındaki etkinliği araştırmıştır. Buldukları sonuçta florür vernikle muamele görmüş grupta, nanoindentasyon testi ile elde edilen elastisite modülü ve sertlik değerleri sırasıyla %18 ve %23 azalırken, vernikle muamele edilmemiş örneklerde ise sağlıklı mineye kıyasla %43 ve %54 oranında azalmıştır. Amaechi ve ark.⁶ 2013 yılında yaptıkları invitro çalışmada NaF içerikli macun ile teobrominin remineralizasyon üzerine etkilerini SEM-EDX ve transvers mikroradyografi kullanılarak analiz etmişlerdir. Çalışmamıza paralel olarak bu çalışmada da yüzey mikrosertlik analizi sonuçlarına göre her iki grupta da başlangıç değerlerine göre yüzey sertliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Tüloğlu ve ark.¹⁹⁴ 80 süt dışında yapay çürük oluşturarak farklı remineralizasyon ajanları uyguladıkları ardından mikrosertlik ve lezyon derinliğini araştırmışlardır. Florür, CPP-ACP+florür, TCP+florür ve kontrol olmak üzere 4 grubu değerlendirmişlerdir. Mikrosertlik sonuçları incelendiğinde bütün grupların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak mikrosertlik değerlerinde daha az düşüş sağladığı en az düşüşü ise CPP-ACP+florür içeren grubun sağladığı bunu TCP+florür ve yalnız florür içeren grubun izlediği görülmüştür. Bu çalışmalarda elde edilen bulgular, flor vernik uygulamasının lezyonun ilerlemesini önemli ölçüde azalttığını ve mine demineralizasyon oranını inhibe ettiğini göstermiştir.

Alkhatib ve ark.¹⁹⁵ yaptıkları çalışmada CPP-ACP içerikli GC Tooth Mousse ile bazı beyazlatma ajanlarının diş minesi üzerindeki mekanik değişiklikleri araştırmışlardır. 16 tane çekilmiş 3.molar diş ile in vitro olarak yürüttükleri bu çalışmada CPP-ACP içerikli GC

Tooth Mousse' nin uygulama sonrası diş minesinin mekanik özelliklerini arttırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda T1 zamanından T2 zamanına geçerken elastisite modülün değişiminde anlamlı bir fark bulunmamışken, nanosertlik değişimlerinde ise anlamlı bir fark bulunmuştur. Diğer gruplara göre yüzey nanosertliğini en çok arttıran grup Grup 1 Dharma Ionite Flor Jel olarak bulunmuştur. Diş hekimliğinde remineralizasyon çalışmalarının değerlendirilmesinde uygulanan florür ajanın tipi, konsantrasyonu, uygulanma şekli ve mine yapısının geçirgenliği önemli rol oynamaktadır.¹⁹⁶ Piyasada sodyum florür (NaF), asidüle fosfat florür (APF), stannöz florür (SnF₂) ve amin florür (AmF) gibi farklı içerik ve pH değerlerine sahip florür içeren remineralizasyon ajanları mevcuttur. %1,23'lük APF jelleri klinik olarak sıkça tercih edilmektedir.^{197,198} APF jel, asidik yapısı nedeniyle materyalin yüzey bütünlüğünü etkilemesi ve yüksek bir viskoziteye sahip olması nedeniyle yüzeydeki porlar ve çatlaklara sıkışıp jel çözülene kadar daha uzun süre flor kaynağı olarak görev yapabilmektedir.¹⁹⁹ Crisp ve ark.²⁰⁰ yaptıkları çalışmada APF jellerin; düşük pH' a sahip olması nedeniyle, materyalin yüzeyinde pürüzlenme oluşturduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçla yüzeyden Na, Ca, Al, ve Sr gibi çeşitli iyon salınımları meydana gelir. Ortamda oluşan iyon matrisi sayesinde de florürün iyon taşınmasının ortamdan mine yapısına daha kolay gerçekleştiği ifade edilmiştir. APF içeriğindeki fosforik asit ve hidroflorik asit, mine yüzeyindeki etkinliğinden sonra ortam sıvıları ve sıvı içerisindeki iyonlar ile tamponlanmaktadır.¹⁹⁹ Çalışmamızda anlamlı bir fark bulunmasada elastisite modülünün değişim sıralaması Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 3 (ProShield Varnish) iken nanosertlik değişim sıralaması ise Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) şeklindedir. Tüm remineralizasyon ajanları kontrol grubuna göre elastite modülüsü ve nanosertlik değerlerini anlamlı düzeyde arttırmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlarda, benzer çalışmalarda olduğu gibi²⁰¹⁻²⁰³ kullandığımız remineralizasyon ajanlarının minenin mekanik mekanik özelliklerini güçlendirdiğini ifade edebiliriz.

T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki pürüzlülük değerleri ortalamaları değişim sıralamasında anlamlı bir değişiklik olmasa da sıralama şu şekildedir: Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) . Eyüboğlu ve ark.²⁰⁴ desensitize ajanlarının makaslama bağlanma

dayanımları üzerindeki etkilerini inceledikleri invitro çalışmada %3 lük KNO₃ içerikli UltraEz in genel olarak dentin tübüllerinde tübül tıkaçları oluşturmakla etki ettiği bildirilmiştir. Potasyum tuzlarının, tübül içerisine penetre olarak sinir fibrillerinin membran potansiyelini düşürüp, uyarılabilirliklerini azaltarak etki gösterdiğini bildiren çalışma²⁰ ile birlikte mine yüzeyinde mekanik özelliklerin değişimine etkisinin zayıf olduğu anlamlı bir fark olmasa da bizim de yaptığımız çalışma sonucunda da ortaya çıkmıştır.

SEM Bulguları Tartışması

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), başlangıç mine lezyonlarının yüzey yapılarının incelendiği birçok in-vitro çalışmada altın standart olarak kullanılmaktadır.^{5,114,184} SEM görüntülenmesinde yüksek vakumda altınla kaplanan yüzeyden en net görüntüler elde edilse de numunelerin altınla kaplandığında tekrar kullanılamaması bir dezavantajdır. SEM analizi ile örneklerin ultramikroskopik düzeyde incelenmesi, kullanılan cihazın teknik kapasitesi ve SEM operatörünün hassas çalışması ile yüksek çözünürlük ve düşük elektron voltajı ile de mümkündür. Bu yolla çalışıldığında net görüntüler elde edilmekle birlikte örneklerin bir sonraki deney aşaması için tekrar kullanımı sağlanır.²⁰⁵ Çalışmamızda demineralize yüzeyleri incelemek ve remineralizasyon ajanlarının yarattığı remineralizasyon etkisini morfolojik değişikliklerle gözlemlemek amacıyla SEM kullanılmıştır.

Numunelerin SEM ile değerlendirilmesi sonucunda; başlangıçta (T0) sağlam mine yüzeyinin bütünlüğünün bozulmamış olduğu, mine prizmalarının ise “anahtar deliği” şeklinde dizilen bir yapı gösterdiği görülmüştür. Örneklerde pH siklusu ile yapay başlangıç çürükleri oluşturulduktan sonra (T1) alınan SEM görüntülerinde ise yapısal bir bozulma olduğu düz yüzeylerin yerini pürüzlü yüzeylere bıraktığı ve mine yüzeyinde heterojen düzensizliklerin ortaya çıktığı izlenmiştir. Demineralizasyondan sonra farklı büyüklüklerde çukurcuklar izlenmiştir. Başlangıç çürüğü lezyonlarının remineralizasyon ajanları uygulamaları sonrası (T2) SEM görüntülemesinde ise başlangıç (T0) zamanına yakın yüzey görüntüleri izlense de ,bazı mine yüzeylerinde homojen yapıda olmayan globüller şekiller bazı mikroporların yüzeylerinde boşlukların olduğu da görüldü. Bölgesel düz yüzeylerin oluştuğu remineralize alanlar görüntülerde izlendi.

Poggio ve ark.²⁰⁶ 2013 yılında yaptıkları invitro dentin ve mine üzerinde çalışmamıza benzer olarak CPP-ACP nin remineralizasyon etkinliğini SEM analizi ile

değerlendirmişlerdir. 80 adet çekilmiş kesici insan dişi ile yapılmış çalışma 4 grup üzerinden alkollü ve alkolsüz içeceklerde bekletilmiştir. CPP-ACP ile tedavi edilen gruptaki örneklerde bozuların mine yüzeyi görüntülerinin başlangıç zamanına benzer yüzey görüntüleri verdiği izlenmiştir. Asitli alkolsüz içeceğe maruz kalan grupta, yüzeyden mineral kaybına neden olan mine pürüzlülüğünde dikkate değer bir artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Tüm örneklerde, dentin morfolojik yapısının literatürle uyumlu olarak, 3 ila 5 mm arasında değişen tipik bir prizmatik yapıda olduğu ve prizmaların iç alanının bal peteğini hatırlatan görüntü verdiği vurgulanmıştır.^{54,207} Alkolsüz içeceğe maruz bırakıldıktan sonra CPP-ACP ile tedavi edilen mine yüzeyleri ile ilgili olarak interprizmatik boşlukların büyük ölçüde yeniden dolduğu ve demineralizasyon ile oluşmuş çukurların derinliklerinde de azalma meydana geldiği bildirilmiştir. CPP-ACP uygulamasının yüzeyde bütünlüğü sağlam, homojen ve kompakt bir alanlar oluşturabildiği ifade edilmiştir. Poggio ve ark.²⁰⁶ yaptıkları demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmasında çalışmamızla paralel olarak benzer SEM görüntüleri bulunduğu değerlendirilmiştir.

