



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**YAPAY OLARAK ÇÜRÜK OLUŞTURULAN SÜT DİŞLERİNDE  
BİYOAKTİF CAM İÇERİKLİ JELİN REMİNERALİZASYONA ETKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Bilge AKARCA**

**Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Pınar KINAY TARAN**

**MART 2022**

**Kurum:** Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi **Programın seviyesi:** Yüksek Lisans ( ) Uzmanlık (✓) Doktora ( ) **Anabilim Dalı:** Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı

**Tez Sahibi:** BİLGE AKARCA

**Tez Başlığı:** YAPAY OLARAK ÇÜRÜK OLUŞTURULAN SÜT DİŞLERİNDE BİYOAKTİF CAM İÇERİKLİ JELİN REMİNERALİZASYONA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**İmza**

**Jüri Bşk. (Danışman)** Dr. Öğr. Üyesi Pınar KINAY TARAN

**Üye**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği.....  
Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği A. D. ....  
Doç. Dr. Şerife ÖZDEMİR

**Üye**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği.....  
Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği A. D. ....  
Dr. Öğr. Üyesi Esra DÜZYOL

**Üye (Yedek)**

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Diş.....  
Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği A.....  
D.  
Dr. Öğr. Üyesi Müesser Ahu YILMAZ

**Üye (Yedek)**

Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği.....  
Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği A. D. ....  
Doç. Dr. Meltem BAKKAL

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği.....  
Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği A. D. ....

Bu tez, 26.04.2014 tarihli 28983 sayılı T.C SAĞLIK BAKANLIĞI, TIPTA VE DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK EĞİTİMİ YÖNETMELİĞİ ilgili maddeleri uyarınca yukarıda belirtilen jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve ...../...../.....tarih ve ...../..... sayılı kararla kabul edilmiştir.

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimin yapım aşamasında sabrını, zamanını ve bilgisini esirgmeden hep yanımda olan, desteğini her zaman hissettiğim değerli tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar KINAY TARAN'a

Uzmanlık eğitimim süresince bana verdikleri eğitim, bilgi, destek ve anlayışları nedeniyle Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Doç. Dr. Meltem BAKKAL ve değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Üyesi Şerife ÖZDEMİR, Doç. Dr. Mustafa Sarp KAYA'ya

Tez izleme komitemde bulunan İstanbul Medeniyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki Dr. Öğr. Üyesi Esra DÜZYOL ve Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'ndaki Dr. Öğr. Üyesi Müesser Ahu DURHAN'a,

Tez çalışmamda biyoaktif cam numunelerinin hazırlanması ve birçok konuda yardımcı olan Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Biyomühendislik bölümünde Prof. Dr. Sevil YÜCEL'e, doktora öğrencisi Ali Can ÖZARSLAN'a, araştırma görevlisi Ceren KEÇECİLER'e,

Tez çalışmamda örneklerin Mikro-CT ile taranması ve analizlerinin yapılmasında yardımcı olan İstanbul Üniversitesi 3 Boyutlu Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Laboratuvarı birimine,

Tez çalışmamda örneklerin SEM-EDS analizi ile yüzeylerin incelenmesi ve iyon analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı birimine,

Uzmanlık eğitimine beraber başladığım ve bu yolda dostluklarını ve sevgilerini her zaman paylaştığım, uzmanlık sürecimi güzelleştiren canım eşkıdemlerim Dt. Bircan GÜRSOY, Dt. Deniz BAŞARAN, Dt. Gözde Asena BAYRAKTAR, Dt. Hilal YÜKSEL ve Dt. İlay Sena ALTINOVA'ya,

Beni her durum ve şartta destekleyen, kızları olduğum için her zaman şanslı

hissettiğim annem GÜNGÖR AKARCA ve babam LÜTFİ AKARCA' ya,

Her zaman yanımda olan, sevgisini ve desteğini hissettiren, varlığıyla bana güç veren HAKAN UYGUN' e

En içten teşekkürlerimi sunarım.

**Bilge AKARCA**



## **BEYAN**

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

**Bilge AKARCA**



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
BEYAN.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLO LİSTESİ .....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	xiv
SUMMARY .....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Diş Çürüğü.....	5
2.1.1. Çürük oluşumundaki etiyolojik faktörler .....	6
2.1.2. Çürük etyolojisi ve mekanizması.....	11
2.2. Erken Çocukluk Çağı Çürüğü.....	14
2.3. Minenin Yapısı .....	16
2.4. Başlangıç Mine Çürüğü.....	19
2.4.1. Histolojisi.....	19
2.4.2. Klinik görünüm.....	22
2.5. Başlangıç Mine Çürük Remineralizasyonunu Sağlayan Ajanlar .....	24
2.5.1. Fluor.....	24
2.5.2. CPP-ACP (kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat).....	28
2.5.3. Trikalsiyum fosfat (TCP).....	29
2.5.4. Nanohidroksiapatit.....	29
2.5.5. Dikalsiyum fosfat dihidrat (CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O).....	31
2.5.6. Sodyum trimetafosfat (sTMP) .....	31
2.5.7. Kalsiyum karbonat .....	32
2.5.8. Kalsiyum fosforil oligosakkaritleri .....	33
2.5.9. Kendiliğinden birleşen peptitler .....	33
2.5.10. Kitosan .....	34
2.5.11. Teobromin.....	34
2.5.12. Biyoaktif cam.....	35
2.6. Yapay Çürük Modelleri.....	38
2.6.1. Asit tamponlarla hazırlanan <i>in vitro</i> demineralizasyon modeli .....	39
2.6.2. pH siklus modeli kullanılan <i>in vitro</i> demineralizasyon ve remineralizasyon modeli.....	39
2.7. Demineralizasyon ve Remineralizasyonun Tanı Yöntemleri ile Değerlendirilmesi .....	40

2.7.1.	Bilgisayarlı mikrotomografi (Mikro-CT).....	40
2.7.2.	Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılım spektroskopisi (EDS) .....	41
<b>3.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>42</b>
3.1.	Etik Kurul Onayı .....	42
3.2.	Proje Onayı.....	42
3.3.	Dişlerin Toplanması.....	42
3.4.	Mine Örneklerinin Hazırlanması .....	42
3.5.	Mine Örnek Gruplarının Oluşturulması .....	45
3.6.	Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması.....	46
3.7.	pH Siklustaki Demineralizasyon ve Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması .....	47
3.8.	Yapay Çürük Lezyonlarının Oluşturulması.....	47
3.9.	Deney ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması .....	47
3.9.1.	Florür vernik ajanının mine yüzeyine uygulanması .....	48
3.9.2.	Biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve mine yüzeyine uygulanması.....	49
3.10.	Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden pH Döngüsünün Uygulanması .....	55
3.11.	Bilgisayarlı Mikrotomografi (Mikro-CT) Analizi.....	56
3.12.	Taramalı Elektron Mikroskobu ve Enerji Dağılım Spektroskopi (SEM- EDS) Analizleri.....	58
3.13.	İstatistiksel Değerlendirme.....	58
<b>4.</b>	<b>BULGULAR.....</b>	<b>60</b>
4.1.	Mikro-CT Bulguları.....	60
4.1.1.	Sağlam mine ve remineralizasyon sonrası mine yüzeyinden elde edilen BMD değerlerinin grup içi karşılaştırılması .....	60
4.1.2.	Demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası elde edilen BMD değerlerinin grup içi karşılaştırılması .....	60
4.1.3.	Remineralizasyon sonrası elde edilen BMD değerlerinin gruplararası karşılaştırılması .....	61
4.2.	Mikro-CT ile Taraması Sonucu Elde Edilen Görüntüler .....	63
4.2.1.	Florür vernik uygulanan gruba ait görüntüler .....	63
4.2.2.	Mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan gruba ait görüntüler .....	63
4.2.3.	Nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan gruba ait görüntüler.....	64
4.3.	SEM-EDS Bulguları.....	64
4.3.1.	Florür vernik ajanına ait EDS analizi örneği.....	68
4.3.2.	Mikro boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait EDS analizi örneği.....	69
4.3.3.	Nano boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait EDS analizi örneği .....	69
4.4.	Taramalı Elektron Mikroskobuna Ait Bulgular .....	70
4.4.1.	Florür vernik ajanına ait görüntüler .....	70
4.4.2.	Mikro boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait görüntüler.....	71
4.4.3.	Nano boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait görüntüler .....	71
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>73</b>
5.1.	Gereç ve Yöntemin Tartışılması .....	73

5.2. Bulguların Tartışılması.....	84
6. SONUÇ .....	96
7. KAYNAKLAR.....	99
8. EKLER .....	118
9. ÖZGEÇMİŞLER .....	124



## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

<b>%</b>	: Yüzde
<b>&lt;</b>	: Küçüktür işareti
<b>&gt;</b>	: Büyüktür işareti
<b>2-D</b>	: İki boyutlu
<b>3-D</b>	: Üç boyutlu
<b>AAPD</b>	: American Academy of Pediatric Dentistry
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	: Alüminyum oksitli
<b>APF</b>	: Asitlendirilmiş fosfat florür
<b>BAG</b>	: Biyoaktif cam
<b>Bis-GMA</b>	: Bisfenol A diglisidil metakrilat
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O</b>	: Kalsiyum nitrat tetrahidrat
<b>Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub></b>	: Hidroksiapatit
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	: Kalsiyum karbonat
<b>CaF<sub>2</sub></b>	: Kalsiyum florid
<b>CaHPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O</b>	: DCPD
<b>Cl</b>	: Klor
<b>CPP-ACP</b>	: Kazein fosfopeptid amorfoz kalsiyum fosfat
<b>DCPD</b>	: Dikalsiyum fosfat dihidrat
<b>EÇÇ</b>	: Erken çocukluk çürüğü
<b>EDS</b>	: Enerji dağılım spektroskopisi
<b>EDS</b>	: Energy dispersive spectroscopy
<b>F<sup>-</sup></b>	: Fluor iyonu
<b>FHAP</b>	: Florohidroksiapatit/florapatit
<b>ftCP</b>	: İşlevselleştirilmiş β-trikalsiyum fosfat
<b>H<sup>+</sup></b>	: Hidrojen iyonu
<b>HAP</b>	: Hidroksiapatit
<b>HEMA</b>	: 2-hidroksietil metakrilat
<b>HF</b>	: Hidrojen florür
<b>ICCMS™</b>	: Uluslararası Çürük Sınıflandırma ve Yönetim
<b>LED</b>	: Light Emitting Diode
<b>MDP</b>	: 10-Metakriloiloksidodesil dihidrojen fosfat
<b>mg/L</b>	: Miligram/litre

<b>Mikro-CT</b>	: Bilgisayarlı mikrotomografi
<b>mmol/L</b>	: milimol/litre
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NaF</b>	: Sodyum florür
<b>NaNO<sub>3</sub></b>	: Sodyum nitrat
<b>nHAP</b>	: Nanohidroksiapatit
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>OH<sup>-</sup></b>	: Hidroksil iyonu
<b>P</b>	: Fosfor
<b>P<sub>11-4</sub></b>	: Kendiliğinden birleşen peptitler
<b>PO<sub>4</sub><sup>-3</sup></b>	: Fosfat
<b>POs-Ca</b>	: Kalsiyum fosforil oligosakkaritleri
<b>ppm</b>	: Parts per million
<b><i>S.mutans</i></b>	: <i>Streptococcus mutans</i>
<b><i>S.sanguinis</i></b>	: <i>Streptococcus Sanguinis</i>
<b>SDF</b>	: Sodyum diamin florür
<b>SEM</b>	: Taramalı elektron mikroskobu
<b>SEM-EDS</b>	: Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive
<b>Si</b>	: Silika
<b>SMFP</b>	: Sodyum monoflorofosfat
<b>SnF<sub>2</sub></b>	: Kalay florür
<b>Ş-EÇÇ</b>	: Şiddetli erken çocukluk çürüğü
<b>TEOS</b>	: Tetraetil ortosililik
<b>TEP</b>	: Trietil fosfat
<b>TMP</b>	: Sodyum trimetafosfat
<b>x</b>	: Çarpı
<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b><math>\beta</math></b>	: Beta
<b>B-TCP</b>	: $\beta$ -Trikalsiyum Fosfat
<b><math>\mu\text{m}</math></b>	: mikron

## TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Başlangıç mine çürüğü tabakalarının mineral kaybının özeti [97].....	22
Tablo 3.1. Çalışmada deney gruplarında kullanılan materyaller ve içerikleri .....	49
Tablo 4.1: BMD ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve çoklu karşılaştırma sonuçları .....	62
Tablo 4.2: Gruplara göre ağırlıkça (%) $Ca^{+2}$ değerlerinin karşılaştırılması.....	65
Tablo 4.3: Gruplara göre ağırlıkça (%) $P^{+1}$ değerlerinin karşılaştırılması .....	66
Tablo 4.4: Gruplara göre ağırlıkça (%) $Ca/P$ değerlerinin karşılaştırılması .....	67
Tablo 4.5: Gruplara göre ağırlıkça (%) $Si^{+4}$ değerlerinin karşılaştırılması .....	68



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Featherstone' nin çürük modeli [30].....	6
Şekil 2.2: Çürüğün oluşumunda rol oynayan faktörler [37] .....	7
Şekil 2.3. Stephan Eğrisi [56] .....	10
Şekil 2.4: Ekolojik plak hipotezi ve dental çürük etyolojisi [61].....	12
Şekil 2.5: Biyoaktif camın yüzeyde HAP oluşturma aşamaları [230] .....	37
Şekil 3.1: Su soğutmalı kesim cihazı (Mecatome T180 Presi, Fransa).....	43
Şekil 3.2: Epoksi Resin (EpoFix Resin, Struers, Almanya) .....	43
Şekil 3.3: Mine kesitlerinin silikon kalıplara (FixiForm, 25 mm çap, Struers, Almanya) yerleştirilmesi.....	44
Şekil 3.4: Polisaj Cihazı (Polishing machine, Minitech 233, Presi, Fransa).....	44
Şekil 3.5: Çalışmada kullanılacak olan epoksi rezine gömülü 60 adet mine örneği..	45
Şekil 3.6: Mine yüzeylerinin yarısının tırnak cilası ile kapatılması ve tırnak cilasının adeziv bant ile korunması .....	45
Şekil 3.7: Deney grupları ve örnek sayıları.....	46
Şekil 3.8: Florür vernik uygulaması (ProShield Varnish, PD, Almanya).....	48
Şekil 3.9: Mikro boyutlu biyoaktif cam tozunun hassas tartı ile tartılması ve 0.5 ml %50' lik fosforik asitin ölçülmesi .....	50
Şekil 3.10: Mikro boyutlu BAG tozu ve fosforik asitin karıştırılarak jel formuna getirilmesi.....	51
Şekil 3.11: Mikro boyutlu biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve diş yüzeyine uygulanması .....	51
Şekil 3.12: Primer ve bond uygulaması .....	52
Şekil 3.13: Led ışık uygulaması .....	52
Şekil 3.15: Nano boyutlu biyoaktif cam tozunun hassas tartı ile tartılması ve 0.5 ml %50' lik fosforik asitin ölçülmesi .....	53
Şekil 3.16: Nano boyutlu BAG tozu ve fosforik asitin karıştırılarak jel formuna getirilmesi.....	54
Şekil 3.17: Nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve diş yüzeyine uygulanması .....	54
Şekil 3.18: Primer ve bond uygulaması .....	55
Şekil 3.19: Led ışık uygulaması .....	55
Şekil 3.19: pH döngüsü .....	56

Şekil 3.20: Mikro-CT cihazı (SkyScan 1174v2, Kontich, Belçika).....	57
Şekil 3.21: SEM cihazı (EVO LS10, Zeiss, Oberkochen, Almanya) .....	58
Şekil 4.1: Etkileşimler için ortalama değer grafiği .....	62
Şekil 4.2: Florür vernik uygulanan mine örneği görüntüsü (A: Demineralizasyon sonrası B: Florür vernik uygulaması sonrası) .....	63
Şekil 4.3: Mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneği görüntüsü (A: Demineralizasyon sonrası B: Jelin uygulanması sonrası).....	64
Şekil 4.4: Nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneği görüntüsü (A: Demineralizasyon sonrası B: Jelin uygulanması sonrası).....	64
Şekil 4.5: Gruplara göre ağırlıkça (%) $Ca^{+2}$ değerleri için kutu grafiği.....	65
Şekil 4.6: Gruplara göre ağırlıkça (%) $P^{+1}$ değerlerine ait ortalama ve standart sapma grafiği .....	66
Şekil 4.7: Gruplara göre ağırlıkça (%) Ca/P değerleri için kutu grafiği .....	67
Şekil 4.8: Gruplara göre ağırlıkça (%) $Si^{+4}$ değerleri için kutu grafiği.....	68
Şekil 4.9: pH döngüsü sonrası florür vernik ajan uygulanan mine örneğinin EDS mineral analiz grafiği .....	69
Şekil 4.10: pH döngüsü sonrası mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneğinin EDS mineral analiz grafiği .....	69
Şekil 4.11: pH döngüsü sonrası nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneğinin EDS mineral analiz grafiği .....	70
Şekil 4.12: pH döngüsü sonrası florür vernik ajan uygulanan örneğin x1000 ve x2500 büyütmede SEM görüntüleri (A-B) .....	71
Şekil 4.13: pH döngüsü sonrası mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan örneklerin x1000 ve x2500 büyütmede SEM görüntüleri (A-B).....	71
Şekil 4.14: pH döngüsü sonrası nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jel uygulanan örneklerin x1000 ve x2500 büyütmede SEM görüntüleri (A-B) .....	72

# YAPAY OLARAK ÇÜRÜK OLUŞTURULAN SÜT DİŞLERİNDE BİYOAKTİF CAM İÇERİKLİ JELİN REMİNERALİZASYONA ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

## ÖZET

Bu *in vitro* çalışmanın amacı, yeni geliştirilen bir teknik ile oluşturulan mikro ve nano boyutlardaki biyoaktif cam (BAG) içerikli jelin yapay olarak oluşturulan başlangıç mine çürüklerinde florür vernik ajanına göre remineralizasyon etkinliklerini değerlendirmektir.

Çalışmada 60 adet çürüksüz süt dişi kullanılmıştır. 60 adet süt dişi su soğutmalı kesme cihazında çift taraflı kesen ince elmaslı bıçak kullanılarak meziodistal veya bukkolingual yönde ikiye ayrılmıştır. Dişlerin daha düz yüzeylere sahip olan bukkal, lingual, mesial veya distal parçalarından yaklaşık olarak 5 mm en, 5 mm boy ve 2 mm kalınlıkta mine kesitleri elde edilmiştir. 60 adet süt dişi mine kesitleri mine yüzeyleri açıkta kalacak şekilde epoksi rezine gömülmüştür. 30 adet örnek bilgisayarlı mikrotomografi analizi (Mikro-CT) için ayrılırken geri kalan 30 adet örnek Taramalı Elektron Mikroskobu- Enerji Dağılım Spektroskopisi (SEM-EDS) analizi için ayrılmıştır.

Deminerlizasyon solüsyon ile başlangıç çürüğü oluşturulan mine kesitlerine ağız ortamının *in vitro* olarak taklit edildiği pH döngüsü uygulanmıştır. Florür vernik, mikro boyutlu biyoaktif cam içerikli jel ve nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jel remineralizasyon ajanları kullanılmasına göre oluşturulan 3 deney grubuna 6 günlük pH döngü aşaması uygulanmıştır. Örnekler, mineral yoğunluk değişimi (BMD) açısından Mikro-CT analizi ile deminerlizasyon sonrası ve pH döngü uygulaması sonrası; yüzeydeki morfolojik değişimler ve iyon farklılıkları açısından SEM-EDS analizi ile pH döngü uygulaması sonrası değerlendirilmiştir.

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS 23.0 programı (IBM, Şikago, ABD) kullanılarak yapılmıştır. BMD değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılmasında iki yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalarda Tukey testinden yararlanılmıştır. Ca, P, Ca/P ve Si değerlerinin gruplara göre karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen veriler Kruskal Wallis, normal

dağılan veriler ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırılmıştır. Çoklu karşılaştırmalarda dağılımlar homojen olmadığından Tamhane's T2 testi kullanılmıştır. Analiz sonuçları ortalama  $\pm$ s.sapma, ortanca (minimum-maksimum) olarak sunulmuştur. Sonuçların değerlendirilmesi  $p < 0,05$  anlamlılık düzeyinde yapılmıştır.

Mine yüzeyindeki başlangıç çürük lezyonlarına uygulanan remineralizasyon ajanlarının BMD değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p = 0,001$ ). Florür vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile diğerler remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0,001$ ). Florür vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0,001$ ). Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p > 0,05$ ).

Mine yüzeyinde ölçülen ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  değerleri gruplar arasında farklılık göstermezken ( $p = 0,140$ ), ağırlıkça (%)  $P^{+1}$  değerleri ise gruplar arasında farklılık göstermektedir ( $p < 0,001$ ). Mine yüzeyinde ölçülen ağırlıkça (%) Ca/P değerleri de gruplar arasında farklılık göstermemektedir ( $p = 0,503$ ). Ayrıca, mine yüzeyinde ölçülen ağırlıkça (%)  $Si^{+4}$  değerleri açısından biyoaktif cam içeren gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p = 0,199$ ).

Çalışmamızda mikro ve nano boyutlu BAG içerikli jel ajanlarının başlangıç mine çürüğü lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkisi, florür vernik ajanına göre düşük bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Biyoaktif cam, başlangıç mine çürüğü, süt dişi, remineralizasyon

# **EVALUATION OF THE EFFECT OF BIOACTIVE GLASS CONTAINING GEL ON REMINERALIZATION IN PRIMARY TEETH WITH ARTIFICIAL CARIES**

## **SUMMARY**

The aim of this in vitro study is to evaluate the remineralization efficiencies of micro- and nano-sized bioactive glass (BAG)-containing gel formed by a newly developed technique, compared to fluoride varnish agent in artificially created initial enamel caries.

In the study, 60 caries-free primary teeth were used. 60 primary teeth were divided into two in the mesiodistal or buccolingual direction using a thin diamond blade that cuts on both sides in a water-cooled cutting device. Enamel sections of approximately 5 mm width, 5 mm length and 2 mm thickness were obtained from the buccal, lingual, mesial or distal parts of the teeth, which have flatter surfaces. Enamel sections of 60 primary teeth were embedded in epoxy resin with the enamel surfaces exposed. 30 samples were reserved for computerized microtomography analysis (Micro-CT), while the remaining 30 samples were reserved for Scanning Electron Microscopy- Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDS) analysis.

The pH cycle, in which the oral environment is simulated in vitro, was applied to the enamel sections in which initial caries was created with the demineralization solution. A 6-day pH cycle phase was applied to 3 experimental groups, which were formed according to the use of fluoride varnish, micro-sized bioactive glass-containing gel and nano-sized bioactive glass-containing gel remineralization agents. The samples were determined by Micro-CT analysis for mineral density change (BMD) after demineralization and after pH cycling; The morphological changes on the surface and ion differences were evaluated with SEM-EDS analysis after pH cycling application.

Statistical analysis of the data was performed using the SPSS 23.0 program (IBM, Chicago, USA). Two-way analysis of variance was used to compare BMD values within and between groups. Tukey test was used in multiple comparisons. In the comparison of Ca, P, Ca/P and Si values by weight (%) according to the groups, data that did not show normal distribution were compared with Kruskal Wallis, and normally distributed data were compared with one-way analysis of variance (ANOVA). Tamhane's T2 test was used as the distributions were not homogeneous in multiple comparisons. Analysis results are presented as mean  $\pm$ s.dev, median (minimum-maximum). Evaluation of the results was made at  $p < 0.05$  significance level.

The effect of remineralization agents applied to the initial caries lesions on the enamel surface on BMD values was found to be statistically significant ( $p = 0.001$ ). There was a statistically significant difference between the mean BMD value obtained after remineralization in the fluoride varnish group and the mean BMD value obtained after remineralization in the micro-BAG group ( $p < 0.001$ ). There is a statistically significant difference between the mean BMD value obtained after remineralization in the fluoride varnish group and the mean BMD value obtained after remineralization in the nano BAG group ( $p < 0.001$ ). There was no statistically significant difference between the mean BMD value obtained after remineralization in the micro-BAG group and the mean BMD value obtained after remineralization in the nano-BAG group ( $p > 0.05$ ).

While  $\text{Ca}^{+2}$  values by weight (%) measured on the enamel surface did not differ between groups ( $p = 0.140$ ),  $\text{P}^{+1}$  values by weight (%) differed between groups ( $p < 0.001$ ). The weight (%) Ca/P values measured on the enamel surface also did not differ between the groups ( $p = 0.503$ ). In addition, there was no statistically significant difference between the groups containing bioactive glass in terms of weight (%)  $\text{Si}^{+4}$  values measured on the enamel surface ( $p = 0.199$ ).

In our study, the remineralization effect of micro and nano-sized BAG-containing gel agents on initial enamel caries lesions was found to be lower than the fluoride varnish agent.

**Keywords:** Bioactive glass, initial enamel caries, primary tooth, remineralization

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diş çürükleri, çocukluk çağının en yaygın hastalıklarından biri olmaya devam etmektedir [1, 2]. Uluslararası yapılan diş çürük epidemiyolojisi verilerinde hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağı hastalıklarından biri olduğu doğrulanmaktadır [3].

Çocukluk çağındaki çürükler genellikle tedavi edilmemektedir. Bu durum bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Diş çürüklerinin tedavi edilmemesi çocuklarda akut ve kronik enfeksiyonlar, ağrı, psikolojik rahatsızlıklar, uyku bozukluğu, davranış değişiklikleri, iştahsızlık ve kilo kaybı gibi problemlere yol açmaktadır [4]. Küçük yaştaki çocuklarda diş çürüklerinin tedavisi çok zordur. İleri düzey hekim becerileri ve hasta yönetimi için yüksek genel anestezi maliyeti gerektirebilmektedir [5].

Çocuklarda fermente olabilen karbonhidratlı diyet ve asitli içecek tüketim alışkanlıkları sonucu dişlerde çürük ve erozyon meydana gelmektedir [6, 7]. Karbonhidratların bakteriler tarafından fermentasyonu sonucu asit oluşumu diş sert dokularında demineralizasyon meydana getirerek çürük gelişimine neden olmaktadır. Dinamik biyolojik sürecin parçası olan koruyucu ve patolojik faktörler oral biyofilmin ekolojisini düzenleyen faktörlerdir. Faktörler arası dengenin bozulması süreci tetiklemektedir [6, 8].

Başlangıç mine çürüğü, çürük sürecinin klinik olarak ilk bulgusudur ve beyaz nokta lezyonu olarak adlandırılmaktadır. Beyaz nokta lezyonu, bir yüzey altı demineralizasyonu sonucu ortaya çıkan klinik bir bulgudur. Başlangıç mine çürüklerinin lezyon gövdesi mineral içeriğinin çoğunu kaybetmiş olabilir. Bununla birlikte tükürük içerisindeki kalsiyum ( $Ca^{+}$ ) ve fosfat ( $P^{-}$ ) iyonlarının mineralizasyon etkisiyle bütünlüğü bozulmamış bir yüzey tabakası ile kaplıdır [6, 9, 10].

Rutin muayenede başlangıç mine çürüğünü sağlıklı mine dokusundan ayırt etmek zordur. Tükürük, mine yüzeyinde oluşan porozite nedeniyle mikro boşluklara dolmaktadır. Diş yüzeyi kurutulduğunda daha mat ve opak tebeşirimsi bir görüntü vermesiyle tespit edilmektedir. Bunun yanı sıra demineralizasyonun ilerlediği

durumda inspeksiyon ile değerlendirmede kurutma işlemi olmadan da fark edilebilmektedir [11, 12].

Minimal invaziv diş hekimliği, güncel çürük yönetim yaklaşımıdır. Minimal invaziv diş hekimliği; başlangıç mine çürük lezyonlarını remineralize etmek için gerekli önlemleri kapsamaktadır [9]. Onarılabilir diş dokusunun korunması ve yeni başlayan çürük lezyonların yönetiminde önleyici tedaviler ile remineralizasyon yaklaşımlarının kullanılması benimseyen bir felsefedir [13]. Remineralizasyon terimi, mineral kazanımının yanısıra mine yüzeyinde mineral çökeltilerinin oluşumunu tanımlamak için kullanılmaktadır. Minimal invaziv diş hekimliği yaklaşımının temel prensipleri arasında; remineralizasyon yoluyla hastalığının ilerlemesini önlemek, estetiği sağlamak ve kavitasyon oluşmamış çürük lezyonlarını yönetmek yer almaktadır. [14].

Uluslararası rk Sınıflandırma ve Yönetim Sistemi (ICCMS<sup>TM</sup>), bireyin çürük lezyonlarını ve aktivitelerini belirtmenin yanı sıra çürük olasılıklarının değerlendirilmesinden elde edilen bilgilere dayanmaktadır. Bu sistem, kapsamlı bir değerlendirme ve kişiselleştirilmiş çürük bakım planını benimsemektedir. Bu prensibe göre kişiselleştirilmiş bakım, sağlam yüzeylerde çürük lezyonların önlenmesi, lezyon varlığında ise invaziv veya invaziv olmayan tedavileri içermektedir [15].

Çocukların diş hekimi ziyareti genellikle hastalığın belirti vermesi ile gerçekleşmektedir. Diş rkleri, hastalığın ilk belirtileri oluşmadan rutin dental muayene ile belirlenebilir ve önlenebilir. Çürük yönetiminde uygulanacak tedaviye lezyon aktivitesine göre karar verilmektedir. Eğer rk lezyonu inaktif ise restoratif müdahale gerektirmeden oral hijyen eğitimi, diyet kontrolü ve önleyici uygulamalar ile tedavi edilebilmektedir [16].

Florür, yapılan çalışmalarla etkinliği kanıtlanmış ve altın standart olarak kabul edilen etkili bir remineralizasyon ajanıdır. Birçok gelişmiş ülkede diş çürüğünde görülen azalmanın sistemik ve topikal florür uygulamaları sayesinde olduğu düşünülmektedir [17].

Florür etkili bir remineralize edici ajan olmasına karşın yetersiz kaldığı ve yan etkilerinin görüldüğü durumlar mevcuttur [17]. Florürün etki mekanizmasına bağlı olarak lezyonun tamamında net bir remineralizasyon sağlanamamaktadır. Çünkü florürün remineralize edici etkisi çürük lezyonunun yüzey kısmı ile sınırlı kalmaktadır

[18]. Özellikle topikal florür uygulamaları, çürük lezyonu ileri safhalara geldiğinde yetersiz kalabilmektedir [19]. Başlangıç çürük lezyonlarında ideal olarak kalsiyum ve fosfat, hafifçe artan fluor konsantrasyonlarının varlığında, çürük lezyonunun tam olarak remineralizasyonu sağlanabilmektedir [14]. Bu durum florürün remineralizasyonu destekleme yeteneği açısından ortamdaki kalsiyum ve fosfat iyonlarının mevcudiyeti ile sınırlıdır [20].

Florozis, sistemik florür alımının dozu, süresi ve zamanlamasına bağlı olarak mine gelişimi esnasında fluor alımı ile ilişkilidir. Yüksek konsantrasyonlarda alınan fluorun yutulması mide bulantısına, kusmaya, dişte florozise veya aşırı doz alımı durumunda özellikle çocuklarda ölüme yol açabilmektedir [21].

Çürük yönetiminin temel taşı fluor aracılı remineralizasyon iken, lezyonlarda daha derin remineralizasyon gereksinimi ve yüksek florürlü ağız bakım ürünleriyle ilişkili potansiyel riskler yeni remineralizasyon stratejilerinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır [9, 17].

Yapılan pek çok çalışma sonucunda remineralizasyonu teşvik edebilen ve/veya demineralizasyonu azaltabilen teknolojilerin gelişmesi sağlanmıştır. Başlangıç çürüğü lezyonlarının ve çürük lezyonlarının remineralizasyonu amacıyla Kazein Fosfopeptid Amorfoz Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP), İşlevselleştirilmiş  $\beta$ -Trikalsiyum Fosfat (fTCP), Biyoaktif Cam, Sodyum Trimetafosfat, Kalsiyum Gliserofosfat, Arjinin Bikarbonat Kalsiyum Karbonat Kompleks, üzüm çekirdeği özütü gibi ajanlar geliştirilmiştir [22].

Biyoaktif cam, doku mühendisliği ve tıp alanında uzun yıllardır kullanılmaktadır. İnsan vücudunda da doğal olarak bulunan kalsiyum, fosfor, silika ve sodyum (kalsiyum sodyum fosfosilikat) iyonlarını içermektedir [22].

Biyoaktif cam, biyoaktivitesi yüksek bir materyaldir. Sulu bir ortamda bir dizi reaksiyona girerek hidroksiapatit ve hidroksikarbonat apatitten oluşan bir yüzey tabakasının oluşmasını sağlamaktadır [23].

Günümüzde biyoaktif cam içeren diş macunu yeni geliştirilen bir uygulamadır. Bu uygulamada dentin tübüllerini kalsiyum-fosfat açısından zengin kristallerle tıkaabilir ve dentin geçirgenliğini azaltabilir. Diş macunundan salınan bu iyonlar, porozite sonucu gözenekli mine yüzeyi aracılığıyla dentin tübüllerine nüfuz etmektedir. Bu etki mekanizması yüzey altı mine lezyonlarının remineralize

edilebildiğini göstermektedir [24].

Yeni geliştirilen remineralizasyon ajanlarının başlangıç mine rk lezyonlarını remineralizasyon etkilerini inceleyen çalışmalar önem arz etmektedir. Bunun gibi çalışmalar genellikle daimi dişler üzerinde yapılmaktadır [23-25].