EDS Bulguları Tartışması

Diş hekimliği alanında yapılan çalışmalarda diş sert dokularındaki mineral kompozisyonlarını incelemek amacıyla enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi (EDS, EDX veya XEDS) analizleri yapılmaktadır. EDS örneklerin mineral miktar ve dağılımı tespiti için SEM ile birlikte kullanılan bir tekniktir.²⁰⁸ Başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonlarının incelendiği çalışmalarda sıklıkla SEM-EDS yöntemi kullanılmaktadır.^{59,209,210} Bizde çalışmamızda uygulanan tedavi ajanlarının mine örneklerinin mineral düzeyinde oluşturduğu değişiklikleri incelemek için mikroanalitik bir teknik olan Enerji Dağılımlı X- Işını Spektroskopisi (EDS) kullandık.

X ışını spektroskopisi analizi ile diş sert dokularının kristal yapısı içerisinde bulunan Ca, P, O, F ve H gibi temel elementlerin dışında Al, Na, Mg, Si ve C gibi eser miktardaki elementlerde görülmektedir. Eser miktarda belirlenen bu elementler tespit edilebilse de HAP yapının temel bileşeni olan Ca ve P elementlerinin seviyeleri ve Ca/P oranı dişlerin mineralizasyon derecesinin yorumlanmasında kullanılan en önemli parametrelerdir. Ca, P miktarındaki ve Ca/P oranındaki azalma mekanik özelliklerde, yapının kristalleşmesinde, sertliğindeki azalmayı değerlendirmemize yardımcı olmaktadır. Özellikle remineralizasyon

ajanı uygulaması sonrasında Ca, P ve Ca/P oranındaki değişikliklerin analizi remineralizasyon ajanlarının etkinliğini değerlendirmemize yardımcı olmaktadır.^{141,211,212}

Sürmelioglu ve ark.²¹² yaptıkları in vitro çalışmada hidrojen peroksit, titanyumdioksit ve kitoasan içerikli beyazlatma ajanlarının etkinliğini ve bu ajanların mine üzerinde gösterdiği yapısal değişiklik etkilerini bizimde çalışmamıza benzer olarak SEM-EDS ile incelemişlerdir. Çalışmada çözünen Ca ve/veya P elementinin hidroksiapatit kristallerinden kaynaklı olduğu ve HP ağartma işlemleri ile mine yapısındaki bu elementlerin oranında azalma olduğu ifade edilmiştir.

Vitiello ve ark.²¹¹ 2022 yılında yaptıkları in vitro demineralizasyon remineralizasyon çalışmasında bizimle aynı demineralizasyon yöntemini kullanmış ve sonuçlar için bizim gibi Ca/P oranına EDS ile bakmışlardır. Buldukları değerlerde bizimle benzer olarak demineralize olmamış mine yüzeyinde Ca/P oranı 1,6-1,7 civarında olduğu dikkat çekmiştir. Bir başka çalışmada da hidroksiapatit kristalinin stokiyometrik formunun $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ve Ca/P oranı 1,67 olduğu bildirilmiştir.²¹³ Demineralizasyon veya ağartma işlemleri sonrası mine yüzeyinden Ca ve P salınımı olduğu ve böylece yapıdaki Ca ve P elementlerin azaldığı ifade edilmiştir.²¹⁴⁻²¹⁶ Vitiello ve ark.²¹¹ bu sonuçları demineralizasyon için oluşturulan asit tamponlarda laktik asit gibi malzemelerin kullanılmasına, Sürmelioglu ve ark.²¹² ise beyazlatma ajanlarının yapısındaki hidrojenperoksit, titanyumdioksit gibi asidik içeriğe bağlamışlardır. Çalışmamızda T1 zamanından T2 zamanına geçerken gruplardaki Ca/P değerleri ortalamaları değişim sıralaması ise şu şekildedir: Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) > Grup 2 (GC MI Paste Plus) > Grup 4 (UltraEZ) > Grup 3 (ProShield Varnish). Ca/P oranının en fazla arttığı grup Grup 1 (Dharma Ionite Flor Jel) olmuştur. Bizde bu anlamlı farkın % 1,23 lük APF jel olan Dharma Ionite Flor Jel'in asidik içeriğinden dolayı kaynaklandığını düşünmekteyiz. APF jel, asidik yapısı nedeniyle materyalin yüzey bütünlüğünü kolay bir şekilde etkilemektedir ve yüksek bir viskoziteye sahip özelliğinden dolayı yüzeydeki porlar ve çatlaklara sıkışıp jel çözülene kadar daha uzun süre flor kaynağı olarak görev yapabildiği bildirilmiştir.¹⁹⁹ Li ve ark.²¹⁷ tarafından yürütülmüş bir başka çalışmada CPP-ACP nin plasebo grubuna göre başlangıç mine lezyonlarını remineralize ettiği izlenmiştir. Ancak bizim sonuçlarımızda ikinci sırada gelmesinin aksine Li ve ark. CPP-ACP nin Ca/P oranı değiştirmesindeki etkisini florür ile kıyaslandıklarında anlamlı

bulmamışlardır. Bu sonucun hazırlanan deney ortamındaki malzemelerin çeşidi,uygulama süresi ve uygulama yöntemlerinin farklılıklarından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sonuçlar remineralizasyon ajanlarının mine yüzeyindeki elementsel değişiklik etkinliğine bakarak başlangıç mine lezyonlarında yüzeyel bölgelerde demineralizasyon öncesi yapıdaki Ca ve P iyonlarının geri alımının gerçekleştiğini desteklemektedir.^{211,218–220}



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Asit tamponlarla oluşturduğumuz demineralizasyon modelimizde hazırlanan demineralizasyon solüsyonunun minenin mekanik özelliklerini zayıflattığını ve elementsel olarak Ca ve P kaybı yaşandığı bulunmuştur.
2. Çalışmamızda kullanılan tüm remineralizasyon ajanları nanoseertliği arttırmıştır ve nanaosertliği en yüksek düzeyde Dharma Ionite Flor Jel değiştirmiştir. Bunu içeriğindeki florürün asidüle fosfat florür APF olmasına bağlamaktayız.
3. pH sikülüsü ile birlikte uyguladığımız remineralizasyon ajanlarının örneklerin elastisite modülü değişiminde anlamlı bir farklılık yaratmadığı bulunmuştur. En yüksek düzeyde elastisite modülünü değiştiren remineralizasyon ajanı ise GC MI Paste Plus bulunmuştur. Tüm remineralizasyon ajanları ise anlamlı bir fark olmasa da elastisite modülü ortalamasını arttırmıştır. Bunu kullanılan remineralizasyon ajanlarının etkin olduğuna bağlamaktayız.
4. pH sikülüsü ile birlikte uyguladığımız remineralizasyon ajanlarının örneklerin yüzey pürüzlülüğünü değiştirme sırasında en az etkinliği olan ürün UltraEz olarak bulunmuştur. Bunu UltraEz in mine yüzeyindeki kristalize yapıya daha az penetre olmasına bağlamaktayız.
6. Çalışmamızda kullanılan tüm remineralizasyon ajanları Ca/P oranını arttırmışlardır. En yüksek değişimi sağlayan ürün ise Dharma Ionite Flor Jel olarak bulunmuştur. pH sikülüsü ile birlikte uyguladığımız remineralizasyon ajanlarının mine yüzeyindeki Ca/P oranını değiştirmede ProShield Varnish' in ise diğer gruplara oranla daha az etkin olduğu da bulunmuştur. Bunu içerdiği sodyum florürürün NaF, asideüle fosfat florür APF ve kazeinfosfopeptid amorf kalsiyum fosfat içerikli diğer ajanlara kıyasla zayıf etkinlikte olmasına bağlamaktayız.
7. Tüm gruplarda demineralizasyon solüsyonu ile yapay başlangıç çürükleri oluşturulduktan sonra (T1) alınan SEM görüntülerinde yapısal bir bozulma olduğu düz yüzeylerin yerini pürüzlü yüzeylere bıraktığı ve mine yüzeyinde heterojen düzensizliklerin ortaya çıktığı izlenmiştir. Remineralizasyon ajanlarının uygulanması ile birlikte alınan T2 zamanındaki görüntülerin T0 zamanına benzer görüntüler verdiği, ancak yine de bazı mine yüzeylerinde homojen yapıda olmayan globüller şekiller ve bazı mikroporların yüzeylerinde boşlukların kaldığı da

görülmüştür. Bölgesel düz yüzeylerin oluştuğu remineralize alanlar çoğunluklu olarak görüntülerde izlenmiştir.