Çalışmamızın amacı; biyoaktif camın dişler üzerindeki yeni bir uygulama tekniği olan fosforik asit ile karışımı sonucu elde edilen jel formunun süt dişlerindeki başlangıç mine rk lezyonlarındaki etkisini değerlendirmektir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diş Çürüğü

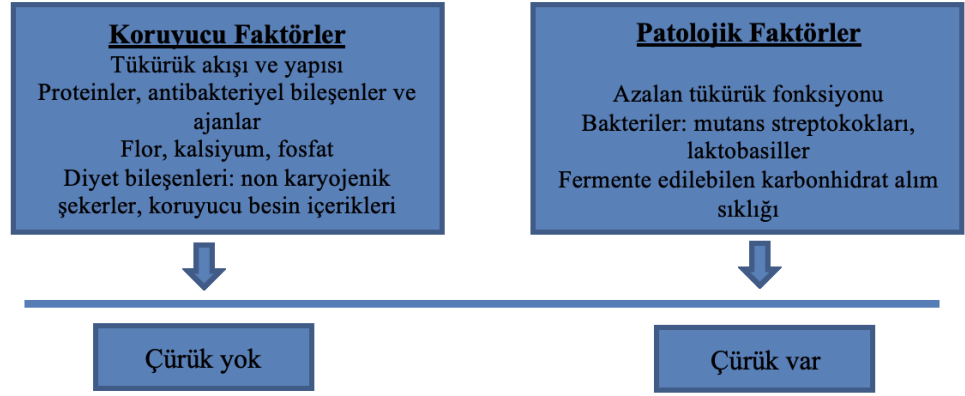
Çürük terimi, genel anlamda çürük gelişim süreci ve bu sürecin sonucu oluşan çürük lezyonu olarak tanımlanmaktadır [2].

Çürük; karyojenik bakteriler, fermente olabilen karbonhidratlar, tükürük ve diş içeren bazı konak faktörlerinin zaman içinde etkileşimi sonucu meydana gelmektedir. Bu faktörler mevcut olduğu sürece ağız içerisinde demineralizasyon ve remineralizasyon döngüleri devam etmektedir [2, 6, 26].

Bir çürük lezyonunun gelişimi, mikrobiyal kökenli (*Streptococcus mutans* ve *Lactobacilli türleri*) organik asitler (laktik asit, propiyonik ve formik asit) [27] tarafından tekrarlanan demineralizasyon periyotlarını ve tükürük bileşenleri (ve/veya terapötik ajanlar) tarafından yeniden remineralizasyonu içeren ancak ağız ortamının dengesinin demineralizasyona yöneldiği süreci kapsamaktadır [21].

Literatürde yer alan *in vitro* ve *in vivo* yapılmış pek çok çalışmada, çürük lezyonunun dişin yüzey altındaki kristaller boyunca moleküler seviyede başlayan ve devam eden bir süreçle oluştuğunu doğrulamaktadır [2]. Organik asit molekülleri karbonatlı hidroksiapatit kristalleri yüzeyinden difüzyonu yoluyla yüzeyaltı dokuya ulaşmaktadır ve çözünmeye neden olmaktadır [28]. Diş dokularında meydana gelen bu çözünme, kimyasal ve/veya ultrastrüktürel düzeyde kalabilmektedir. Bunun yanı sıra demineralizasyon ile net mineral kaybı sonucu klinik olarak tespit edilebilen bir çürük lezyonu ile sonuçlanabilmektedir [29].

Çürük gelişimi birçok faktör arasındaki dengeye bağlıdır [6]. Demineralizasyon ve remineralizasyon dengesini belirleyen patolojik ve koruyucu faktörler Şekil 2.1'de gösterilmektedir. Bireysel olarak çürük risk değerlendirmesinde bu faktörler arasındaki dengenin göz önünde bulundurulması gerekir [6, 26, 27, 30].



**Şekil 2.1:** Featherstone' nin çürük modeli [30]

### 2.1.1. Çürük oluşumundaki etiyolojik faktörler

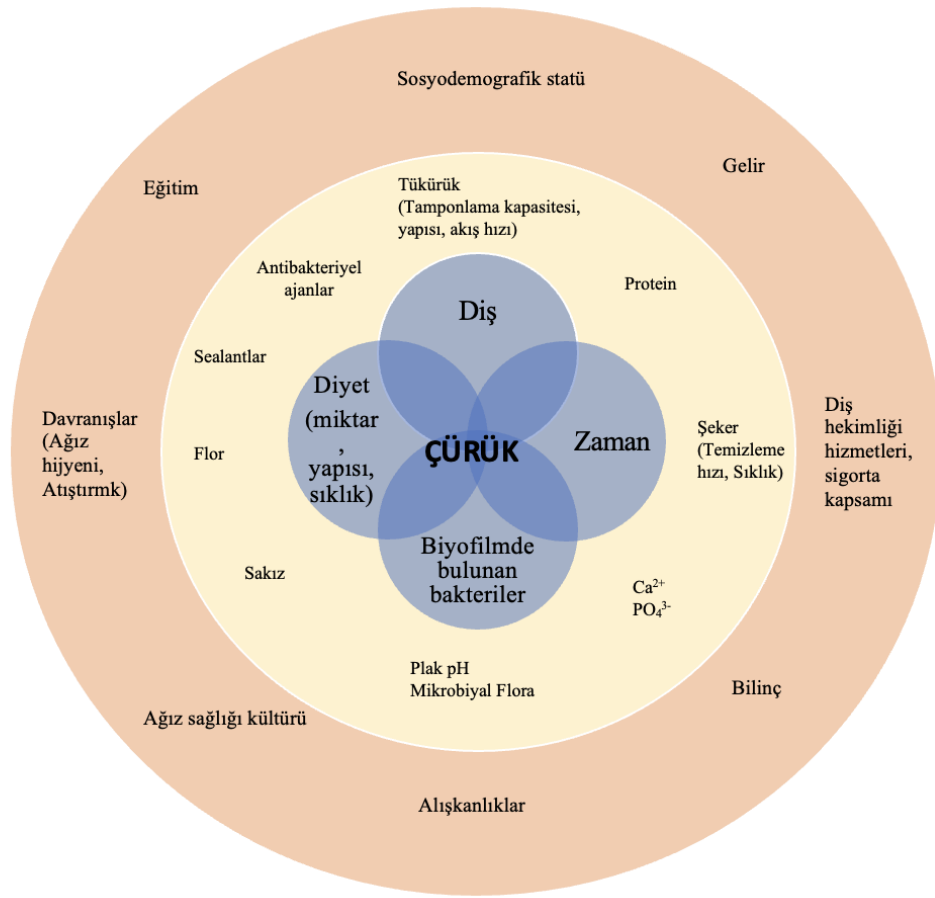
Diş çürüğü dinamik bir süreçtir. Diş sert dokularının demineralizasyon ve remineralizasyon dengesizliği ile sonuçlanan şeker kaynaklı, biyofilm aracılı, çok faktörlü ve bulaşıcı bir hastalıktır. Bireyin çevresiyle bağlantılı olup biyolojik, davranışsal ve psikososyal faktörler çürük oluşumunu etkilemektedir [27, 31].

Çürük oluşumuna dair üzerinde değişiklikler yapılarak evrensel olarak kabul edilen teori 1881'de W.D. Miller tarafından ortaya atılan 'kemo-parazitik teori'dir [32]. Bu teori asit üreten bakterilerin ağız içerisindeki etkilerini açıklamaktadır. Bu teori temel alınarak G.V. Black ve J.L. Williams'ın diş plağı etkenli çürük kavramı ve Keyes-Fitzgerald modeli gibi spesifik mikroorganizmaların varlığının neden olduğu potansiyel ilişkisini açıklamak için çürük modelleri geliştirilmiştir [33].

Tüm çalışmaların özeti olarak çürük etiyolojisi için en basit haliyle üç daire içeren ve birbiri ile etkileşim halinde olan Venn Diagramı geliştirilmiştir. Bu üç daire diş çürüğünün oluşabilmesi için duyarlı diş (konakçı), *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) ve laktobasil gibi karyojenik mikroflora ile fermente olabilen karbonhidratları içermektedir. Daha sonrasında dördüncü daire olan zaman faktörü de eklenmiştir. Bu faktörler çürüğün oluşumunda temel yapıtaşları olarak kabul edilmektedir [34, 35].

Temel faktörlerin yanısıra kişisel faktörler (eğitim düzeyi, sosyoekonomik statü, alışkanlıklar, oral hijyen, dental sağlık bilgisi vs), ağız içi faktörler (flor, kalsiyum, fosfat, plak pH'sı, fissür örtücüler, antibakteriyel ajanlar, tükürük yapısı ve içeriği, proteinler, şeker tüketimi vs.) gibi yan faktörler de sıralanabilmektedir [2, 36,

37] (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Çürüğün oluşumunda rol oynayan faktörler [37]

#### 2.1.1.1. Çürük oluşumunda diş (konakçı) ile ilgili faktörler

Ağız boşluğundaki tükürük bezlerinden ve dişeti oluğu sıvısından üretilen salgıların karışımı olan total tükürük, konağın çürüğe karşı önemli bir savunma faktörü olarak gösterilmektedir. Tükürüğün etkileri tamponlama kapasitesi, antibakteriyel özelliği, kısmen yiyecek ve bakteriyi ortamdaki uzaklaştırma yeteneği ile açıklanabilir [38, 39]. Ağız ortamına süren dişin kronu morfolojik olarak tam oluşmasına rağmen mine kristalleri olgun bir yapıda değildir. Tükürükte bulunan kalsiyum, fosfor, magnezyum ve florür gibi iyonların yanı sıra diğer eser bileşenlerin hem yüzey hem de yüzey altı mineye difüzyonu ile posteruptif maturasyon sağlanmaktadır [39, 40].

İlaç kullanımı (beta 2 agonistler, antihistaminikler, benzodiazepinler, antiemetikler, ekspektoranlar ve antispazmodikler gibi) veya tükürük bezlerinin radyasyona maruziyeti gibi nedenlerle tükürük akışının ve/veya fonksiyonunun (hiposalivasyon) bozulması durumunda remineralizasyon için yetersiz kalarak yaygın

çürüğe neden olmaktadır [27, 41].

Diş yapısı ile ilgili faktörler genellikle aside karşı daha duyarlı olmasına ve plağın retantivitesine neden olan durumları kapsamaktadır. Çapraşıklık, okluzyon, dişin konumu, morfolojisi (boyut, yüzey, fossa ve fissür derinliği), kompozisyonu, dişin sert dokularındaki gelişimsel defektler ve erüpsiyon öncesi veya sonrası fluor maruziyeti çürük sürecine dahil olan faktörler arasındadır [15, 41, 42].

Bir dişin çürüğe karşı direncini mine yapısını oluşturan kristallerin boyutu, şekli ve içeriği belirlemektedir. Mine çoğunlukla kimyasal olarak  $Ca_{10}(PO_4)_2(OH)_2$  ile formüle edilen hidroksiapatit formundaki mineralden oluşmaktadır. Florapatit ( $OH^-$  iyonunun  $F^-$  iyonları ile yer değiştirmiş formu), hidroksiapatitten bile oldukça kararlı bir kristal formudur. Mine yapısındaki fosfat iyonlarının karbonat ile yer değiştirmesi kristalleri daha az stabil ve demineralizasyona duyarlı hale getirmektedir. Kristallerin kararlı ve stabil yapıya sahip olması aside karşı çözünürlüğün daha az olmasını sağlamaktadır [42].

#### **2.1.1.2. Çürük oluşumunda mikroorganizma faktörü**

Yeni doğan bebeğin ağız ortamı genellikle steril olmaktadır. Mikroorganizmaların potansiyel kolonizasyonu bebeğin doğumu itibari ile başlar ve bölgenin birçok bulaş yolu ile teması sonucu mikrobiyal çeşitlilik artmaktadır. Öncelikle gram pozitif aerob mikroorganizmalar kolonize olmaktadır. Bu mikroorganizmalar arasında özellikle *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* ve *Streptococcus oralis* gibi streptococcus türleri yer almaktadır. Dişlerin sürmeye başlamasıyla beraber *Streptococcus sanguinis* (*S.sanguinis*) ve *Streptococcus mutans* baskın türler olmaktadır. Mikrobiyal kolonizasyonda zaman içerisinde *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum* ve veillonella türlerini içeren gram negatif anaeroblar da görülmektedir [43-45].

Ağız ortamında genellikle aerob bakteriler bulunmaktadır. Ancak zorunlu ve fakültatif anaerob bakteriler ağız yüzeylerindeki (dil, dişler) biyofilm içinde kalabilmektedir. Organizmaların çoğu yüzeye sıkıca tutunarak tükürük akışından kaçınmak için korunaklı ve durgun bölgelerde bulunmaktadır [44].

*S. mutans*, diş çürüklerinin birincil sorumlusu olarak gösterilmektedir [46]. *S. mutans* tükürük pelikülü aracılığıyla diş yüzeylerinde bakteriyel adezyona katıldığı gibi

diş çürüğü geliştirmesi açısından belirli virülans özelliklere sahiptir [47, 48]. Asidojenik (asit üretimi) ve asidürik (asidik bir ortamda hayatta kalma yeteneği) olmasının yanısıra hücre içi ve hücre dışı polisakkarit sentezi, endodekstranaz üretimi gibi özellikleri ile dental plakta baskın olmasında etkindir [48].

Lactobacillus türleri ağız içerisinde tükürükte ve dişler, dil dorsumu, vestibuler mukoza ile sert damak üzerinde bulunmaktadır. Dişler sürmeden önce ağız içerisinde geçici olarak bulunabilmekte ve genellikle dilin dorsumunda kolonize olmaktadır. Dil epitelinin dökülmesiyle tükürük içine taşınmaktadır. Yapılan çalışmalarda tüm çürük tiplerinde *S. mutans* izole edilebilmektedir. Lactobacillus gibi asidik bakterilerin çürük ilerledikçe dentin çürük lezyonlarında önemli miktarda tespit edildiği gösterilmiştir [49-51].

### **2.1.1.3. Çürük oluşumunda diyet faktörü**

Diyet, diş demineralizasyon ve remineralizasyon dengesine çeşitli şekillerde müdahale edebilmektedir. Diyet, plak bakterileri tarafından asitlere metabolize edilen şekerleri ve diğer fermente edilebilir karbonhidratları sağlamaktadır. Ortaya çıkan düşük pH, asidojenik ve asidürik bakterilerin büyümesini desteklemektedir. Buna karşılık, şekerler ve fermente edilebilir karbonhidratlar açısından daha düşük ve kalsiyum açısından zengin bir diyet, remineralizasyona katkı sağlamaktadır [52].

Karyojenik gıdalar tek başına diş çürüğü için risk oluşturmaz. Bu gıdaların dişlerle sık ve uzun süreli teması çürük gelişimine neden olmaktadır [41]. Karbonhidrat alımının sıklığı, en az diyetdeki toplam karbonhidrat tüketim miktarı kadar öneme sahip olmaktadır. Diyetle alınan bir gıdanın tükürüğü uyarma etkisi, pH'sı, diş yüzeyinden temizlenebilme durumu, yağ içeriği ve *S. mutans* tarafından metabolizmaya duyarlılığı gibi özellikleri karyojenitesini belirlemektedir [35].

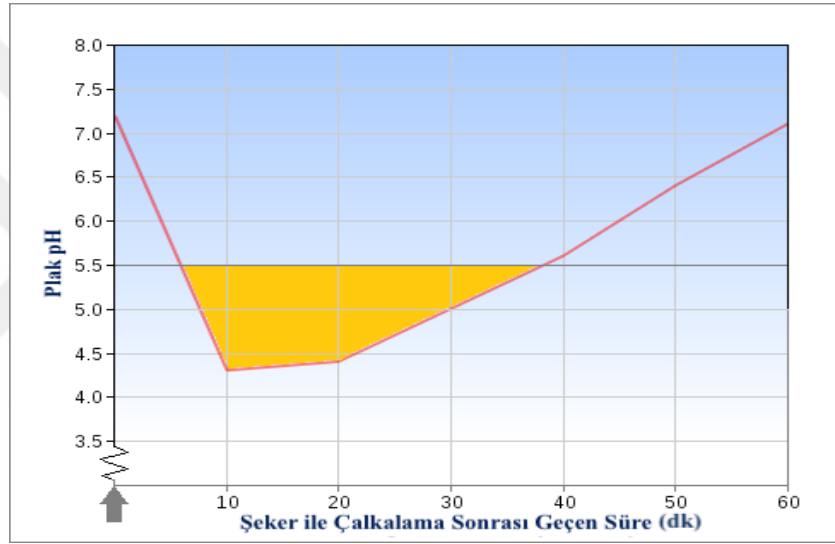
Sükroz, çürük sürecinde diğer karbonhidratlarla karşılaştırıldığında daha fazla önem kazanmaktadır. Sükrozun karyojenik özelliği 2 şekilde açıklanabilir [42]:

1. Sükroz diş plağında serbestçe dağılabilmekte ve bakteriler tarafından kolayca metabolize edilerek yeterli konsantrasyonda organik asit üretimi sonucu pH'nın minede demineralizasyon gelişecek kadar düşmesine neden olmaktadır.

2. Sükroz, hücre dışı glukoz ve fruktan sentezinde önemli role sahiptir. Bunun

en önemli sebebi karyojenik bakterilerin sahip olduğu glukoziltransferaz ve fruktoziltransferaz enzimlerine karşı yüksek afiniteye sahip olmasıdır.

Stephan'ın öncülüğünde başlayan ve diğer araştırmacıların devam ettirdiği çalışmalarda besinlerin tüketimi sonrası ağız ortamında meydana gelen pH değişiklikleri değerlendirilmiştir [53]. Bu şekilde pH değişimini ifade eden grafik 'Stephan Eğrisi' (Şekil 2.3) olarak tanımlanmıştır [54-57]. Diyetle sıklıkla sükröz içerikli gıda tüketimi ile diş çürükleri arasındaki ilişki, dik bir şekilde yükselen sigmoid bir eğri şeklinde tanımlanmaktadır. Özellikle çocuklarda bağışıklık tam olarak olgunlaşmamıştır ve yeni süren dişler üzerine sükröz içerikli gıdaların sıklıkla tüketimi yükselen bir eğri ile kendini göstermektedir [38].



Şekil 2.3. Stephan Eğrisi [56]

Stephan tarafından yapılan, ağız içi ortamının pH' ı ile çürük sürecinin arasındaki ilişki bir çalışmayla ilk kez tanımlanmıştır. Bu çalışmada ağızın glukoz çözeltisi ile çalkalanması sonrası 2-4. dakikada pH' ının 6,5' ten 5,0 seviyesine düştüğü ve ortalama 40 dakika sonra normal değerlere gelebildiği gösterilmektedir. Çürük aktif bireylerde tükürük pH değerleri 6,4- 6,7 arasında seyrettiği için yapılan uygulama sonrası ulaştıkları en düşük pH seviyesi, çürüksüz bireylere göre daha düşük kalmıştır. Çürüksüz ve farklı çürük aktivitesine sahip bireylere ait plak pH grafiklerinin karşılaştırılması ile plağın asidojenik durumu ve çürük oluşumu arasında paralellik gözlenmiştir. Yüksek çürük aktivitesine sahip bireylerde plak mikroorganizmalarının ekstrasellüler ve intrasellüler polisakaritleri sentezleyebilme yeteneği, ağız ortamı

pH'ının devamlı düşük kalmasına yol açtığı gösterilmektedir [58, 59].

Sükroz dışında glukoz, fruktoz ve maltoz gibi karbonhidratlar da karyojenik özelliğe sahiptir. Ancak bu etki sükrozdan daha az olmaktadır. Karyojenite açısından daha düşük olan şeker alkolleri adı verilen poliol karbonhidratlar, karyojenik karbonhidratların yerini almıştır [15, 60].

#### **2.1.1.4. Çürük oluşumunda zaman faktörü**

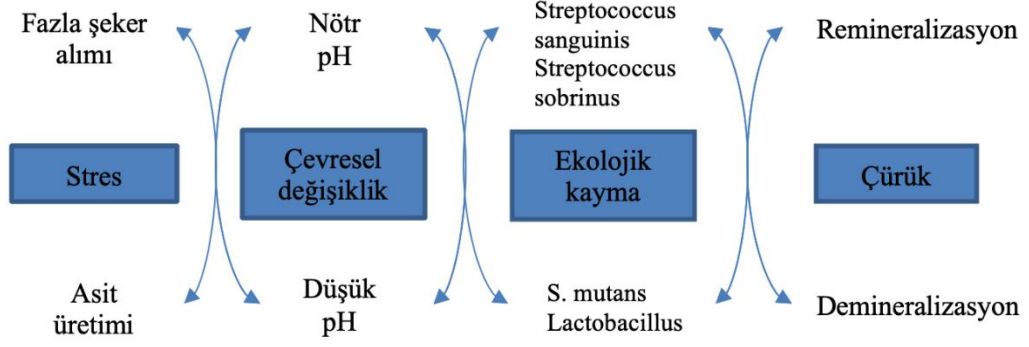
Konak, beslenme ve karyojenik mikroorganizma faktörlerinin yeterli bir süre içinde etkileşim bulunması çürük oluşumunu tetiklemektedir. Diyetle karyojenik gıdaların sık alınması, ağızda uzun süre tutulması veya alınan gıdaların yapışkan özellikte olması zaman faktörünü öne çıkarmaktadır ve çürük riskini arttırmaktadır [38, 52, 61].

#### **2.1.2. Çürük etyolojisi ve mekanizması**

Minerin çözünmesi için kritik pH'ın yaklaşık 5.5 olduğu gösterilmiştir. Dentine ulaştığında, önemli ölçüde daha yüksek bir pH'da olması yeterli olmaktadır. Bunlara ek olarak, çürük aktivitesinin seviyesini olumlu veya olumsuz şekilde önemli ölçüde etkileyebilecek birçok anatomik, diyet, genetik, davranışsal, sosyal, kültürel, sosyoekonomik ve terapötik değişken etkilemektedir [21].

Diş çürüğü, klasik bir bulaşıcı hastalık değildir. Yerel çevre koşullarındaki bir değişiklik tarafından yönlendirilen yerleşik mikrofloranın dengesindeki bir kaymanın sonucu olarak gelişmektedir. Şekil 2.4'te görülen diyagramda dengenin mine demineralizasyonuna yönelmesi ve bu duruma neden olan faktörler arasındaki dinamik ilişki gösterilmektedir [15, 62].

Ekolojik plak hipotezi, bazı oral bakterilerin düzenli ve uzun süreli düşük pH koşullarında asit stresine uyum sağlama yeteneğini göstermek için geliştirilmiştir ve buna 'genişletilmiş çürük ekolojik hipotezi' denir. Bu hipotezde de plağın asitlenmesi, asit üreten ve aside toleranslı bir bakteri topluluğunun yer alması ana faktör olarak işlev görmekte ve çürük riskini arttırmaktadır [63].



Şekil 2.4: Ekolojik plak hipotezi ve dental çürük etyolojisi [61]

### 2.1.2.1. Demineralizasyon

Demineralizasyon ve remineralizasyon döngüleri biyofilm ve diş yüzeyi arasında sürekli devam etmektedir. Döngüler esnasında ağız ortamında pH düşüşüne neden olabilecek koşullar demineralizasyona neden olmaktadır [27].

Ortamdaki pH, biyofilmin sıvı fazında asit biriktikçe biyofilm ve diş arayüzündeki koşulların yetersiz olduğu noktaya gelmektedir. Genellikle kristalin kalsiyum eksikliği olan ve karbonatlı apatit açısından zengin olan bölgeleri asit atağına duyarlıdır [30] ve asitler, mine kristalleri boyunca ilerlerken hidrojen iyonlarını ayrıştırmaktadır. En ilgi çekici kısım, yüzey altı minedeki sıvı fazın, mine yüzeyinde (5- 8 milimol/litre [mmol/L]) olduğundan daha da düşük bir kalsiyum ve fosfat konsantrasyonuna (0,1 mmol/L) sahip olmasıdır. Bu durum, kalsiyum ve fosfatın konsantrasyon gradyanlarına göre taşındığı anlamına gelmektedir. Çözülmüş minerallerin taşınması, mine ile karşılaştırıldığında plakta kalsiyum ve fosfat açısından doymuş olmasına rağmen yüksek hidrojen iyon konsantrasyon (özellikle pH 4.0 'te 100-1000 kat) gradyanı ile sağlanmaktadır [64]. Demineralizasyon, yüzey altı mineden çözünen kalsiyum ve fosfat iyonlarının mine yüzeyine ve üstteki biyofilme doğru hareket etmesiyle sonuçlanmaktadır [65].

Mineral kaybı, mine kristalleri arasındaki boşlukların genişlemesine, porozitenin ve yüzeyin geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır. Bu durum ortamdaki asitlerin daha derin dokulara geçişine izin vererek yüzey altındaki minerallerin demineralizasyonuna yol açmaktadır [15, 66]. Demineralizasyonun sürecinde öncelikle mine yüzeyindeki kalsiyum floridin ( $\text{CaF}_2$ ), sonrasında hidroksiapatit (HAP) ve en son florohidroksiapatitin (FHAP) çözüldüğü gösterilmektedir [67].

### 2.1.2.2. Remineralizasyon

Remineralizasyon, mine yüzeyine minerallerin çökmesini de içine alarak mineral kazanımını tanımlamak için kullanılmaktadır [68]. Cochrane' in yaptığı derlemede ise remineralizasyon terimi; demineralize minedeki kristal boşluklara iyon birikimini teşvik etmek ve net mineral kazanımı elde etmek için dişin dışındaki bir kaynaktan kalsiyum ve fosfat iyonlarının sağlandığı süreç olarak tanımlanmaktadır [14].

Fizyolojik koşullarda, ağız sıvıları (tükürük, plak sıvısı), minenin mineral fazına göre oldukça doymuş konsantrasyonlarda kalsiyum ve fosfat iyonlarına sahiptir. Böylece, aside duyarlı mine alanlarının mineral açısından onarımı ve mine yüzeyinde sürekli olarak kalsiyum ve fosfat iyonlarının birikimi sağlanmaktadır. Tükürük tarafından desteklenen minenin mineral yapısının korunması, doğal bir savunma mekanizması olarak düşünülmektedir [69].

Minede remineralizasyonu etkili şekilde sağlayabilmek için tükürük ve dental biyofilm kaynaklı kalsiyum, fosfat ve flor iyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Remineralizasyon, yüzey altı mine gözeneklerindeki daha az doymuş sıvı faz ile karşılaştırıldığında tükürük ve plaktaki aşırı doymuş durumdaki kalsiyum ve fosfat konsantrasyonları (yaklaşık 30 kat) tarafından sağlanmaktadır [65].

Florür, remineralizasyonun sağlanmasında altın standart olarak gösterilmektedir. Florür iyonunun tükürükte az miktarda (0.03- 0.08 ppm) bulunması bile dengenin demineralizasyondan remineralizasyona kaymasında etkili olmaktadır [30, 70]. Remineralizasyon esnasında florür, kısmen çözünmüş HAP kristallerinden FHAP kristallerini yeniden oluşturarak kalsiyum ve fosfor iyonlarının lezyona geri difüzyonunu kolaylaştırmaktadır [27, 35].

Dental biyofilm ve tükürükte mine lezyonunun en derin kısmına kadar remineralizasyonuna izin veren optimal bir kalsiyum, fosfat ve florür seviyesi bulunmaktadır. Bu durumun tersine artan kalsiyum ve fosfat konsantrasyonları ve yüksek florür seviyeleri, mine yüzeyinde hızlı bir şekilde mineral çökmesine ve alttaki demineralize lezyonla etkileşim halinde olan yüzey mine gözeneklerinin tıkanmasına neden olur [65].

Remineralizasyon, ağız boşluğunda devam eden bir süreçtir. Ancak klinikte yapılan diş muayenesine göre remineralizasyonun durumunu değerlendirmek tek

başına yeterli olmamaktadır. Bunun yanısıra plak ve tükürükteki biyolojik faktörlere, minerin bileşimine ve ağız hijyeni, beslenme alışkanlıkları ve koruyucu maddelere maruziyete bağlı olduğunu anlamak önemli hale gelmiştir [71].

## 2.2. Erken Çocukluk Çağı Çürüğü

Amerikan Pediatrik Diş Hekimliği Akademisi' ne (AAPD) göre erken çocukluk çağı çürüğü (EÇÇ); 6 yaş altındaki çocuklarda herhangi bir süt dışında bir veya daha fazla çürük (kavitasyonlu veya kavitasyonsuz), eksik (çürük nedeniyle) veya dolgulu diş yüzeylerinin varlığı olarak tanımlanmaktadır. Şiddetli erken çocukluk çağı çürüklerinin (S-EÇÇ) tanımı ise; 3 yaş altındaki küçük çocuklarda herhangi bir düz yüzey çürük belirtisi, 3-5 yaş aralığı için bir veya daha fazla kavitasyonlu, eksik (çürük nedeniyle) veya maksiller süt orta keserlerde dolgulu yüzey varlığı veya çürük, eksik veya dolgulu diş yüzeyinin 3 yaş için dört veya dörtten fazla, 4 yaş için beş veya beşten fazla ve 5 yaş için altı veya altıdan fazla olmasıdır [72].

EÇÇ, kontrolü zor olan ve en yaygın görülen kronik ve bulaşıcı çocukluk hastalığı olmasının yanı sıra önemli bir halk sağlığı sorunudur. EÇÇ, bireyleri ve toplumları birçok yönden etkilemektedir. Çocukluk ve erken ergenlik dönemlerinde sağlıklı dişlerin gelişimi üzerine büyük etkisi bulunmaktadır. Özellikle çocuklarda işlevsel bozukluklara neden olmakta; büyüme hızını, vücut ağırlığını ve gelişimi olumsuz etkileyerek yaşam kalitesini düşürmektedir [73].

Bebeklerde ve küçük çocuklarda gözlemlenen yaygın çürükler için “nursing caries” (biberon çürüğü), “nursing bottle syndrome” (biberon ağzı sendromu), “night bottle mouth” (gece biberon ağzı), “baby bottle tooth decay” (biberon dişi çürüğü) gibi adlandırmalar yapılmıştır. Bu terimler arasındaki ortak tema, biberon kullanımının çürük lezyonlarının etiyolojisinde ve ilerlemesinde merkezi bir rol oynadığını göstermektedir. EÇÇ teriminin, özellikle 3 yaşından küçük çocukların süt dişlerindeki çürüklerin spesifik virülan formu olarak daha önce bahsedilen terimlerin yerine kullanıldığı görülmektedir. Ancak ebeveynler, bakıcılar ve toplum tarafından sorunu anlaşılabilir hale getirdiği için bu terimlerin kullanımı yararlı olmaktadır. Biberon, temel sorun olarak görülse de EÇÇ' ye yol açabilecek başka nedenler de bulunmaktadır [73, 74].

Beslenme, ağız sağlığının yanı sıra genel sağlığı ve hayat kalitesini de

etkilemektedir. Bebeklerin anne sütü ile beslenmesinin gelişimsel, psikolojik, sosyal, ekonomik ve çevresel açıdan avantajlar sağladığı ve çok sayıda akut ve kronik hastalık riskini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Ancak 12 aydan fazla anne sütü ile beslenen çocuklarda çürük riski daha yüksek olmaktadır. Özellikle geceleri bebeklerin biberonla ve/ veya emzirme sırasında uykuya dalmasına izin verildiğinde anne sütü dişlerin üzerinde birikmekte ve çürük riski daha da artmaktadır [74, 75]. Yetersiz ağız hijyen uygulamaları ile bu durum birleştiğinde dişler üzerinde ağrıya, enfeksiyona ve erken kayba yol açabilmektedir [38].

EÇÇ'nin etkili şekilde önlenmesi için ebeveynler, bakıcılar, sağlık uzmanları ve diğer paydaşlar açısından farkındalığın artırılması gerekmektedir. Amaç, hastalık sürecinde mevcut olan veya sonrasında oluşabilecek risk ve komplikasyonlar açısından yeterli düzeyde eğitime ve bilgilendirmeyi baz alan stratejileri geliştirmektir [76]. AAPD, bebeklerde özellikle ilk süt dişinin çıkmasından sonra biberonla yatırılmamasını ve gece emzirmeden kaçınılmasını önermektedir. Bebekler 12- 14 aylık olduğunda biberondan ayrılmalı ve ebeveynler ile ortak bardak, kaşık gibi eşyaların kullanımından kaçınılmalıdır [31, 35, 77]. EÇÇ' nin önlenmesi açısından hastalık etkeni olan *S. mutans*' in, ebeveynlerden bebeğe geçişini azaltmak ve engellemek için önemli yaklaşımlardan biridir [76].

EÇÇ riskini azaltmak için çocuklarda günde iki kez fluor içerikli diş macunu ile fırçalama mevcut olan en iyi uygulamadır. Üç yaşından küçük çocuklar için sürüntü şeklinde veya pirinç boyutunda fluor içerikli diş macunu (yaklaşık 0.1 miligram fluor) kullanılmalıdır. Üç ile altı yaş arası çocuklar için bezelye büyüklüğünde fluor içerikli diş macunu (0.25 miligram fluor) kullanımı uygun olmaktadır. Diş macunu kullanımına bağlı fluorun yararlı etkisini en iyi seviyeye çıkarmak için fırçalama sonrası durulama minimumda tutulmalı veya hiç yapılmamalıdır [72].

EÇÇ prevelansının azaltılmasında profesyonel olarak uygulanan topikal florid uygulamaları önemli bir yere sahiptir. EÇÇ riski bulunan 6 yaşından küçük çocuklar için topikal florid uygulaması olarak %5 sodyum florür (NaF) vernik önerilmektedir [78]. Ek olarak %38 gümüş diamin florür (SDF) kullanımı süt dişlerinde kaviteyonlu çürük lezyonlarının durdurulmasında etkili olduğu gösterilmektedir [72].

Çağdaş çürük yönetimi felsefesi, geleneksel invaziv yaklaşımdan tıbbi bir modele dönüşmüştür. Florür tedavisi sadece çürükleri önlemek amacıyla değil aynı

zamanda durdurmak için de kullanılmaktadır. Profesyonel olarak uygulanan flor tedavisi, nispeten düşük maliyetli ve kolay uygulanan bir tedavidir. Aktif diş çürüklerini durdurmak için kullanılmaktadır [79].

### 2.3. Minenin Yapısı

Dişler, ağız epiteli ve nöral krest kaynaklı ektomezekim arasındaki bir dizi etkileşimin sonucu oluşmaktadır. Diş minesini, diş kronunu kaplayan epitelyal kökenli sert dokudur. Mine oluşumu, ektodermal kökenli ameloblastlar tarafından hücre dışı boşlukta hidroksiapatit kristalleri salgılanarak düzenlenmektedir [80]. Mine, dişin dış yüzeyini tamamen kaplamaktadır. Mine kalınlığı bireyler ve dişler arasında değişmekte ve birinci molara kadar artmaktadır. Aşınmamış kalıcı dişlerin uçlarında yaklaşık 2,5 mm (süt dişlerin uçlarında 1,3 mm) ve yan yüzeylerinde 1,3 mm kalınlığında olmaktadır [81].