Geriye dönüdürebilme potansiyeli mevcut bir hastalık olan başlangıç mine çürüğü için çok fazla remineralizasyon ajanı mevcuttur. Kullanılan Dharma Ionite Flor Jel, GC MI Paste Plus, Proshield Varnish ve UltraEz çalışmamıza farklı içerikli olmalarından ve kliniklerde remineralizasyon amacıyla sıklıkla kullanılmaları yönüyle dahil edilmiştir. Nanoindentasyon ve SEM-EDS analizleri mine mekanik yapısı, element analizi ve yüzey görüntüleri için bilgi vermektedir. Bu veriler araştırmacıya çürük ve/veya sağlam mine arasında karşılaştırma yapmada nicel veriler ve istenilen büyütmede görüntüler sağlamaktadır. Literatürde pekçok invitro demineralizasyon-remineralizasyon çalışması mevcuttur. Çalışmamız bu dört ajanı karşılaştırılmalı olarak Nanoindentasyon ve SEM-EDS analizleri ile incelemesi yönüyle ilktir. Her ne kadar ph siklüsü ile ağız ortamı taklit edilmeye çalışıldıysa da in vivo ağız ortamı dinamikleri farklılık gösterebilmektedir. Bu doğrultuda remineralizasyon ajanları üzerine daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. **Ten Cate JM, Duijsters PP.** Alternating Demineralization and Remineralization of Artificial Enamel Lesions. *Caries Res.* **1982**; 16(3): 201–10.
2. **Selwitz RH, Ismail A.** Dental Caries. *Lancet.* **2007**; 369(9555): 51–9.
3. **Preston AJ, Edgar WM.** Developments in Dental Plaque pH Modelling. *J. Dent.* **2005**; 33(3): 209–22.
4. **Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA.** Dental Caries. *Nat Rev Dis Primers.* **2017**; 3(2): 170–2.
5. **Manchery N, John J, Nagappan N, Subbiah GK, Premnath P.** Remineralization Potential of Dentifrice Containing Nanohydroxyapatite on Artificial Carious Lesions of Enamel: A Comparative in Vitro Study. *J Dent Res.* **2019**; 16(5): 310–7.
6. **Amaechi BT, Van Loveren C.** Fluorides and Non-Fluoride Remineralization Systems. *Monogr. Oral Sci.* **2013**; 23: 15–26.
7. **Daloğlu M, Güzel K.** Remineralizasyon Ajanları. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci.* **2018**; 24(3): 230–8.
8. **Pessan JP, Toumba KJ, Buzalaf MA.** Topical Use of Fluorides for Caries Control. *Monogr. Oral Sci.* **2011**; 22: 115–32.
9. **Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC.** Comparison of the Remineralization Potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 Ppm Fluoride on Eroded Human Enamel: An In Situ Study. *Arch. Oral Biol.* **2010**; 55(7): 541–4.
10. **Emamieh S, Khaterizadeh Y, Goudarzi H, Ghasemi A, Baghban AA.** The Effect of Two Types Chewing Gum Containing Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate and Xylitol on Salivary Streptococcus Mutans. *J Conserv Dent.* **2015**; 18(3): 192–5.
11. **Bullappa D, Puranik MP, Uma S.** Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate: A Review. *Int. J. Dent. Health Sci.* **2015**; 2(4): 116–25.
12. **Wu G, Liu X, Hou Y.** Analysis of the Effect of CPP-ACP Tooth Mousse on Enamel Remineralization by Circularly Polarized Images. *Angle Orthod.* **2010**; 80(5): 933–8.
13. **Mendes CA.** Remineralización Del Esmalte Con Casein Fosfato. *UNLP.* **2018**; 7(1): 12–5.
14. **Mäkinen K.** Biochemical Principles of the Use of Xylitol in Medicine and Nutrition with Special Consideration of Dental Aspects. *Springer. Sci. Rev.* **2013**; 44(11): 1514–27.
15. **Murthykumar K.** The Impact of Milk with Xylitol on Dental Caries-A Review. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* **2013**; 32: 43–4 .
16. **Ercan Baglar, Colak A.** Diş Hekimliğinde Topikal Florür Uygulama Metotları. *Cumhur. Dent. J.* **2008**; 43: 34–7.
17. **Brambilla E.** Fluoride: Is It Capable of Fighting Old and New Dental Diseases. *Caries Res.* **2001**; 35(1): 6–9.
18. **Mellberg JR, Chomicki WG.** Fluoride Uptake by Artificial Caries Lesions from Fluoride Dentifrices in Vivo. *J Dent Res.* **1983**; 62(5): 540–2.
19. **Porcelli HB, Maeda FA, Silva BR, Miranda WG, Jr Cardoso PE.** Remineralizing Agents: Effects on Acid-Softened Enamel. *Gen. Dent.* **2015**; 63(4): 73–6.
20. **Markowitz K, Bilotto G, Kim S.** Decreasing Intradental Nerve Activity in the Cat with Potassium and Divalent Cations. *Arch. Oral Biol.* **1991**; 36(1): 1–7.
21. **Yañez MJ, Barbosa SE.** Changes in Particle Area Measurements due to SEM Accelerating Voltage and Magnification. *Microsc. Res. Tech.* **2003**; 61(5): 463–8.
22. **Ergün G, Yenisey M.** Fiberle Güçlendirilmiş Kompozit (FGK) Sabit Protezlerin Taramalı Elektron

- Mikroskop (SEM) Ile Değerlendirilmesi ve İçeriklerinin Element Analizlerinin (EDS) Yapılması. *Ondokuz Mayıs Üni Diş Hek Fak Dergisi*. **2006**; 7(2): 73–81.
23. **Asaka Y, Miyazaki M, Aboshi H, Yoshida T, Takamizawa T, et al.** EDX Fluorescence Analysis and SEM Observations of Resin Composites. *J. Oral Sci.* **2004**; 46(3): 143–8.
 24. **Arnold WH, Cerman M, Neuhaus K, Gaengler P.** Volumetric Assessment and Quantitative Element Analysis of the Effect of Fluoridated Milk on Enamel Demineralization. *Arch. Oral Biol.* **2003**; 48(6): 467–73.
 25. **Kaczmarek E, Surdacka A, Matthews-Brzozowska T, Miskowiak B.** Digital Image Analysis and Visualization of Early Caries Changes in Human Teeth. *Materials*. **2005**; 23(2): 551.
 26. **Ahmed S, Ali W.** Green Nanomaterials: Processing, Properties, and Applications Nature. *Arch. Oral Biol.* **2020**; 17: 23-8.
 27. **Yılmaz H, Bilgiç Zortuk F, Özyılmaz AT.** Modifiye Edilmiş Ni,Ti Ark Tellerinin Yüzey Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *IDR*. **2021**; 11(1): 167-175.
 28. **De Menezes Oliveira MAH, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FC, et al.** Microstructure and Mineral Composition of Dental Enamel of Permanent and Deciduous Teeth. *Microsc. Res. Tech.* **2010**; 73(5): 572–7.
 29. **Newbrun E, Pigman W.** The Hardness of Enamel and Dentine. *Aust Dent J.* **1960**; 5(4): 210-7.
 30. **Gwinnett AJ.** Structure and Composition of Enamel. *Oper. Dent.* **1992**; 5: 10–7.
 31. **Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg J. R.** Dental Caries Is a Preventable Infectious Disease. *Aust Dent J.* **2000**; 45(4): 235–45.
 32. **Bostanci N, Belibasakis GN.** Pathogenesis of Periodontal Diseases: Biological Concepts for Clinicians. *Springer. Sci. Rev.* **2017**; 5: 43-8.
 33. **Goldberg M.** Understanding Dental Caries: From Pathogenesis to Prevention and Therapy. *Springer. Sci. Rev.* **2016**; 6: 34-6.
 34. **Xuedong Z.** Dental Caries: Principles and Management. *Springer. Sci. Rev.* **2015**; 11: 15-7.
 35. **Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C.** Biological Factors in Dental Caries: Role of Saliva and Dental Plaque in the Dynamic Process of Demineralization and Remineralization. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2003**; 28(1): 47–52.
 36. **Lenander-Lumikari M, Loimaranta V.** Saliva and Dental Caries. *Adv. Dent. Res.* **2000**; 14(1): 40–7.
 37. **Guzmán-Armstrong S, Fontana M, Nascimento M, Zandona A.** Caries Management, An Issue of Dental Clinics of North America. *J. Res. Health Sci.* **2019**; 27: 45-7.
 38. **Bowen WH.** The Stephan Curve Revisited. *Odontology*. **2013**; 101(1): 2–8.
 39. **Pitts N.** Detection, Assessment, Diagnosis and Monitoring of Caries. *S. Karger AG*. **2009**; 4(2): 5-7.
 40. **Clark TJ.** The Efficacy of ProSeal™, SeLECT Defense™, OrthoCoat™, and Biscover LV™ Resin Sealants on the Prevention of Enamel Demineralization and White Spot Lesion Formation. *S. Karger AG*. **2010**; 4(3): 4-6.
 41. **Roopa KB, Pathak S, Poornima P, Neena IE.** White Spot Lesions: A Literature Review. *J Pediatr. Dent.* **2015**; 3(1): 1–7.
 42. **Kudiyirickal MG.** Ivančáková, R. Early Enamel Lesion: Histo-Morphology and Prevention. *Acta Medica*. **2008**; 3(2): 151-6.
 43. **Kirkham J, Robinson C, Strafford SM, Shore RC, Bonass WA, et al.** The Chemical Composition of Tooth Enamel in Junctional Epidermolysis Bullosa. *Arch. Oral Biol.* **2000**; 3(3): 377-86.
 44. **Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, et al.** The Chemistry of Enamel Caries. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **2000**; 11(4): 481–95.
 45. **Llena C, Leyda AM, Forner L.** CPP-ACP and CPP-ACFP versus Fluoride Varnish in Remineralisation of Early Caries Lesions. A Prospective Study. *Eur. J. Paediatr. Dent.* **2015**; 16(3):

181–6.

46. **Laheij A, Van Strijp AJ, Van Loveren C.** In Situ Remineralisation of Enamel and Dentin after the Use of an Amine Fluoride Mouthrinse in Addition to Twice Daily Brushings with Amine Fluoride Toothpaste. *Caries Res.* **2010**; 5: 260–6.
47. **Ingram GS, Fejerskov OA.** Scanning Electron Microscope Study of Artificial Caries Lesion Formation. *Caries Res.* **1986**; 54(7): 32-9.
48. **Tyagi SP, Garg P, Sinha DJ, Singh UP.** An Update on Remineralizing Agents. *J. Interdiscip. Dent.* **2013**; 3(3): 151.
49. **Ramashetty Prabhakar A, Arali V.** Comparison of the Remineralizing Effects of Sodium Fluoride and Bioactive Glass Using Bioerodible Gel Systems. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects.* **2009**; 3(4): 117–21.
50. **Marsh PD.** Dental Plaque as a Biofilm and a Microbial Community - Implications for Health and Disease. *BMC Oral Health.* **2006**; 6(1): 14.
51. **García-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: 25–34.
52. **Staley RN.** Effect of Fluoride Varnish on Demineralization Around Orthodontic Brackets. *Semin Orthod.* **2008**; 5: 194–9.
53. **Drummond BK, Kilpatrick N.** Planning and Care for Children and Adolescents with Dental Enamel Defects: Etiology, Research and Contemporary Management. *Springer Sci. Rev.* **2014**; 4: 56-8.
54. **Lippert F, Parker DM, Jandt KD.** In Vitro Demineralization/remineralization Cycles at Human Tooth Enamel Surfaces Investigated by AFM and Nanoindentation. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**; 280(2): 442–8.
55. **Bishara SE, Ostby AW.** White Spot Lesions: Formation, Prevention, and Treatment. *Semin. Orthod.* **2008**; 14(3): 174–82.
56. **Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C.** Biological Factors in Dental Caries: Role of Remineralization and Fluoride in the Dynamic Process of Demineralization and Remineralization. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2004**; 28(3): 203–14.
57. **Lelli M, Putignano A, Marchetti M, Foltran I, Mangani F, et al.** Remineralization and Repair of Enamel Surface by Biomimetic Zn-Carbonate Hydroxyapatite Containing Toothpaste: A Comparative in Vivo Study. *Front. Physiol.* **2014**; 5: 333-6.
58. **Elkassas D, Arafa A.** Remineralizing Efficacy of Different Calcium-Phosphate and Fluoride Based Delivery Vehicles on Artificial Caries like Enamel Lesions. *J. Dent.* **2014**; 42(4): 466–74.
59. **Shaik ZA, Rambabu T, Sajjan G, Varma M, Satish K, et al.** Quantitative Analysis of Remineralization of Artificial Carious Lesions with Commercially Available Newer Remineralizing Agents Using SEM-EDX- In Vitro Study. *J. Clin. Diagn. Res.* **2017**; 11(4): 20–3.
60. **Karaca Z, Oba AA, Özalp N, Derkuş TÖ, Taştekin M.** Florür İçerikli Restoratif Materyallerin Florür Salınımı ve Florürle Yeniden Yüklenebilme özelliklerinin Değerlendirilmesi. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2004**; 2(6): 209–14.
61. **Nurrohman H, Carter L, Barnes N, Zehra S, Singh V, et al.** The Role of Process-Directing Agents on Enamel Lesion Remineralization: Fluoride Boosters. *Biomimetics.* **2022**; 7(2): 33-54.
62. **Riordan PJ.** Dental Fluorosis: Diagnosis, Epidemiology, Risk Factors and Prevention. *Health Department of Western Australia, Dental Services.* **1994**.
63. **Sezer B, Kargül B.** Çürük Yönetiminde Güncel Remineralizasyon Ajanları. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci.* **2020**; 26(3): 472–86.
64. **Roşin-Grget K.** The Cariostatic Mechanisms of Fluoride. *Acta Med Acad.* **2013**; 5(6): 179–88.
65. **Demiralp Ö, Sarp K.** Topikal Flor Uygulamaları İle Türkiye’de Koruyucu Diş Hekimliği. *City Health*

J. **2008**; 4: 12-3.

66. **Cury JA, Tenuta LMA.** How to Maintain a Cariostatic Fluoride Concentration in the Oral Environment. *Adv. Dent. Res.* **2008**; 20(1): 13–6.
67. **Ten Cate JM, Van Loveren C.** Fluoride Mechanisms. *Dent. Clin. North Am.* **1999**; 43(4): 713–42.
68. **Hellwig E, Lennon AM.** Systemic versus Topical Fluoride. *Caries Res.* **2004**; 38(3): 258–62.
69. **Zhi QH, Lo ECM, Kwok ACY.** An in Vitro Study of Silver and Fluoride Ions on Remineralization of Demineralized Enamel and Dentine. *Aust. Dent. J.* **2013**; 58(1): 50–6.
70. **Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EM, Samaranayake LP.** Antibacterial Effects of Silver Diamine Fluoride on Multi-Species Cariogenic Biofilm on Caries. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **2013**; 12(1): 4-8.
71. **Zhang K, Li F, Imazato S, Cheng L, Liu H, et al.** Dual Antibacterial Agents of Nano-Silver and 12-Methacryloyloxydodecylpyridinium Bromide in Dental Adhesive to Inhibit Caries. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* **2013**; 101(6): 929–38.
72. **Cheng L, Zhang K, Weir MD, Liu H, et al.** Effects of Antibacterial Primers with Quaternary Ammonium and Nano-Silver on Streptococcus Mutans Impregnated in Human Dentin Blocks. *Dent. Mater.* **2013**; 29(4): 462–72.
73. **Savaş S, Küçükylmaz E.** Diş Hekimliğinde Kullanılan Remineralizasyon Ajanları Ve Çürük Önleyici Ajanlar. *Ankara Univ. Diş Hek. Fak. Derg.* **2015**; 24(3): 113-25.
74. **Alves KMRP, Franco KS, Sassaki KT, Buzalaf MAR, Delbem ACB.** Effect of Iron on Enamel Demineralization and Remineralization in Vitro. *Arch. Oral Biol.* **2011**; 56(11): 1192-8.
75. **Pecharki GD, Cury JA, Paes Leme AF, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, et al.** Effect of Sucrose Containing Iron (II) on Dental Biofilm and Enamel Demineralization in Situ. *Caries Res.* **2005**; 39(2): 123–9.
76. **Rosalen PL, Pearson SK, Bowen WH.** Effects of Copper, Iron and Fluoride Co-Crystallized with Sugar on Caries Development and Acid Formation in Desalivated Rats. *Arch. Oral Biol.* **1996**; 41(11): 1003–10.
77. **Tuncer D, Onen A, Yazici AR.** Effect of Chewing Gums with Xylitol, Sorbitol and Xylitol-Sorbitol on the Remineralization and Hardness of Initial Enamel Lesions in Situ. *Dent. Res. J.* **2014**; 11(5): 537–43.
78. **Mäkinen KK, Saag M, Isotupa KP, Olak J, Nömmela R.** Similarity of the Effects of Erythritol and Xylitol on Some Risk Factors of Dental Caries. *Caries Res.* **2005**; 39(3): 207–15.
79. **Hemagaran G, Neelakantan P.** Remineralization of the Tooth Structure-the Future of Dentistry. *Int J PharmTech Res.* **2014**; 5(4): 17.
80. **Miake Y, Saeki Y, Takahashi M, Yanagisawa T.** Remineralization Effects of Xylitol on Demineralized Enamel. *J. Electron Microsc.* **2003**; 52(5): 471–6.
81. **Thaweboon S, Thaweboon B, Soo-Ampon S.** The Effect of Xylitol Chewing Gum on Mutans Streptococci in Saliva and Dental Plaque. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* **2004**; 35(4): 1024-7.
82. **Honkala E, Honkala S, Shyama M, Al-Mutawa A.** Field Trial on Caries Prevention with Xylitol Candies among Disabled School Students. *Caries Res.* **2006**; 40(6): 508–13.
83. **Sahariah P, Másson M.** Antimicrobial Chitosan and Chitosan Derivatives: A Review of the Structure–Activity Relationship Biomacromolecules. *Caries Res.* **2017**; 18(11): 3846–68.
84. **Costa EM, Silva S, Pina C, Tavaría FK, Pintado MM.** Evaluation and Insights into Chitosan Antimicrobial Activity against Anaerobic Oral Pathogens Anaerobe. *Arch. Oral Biol.* **2012**; 18(3): 305–9.
85. **Costa EM, Silva S, Tavaría FK, Pintado MM.** Study of the Effects of Chitosan upon Streptococcus Mutans Adherence and Biofilm Formation Anaerobe. *Arch. Oral Biol.* **2013**; 20: 27–31.