Mine, vücudun en sert kalsifiye matris yapısındaki oluşumdur. Mine oluşumundan sorumlu hücreler olan ameloblastlar, diş ağız boşluğuna çıktıkça kaybolur ve bu nedenle mine kendini yenileyemez. Mine, bu doğal sınırlamayı telafi etmek için, maturasyon sonrası neredeyse tamamen organik matris yokluğu ile mümkün olan karmaşık bir yapısal organizasyon ve yüksek derecede mineralizasyon kazanmıştır. Bu özellikler, ameloblastların olağandışı yaşam döngüsünü ve son derece uzun mine kristallerinin oluşumunu düzenleyen matris proteinlerinin benzersiz fiziko-kimyasal özelliklerini yansıtmaktadır. Mine, yapısal olarak kollajen bazlı kalsifiye dokulardan farklı yapıya sahiptir. Ancak tüm kalsifiye dokuların oluşumunda temel benzerlikler ve ortak temalar vardır [82].

Mine, protein/ lipid matrisine gömülü milyonlarca küçük mineral kristalinden oluşmaktadır. İnorganik ve organik bileşenlerin bu kombinasyonu, dişlerin normal işlevlerini yerine getirmek için birbirini tamamlamaktadır [30]. Dişlerde oluşan mineral yapı, kalsiyum hidroksiapatit  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  ile yakından ilişkilidir. Maturasyonu tamamlanmış mine ağırlıkça %96 inorganik madde, %4 organik madde ve sudan oluşmaktadır. Ancak minenin inorganik içeriği, karbonat iyonları ile yer değiştirmiş kalsiyum fosfatlı hidroksiapatit kristali yapısındadır [82]. Kristal içeriğinde fosfatın yerini karbonatın alması saf yapıda olmasını engellemektedir [83]. Diş minesini, hücresel yapı içermeyen ve %80-90 karbonatlı kalsiyum hidroksiapatit kristallerinden oluşan bir dokudur. %10-20' lik kısım sıvı ve organik bileşenlerden ve

genellikle protein materyalinden oluşmaktadır [84]. Mine oluşumu sırasında mevcutsa, 40'tan fazla farklı eser element (stronsiyum, magnezyum, kurşun ve florür) kristallere dahil olmaktadır. Bu kristallerin asitle çözünmeye karşı duyarlılığı dış çürüklerinin kimyasal temelini oluşturur. Fluor iyonu, mineral kristallerini stabilize ederken; bu diğer elementlerden bazıları (magnezyum, sodyum, selenyum, karbonat, asit fosfat) kristallerin stabilizasyonunu azaltmakta ve çürüğe yatkınlığın artmasına neden olmaktadır. Ancak minede hücre bazında onarım mekanizmalarının olmaması nedeniyle, çürüğün oluşumunu ve tersine çevrilmesini gerektiren olaylar, dış-plak ara yüzündeki fizikokimyasal dengedeki değişime bağlı olmaktadır. [64, 82].

Mine oluşumu ve mineralizasyonu, dış organı içerisinde izole bir bölgede ve iki ameloblast hücre tabakası arasında gerçekleşmektedir. Mine içeriği tamamen onu kaplayan hücrelerin salgılama ve emilme faaliyetleriyle belirlenmektedir. Matristeki salgılar, çok aşamalı bir sürecin dinamik gereksinimlerini karşılamak için sürekli olarak izlenmeli ve sırayla değiştirilmelidir. Mine oluşumunun aşamaları şunları içermektedir [85]:

1. Organik matrisin salgılanması
2. Kristal çekirdeklenme
3. Kristal uzama
4. Organik matrisin çıkarılması
5. Kristal olgunlaşması

Mine prizması terimi, altıgen yapıda ve enine kesitte prizma benzeri olduğu için 'mine çubuğu' tanımının yerini almıştır. Mine, prizmalar ve interprizmatik alandan oluşmaktadır. Mine prizmaları, 60 ila 70 nanometre (nm) genişliğinde ve 25 ila 30 nm kalınlığında olan, sıkıca paketlenmiş ve uzun, şerit benzeri karbonapatit kristallerinden yapılmıştır [82]. Her bir hidroksiapatit kristali, 25 nm (alfa [ $\alpha$ ] ekseni) x 40 nm (beta [ $\beta$ ] ekseni) olan bir bazal yüze sahip altıgen bir konfigürasyona sahiptir [84]. Yaklaşık 100 adet ince ve uzun kristalin (<40 nm) kümelenmesi ile oluşan mine prizmaları (<4 mikron [ $\mu\text{m}$ ]) ve bu prizmaları çevreleyen prizma kılıfını oluşturan organik matriks bileşenlerini içermektedir. Prizmalar dentinden minenin dış yüzeyine kadar neredeyse dik bir şekilde uzanmaktadır [42, 86].

Mine prizmaları, minenin temel yapı birimidir. Boylamasına kesitte mine

prizmaları silindir şeklinde ve çapı ortalama 3-4 µm olmaktadır. Dentin-mine birleşiminden yüzeye doğru daha geniş yüzey alanına ulaşmak için 1:2 oranında prizma çapı kademeli olarak artmaktadır. Mine prizmaları enine kesitte anahtar deliği şeklini andıran bir baş ve kuyruk kısmından oluşmaktadır. Baş kısmı genellikle kesici veya okluzal yöne doğru yönlendirilirken, kuyruk kısmı dişlerin servikal bölgesine yönlendirilmektedir. Mine prizmasının gövde genişliği baş bölgesinde yaklaşık 5 µm, kuyruk da 1 µm olup toplam uzunluk (baş ve kuyruk) yaklaşık 9 mikrondur [87]. Anahtar deliği yapısının oluşması için dört ameloblasttan, biri başı (gerçek emaye çubuğu) diğer üçünün de boyun ve kuyruğu (interrod emaye) oluşturması gerektiği gözlemlenmektedir [88].

Morfolojik analizlerde minenin dış yüzey bölgesi, aprizmatik tabaka olan prizma içermeyen bir doku yapısı olarak görünmektedir. Süt dişlerinde aprizmatik tabaka, daimi dişlere göre karşılaştırıldığında bu bölgenin daha geniş olduğu sık görülmektedir. Analiz edilen süt dişlerinin %60' ından fazlasının aprizmatik yüzey bölgesi 16-45 µm kalınlığında iken, kalıcı dişlerin yarısında 5 µm' dan az aprizmatik bölge tespit edilmiştir [89].

Yeni sürmüş genç dişlerin minesini yüksek geçirgenliğe sahiptir. Bu durum, organik materyal ve su içeren çözünebilir sıvıların plaktan 200 µm mine derinliğine kadar nüfuz etmesine izin vermektedir. Genellikle tükürük, kalsiyum ve fosfat açısından aşırı doygun haldedir. Ancak plakta tükürük ile karşılaştırıldığında flor daha yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Asidojenik ataklar esnasında çözünür karbonat bakımından zengin HAP, flor iyon varlığında aside dirençli FHAP kristallerine özetle 4 aşamada dönüştürülür:

1. Florun HAP kristalleri üzerine adsorbsiyonu
2. HAP içindeki hidroksil gruplarıyla flor değişimi
3. FHAP oluşturmak için HAP' ın çözülmesi ve yeniden çökeltilmesi
4. Mineral fazların FHAP kristal büyümesi ile çökeltilmesi

Böylece mine, posterüptif maturasyona uğramaktadır. Maturasyon sonucu alttaki mineye erişim, minenin en dıştaki 20 µm ile sınır kalmakta ve geçirgenliğini azalmaktadır [64, 65, 90].

Mine, mikro gözenekli bir yapıya sahiptir. Kristaller arasında bulunan su dolu

boşluklar, difüzyon kanalları olarak görev yapmaktadır. Plak bakterileri tarafından üretilen asit, mine içindeki karbonapatit kristallerini çözmeden önce minedeki yapısal faktörler tarafından engellenmeye çalışılmaktadır. Su/ organik matriks yoluyla difüze olan asidin kristal yüzeylerdeki aktif bölgeler için protein ve lipid ile rekabet etmesi gerekmektedir. Kristallerin yakın paketlenmesi suyun difüzyonunu ve sonucunda mine çözünürlüğünü azaltmaktadır. Aynı zamanda homojen ve düzgün kristal yapısı daha az spesifik yüzey alanı oluşturmaktadır ve asit atağından daha az etkilenmesini sağlamaktadır. Bunun gibi yapısal faktörler minenin asitlere karşı direncini belirlemektedir [42, 86].

#### **2.4. Başlangıç Mine Çürüğü**

Başlangıç mine çürük lezyonları, sağlam bir mine yüzeyinin altında mineral kaybının çoğunlukta olduğu yüzey altı alanı anlamına gelen “beyaz nokta” lezyonları olarak tanımlanmaktadır [2, 6, 15, 38].

Klinik olarak, minedeki erken çürük lezyonu başlangıçta beyaz opak bir nokta olarak algılanmaktadır ve komşu sağlam mineden daha yumuşak olmasıyla karakterizedir. Hava ile kurutulduğunda giderek opak beyaz hale gelmektedir. Mine kesiti histolojik olarak incelendiğinde beyaz nokta lezyonunun tipik özellikleri ortaya koyulabilmektedir [91].

##### **2.4.1. Histolojisi**

Mikroradyografi ve polarize ışıkla yapılan çalışmalarda minede oluşan çürüklerde farklı bir demineralizasyon olduğu net bir şekilde gösterilmektedir [91-93]. 1932'de ilk olarak Applebaum tarafından mikroradyografi görüntülemesi yoluyla çürüklerde minenin demineralizasyonu incelenmiştir [94]. Erken mine lezyonlarında, kavitasyon oluşmadan önce minenin yüzey bölgesinin etkilenmemiş gibi görüldüğü ve alttaki minenin önemli ölçüde demineralize olduğu gözlemlenmektedir [94]. Lezyon tabakalarının benzer yöntemlerle incelenmesi sonucu mine yüzeyinde ve özellikle bu bölgedeki giriş yollarında, yüzey altı mine lezyonuna göre daha yavaş ve geç aşamada demineralizasyon noktalarının geliştiği gösterilmiştir [95].

Erken çürük lezyonlarının neden olduğu doku kaybının polarize ışık mikroskobu kullanılarak incelendiği çalışmalarda başlangıç mine çürüğünün 4 tabakadan oluştuğu saptanmış ve tabakalarda görülen tipik özellikler belirlenmiştir

(Tablo 2.1) [10, 96-98].

#### 2.4.1.1. Yüzey tabakası

Mine çürüklerinin yüzey bölgesi tipik olarak %1 ile %5 boşluklu bir gözenek hacmine sahiptir. Yüzey tabakasının gözenek hacmi, sağlam minenin 10-50 katı arasında olmaktadır [10]. Minenin yüzey altı bölgesine göre yüzey tabakasının sağlam kaldığı ve iyi şekilde remineralize olduğu düşünülmektedir. Yüzey tabakasına, yüzey altı bölgenin çözünmesiyle veya plaktaki doymuş çözeltilerden salınan kalsiyum ve fosfat iyonları çökmektedir. Bu nedenle bu tabaka bir remineralizasyon bölgesini temsil etmektedir [99, 100].

Mikroradyografik görüntülemelerde, yüzey tabakası radyopak olarak görülmekte ve radyolüsent olarak gözlenen yüzey altı tabakadan ayırt edilebilmektedir. Bu durum göz önüne alındığında yüzey tabakası çürükten daha az etkilenmiştir ve kalınlığı 20-100 µm arasında değişmektedir [44, 61].

Süt ve daimi dişlerde beyaz ve kahverengi lekelenmelerden elde edilen mine kesitlerinde yapılan taramalı elektron mikroskobu (SEM) çalışması sonucunda önemli bir mineral kaybının olduğu bölgeyi kaplayan sağlam bir yüzey tabakası gözlemlenmiştir. Yeni başlayan mine çürük lezyonlarının incelenmesi sonucunda; sağlam görünen yüzeyler, daha büyük fokal deliklerin varlığı, düzensiz yüzey yıkımı ve prizmatik yıkım modelinden oluşan 4 ana özellik gösterilmiştir [101]. Komşu sağlam mine yüzeyleriyle karşılaştırıldığında, yeni başlayan çürük lezyonlarının 40-50 µm' lik bir mine yüzey tabakasında %9,9 daha az mineral bulunmuştur [102, 103].

Yapay çürük lezyonlarının yüzey tabakasında, yaklaşık 0,5–1,5 µm çapında ve ortalama 100 µm uzunluğunda mikrokanallar gözlenmiştir. Bu kanallar, lezyon gelişiminde ve difüzyon süreçlerinde rol oynamaktadır. Mikrokanallar, yüzey minesinin perikimatasındaki prizmalardan köken almaktadır. Esas olarak diazonlarla bağlantılı olarak Hunter-Schreger bantları yönünde uzanmaktadırlar [104]. Bu ve bunun gibi yapılan birçok çalışmada minedeki erken çürük lezyonu, belirgin bir perikimata paterni ve fokal delikler ile bağlantısı görülmektedir [101, 103, 105].

Başlangıçta yüzey tabakasının korunması, minenin apatit kristallerini stabilize eden yüksek florür ve düşük konsantrasyonlarda karbonat ve magnezyum iyon içeriğinden kaynaklanmaktadır. Bu doku bölgesi, mineral içeriği sayesinde asit atağına

ve çözünmeye karşı etkili bir şekilde korunmaktadır. Öte yandan asit daha derin, daha çözüner katmanlara nüfuz ederek dış dokuya nispeten iç dokudaki minerali ortadan kaldırmaktadır. Dış doku daha sonra fluor biriktirmeye devam edebilmektedir. Böylece aside daha da dirençli hale gelebilmektedir [84].

Bozulmamış, nispeten etkilenmemiş yüzey tabakası alttaki lezyonu kavitsiyondan korumaktadır. Öte yandan bu bölge florür ajanlarının hızlı alımını ve lezyon gövdesinin remineralizasyon sürecini de engellemektedir. Mine çürüklerinin remineralizasyonu mümkündür. Ancak remineralize edici ajanlara sürekli maruz kalmayı gerektirmektedir. Yüzey bölgesi hafifçe gözenekli hale getirilebilirse ve bütünlüğü korunabilirse, lezyonun altındaki gövdenin remineralizasyonu sağlanabilmektedir [97, 100].

#### **2.4.1.2. Lezyon gövdesi**

Yüzey altı tabakası (lezyon gövdesi) (30 µm), yüzeye paralel görünebilir veya üst kısmı dentin-mine birleşimine doğru yönlendirilmiş üçgen şekline bürünebilmektedir [98]. Lezyonun merkezi, en büyük demineralizasyon alanı olarak bilinmektedir. Bu mine çürüğü bölgesi, çevresinde %5'lik bir gözenek hacmine sahiptir ve orta kısmında bu oran %25'i aşmaktadır [100]. Lezyon gövdesi, sağlam mine yüzeyinin yaklaşık 15 ila 30 µm altında bulunmaktadır [64]. Mine yüzey altı tabakası yani lezyon gövdesi %10-70 aralığında değişebilen mineral kaybına sahiptir [91].

#### **2.4.1.3. Karanlık tabaka**

Polarize ışık altında bakıldığında karanlık tabaka pozitif çift kırılma göstermektedir. Bünyesinde yer alan boşluklar sebebiyle %6 oranında hacminde azalma meydana gelmektedir [98].

Minedeki lezyon oluşumu kısa bir süre içinde gerçekleşirse, karanlık bölge oluşmamaktadır. Büyük kısmı demineralize edilmiş bir lezyon gövdesi ve minimum kalınlıkta bir yüzey bölgesi ile ön kısımda hızlı bir ilerleme olmaktadır. Lezyon gelişimi uzun bir süre boyunca meydana gelirse, saydam tabakadan mineral fazlarının yeniden çökeltilmesiyle bir remineralizasyon bölgesi (karanlık tabaka, kinolin içinde pozitif çift kırılma) meydana gelmektedir [64]. Lezyonların %85-90'ında meydana

gelen pozitif çift kırılma, sağlam minenin negatif çift kırılması ile tezat oluşturur. Bu bölgede meydana gelen pigmentasyon, çözünmüş mine kısımlarında bulunan mikroorganizmaların durdurulmasından kaynaklanmaktadır. Karanlık tabaka, boşlukların %2-4'ü kadar bir gözenek hacmi içerir ve moleküler elek gibi davranmaktadır. Mineral açısından incelendiğinde magnezyumda %12'lik bir kayıpla birim hacim başına %6 oranında azalmaktadır [98].

#### 2.4.1.4. Saydam tabaka

Saydam tabaka, hiper (remineralize) mineralize katmanlar ve artan kristal hacmi ile minenin başlangıç çürüğünde son tanımlanan bölgedir. Dentine doğru yönlendirilmiş bir apikal kısım ile koni şeklindeki yapı (minede üçgen şekilde), halinde kendini göstermektedir. Lezyonun tüm ilerleyen cephesi boyunca her zaman mevcut olmamaktadır. Saydam tabakanın genişliği 5-100 µm arasında değişmekle birlikte ortalama 40 µm olarak bulunmuştur. Yaklaşık %1 boşluk içerirken, sağlam mine boşlukların yaklaşık %0,1' ini içermektedir. Genişlemiş olan bu boşluklar muhtemelen kristallerin yönünün aniden değiştiği prizmaların çevresinde yer almaktadır. Mineral kaybı %1,2 olarak bulunmuştur. Yapılan mikrokimyasal çalışmalarda yüksek flor, düşük karbonat içeriği ile magnezyum kaybı tespit edilmiştir. [64, 84, 98].