86. **Muzzarelli R, Tarsi R, Filippini O, Giovanetti E, Biagini G, et al.** Antimicrobial Properties of N-Carboxybutyl Chitosan. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**; 34(10): 2019–23.
87. **Hayashi Y, Ohara N, Ganno T, Yamaguchi K, Ishizaki T, et al.** Chewing Chitosan-Containing Gum Effectively Inhibits the Growth of Cariogenic Bacteria. *Arch. Oral Biol.* **2007**; 52(3): 290–4.
88. **Uysal T, Akkurt MD, Amasyali M, Ozcan S, Yagci A, et al.** Does a Chitosan-Containing Dentifrice Prevent Demineralization around Orthodontic Brackets. *Angle Orthod.* **2011**; 81(2): 319–25.
89. **Fujiwara M, Hayashi Y, Ohara N.** Inhibitory Effect of Water-Soluble Chitosan on Growth of Streptococcus Mutans. *New Microbiol.* **2004**; 27(1): 83–6.
90. **Huang Z, Qi Y, Zhang K, Gu L, Guo J, et al.** Use of Experimental-Resin-Based Materials Doped with Carboxymethyl Chitosan and Calcium Phosphate Microfillers to Induce Biomimetic Remineralization of Caries-Affected Dentin. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2019**; 89(1): 81–88.
91. **Zou L, Zhang L, Li J, Hao Y, Cheng L, et al.** Effect of Galla Chinensis Extract and Chemical Fractions on Demineralization of Bovine Enamel in Vitro. *J. Dent.* **2008**; 36(12): 999–1004.
92. **Xie Q, Li JY, Zuo YL, Zhou XD.** The effect of galla chinensis on the growth of cariogenic bacteria in vitro. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* **2005**; 23(1): 82–4.
93. **Cheng L, Li J, Hao Y, Zhou X.** Effect of Compounds of Galla Chinensis and Their Combined Effects with Fluoride on Remineralization of Initial Enamel Lesion in Vitro. *J. Dent.* **2008**; 36(5): 369–73.
94. **George D, Bhat SS, Antony B.** Comparative Evaluation of the Antimicrobial Efficacy of Aloe Vera Tooth Gel and Two Popular Commercial Toothpastes: An in Vitro Study. *Gen. Dent.* **2009**; 57(3): 238–41.
95. **Kargul B, Özcan M, Peker S, Nakamoto T, Simmons WB, et al.** Evaluation of Human Enamel Surfaces Treated with Theobromine: A Pilot Study. *Oral Health Prev. Dent.* **2012**; 10(3): 275–82.
96. **Shashikiran ND, Reddy VVS, Srikanth RK.** Chocolate Mouth Rinse: Effect on Plaque Accumulation and Mutans Streptococci Counts When Used by Children. *J Indian Soc Pedod Prev.* **2008**; 32(4): 67.
97. **Amaechi BT, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai PK, Ccahuana Vasquez RA, et al.** Remineralization of Artificial Enamel Lesions by Theobromine. *Caries Res.* **2013**; 5(2): 399–405.
98. **Nakamoto T, Falster AU, Simmons WB.** Theobromine: A Safe and Effective Alternative for Fluoride in Dentifrices. *J. Caffeine Res.* **2016**; 6(1): 1–9.
99. **Wu CD.** Grape Products and Oral Health. *J. Nutr.* **2009**; 139(9): 1818–23.
100. **He L, Deng D, Zhou X, Cheng L, Ten Cate JM, et al.** Novel Tea Polyphenol-Modified Calcium Phosphate Nanoparticle and Its Remineralization Potential. *Jour. of Biom. Mat. Res.* **2015**; 2: 1525–31.
101. **Cheng L, Li J, He L, Zhou X.** Natural Products and Caries Prevention. *Caries Res.* **2015**; 49(1): 38–45.
102. **Xie Q, Bedran-Russo AK, Wu CD.** In Vitro Remineralization Effects of Grape Seed Extract on Artificial Root Caries. *J. Dent.* **2008**; 36(11): 900–6.
103. **Panda A, Shah K, Budakoti V, Dere K, Virda M, et al.** Evaluation of Microcrack Formation during Root Canal Preparation Using Hand, Rotary Files and Self-Adjusting File in Primary Teeth: An in Vitro Study. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects.* **2021**; 24(3): 35–41.
104. **Benjamin S, Sharma R, Thomas SS, Nainan MT.** Grape Seed Extract as a Potential Remineralizing Agent: A Comparative in Vitro Study. *J. Contemp. Dent. Pract.* **2012**; 13(4): 425–30.
105. **Tang CF, Fang M, Liu RR, Dou Q, Chai ZG, et al.** The Role of Grape Seed Extract in the Remineralization of Demineralized Dentine: Micromorphological and Physical Analyses. *Arch. Oral Biol.* **2013**; 58(12): 1769–76.
106. **Rubel M, Prashhant G, Naveen K.** Effect of Grape Seed Extract on Remineralization of Artificial Caries: An in-Vitro Study. *Asian J Pharm Clin Res.* **2016**; 9(5): 174–6.
107. **Hassanein OE, El-Brollosy TA.** An Investigation about the Remineralization Potential of Bio-Active Glass on Artificially Carious Enamel and Dentin Using Raman Spectroscopy. *Egypt J Solids.* **2006**;

- 29(1): 69–80.
108. **Forsback AP, Areva S, Salonen JI.** Mineralization of Dentin Induced by Treatment with Bioactive Glass. *Acta Odontol. Scand.* **2004**; 62(1): 14–20.
 109. **Burwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC.** Calcium Sodium Phosphosilicate (NovaMin®): Remineralization Potential. *Adv. Dent. Res.* **2009**; 21(1): 35–9.
 110. **Wang Y, Li X, Chang J, Wu C, Deng Y.** Effect of Tricalcium Silicate (Ca₃SiO₅) Bioactive Material on Reducing Enamel Demineralization: An in Vitro pH-Cycling Study. *J. Dent.* **2012**; 2(1): 1119–26.
 111. **Shetty N, Kundabala M.** Biomaterials in Restorative Dentistry. *J. Interdiscip. Dent.* **2013**; 3(2): 64.
 112. **Dong Z, Chang J, Joiner A, Sun Y.** Tricalcium Silicate Induces Enamel Remineralization in Human Saliva. *J. Dent. Sci.* **2013**; 8(4): 440–3.
 113. **Yamagishi K, Onuma K, Suzuki T, Okada F, Tagami J, et al.** Synthetic Enamel for Rapid Tooth Repair. *Nature.* **2005**; 5(2): 819–25.
 114. **Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H.** Combined Effects of Nano-Hydroxyapatite and Galla Chinensis on Remineralisation of Initial Enamel Lesion in Vitro. *J. Dent.* **2010**; 38(10): 811–9.
 115. **Reynolds EC.** Anticariogenic Complexes of Amorphous Calcium Phosphate Stabilized by Casein Phosphopeptides: A Review. *Spec. Care Dentist.* **1998**; 18(1): 8–16.
 116. **Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, et al.** Increased Remineralization of Tooth Enamel by Milk Containing Added Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. *J. Dairy Res.* **2006**; 73(1): 74–8.
 117. **Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC.** Enamel Subsurface Lesion Remineralisation with Casein Phosphopeptide Stabilised Solutions of Calcium, Phosphate and Fluoride. *Caries Res.* **2008**; 42(2): 88–97.
 118. **Pukallus ML, Plonka KA, Holcombe TF, Barnett AG, Walsh LJ, et al.** Randomized Controlled Trial of a 10 Percent CPP-ACP Cream to Reduce Mutans Streptococci Colonization. *Pediatr. Dent.* **2013**; 35(7): 550–5.
 119. **Fernando JR, Butler CA, Adams GG, Mitchell HL, Dashper SG, et al.** The Prebiotic Effect of CPP-ACP Sugar-Free Chewing Gum. *J. Dent.* **2019**; 3(1): 103–25.
 120. **Reynolds EC.** Remineralization of Enamel Subsurface Lesions by Casein Phosphopeptide-Stabilized Calcium Phosphate Solutions. *J. Dent. Res.* **1997**; 76(9): 1587–95.
 121. **Cao Y, Mei ML, Xu J, Lo ECM, Li Q, et al.** Biomimetic Mineralisation of Phosphorylated Dentine by CPP-ACP. *J. Dent.* **2013**; 41(9): 818–25.
 122. **Tavasoli S, Haghgoo R.** Comparison of Various Concentrations of Tricalcium Phosphate Nanoparticles on Mechanical Properties and Remineralization of Fissure Sealants. *J. Dent. Tehran Uni. Med. Sci.* **2013**; 4(2): 32–7.
 123. **Chokshi K, Chokshi A, Konde S, Shetty SR, Chandra KN, et al.** An in Vitro Comparative Evaluation of Three Remineralizing Agents Using Confocal Microscopy. *J. Clin. Diagn. Res.* **2016**; 10(6): 39–42.
 124. **Brunton PA, Davies RPW, Smith A, Aggeli A, Brookes SJ, et al.** Treatment of Early Caries Lesions Using Biomimetic Self-Assembling Peptides. *Br. Dent. J.* **2013**; 215(4): 6–15.
 125. **Schmidlin P, Zobrist K, Attin T, Wegehaupt F.** In Vitro Re-Hardening of Artificial Enamel Caries Lesions Using Enamel Matrix Proteins or Self-Assembling Peptides. *J. Appl. Oral Sci.* **2016**; 24(1): 31–6.
 126. **Alkilzy M, Tarabaih A, Santamaria RM, Splieth CH.** Self-Assembling Peptide and Fluoride for Regenerating Enamel. *J. Dent. Res.* **2018**; 97(2): 148–54.
 127. **Charig A, Stranick M, Miller S, Sullivan RJ, Roberson A, et al.** Detection of Exogenous Calcium after Use of fluoride/DCPD Dentifrice. *J. Dent. Res.* **1997**; 76: 2744–5.
 128. **Kitasako Y, Tanaka M, Sadr A, Hamba H, Ikeda M, et al.** Effects of a Chewing Gum Containing Phosphoryl Oligosaccharides of Calcium (POs-Ca) and Fluoride on Remineralization and

- Crystallization of Enamel Subsurface Lesions in Situ. *J. Dent.* **2011**; 39(11): 771–9.
129. **Mita H, Kitasako Y, Takagaki T, Sadr A, Tagami J.** Development and Evaluation of a Low-Erosive Apple Juice Drink with Phosphoryl-Oligosaccharides of Calcium. *Dent. Mater. J.* **2013**; 32(2): 212–8.
 130. **Duke SA, Rees DA, Forward GC.** Increased Plaque Calcium and Phosphorus Concentrations after Using a Calcium Carbonate Toothpaste Containing Calcium Glycerophosphate and Sodium Monofluorophosphate. *Caries Res.* **1979**; 13(1): 57–9.
 131. **Danelon M, Pessan JP, Neto FNS, de Camargo ER, Delbem ACB, et al.** Effect of Toothpaste with Nano-Sized Trimetaphosphate on Dental Caries: In Situ Study. *J. Dent.* **2015**; 43(7): 806–13.
 132. **Manarelli MM, Delbem ACB, Lima TMT, Castilho FCN, Pessan JP, et al.** In Vitro Remineralizing Effect of Fluoride Varnishes Containing Sodium Trimetaphosphate. *Caries Res.* **2014**; 48(4): 299–305.
 133. **Lynch RJM.** Calcium Glycerophosphate and Caries: A Review of the Literature. *Int. Dent. J.* **2004**; 54(5): 310–4.
 134. **Zaze ACSF, Zaze ACS, Dias AP, Amaral JG, Miyasaki ML, et al.** In Situ Evaluation of Low-Fluoride Toothpastes Associated to Calcium Glycerophosphate on Enamel Remineralization. *J. Dent.* **2014**; 23(4): 1621–25.
 135. **Rezende KM, Zuim JP, Carvalho TS, Córrea MS, Bönecker M.** Can Babies Oral Wipes with Fluoride and/or Calcium Glycerophosphate Prevent Cariogenic Demineralization: An In Vitro Study. *Minerva Dental and Oral Science.* **2017**; 45(3): 243–5.
 136. **White DJ.** The Application of in Vitro Models to Research on Demineralization and Remineralization of the Teeth. *Adv. Dent. Res.* **1995**; 9(3): 175–93.
 137. **Skucha-Nowak M, Gibas M, Tanasiewicz M, Twardawa H, Szklarski T, et al.** Natural and Controlled Demineralization for Study Purposes in Minimally Invasive Dentistry. *Adv. Clin. Exp. Med.* **2015**; 24(5): 891–8.
 138. **Featherstone JD.** Modeling the Caries-Inhibitory Effects of Dental Materials. *Dent. Mater. J.* **1996**; 12(3): 194–7.
 139. **Kaczmarek E, Matthews-Brzozowska, Miskowiak B.** Digital Image Analysis in Dental Research Applied for Treatment of Fissures on Occlusal Surfaces of Premolars. *Ann Biomed Eng.* **2003**; 3(5): 931–6.
 140. **Hafner B.** Energy Dispersive Spectroscopy on the SEM: A Primer. *Char Fac Uni Minnesota.* **2006**; 43(5): 1–26.
 141. **Xu C, Reed R, Gorski JP, Wang Y.** The Distribution of Carbonate in Enamel and Its Correlation with Structure and Mechanical Properties. *J. Mater. Sci.* **2012**; 5(2): 8035–43.
 142. **Blanchard CR.** Atomic Force Microscopy. *Chem Educ.* **1996**; 1(5): 1–8.
 143. **Oliver WC, Pharr GM.** Measurement of Hardness and Elastic Modulus by Instrumented Indentation: Advances in Understanding and Refinements to Methodology. *J. Mater. Res.* **2004**; 19(1): 3–20.
 144. **Sabbagh J, Vreven J, Leloup G.** Dynamic and Static Moduli of Elasticity of Resin-Based Materials. *Dent. Mater. J.* **2002**; 18(1): 64–71.
 145. **Yu OY, Mei ML, Zhao IS, Li QL, Lo ECM, Chu CH.** Remineralisation of Enamel with Silver Diamine Fluoride and Sodium Fluoride. *Dent. Mater. J.* **2018**; 34(12): 344–52.
 146. **Gängler P, Kremniczky T, Arnold WH.** In Vitro Effect of Fluoride Oral Hygiene Tablets on Artificial Caries Lesion Formation and Remineralization in Human Enamel. *BMC Oral Health.* **2009**; 9(3): 25.
 147. **Ten Cate, JM Buijs, Damen JJ.** pH-Cycling of Enamel and Dentin Lesions in the Presence of Low Concentrations of Fluoride. *Eur. J. Oral Sci.* **1995**; 103(6): 362–7.
 148. **Featherstone JD.** The Science and Practice of Caries Prevention. *J. Am. Dent. Assoc.* **2000**; 131(7): 887–99.
 149. **Featherstone JD.** Dental Caries: A Dynamic Disease Process. *Aust. Dent. J.* **2008**; 53(3): 286–91.