**Tablo 2.1:** Başlangıç mine çürüğü tabakalarının mineral kaybının özeti [97]

	Kırılma Paterni	X-Ray	Mineral Kaybı (%)
Yüzey Tabakası	-	Opak	10
Lezyon Gövdesi	+	Lusent	24
Karanlık Tabaka	+	Opak	6
Saydam Tabaka	-	Opak	1,2

#### 2.4.2. Klinik görünüm

Günlük pratikte diş hekimleri, diğer sağlık çalışanları veya hastalar tarafından genel anlamda çürük lezyonunda bir boşluğun oluşumu aranmaktadır. Kavitasyon

veya çürük yüzey, hastalık sürecinin devamlılığının bir göstergesidir. Diş çürüğü, moleküler düzeyde yüzey altı değişikliklerinden sağlam bir yüzey ya da kaviteye sahip dentin tutulumu görülen lezyonlara kadar değişen, hastalık durumlarının bir sürekliliği olarak tanımlanmaktadır. Diş çürüğünün varlığının veya yokluğunun değerlendirilmesi, seçilen tanısal değerlendirme yöntemlerine bağlı olmaktadır. Bu değerlendirme, tedaviyi uygulayan kişinin kararlarını büyük ölçüde etkilemektedir. Bu yüzden doğru tanıya ve doğru tedaviye varma noktasında lezyonun özelliklerini bilmek önemli olmaktadır [2].

Mine çürüğü lezyonları, görünüşte sağlam bir yüzey tabakasının altındaki mineral kaybı ile karakterizedir. Lezyon gövdesi yapısında artan gözeneklilik düzeyi bu lezyonların karakteristik beyazımsı görünümüne neden olmaktadır [106]. Dişlerin özellikle bukkal yüzdeki bu beyaz nokta lezyonlarının varlığı, genellikle EÇÇ' de uygun olmayan biberonla beslenme sonucu ve ortodontik braketerlerin etrafındaki plak birikimi alanlarıyla ilişkili olmaktadır [76, 107].

Minenin yarı saydamlığı, kristaller arası boşlukların boyutuna bağlı olan optik bir olgudur. Erken evrelerde, aktif çürüklerin görülebilmesi için havayla kurutulması gereklidir. Çünkü minenin dış yüzeyinde çevre kristallerinin çözünme süreci başlamaktadır. Kristaller arası boşlukların daha fazla genişlemesi sonucu hava ile kurutulmadan görülebilen beyaz nokta lezyonu ile sonuçlanmaktadır [108]. Dehidrasyon durumunun minenin yarı saydamlığı üzerindeki etkisi, mine prizmalarının etrafındaki suyun hava ile yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır. Akışkan bir ortamla çevrelenmiş mine prizmaları gibi heterojen bir sistemdeki saçılmanın etkisi, ilgili iki bileşenin kırılma indislerindeki farkın bir fonksiyonudur. Minenin kırılma indisi yaklaşık 1.65'tir. Suyun kırılma indisi 1.33 ve havanın 1.00 olması nedeniyle, daha büyük fark oluşmaktadır. Sonuç olarak daha büyük bir saçılma, mine/hava etkileşiminde üretilir [109, 110].

Beyaz nokta lezyonunun görünümü, aktivitesi ile ilişkilidir. Klinik kontrol sonucu, tebeşirimsi ve pürüzlü yapıdan (aktif); parlak ve pürüzsüz (aktif olmayan) bir değişim gözlenmektedir. Etkilenen minenin mekanik olarak çıkarılması, remineralizasyon sağlanarak beyaz nokta lezyonlarının gerileyebileceği ve hatta kaybolabileceği öne sürülmektedir [111]. Ancak uzun süredir var olan beyaz nokta lezyonlarında florolu diş macunu ve jelin kullanıldığı klinik çalışmalar, remineralizasyonda önemli bir artışın sağlanamadığını göstermiştir [112, 113].

Önleme ve tedavi için yeni stratejiler keşfetmenin önemi, başlangıç aşamasındaki çürüklerin ilerleme potansiyeline sahip olması gerçeğinde yatmaktadır. [114]. Yüzey altı lezyon oluşumu ve ilerlemesinin mekanizmasının net bir şekilde anlaşılması, yeni yöntemlerin olasılıkları ve sınırlamaları ve bunların klinik uygulamaları, yüksek çürük riski olan bireylere önleyici stratejileri yönlendirmek için diş hekimi tarafından tanınmalıdır.

## **2.5. Başlangıç Mine Çürük Remineralizasyonunu Sağlayan Ajanlar**

### **2.5.1. Fluor**

1980'li yıllarda çeşitli formlardaki florürün karyostatik özellikleri, yapılan çok sayıda kontrollü klinik ve laboratuvar çalışmaları ile gösterilmiştir [21, 115-117]. Fluorun diş yüzeyi ve ağız sıvıları arasında meydana gelen demineralizasyon ve remineralizasyon üzerindeki topikal etkisi yoluyla çürük lezyon gelişimini kontrol ettiği kavramı ortaya konmuştur. Topikal olarak uygulanan bir terapötik florür ajanı; lezyon gelişimini önlemede, aktif kaviteye lezyonların ilerlemesini durdurmada ve başlangıç mine çürüklerinin remineralize edilmesinde etkili olmaktadır [21, 118].

Okul öncesi çocuklar için florür kaynakları arasında fluorlu içme suyu, fluorlu su ile sulandırılmış bebek maması, fluorlu alanlarda üretilen yiyecekler/içecekler ve florür takviyeleri, florürlü diş macunu ve florür vernik yer almaktadır. Bahsedilen florür uygulamaları, sistemik ve topikal uygulamalar olarak iki ana başlık altında toplanmaktadır [21, 35, 119].

#### **2.5.1.1. Sistemik florür uygulaması ve etki mekanizması**

Diş çürüklerini önlemek ve kontrol altına almak için sistemik olarak fluor alınması fikri 1870' li yıllara dayanmaktadır. İçme sularının, tuz ve sütün floridlenmesi ve diyet ile florür takviyelerinin yapılması fluorun sistemik uygulamaları arasında yer almaktadır. Ancak 1930' lu yıllarda diş çürüğü prevalansını azaltma konusunda içme sularının floridlenmesi; fluorun tablet şeklinde alınmasına göre daha kabul edilebilir bir strateji olarak görülmüştür [120]. 1945 yılı ve sonrasında suyun florlanmasına dair yapılan ilk çalışmalarda, içme suyunda florür bulunan şehirlere yaşayan çocuklarda florürlü su içermeyenlere göre çürük prevalansında yaklaşık %60' a varan bir azalma olduğu tespit edilmiştir [121, 122].

Sistemik olarak alınan fluorun diş çürüklerini engellediğine dair teori, gelişmekte olan dişlerin mineral yapısındaki hidroksiapatit yerine florapatit ile yer değiştirilmesine dayanmaktadır. Ancak zaman içerisinde klinik açıdan çürük azalması tam olarak açıklanamamıştır. Bunun nedeni gelişmekte olan minere az miktarlarda florapatit oluşmasıdır [123-125].

1950'lerden 1980'lerin sonuna kadar süregelen çalışmalar, sistemik uygulamaların popülaritesini anlamak için önemlidir. Suyun florlanmasıyla ilgili ilk yayınlar bu yöntemin faydalı etkilerinin ömür boyu süreceği yönünde olmuştur. Ancak fluorun etki mekanizmasının anlaşılması ile sistemik uygulama kaynaklı etkiden ziyade birincil topikal etkinin daha önemli olduğu gözlemlenmiştir. Sistemik florür uygulamalarının sürmüş ve sürmemiş diş minesindeki etki mekanizması en basit haliyle şu şekildedir [119, 120, 126]:

1. Ağız içerisine sürmeden önce diş mine yüzeyi, diş folikülünü çevreleyen doku sıvısıyla temasta olması nedeniyle topikal olarak fluora maruz kalmaktadır. Böylece sürme öncesi dönemde mine yüzeyinde fluor açısından zengin bir bölge oluşturulmaktadır.

2. Fluorlu su ve diyet takviyeleri gibi yutulmuş fluor, sürmüş dişler üzerinde yutmadan önce artan tükürük ve dişeti oluşu fluor seviyelerine bağlı topikal etki sağlamaktadır. Yutma sonrası yüksek plazma fluor seviyesi, tükürük ve dişeti oluşu fluor seviyesinin artmasını sağlayarak bu topikal etkiyi devam ettirmektedir.

Florür uygulamaları uygun şekilde yapıldığı zaman çürüğü önlemede güvenilir ve etkilidir. Ancak fazla doz alımı endokrin bozukluk, azalmış bilişsel yetenek, iskeletsel veya dental florozis gibi birçok önemli yan etki oluşturabilmektedir. Florür takviyelerinin kullanımı sonucu çürüklerin önlenmesi üzerindeki faydalı etki ile dental florozis prevalansının potansiyel olarak artması arasında iyi bir denge sağlanmalıdır. Yararlar ve riskler arasındaki bu denge, çocuğun yaşı ve çürük risk durumundan etkilenebilmektedir [120].

#### **2.5.1.2. Topikal florür uygulaması ve etki mekanizması**

Koruyucu diş hekimliğine dayalı olarak, çeşitli formlarda kullanılan florürün diş çürüğünü önlemede etkili olduğu kanıtlandığından beri topikal florür kullanımı çürük lezyonlarıyla mücadelede önemli yere sahip olmuştur [127]. Topikal florür,

kalıcı ve süt dişlerin açıkta kalan yüzeylerine lokal koruyucu etki için yüksek konsantrasyonlarda fluor sağlayan sistemler olarak tanımlanmaktadır. Topikal florür uygulamaları, profesyonel (vernük, jel, köpük, yavaş salınan cihazlar ve solüsyonlar) ve bireysel olarak uygulanan (diş macunu, ağız gargarası ve çiğneme sakızları) olmak üzere iki geniş kategoriye ayrılmaktadır [128-130]. Solüsyon, jel ve vernük şeklinde en sık kullanılan florür ajanları; sodyum florür gargara ([NaF] %2 F), sodyum florür vernük ([NaF] %2.26 F, 22600 ppm F), asitlendirilmiş fosfat florür ([APF] %1.23 F, 12300 ppm F), kalay florür ([SnF<sub>2</sub>] %5 F, 44800 ppm F) ve amin florürdür [126, 131].

Florür ajanı; diş minesinin demineralizasyonu engelleme, remineralizasyonunu sağlama ve plak bakterileri tarafından asit oluşumunu önleme şekilde çürük gelişimi ile mücadele etmektedir [30, 132, 133]. Diş gelişimi sırasında mineral yapıya normal (20-100 ppm) veya yüksek fluor seviyelerinin (1000 ppm) dahil edilmesinin mineral çözünmesinde yetersiz kaldığı tespit edilmiştir [118, 134]. Karyostatik etki için diş dokusunun çevresinde sürekli olarak florür bulunmalıdır. Mineral yüzeyde CaF<sub>2</sub> veya CaF<sub>2</sub> benzeri bir çökelti olarak, diş plağı içinde, tükürükte veya oral rezervuarlarda serbest veya bağlı olarak (yumuşak doku, dıştaşı gibi) fluor varlığında mineral yüzeyde birikmektedir [135]. Karyojenik bakterilerin ürettiği asitin etkisi ile dişe en yakın depo ürünlerinden alınan florür kristallerin yapısına dahil edilir, kristal yüzeyine adsorbe edilir ve mineralin interstisyel sıvısına katılmaktadır. Florürün etkili olması için interstisyel sıvıda 0,02 miligram/litre (mg/l) kadar az miktar bile yeterli olmaktadır ve diş dokusunu çözünmeye karşı korumaktadır [118, 136].

Remineralizasyonun desteklenmesi, fluorun hidroksiapatit yapısındaki OH<sup>-</sup> (hidroksil) iyonunun yerini daha iyi şekilde almasının bir sonucudur. Fluor varlığında hidroksiapatit kristali, yalnızca ağız ortamı pH'sı 4,5- 5,0'in altına düştüğünde çözünmeye başlayan florapatit gibi davranmaktadır. Böylece demineralizasyon için kritik pH'ın yaklaşık 0,5- 1,0 birim kadar daha asidik bir kritik pH değerine kaydığı anlamına gelmektedir. Ortam pH'sı, yeni kritik pH'ın (pH 4,5- 5,0) üzerinde daha az asidik değerlere döndüğü zaman mineral yapısına fluor yerleşir ve minerali daha az çözünür hale getirmektedir [137].

Florür, başlangıç mine çürüklerinin invaziv olmayan tedavisinde etkili bir ajandır. Ancak florürün net remineralizasyonu destekleme yeteneği, ortamda kalsiyum ve fosfat iyonlarının mevcudiyeti ile sınırlı kalmaktadır [20]. Florür uygulandığında, tükürük veya plakta yeterli kalsiyum ve fosfat iyonları mevcutsa, fluor iyonları mevcut

kavitesiz çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağlayabilmektedir. Florapatit veya florhidroksiapatitin oluşması için fluor iyonlarının yanı sıra kalsiyum ve fosfat iyonları da gereklidir [20, 138, 139].

Florürün diş çürüklerinin ilerlemesine karşı bir diğer topikal etki mekanizması ise karyojenik bakterilerin asit üretimini engellemesidir. Birçok çalışmadan elde edilen veriler, iyonize formdaki fluorun ( $F^-$ ) bakteri hücre duvarını ve zarını geçemediğini ancak hidrojen florür (HF) formunda hücre duvarı aracılığıyla bakterinin içerisine girebildiğini göstermiştir [140-142]. Bakteriler tarafından asit üretimi sonucu açığa çıkan hidrojen iyonu ( $H^+$ ) ile plak sıvısında bulunan fluor iyonunun ( $F^-$ ) bir kısmı hidrojen iyonları ile birleşmektedir. Oluşan HF formu, hızlıca bakteri hücresine diffüze olmaktadır. Hücre içine girdiğinde HF tekrar ayrışır. Hücre içi asidik hale gelir ve fluor iyonları sayesinde bakterideki enzim aktivitesine müdahale edilmektedir [30].

Florür vernikler, temelde fluor ve diş minesi arasındaki temas süresini uzatmak için geliştirilmiştir. Çünkü diş yüzeyine daha uzun süre (12 saat veya daha fazla) ince bir tabaka halinde yapışmaktadır ve uygulama sonrası ani fluor kaybını önlemektedirler. Yavaş salınım gösterme özelliği sayesinde akut toksisite olasılığı olmayan fluor rezervuarlarını ağız ortamına serbest bırakılmaktadırlar [131]. Uygulama sonrası en yüksek fluor salınımı ilk üç hafta içinde olmaktadır ve ilerleyen zamanlarda kademeli şekilde salınım göstermektedir [143].

Topikal florür (özellikle yüksek konsantrasyonlar) uygulamaları tarafından desteklenen tükürükle remineralizasyonda, baskın olarak minenin yüzey tabakası ile sınırlı kaldığını gösteren birçok çalışma mevcuttur [144-146]. Beyaz nokta lezyonlarının yüksek konsantrasyonlu topikal florür uygulaması sonrası, yüzeyde gerçekleşen remineralizasyon ve gözeneklerin tıkanması, daha derindeki lezyonun estetik ve yapısal özelliklerini iyileştirmek için yetersiz kalmaktadır. İdeal olarak, bir remineralizasyon sisteminin amacı, yalnızca yüzey tabakasında birikme yerine yüzey altı mineral kazanımını destekleyen stabilize biyoyararlı düşük konsantrasyonlarda kalsiyum, fosfat ve fluor iyonlarını sağlamaktır. Bu gözlem aynı zamanda beyaz nokta lezyonlarının oluşumunu önlemek ve optimal remineralizasyonunu sağlamak için düşük florürlü ağız gargaraları, jeller ve diş macunları kullanma ihtiyacını da vurgulamaktadır [14, 65].

Birçok ülkede birden fazla florür kaynağına maruz kalınması ve yaygın olarak bulunması çürük prevalansının azaltılmasında etkili olmaktadır. Ancak topikal florür

uygulamalarının tek başına çürükleri azaltmadaki etkisi ve florozis potansiyel riski açısından güvenilirliği halen netlik kazanmamıştır. Gelişmiş ülkelerde yaşayan çocuklar, özellikle diş macunu olmak üzere bazı florür kaynaklarına maruz kaldığından ve yan etkiler nadir (akut florür toksisitesi gibi) veya daha hafif (hafif şiddette diş florozisi gibi) olabileceğinden, bu durum önemli hale gelmektedir [147, 148].

### **2.5.2. CPP-ACP (kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat)**

CPP-ACP, kazein fosfopeptidleri (CPP) ve amorf kalsiyum fosfat (ACP) kompleksinin kısaltmasıdır. Kazeinler, alfa 1, alfa 2 ve beta kazeinlerin baskın olduğu heterojen bir protein ailesine sahiptir. Kazein fosfopeptidler (CPP), süt proteini kazeinin triptik sindirimi ile üretilen fosforile kazeinden türetilmiş peptitlerden oluşmaktadır [149].

Süt ürünlerinin (süt, süt konsantreleri ve peynirler gibi) çürük üzerindeki etkisi, 1980 yıllarında peynirin topikal antikaryojenik etkisi gösterildiğinden beri bilinmektedir. Bu ürünlerin koruyucu etkisi, fosfoprotein kazein ve kalsiyum fosfat içeriklerinin doğrudan kimyasal etkisine bağlanmaktadır [150].