150. **Featherstone JD.** Prevention and Reversal of Dental Caries: Role of Low Level Fluoride. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **1999**; 27(1): 31–40.
151. **Bailey DL, Adams GG, Tsao CE, Hyslop A, Escobar K, et al.** Regression of Post-Orthodontic Lesions by a Remineralizing Cream. *J. Dent. Res.* **2009**; 88(12): 1148–53.
152. **Ferreira JMS, Aragão AKR, Rosa ADB, Sampaio FC, Menezes VA.** Therapeutic Effect of Two Fluoride Varnishes on White Spot Lesions: A Randomized Clinical Trial. *Braz. Oral Res.* **2009**; 23(4): 446–51.
153. **Paris S, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H.** Surface Conditioning of Natural Enamel Caries Lesions in Deciduous Teeth in Preparation for Resin Infiltration. *J. Dent.* **2010**; 38(1): 65–71.
154. **Kumar VLN, Itthagarun A, King NM.** The Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on Remineralization of Artificial Caries-like Lesions: An in Vitro Study. *Aust. Dent. J.* **2008**; 53(1): 34–40.
155. **Trairatvorakul C, Kangvansurakit N, Pathomburi J.** In Vitro Comparison of Self versus Professionally Applied Remineralizing Materials. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2010**; 34(4): 323–8.
156. **Al-Mulla A, Karlsson L, Kharsa S, Kjellberg H, Birkhed D.** Combination of High-Fluoride Toothpaste and No Post-Brushing Water Rinsing on Enamel Demineralization Using an in-Situ Caries Model with Orthodontic Bands. *Acta Odontol. Scand.* **2010**; 68(6): 323–8.
157. **Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP.** Clinical Studies of Dental Erosion and Erosive Wear. *Caries Res.* **2011**; 45(1): 60–8.
158. **West NX, Davies M, Amaechi BT.** In Vitro and in Situ Erosion Models for Evaluating Tooth Substance Loss. *Caries Res.* **2011**; 45(1): 43–52.
159. **Buzalaf MAR, Hannas AR, Magalhães AC, Rios D, Honório HM, et al.** pH-Cycling Models for in Vitro Evaluation of the Efficacy of Fluoridated Dentifrices for Caries Control: Strengths and Limitations. *J. Appl. Oral Sci.* **2010**; 18(4): 316–34.
160. **Van Meerbeek B, De Munck J.** Adhesion to Enamel and Dentin: Current Status and Future Challenges. *Oper. Dent.* **2003**; 4(3): 554–9.
161. **Iijima Y, Takagi O, Ruben J, Arends J.** In Vitro Remineralization of in Vivo and in Vitro Formed Enamel Lesions. *Caries Res.* **1999**; 33(3): 206–13.
162. **Chedid SJ, Cury JA.** Effect of 0,02% NaF Solution on Enamel Demineralization and Fluoride Uptake by Deciduous Teeth in Vitro. *Braz. Oral Res.* **2004**; 18(1): 18–22.
163. **Ten Cate JM, Exterkate RAM, Buijs MJ.** The Relative Efficacy of Fluoride Toothpastes Assessed with pH Cycling. *Caries Res.* **2006**; 40(2): 136–41.
164. **Yang Y, Lv XP, Shi W, Li JY, Li DX, et al.** Promoted Remineralization of Initial Enamel Caries in Vitro. *J. Dent. Res.* **2014**; 93(5): 520–4.
165. **George L, Baby A, Dhanapal T, Charlie KM, Joseph A, et al.** Evaluation and Comparison of the Microhardness of Enamel after Bleaching with Fluoride Free and Fluoride Containing Carbamide Peroxide Bleaching Agents and Post Bleaching Anticay Application: An in Vitro Study. *Contemp. Clin. Dent.* **2015**; 4(34): 163–8.
166. **Vyavhare S, Sharma DS, Kulkarni VK.** Effect of Three Different Pastes on Remineralization of Initial Enamel Lesion: An in Vitro Study. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2015**; 39(2): 149–60.
167. **Poggio C, Lombardini M, Colombo M, Bianchi S.** Impact of Two Toothpastes on Repairing Enamel Erosion Produced by a Soft Drink: An AFM in Vitro Study. *J. Dent.* **2010**; 38(11): 868–74.
168. **Lo ECM, Zhi QH, Itthagarun A.** Comparing Two Quantitative Methods for Studying Remineralization of Artificial Caries. *J. Dent.* **2010**; 38(4): 352–9.
169. **Hamba H, Nakamura K, Nikaido T, Tagami J, Muramatsu T.** Remineralization of Enamel Subsurface Lesions Using Toothpaste Containing Tricalcium Phosphate and Fluoride: An in Vitro μ CT Analysis. *BMC Oral Health.* **2020**; 20(1): 292.

170. **Lynch RJM, Mony U, Ten Cate JM.** Effect of Lesion Characteristics and Mineralising Solution Type on Enamel Remineralisation in Vitro. *Caries Res.* **2007**; 41(4): 257–62.
171. **Hooper S, Seong J, Macdonald E, Claydon N, Hellin N, et al.** Randomised in Situ Trial, Measuring the Anti-Erosive Properties of a Stannous-Containing Sodium Fluoride Dentifrice Compared with a Sodium Fluoride/potassium Nitrate Dentifrice. *Int. Dent. Jour.* **2014**; 45(6): 35–42.
172. **Prabhakar AR, Manojkumar AJ, Basappa N.** In Vitro Remineralization of Enamel Subsurface Lesions and Assessment of Dentine Tubule Occlusion from NaF Dentifrices with and without Calcium. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.* **2013**; 31(1): 29–35.
173. **Ziskind D, Gleitman J, Rotstein I, Friedman M.** Evaluation of Cetylpyridinium Chloride for Infection Control in Storage Solution. *J. Oral Rehabil.* **2003**; 30(5): 477–81.
174. **Moura JS, Rodrigues LKA, Del Bel Cury AA, Lima EMCX, Garcia RMCR.** Influence of Storage Solution on Enamel Demineralization Submitted to pH Cycling. *J. Appl. Oral Sci.* **2004**; 12(3): 205–8.
175. **Amasi Patil.** Evaluation of Effect of Surface Treatment of Intaglio Surface on Retention of Complete Cast Crowns Cemented with Different Cements: An In Vitro Study. *J. Clin. Acad.* **2006**; 40(2): 136–41.
176. **Oliveira GMS, Ritter AV, Heymann HO, Swift E, Jr Donovan, et al.** Remineralization Effect of CPP-ACP and Fluoride for White Spot Lesions in Vitro. *J. Dent.* **2014**; 42(12): 1592–602.
177. **Gomez J, Pretty IA, Santarpia RP, Cantore B, Rege A, et al.** Quantitative Light-Induced Fluorescence to Measure Enamel Remineralization in Vitro. *Caries Res.* **2014**; 48(3): 223–7.
178. **Hemingway CA, Parker DM, Addy M, Barbour ME.** Erosion of Enamel by Non-Carbonated Soft Drinks with and without Toothbrushing Abrasion. *Br. Dent. J.* **2006**; 201(7): 447–50.
179. **Adebayo OA, Burrow MF, Tyas MJ.** Effects of Conditioners on Microshear Bond Strength to Enamel after Carbamide Peroxide Bleaching and/or Casein Phosphopeptide–Amorphous Calcium Phosphate (CPP–ACP) Treatment. *J. Dent.* **2007**; 35(11): 862–70.
180. **Yu OY, Zhao IS, Mei ML, Lo ECM, Chu CH.** A Review of the Common Models Used in Mechanistic Studies on Demineralization-Remineralization for Cariology Research. *J. Dent.* **2017**; 5(2): 34.
181. **Featherstone JD, Mellberg JR.** Relative Rates of Progress of Artificial Carious Lesions in Bovine, Ovine and Human Enamel. *Caries Res.* **1981**; 15(1): 109–14.
182. **Jacobson APM.** Low Fluoride Concentrations: Their Relevance to the Inhibition of Dental Caries. *PhD, University of Glasgow.* **1995**.
183. **Songsiripradubboon S, Hamba H, Trairatvorakul C, Tagami J.** Sodium Fluoride Mouthrinse Used Twice Daily Increased Incipient Caries Lesion Remineralization in an in Situ Model. *J. Dent.* **2014**; 42(3): 271–8.
184. **Huang SB, Gao SS, Yu HY.** Effect of Nano-Hydroxyapatite Concentration on Remineralization of Initial Enamel Lesion in Vitro. *Biomed. Mater.* **2009**; 4(3): 34–104.
185. **Kargul B, Altinok B, Welbury R.** The Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on Enamel Surface Rehardening. An in Vitro Study. *Eur. J. Paediatr. Dent.* **2012**; 13(2): 123–7.
186. **Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S.** Protective Effect on Enamel Demineralization of a CPP-ACP Paste: An AFM in Vitro Study. *J. Dent.* **2009**; 37(12): 949–54.
187. **Willems G, Celis JP, Lambrechts P, Braem M, Vanherle G.** Hardness and Young's Modulus Determined by Nanoindentation Technique of Filler Particles of Dental Restorative Materials Compared with Human Enamel. *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**; 44(7): 747–55.
188. **Mahoney E, Holt A, Swain M, Kilpatrick N.** The Hardness and Modulus of Elasticity of Primary Molar Teeth: an Ultra-Micro-Indentation Study. *J. Dent.* **2000**; 36(3): 589–94.
189. **Kenneth J, Anusavice D, Shen C, Ralph Rawls H.** Remineralization and Demineralization Essentials of Human Enamel. *Dent. Mater. Elsevier Sci.* **2012**; 53(3): 286–91.