CPP-ACP, statherin ve prolinden zengin proteinlere benzer bir şekilde kalsiyum ve fosfatı stabilize ettiği için bir tükürük biyomimetığıdır. Tükürüğün remineralizasyon kapasitesini arttırmaktadır. Uygulama sonrası ağzın durulanmasına gerek yoktur ve yutulması güvenlidir. Bu iyonun önemli etkileri göz önüne alındığında, florürün bir alternatifi değildir. Ancak CPP-ACP'nin mevcut lezyonların remineralizasyonu için sınırlayıcı bir faktör olan kalsiyum ve fosfat iyonlarını sağlamada önemli bir role sahiptir [151]. Kazein fosfopeptid, kalsiyum ve fosfat iyonlarını bağlayarak amorf kalsiyum fosfatlı nanokümler oluşturmaktadır. Bu CPP-ACP nanokümleri, yüzey altı lezyonu içinde yüksek konsantrasyonlu kalsiyum ve fosfat iyonları ve iyon çiftleri gradyanlarını tutabilmektedir. Lezyon sıvısındaki iyon konsantrasyonundaki artış, kristal büyümesi yoluyla hidroksiapatit veya florapatit oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Böylece mine demineralizasyonunu baskılayarak remineralizasyonu arttırmaktadır [150, 152].

Yeterli seviyede kalsiyum ve fosfat iyonları, florür iyonları ile birleştirildiğinde (CPP-ACPF), bu kombinasyonun mine lezyonlarının önemli ölçüde remineralizasyonunu sağlayabileceği gösterilmiştir. CPP-ACP ile birleştirilen

florürün, beyaz nokta lezyonunun gövdesine dahil olduğu ve minenin en dış yüzey tabakasında lokalize olmadığı tespit edilmiştir. Kalsiyum ve fosfat iyonları ile florür iyonlarının lezyonun derinliklerine difüzyonu, lezyon gövdesi boyunca önemli remineralizasyon potansiyeli sağlamaktadır [20, 151, 153].

Başlangıç aşamasındaki çürük lezyonlarının minimal invaziv tedavisinde florür uygulamalarının yanı sıra CPP (Recaldent, ABD), stabilize edilmemiş ACP (Enamelon, ABD), CPP-ACP F (Recaldent, ABD) gibi yeni önleyici formülasyonlar yer almaktadır [20, 71].

### **2.5.3. Trikalsiyum fosfat (TCP)**

Beta-trikalsiyum fosfat ( $\beta$ -TCP), hidroksiapatitin dönüşümünde bir geçiş fazı olarak ortaya çıkabilen, biyolojik sistemlerle uyumlu ve biyoaktif bir materyaldir.  $\beta$ -trikalsiyum fosfat (TCP), florür ile birlikte diş macununda, vernikler ve ağız gargaraları gibi remineralize edici sistemlerde uygulanmaktadır [154].

$\beta$ -TCP'nin yapısı, işlevselleştirilmiş  $\beta$ -TCP (fTCP) oluşturmak için karboksilik asitler ve yüzey aktif maddeler ile bir araya getirilerek değiştirilmektedir [155]. fTCP; diş macunu, jel, gargara ve vernik gibi tek fazlı sulu veya susuz topikal florür formülasyonuna dahil edilen özel, düşük dozlu bir kalsiyum fosfat sistemidir [156, 157].

Remineralizasyon çoğunlukla tükürük kalsiyum ve fosfat iyonları tarafından yönlendirilmektedir. Oysaki fTCP'nin birincil amacı, florürün diş yüzeyindeki etkisini iyileştirmektir. fTCP'nin işlevi, florür ve kalsiyum arasındaki erken etkileşimleri engellemek ve böylece ağız bakım ürünleri veya gargaralar diş yüzeyine uygulandığında hedeflenen düşük doz florür dağıtım sisteminin oluşmasına izin vermektir [154, 157].

### **2.5.4. Nanohidroksiapatit**

Hidroksiapatit (HAP) ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), medikal ve dental uygulamalar için en önemli biyoseramiklerden biridir [158]. Nano boyutlu hidroksiapatit partikülleri, morfolojik ve kristal yapı açısından diş minesinin apatit kristali ile benzerlik göstermektedir [159]. Nano-hidroksiapatit (nHAP) içerikli diş macunu, 1980'lerden beri Japonya'da ticari olarak mevcuttur ve okul çocuklarında kullanımı 1993'te bir çürük önleyici madde olarak onaylanmıştır [160]. Yapılan çalışmalarda, nano-

hidroksiapatitin diş macunu, gargara gibi ürünlere ilave edildikten sonra çürük lezyonlarını remineralize etme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir [161-163]. nHAP ve florun kombinasyonu, hem nHAP hem de florun etkinliğini arttırmaktadır [162].

nHAP, demineralize diş yüzeylerindeki mikro gözenekleri doğrudan doldurarak işlev görmektedir. Mine gözeneklerine nüfuz ettiğinde, remineralizasyon solüsyonundan sürekli olarak büyük miktarlarda kalsiyum ve fosfat iyonlarını mine dokusuna çekerek remineralizasyon sürecinde bir şablon görevi görmektedir. Böylece kristal bütünlüğünü ve büyümesini desteklemektedir [137]. nHAP yapısındaki etkinliği artmış nano parçacıkları, demineralize mine yüzeyi üzerine çökeldiği ve kalsiyum-fosfat deposu işlevi yaparak ağız içi mineral saturasyonunu arttırdığı bildirilmiştir [164].

Küçük boyutları sayesinde proteinlerin bağlanabileceği yüzey alanını artıran nanopartiküllerin, plak ve bakteri parçalarıyla güçlü şekilde bağlanma yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu mekanizma nHAP' e asidik değişimleri kısıtlama, demineralizasyonu önleme ve remineralizasyonu artırma gibi özellikleri kazandırdığı düşünülmektedir. nHA'nın, florürüne benzer ve hatta daha üstün bir etkinlikle başlangıçtaki mine lezyonlarını remineralize etme potansiyeline sahip olduğunu gösteren birçok in vitro çalışma mevcuttur. Remineralizasyonda altın standart olarak kabul edilen florür, mine tabakasını güçlendirirken, biyomimetik nano-hidroksiapatitin diş yüzeyinde yeni bir sentetik mine tabakası oluşturduğu gözlemlenmiştir [164-167].

Düzenli günlük kullanım ile erken mine lezyonlarının remineralizasyonu için %10' luk nHAP optimal konsantrasyon olarak görülmektedir [166, 168]. 1980'lerden beri nHA içerikli ürünler mevcut olmasına rağmen, florürlü diş macunlarına karşı üstün etkinliğini kanıtlayan iyi tasarlanmış bir randomize kontrollü çalışma henüz mevcut değildir. Ayrıca nötr koşullar altında, nHAP'nın diş mine çürük lezyonunun remineralizasyonunu desteklediği görülürken lezyonun tamamında etkili bir remineralizasyon gözlemlenmemiştir [164]. Klinisyenlerin fluorlu diş macunu veya gargara yerine nHAP içerikli ürünleri önerebilmesi için daha fazla kanıt ihtiyacı vardır [9].

### 2.5.5. Dikalsiyum fosfat dihidrat ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )

Dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD), asidik koşullar altında stabil bir kalsiyum fosfat fazı olduğu için çürük lezyonun iyileştirilmesinde önemli bir rol oynayabilmektedir [169]. DCPD ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), apatitin oluşumunda öncü bir materyal olarak florür varlığında kolayca florapatite dönüşebilmektedir. Florapatit oluşumu, minenin bir kısmının ilk olarak asidik bir kalsiyum fosfat çözeltisi ile ön işleme tabi tutularak dikalsiyum fosfat dihidrata dönüştürüldüğü bir yeniden kristalleştirme işlemiyle gerçekleşmektedir. Daha sonra DCPD ile florür reaksiyona girerek florapatit oluşturmaktadır [170].

Dikalsiyum fosfat dihidratın diş macununa dahil edilmesi, plak sıvısındaki serbest kalsiyum iyonlarının seviyelerini arttırmaktadır. Geleneksel silika diş macunlarına kıyasla, fırçalamadan sonra 12 saate kadar yüksek seviyede kalabilmektedir. DCPD'den gelen kalsiyum, diş minesine dahil edilmektedir. Ayrıca flor ile kombine halinde DCPD içeren diş macunu ile fırçalamadan 18 saat sonrasında plakta tespit edilebilmektedir [171, 172].

Wefel ve Harless tarafından yapılan DCPD ve fluorun diş macununda kombine kullanıldığı in vitro çalışmada DCPD'nin fluora göre daha hızlı ve etkin bir remineralizasyon sağladığı bildirilmiştir [169]. DCPD ve fluorun oluşturduğu florapatit reaksiyonu, in vivo çürük lezyonlarının remineralizasyonu için potansiyel olarak umut verici bir tedavi olarak görülmektedir [168].

### 2.5.6. Sodyum trimetafosfat (sTMP)

1960' lı yıllardan beri fosfat tuzlarının karyostatik etkisi araştırılmaktadır. Sodyum trimetafosfat (TMP), fosfat tuzları arasında en etkili çürük önleyici ajan olarak ortaya çıkarılmıştır [173, 174]. Fosfat tuzları genellikle nötral pH değerlerinde tampon görevi görmektedir. Çürük, mine yüzeyi ve gözeneklerinde mineralin asitler tarafından seçici olarak çözülmesinin bir sonucudur. Böylece TMP, çözülmüş fosfat grupları ile yer değiştirerek asit ataklarında mine yüzeyini çözülmeye karşı korumaktadır [174].

Birçok çalışmada TMP ve florürün lezyon içindeki etki mekanizmalarının farklı olduğu tespit edilmiştir. TMP, özellikle demineralizasyonun önlenmesinde etkili olmaktadır. Öte yandan kristal yüzeye bağlanarak kristal büyümesini ve dolayısıyla

remineralizasyonu engellemektedir [175]. TMP, lezyonun dış kısmında remineralizasyonu önlemesi ve iyon difüzyonunun remineralizasyonda hız sınırlayıcı olması nedeniyle lezyon içine daha fazla kalsiyum akışı olmaktadır. Böylece lezyonun derin katmanlarında remineralizasyon sağlanmaktadır. Bu çökelti, lezyon önündeki prizmatik gözenekleri daha etkili bir şekilde bloke ederek alttaki sağlam mineye asit difüzyonunu engellemektedir. Florür, lezyonun remineralizasyonunu arttırmada etkilidir. Öte yandan lezyon içinde fluor açısından zengin bir çökelti, daha derin katmanlara asit difüzyonunu tamamen engelleyememektedir [176-178]

Minenin demineralizasyonunu önlemek için kullanılan fluor içerikli ürünlere sodyum trimetafosfatın eklenmesi, fluor kapasitesinin optimize edilmesinde işlev görmektedir [179-182]. Takeshita ve ark' nın yaptığı bir çalışmaya göre TMP' nin potansiyel etkisine ilişkin özellikle fluorun sınırlandırılması gereken durumlarda çürük önleyici bir ajan olarak kullanılması önerilmektedir [180].

### **2.5.7. Kalsiyum karbonat**

Kalsiyum karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ), diş macununda aşındırıcı olarak kullanılan alkali ve tamponlayıcı bir ajandır. Diş macunu içerisinde sodyum monoflorofosfat (SMFP) ile kombine edilerek kullanılmaktadır [183, 184].

Kalsiyum karbonat içerikli diş macunu, bazik pH değeri ve tamponlama kapasitesine sahip olmasına rağmen nötral pH' da çok az çözünürlüğe sahiptir. Ancak bu özellik  $\text{CaCO}_3$ ' in dental plağın asidojenitesi üzerine etkisini sınırlayabilmektedir. Duke 'un yaptığı bir çalışmada,  $\text{CaCO}_3$  içerikli diş macununu uygulamadan birkaç saat sonra bile dental plakta küçük partiküller halinde depolandığı gösterilmektedir [184]. Ağız ortamında asidik pH değerlerinde ulaşıldığında depolanan partiküllerin çözünürlüğü artmaktadır. Böylece plağın karyojenik etkisi azalmakta ve fluorun etkinliğini arttırmaktadır [184].

Kalsiyum karbonat ile SMFP içeren diş macunu kullanımı, çürükleri azaltma konusunda etkili olabilmektedir. Ayrıca  $\text{CaCO}_3$ , ağız ortamında kalsiyum seviyesinin yükseltilmesi ve dental plağın nötralize edilmesi gibi faydalar sağlayabilmektedir [185]. Ancak yeni geliştirilen remineralizasyon ajanlarıyla kıyaslamak amacıyla daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir [186].

### 2.5.8. Kalsiyum fosforil oligosakkaritleri

Kalsiyum fosforil oligosakkaritleri (POs-Ca; Japonya), çözünebilir kalsiyumun biyolojik olarak kullanılabilen bir formudur. POs-Ca, patates nişastasının enzimatik hidrolizlenmesiyle üretilmektedir. POs-Ca yapısında bulunan kalsiyum, ortama biyolojik olarak kullanılabilir iyonlar halinde verilmektedir [183]. Genellikle kalsiyumun bu formu, potansiyel antikaryojenik etkisinden yararlanmak için şekerli sakızlara eklenmektedir [187, 188].

Yapılan bir in situ çalışmada, POs-Ca içeren sakızların, plasebo sakızla kıyaslandığında mine yüzey altı lezyonlarında remineralizasyon ve yeniden kristalleşmeye önemli ölçüde katkı sağladığı bildirilmektedir [189]. Özellikle kalsiyum fosforil oligosakkaritler ile florun beraber kullanıldığı ürünler, sadece POs-Ca' u içeren ürünlere göre remineralizasyonda daha etkin rol oynamaktadır [183]. Ayrıca POs-Ca'nın *S. mutans* gibi karyojenik bir bakteri tarafından metabolize edilemediği için pH'ın düşmesini engellediği gösterilmiştir [190].

### 2.5.9. Kendiliğinden birleşen peptitler

Güncel remineralizasyon yaklaşımında, bozulmuş mine matrisini ve mine lezyonlarını biyomimetik matrisle değiştirerek dokuda rejenerasyon amaçlanmaktadır. Remineralizasyon ajanı içerisindeki peptitler, mine rejenerasyonuna uygun şekilde kendiliğinden birleşebilmesi nedeniyle 'kendiliğinden birleşen peptitler' olarak adlandırılmaktadır. Bu alandaki en önemli gelişmelerden biri P<sub>11-4</sub> adı verilen 11 amino asitten oluşan monomerik bir peptittir [191, 192].

Bu peptitler, lezyon gövdesine ulaştığında belirli çevresel koşulların etkisiyle (asidik pH, enzimatik reaksiyonlar, sıcaklık, yüksek iyonik güç gibi) yapısındaki üç boyutlu fibriler yapı iskeleleri kendiliğinden birleşmektedirler [193, 194]. P<sub>11-4</sub> fibriler matrisi, Ca<sup>+</sup> iyonları için yüksek bir afiniteye sahiptir ve lezyon gövdesinde remineralizasyonu sağlayan de novo HAP oluşumu için çekirdek görevi görmektedir [193, 195].

Yapay çürük oluşturulan remineralizasyon çalışmalarında P<sub>11-4</sub>, lezyon içerisine %35 oranında diffüze olarak HAP oluşumunu sağladığı ve %90' a varan orijinal mine yoğunluğu ile remineralizasyon kapasitesine sahip olduğu

gösterilmektedir [191]. Araştırmacılar tarafından remineralizasyon sonucu minenin mikrosertlik değerlerinde artış meydana geldiği gözlemlenmiştir [193, 196]. P<sub>11</sub>-4'ün fluor ile kombinasyon halinde kullanılması, başlangıç çürük lezyonlarında tek başına florür uygulamasına göre daha üstün remineralizasyon sağlanmaktadır. Özellikle erken mine çürük lezyonlarında basit, güvenli ve invaziv olmayan bir tedavi seçeneği olarak gösterilmektedir [197].

#### **2.5.10. Kitosan**

Son zamanlarda doğal ürünler, özellikle diş çürüğü gibi plakla ilgili hastalıkları önlemek için umut verici ajanlar olarak daha kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır [198]. Kitosan, bu yönde umut veren ajanlardan biri olarak görülmektedir. Genellikle yengeç ve karides kabuklarında bulunan kitinin deasetilasyonu ile elde edilmektedir. Kitosan, biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen bir materyaldir. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerle reaksiyona girerek antibakteriyel özellik göstermektedir [199, 200].

Bae ve ark. tarafından yapılan çalışmada, suda çözünür ağız çalkalama suyu olarak kullanılarak kitosanın antibakteriyel ve plak azaltıcı etkisi gözlemlenmiştir [201]. Hayashi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise kitosan içerikli sakızların kontrol grubuna göre kıyaslandığında *S. mutans* seviyelerinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir [198]. Fujiwara ve ark. kitosanın bakteriyel büyümeye olan etkisini inceledikleri bir çalışmada %2' lik kitosan solüsyonun *S. mutans* üzerinde tam bir inhibisyon sağladığı gösterilmektedir [202].