190. **Shuman DJ, Costa ALM, Andrade MS.** Calculating the Elastic Modulus from Nanoindentation and Microindentation Reload Curves. *Mater. Charact.* **2007**; 45(32): 380–9.
191. **Fischer-Cripps AC.** Critical Review of Analysis and Interpretation of Nanoindentation Test Data. *Surf. Coat. Technol.* **2006**; 54(5): 4153–65.
192. **Uhl A, Michaelis C, Mills RW, Jandt KD.** The Influence of Storage and Indenter Load on the Knoop Hardness of Dental Composites Polymerized with LED and Halogen Technologies. *Dent. Mater.* **2004**; 20(1): 21–8.
193. **Shahmoradi M, Hunter N, Swain M.** Efficacy of Fluoride Varnishes with Added Calcium Phosphate in the Protection of the Structural and Mechanical Properties of Enamel. *Biomed Res. Int.* **2017**; 78(34): 905–22.
194. **Tuloglu N, Bayrak S, Tunc ES, Ozer F.** Effect of Fluoride Varnish with Added Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on the Acid Resistance of the Primary Enamel. *BMC Oral Health.* **2016**; 16(1): 103–7.
195. **Alkahtib A, Manton DJ, Burrow MF, Saber-Samandari S, Palamara JEA, et al.** Effects of Bleaching Agents and Tooth MousseTM on Human Enamel Hardness. *J. Investig. Clin. Dent.* **2013**; 4(2): 94–100.
196. **Karantakis P, Helvatjoglou-Antoniades M, Theodoridou-Pahini S, Papadogiannis Y.** Fluoride Release from Three Glass Ionomers, a Compomer, and a Composite Resin in Water, Artificial Saliva, and Lactic Acid. *Oper. Dent.* **2000**; 25(1): 20–5.
197. **Muidri K.** Child Neurology Society on Dental Health. *Pediatr. Clin. Pract. Guid. & Pol.* **2014**; 45(43): 1098–103.
198. **Van Rijkom H, Ruben J, Vieira A, Huysmans MC, Truin GJ, et al.** Erosion-Inhibiting Effect of Sodium Fluoride and Titanium Tetrafluoride Treatment in Vitro. *Eur. J. Oral Sci.* **2003**; 111(3): 253–7.
199. **El-Badrawy WAG, McComb D, Wood RE.** Effect of Home-Use Fluoride Gels on Glass Ionomer and Composite Restorations. *Dent. Mater.* **1993**; 9(1): 63–7.
200. **Crisp S, Lewis BG, Wilson AD.** Characterization of Glass Ionomer Cements: A Study of Erosion and Water Absorption in Both Neutral and Acidic Media. *J. Dent.* **1980**; 8(1): 68–74.
201. **Mayne RJ, Cochrane NJ, Cai F, Woods MG, Reynolds EC.** In Vitro Study of the Effect of Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Fluoride Phosphate on Iatrogenic Damage to Enamel during Orthodontic Adhesive Removal. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.* **2011**; 139(6): 543–51.
202. **Madrid-Troconis CC.** S. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Nanocomplex (CPP-ACP) in Dentistry: State of the Art. *Rev. Fac. Odontol. Univ. Antioq.* **2019**; 30(2): 248–63.
203. **Kim MY, Kwon HK, Choi CH, Kim BI.** Combined Effects of Nano-Hydroxyapatite and NaF on Remineralization of Early Caries Lesion. *Key Eng. Mater.* **2007**; 330(2): 1347–50.
204. **Eyüboğlu Yeşilyurt.** The Effect of Dentin Desensitizing Agents on the Shear Bond Strength of a One Step Self-Etch Adhesive to Dentin. *Cumhuriyet Dent J.* **2006**; 6(1): 314–29.
205. **Joshi M, Joshi N, Kathariya R, Angadi P, Raikar S.** Techniques to Evaluate Dental Erosion: A Systematic Review of Literature. *J. Clin. Diagn. Res.* **2016**; 10(10): 1–7.
206. **Poggio C, Lombardini M, Vigorelli P.** Analysis of Dentin/enamel Remineralization by a CPP-ACP Paste: AFM and SEM Study. *J. Pediatr. Dent.* **2013**; 32(5): 23–34.
207. **Silverstone LM.** The Acid Etch Technique. In Vitro Studies with Special Reference to the Enamel Surface and the Enamel-Resin Interface. *Proc. Int. Symp. Tech.* **1975**; 32(4): 13–39.
208. **Arends J, Ten Bosch JJ.** Demineralization and Remineralization Evaluation Techniques. *J. Dent. Res.* **1992**; 71: 924–8.
209. **Eggerath J.** EDX-Element Analysis of the In Vitro Effect of Fluoride Oral Hygiene Tablets on Artificial Caries Lesion Formation and Remineralization in Human Enamel. *Open Dent. J.* **2011**; 43(5): 84–9.

210. **Ozalp S, Tulunoglu O.** SEM-EDX Analysis of Brushing Abrasion of Chitosan and Propolis Based Toothpastes on Sound and Artificial Carious Primary Enamel Surfaces. *Int. J. Paediatr. Dent.* **2014**; 24(5): 349–57.
211. **Vitiello F, Tosco V, Monterubbianesi R, Orilisi G, Gatto ML, et al.** Remineralization Efficacy of Four Remineralizing Agents on Artificial Enamel Lesions: SEM-EDS Investigation. *Materials.* **2022**; 15(13): 32–7.
212. **Sürmelioglu D, Özçetin HK, Özdemir ZM, Yavuz SA, Aydın U.** Effectiveness and SEM-EDX Analysis Following Bleaching with an Experimental Bleaching Gel Containing Titanium Dioxide And/or Chitosan. *J. Odonto.* **2021**; 109(1): 114–23.
213. **Nakagiri A, Imamura K, Yanagisawa K, Onda A.** The Role of the Surface Acid–Base Nature of Nanocrystalline Hydroxyapatite Catalysts in the Hexanediol Conversion. *J. Nanomater.* **2021**; 32(3): 659.
214. **Cakir FY, Korkmaz Y, Firat E, Oztas SS, Gurgan S.** Chemical Analysis of Enamel and Dentin Following the Application of Three Different at-Home Bleaching Systems. *Oper. Dent.* **2011**; 36(5): 529–36.
215. **Llena C, Esteve I, Rodríguez-Lozano FJ, Forner L.** The Application of Casein Phosphopeptide and Amorphous Calcium Phosphate with Fluoride (CPP-ACPF) for Restoring Mineral Loss after Dental Bleaching with Hydrogen or Carbamide Peroxide: An in Vitro Study. *Ann. Anat. J.* **2019**; 43(4): 48–53.
216. **Soares DG, Ribeiro APD, Sacono NT, Loguercio AD, Hebling J, et al.** Mineral Loss and Morphological Changes in Dental Enamel Induced by a Carbamide Peroxide Bleaching Gel. *Braz. Dent. J.* **2013**; 24(5): 517–21.
217. **Li J, Xie X, Wang Y, Yin W, Antoun JS, et al.** Long-Term Remineralizing Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Early Caries Lesions in Vivo: A Systematic Review. *J. Dent.* **2014**; 32(4): 769–77.
218. **Imani MM, Safaei M, Afnaniesfandabad A, Moradpoor H, Sadeghi K, et al.** Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF for Prevention and Remineralization of White Spot Lesions in Orthodontic Patients: A Systematic Review of Randomized Controlled Clinical Trials. *Acta Inform. Med.* **2019**; 27(3): 199–204.
219. **Thimmaiah C, Shetty P, Shetty SB, Natarajan S, Thomas NA.** Comparative Analysis of the Remineralization Potential of CPP-ACP with Fluoride, Tri-Calcium Phosphate and Nano Hydroxyapatite Using SEM/EDX – An in Vitro Study. *J. Clin. Exp. Dent.* **2019**; 29(5): 432-5.
220. **Salinovic I, Schauperl Z, Marcus M, Miletic I.** The Effects of Three Remineralizing Agents on the Microhardness and Chemical Composition of Demineralized Enamel. *Materials.* **2021**; 14(20): 34-6.

EKLER

EK 1

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURUL KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
17/06/2021	08	35

KARAR 28- Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı Dr.Öğr.Üyesi Oya ŞEKER'in (Dt.Murat GÖKTÜRK'ün uzmanlık tezi) "Yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeylerinde farklı remineralizasyon aşanlarının etkinliğinin değerlendirilmesi. İn vitro çalışma" isimli çalışması görüşülmüş olup; çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve etik kurallara uygun bulunmuş olup; çalışmanın finans kaynağı olarak gösterilen, **Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nden (BAP) gerekli belgelerin Kurulumuza ulaştıktan sonra** Çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.

(İmza)
Prof.Dr.İbrahim Halil ÇERÇİ
(Başkan)

(Katılmadı)
(Başkan Yardımcısı)

(İmza)
Ayşe Güler OKYAY
(Başkan Yardımcısı)

(Katılmadı)
Prof.Dr.Alper ASLAN
(Üye)

(İmza)
Prof.Dr.Tümay ÖZGÜR
(Üye)

(İmza)
Doç.Dr.Cengiz ARLI
(Üye)

(İmza)
Dr.Öğr.Üyesi Fatma ÖZ
(Üye)

(İmza)
Dr.Öğr.Üyesi Fundagül B. ZORTUK
(Üye)

(İmza)
Doç.Dr.Oğuzhan ÖZCAN
(Üye)

(Katılmadı)
Doç.Dr.Üyesi Oğuz AKKUŞ
(Üye)

(Katılmadı)
Doç.Dr.Sibel SEVİNÇ
(Üye)

(İmza)
Enver Sedat BORAZAN
(Raportör)

A
Enver
Girişimsel
Etik

ÖZGEŞMİŞ