#### **2.5.11. Teobromin**

Teobromin, metilksantinler grubuna ait bir alkaloiddir. Esas olarak kakao çekirdeklerinde bulunan doğal bir bileşendir. Yapılan hayvan deneylerinde teobrominin mine kristallerinin çözünme direncini arttırdığı gözlenmiştir. Bu durum teobrominin potansiyel remineralizasyon etkisi üzerine farklı çalışmaların yapılmasına yol açmıştır [203, 204].

Bir laboratuvar çalışmasında, teobrominin mine yüzeyinde topikal uygulanması sonucu çökelti oluşturarak demineralizasyona karşı koruduğu tespit edilmiştir [205]. Benzer bir çalışmada ise teobrominin pH döngüsü koşulları altında fluora benzer şekilde çürük lezyonlarını remineralize etme potansiyeli olduğu

gösterilmiştir [206]. Ancak başka bir pH döngüsü çalışmasında, teobromin uygulamasından fluor varlığında veya yokluğunda herhangi karyostatik bir etki sağlanamadığı gözlemlenmiştir [207]. Bu tür farklı bulguların varlığında, çürüğün önlenmesinde teobrominin potansiyel rolünü araştırmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır [208].

### **2.5.12. Biyoaktif cam**

Günümüzde biyomalzeme alanındaki araştırmalar, doku mühendisliği ve doku rejenerasyonuna odaklanmaktadır. Diş hekimliğinde doku mühendisliği sanıldığı kadar yeni bir kavram değildir. Ağız ortamında doku rejenerasyonu için periodontal membranlar, dentin, pulpa ve kemik doku iskeleleri gibi birçok yönde gelişmeler mevcuttur [209-211].

Biyouyumlu malzemeler sınıfında yer alan biyoaktif cam (kalsiyum sodyum fosfosilikat); silika, kalsiyum, sodyum ve fosfor elementlerinden oluşan çok bileşenli inorganik bir bileşiktir. Biyoaktif cam (BAG), Larry L. Hench tarafından ilk olarak ampütasyon vakalarında insan vücudu için bir greft materyali olarak geliştirilmiştir [212]. Vücut sıvılarıyla etkileşim halinde iken hidroksiapatit çökmesini sağlayarak sert ve yumuşak dokular tarafından reddedilmeden bağlanma kabiliyetine sahip bir materyal olduğu ortaya çıkarılmıştır. Böylece BAG, tıp ve diş hekimliğinde sert dokuların rejenerasyonunu içeren çeşitli klinik uygulamalarda kullanılmaktadır [213, 214]. Nanoteknolojinin uygulanması, BAG' nin nano ölçekte sentezlenmesine yardımcı olmaktadır. Bu sayede doku oluşumunun ve işlevselliğin eski haline getirilmesini sağlayacak şekilde hücrel sinyallerini değiştirmenin yanı sıra, vücuttaki doğal mineralizasyonun karakterine uyan bir biyomimetik-mineralize edici ajan olarak hareket etme kabiliyeti sunmaktadır [215]. Diş hekimliği alanında da dental implant yüzeylerinin kaplanmasına ve dental materyallerin özelliklerinin iyileştirilmesine yardımcı olmaktadır [216].

BAG, orijinal hali olan 45S5 formu %45 SiO<sub>2</sub>, %24,5 Na<sub>2</sub>O, %24,5 CaO ve %6 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>' ten oluşmaktadır [217]. Ayrıca BAG; fluorapatit (FAP), volastonit, diyopsit ve trikalsiyum fosfat gibi bilinen biyouyumlu ve biyoaktif minerallerden de oluşabilmektedir [218, 219]. %70 diyopsit, %10 fluorapatit ve %20 trikalsiyum fosfat bileşimine sahip alkali içermeyen (özellikle Na içermeyen) BAG de üretilmektedir. Ancak CaO, Na<sub>2</sub>O ve P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> gibi ağ değiştiriciler, yüzey ve silika ağını daha reaktif hale

getirebilmek için temel olarak  $\text{Na}_2\text{O-CaO-SiO}_2$  bileşimine dahil edilmektedir [220].

Geleneksel olarak camlar, BAG 45S5 dahil olmak üzere ergitme yöntemi ile hazırlanmaktadır. Ergitme işlemi sırasında, toz halindeki bileşenler yüksek sıcaklıkta genellikle  $1300\text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde eritilmekte ve atomik yapının donması için hızla söndürülmektedir. Ancak bu teknikte daha yüksek sinterleme sıcaklıklarında biyoaktivitenin azalması ve gözenekli yapı iskelelerinin üretiminde yetersizlik gibi kusurlar mevcuttur [221]. Isıl işlem ise hızlı soğutma nedeniyle camı termomekanik streslerden kurtarmak için kullanılmaktadır. Bununla birlikte ısıl işlem, elastik modülü ve dayanıklılığı olumsuz yönde etkileyerek mekanik hasara zemin hazırlayan farklı kristal fazların oluşumuna neden olmaktadır [222].

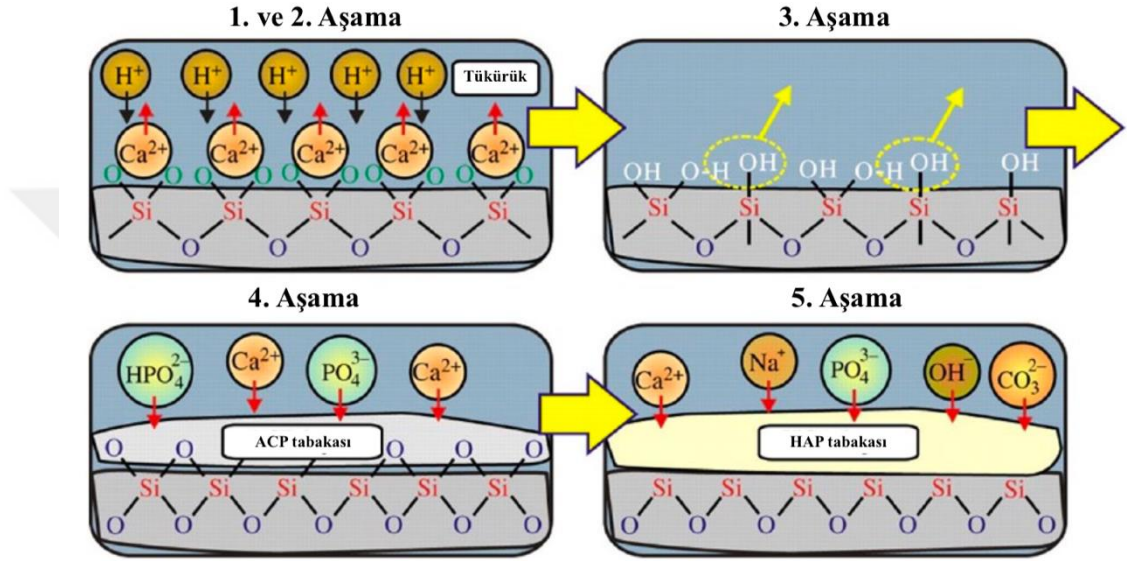
1970'lerin başlarından itibaren, sol-jel tekniği alternatif bir cam üretme yöntemi olarak kullanılmaktadır [223, 224]. Bu yöntem; fiberler, kaplamalar, yapı iskeleleri ve nano parçacıklar gibi çok çeşitli cam bileşimlerinin ve şekillerinin üretimini mümkün kılmaktadır [225]. Sol-jel yöntemiyle nanoparçacıklar oluşturmak ve silika öncülerini oda sıcaklığında bir jel halinde birleştirebilmek için kimyasal bir sentez kullanılmaktadır [226]. Cam; ıslak, organik, kovalent bağlı silika ağı olan bu jelin kurutulması ve ısıtılmasıyla oluşmaktadır [227]. Sol-jel yöntemiyle üretilen camlar, daha yüksek mekanik özelliklere sahip olan ergitme yöntemiyle üretilen camlara kıyasla daha yüksek gözeneklilik, apatit oluşturma kabiliyeti ve daha fazla yüzey alanına sahip olmaktadır [225].

Biyoaktif camların keşfi ile biyomalzemelerin yetenek ve fonksiyonlarının sınırları genişletilmiştir. BAG 45S5, beş kat Ca/P oranına sahip olan inorganik amorf, kalsiyum, sodyum fosfo-silikat bir malzemedir. Nispeten daha düşük bir  $\text{SiO}_2$  seviyesine, artan  $\text{Na}_2\text{O}$  ve  $\text{CaO}$  seviyelerine ve daha fazla  $\text{CaO/P}_2\text{O}_5$  oranına sahiptir. Bu durum biyolojik sıvılarla gelişen reaksiyonu kolaylaştırmaktadır [6, 228]. BAG'den gelen parçacıklar, tükürük veya diğer fizyolojik sıvılarla temas ettiğinde yüzey remineralizasyonu için mevcut olan sodyum, kalsiyum ve fosfor iyonlarını ortama hızla salmaktadır. Böylece BAG, HAP oluşumunu indüklemektedir [229]. BAG'nin yüzeyde HAP oluşturmak için gerçekleştirdiği reaksiyonlar 5 aşamada detaylandırılmaktadır (Şekil 2.5) [230, 231]:

1.  $\text{Ca}^{+2}$  ile  $\text{H}^+$  iyonlarının yer değiştirmesi
2. Si-O-Si bağlarının kırılması sonucu Si-OH gruplarının oluşumunun

sağlanması

3. Repolimerizasyon:  $2\text{Si-OH} \rightarrow \text{Si-O-Si} + \text{H}_2\text{O}$
4. Amorf kalsiyum fosfat (ACP)' in oluşumu
5. ACP' a  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  ve  $\text{Na}^+$  iyonlarının eklenmesi sonucu HAP kristalizasyonunun gerçekleşmesi



Şekil 2.5: Biyoaktif camın yüzeyde HAP oluşturma aşamaları [230]

HAP oluşumu, kemiğin yanı sıra mine ve dentin gibi dişin sert dokularında da BAG tarafından indüklenebilmektedir. Tükürük gibi su içeren ortamlarda kalsiyum sodyum fosfosilikat partiküllerindeki Na<sup>+</sup> hızlı bir şekilde (bir dakika içinde) hidrojen katyonları (H<sup>+</sup> veya H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) ile yer değiştirmeye başlamaktadır [232, 233]. Bu hızlı iyon değişimi, partiküllerden Ca<sup>2+</sup> ve PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> salınımını sağlamaktadır. Diş yüzeyinde kalsiyum- fosfat tabakası oluşturmak için partiküllerin yanı sıra tükürükten de iyonlar katılmaktadır. Bu durum ortamın pH' sında geçici bir artış meydana getirmektedir. Ca-P kompleks reaksiyonları ve birikimi devam ederken bir yandan kimyasal ve yapısal olarak biyolojik apatite benzeyen hidroksiapatite kristalleşmektedir [232]. Oluşan HAP tabakası ve arta kalan kalsiyum sodyum fosfosilikat partikülleri demineralizasyonu önleyerek minenin remineralizasyonunu ve dentin tübüllerini tıkayarak hassasiyetin giderilmesini sağlamaktadır [234].

BAG; mine demineralizasyonunu tedavi etmek amacıyla diş macunu,

profilaktik jeller ve membranlar gibi çeşitli formlarda kullanılmaktadır. Biyoaktif cam diş macunu formülasyonlarına dahil edildiğinde, amorf kalsiyum fosfat tabakasından salınan iyonların diş yüzeyinde remineralizasyon sürecine katkıda bulunduğu inanılmaktadır [235]. Son zamanlarda, bir diş macununa eklenen küçük partiküllü biyoaktif cam (<90 µm), CAP tabakası oluşumuyla dentin tübüllerinin tıkanmasını sağlamaktadır ve klinik olarak diş hassasiyetini önemli derecede azaltabilmektedir. Bazı çalışmalarda, çürük patojenlerine (*S. mutans*, *S. sanguinis*) karşı biyoaktif cama maruz bırakmanın önemli bir antimikrobiyal etkisi olduğu tespit edilmiştir. Biyolojik olarak aşınabilir jel sistemleri aracılığıyla elde edilen biyoaktif cam, büyük oranda mineralizasyon özellikleri göstermektedir [111, 236].

BAG 45S5' in minede remineralizasyonu sağlayabilme kabiliyeti, yüzey altı lezyonlarında remineralize edici etkileri ile tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmadaki enerji dağılım spektroskopisi (EDS) analizinde, BAG ve mine ara yüzünün kalsiyum-fosfat açısından zengin olduğu gösterilmiştir [237]. Bu çalışma sonucunda lezyon yüzeyinin tamamen kaplanmasıyla etki ettiği lezyon derinliği 70 µm olarak belirlenmiştir [237]. BAG' nin biyoaktif etkisi için gereken süre, BAG' den lezyona  $Ca^{+2}$  ve  $PO_4^{-3}$  iyon deşarjı ile yaklaşık 2 saattir. BAG' den çözünen  $Ca^{+2}$  ve  $PO_4^{-3}$  iyonları, 24 saatlik süre boyunca amorf halde kalabilmektedir. Bu yapısal özellik, yüzeye kıyasla yüzey altı lezyonuna daha iyi nüfuz edebilmesine yardımcı olduğu için bir avantaj olarak görülmektedir [24, 237].

Böylece BAG, erken çürük lezyonlarının remineralizasyon yoluyla girişimsel olmayan tedavisinde büyük bir ilerleme potansiyeline sahip olabilmektedir. Bununla birlikte, deneysel çalışmaların çoğu in vitro çalışmalarla sınırlıdır ve BAG' nin uzun süreli kullanım üzerindeki etkilerini doğrulayan büyük ölçekli klinik çalışmaların hala eksikliği mevcuttur [235, 238, 239].

## 2.6. Yapay Çürük Modelleri

Son yıllarda diş hekimliği alanında yeni geliştirilen remineralizasyon ajanlarının ve restoratif materyallerin remineralize edebilme yeteneklerini, fluor salınımlarını ve antibakteriyel özelliklerini test edebilmek için birçok yapay çürük modeli kullanılmaktadır [240, 241].

Çürük sürecinin demineralizasyon safhasında tükürükteki  $Ca^{+2}$  ve  $PO_4^{-3}$

iyonları, tükürük proteinleri ve fluor iyonları varlığında çürüğün ilerlemesi yavaşlatılabilir veya durdurulabilir. Ağız ortamında pH' nın yükselmesiyle bu iyonlar diş dokusundaki demineralize alanlardaki kristaller ile reaksiyona girerek bu alanları remineralize edilebilmektedir [118, 241].

Remineralize olan alanlardaki kristaller asit ataklarına daha dirençli hale gelmektedir. Özellikle tükürüğün sahip olduğu birçok önemli özellik remineralizasyon sürecinde kilit rol oynamaktadır. Bu nedenle laboratuvar ortamında demineralizasyon ve remineralizasyon üzerine yapılacak olan çalışmalarda çürük modeli oluşturulacaksa konuyla ilgili tüm bilgiler göz önünde bulundurulmalıdır [242].

### **2.6.1. Asit tamponlarla hazırlanan *in vitro* demineralizasyon modeli**

Yapay çürük oluşturulmasında basit ve kolay bir yöntem olduğu düşünülmektedir [243]. Kullanılan tampon solüsyonların içeriğinde asetik asit veya laktik asit bulunabilmektedir. Bu solüsyonların hazırlık aşamasında pH değerinin ve içeriğindeki Ca, P, F oranlarının doğru ayarlanmasına dikkat edilmelidir. Solüsyon pH' sının 4,5- 5,0 aralığında olması gerekmektedir. Yapay çürük oluşturabilmek için mine ya da kök yüzeyinde pencereler oluşturularak günler veya haftalar boyunca tampon solüsyonlara maruz bırakılmaktadır. Yapay çürük lezyonları histolojik olarak doğal lezyonlarla benzerlik gösterebilmektedir [244-246].

Bu yöntem kullanılarak hazırlanan yapay çürük modellerine ilişkin birçok çalışma mevcuttur [247-250]. Ancak çalışmalarda tükürük bileşeninin, remineralizasyon fazının olmaması, asidin devamlı olarak yenilenmemesi ve materyal yüzeyindeki kalıntıların temizlenmemesi; elde edilen sonuçların güvenilirliği konusunda şüphe uyandırmaktadır. Diğer önemli bir dezavantaj ise jel formdaki materyalden salınan fazla fluor iyonunun diş yüzeyinde birikmesiyle demineralizasyon fazını inhibe etmesidir [251, 252].

### **2.6.2. pH siklus modeli kullanılan *in vitro* demineralizasyon ve remineralizasyon modeli**

İlk pH siklus modeli ten Cate ve ark. tarafından 1982 yılında bildirilmiştir. *In vivo* koşullarında gün içinde demineralizasyon ve remineralizasyon fazları ard arda gerçekleşmektedir [249]. *In vitro* çalışmaları ise *in vivo* koşullarını taklit etmek için örnekler gün içinde genellikle 6 saat demineralizasyona kalan sürede de

remineralizasyona maruz kalacak şekilde tasarlanmaktadır [253].

Bu çürük modelinde demineralizasyon ve remineralizasyon fazı ile ilgili net sonuçlar elde edilebilmektedir. Döngüler esnasında solüsyonlar düzenli olarak yenilenmektedir. Böylece solüsyon içeriklerinin kontrolsüz şekilde azalmasının ve yanlış sonuçlar oluşmasının önüne geçilmektedir [254]. Ancak bu model açık ve basit bir tasarıma sahip olsa da deney esnasında sonucu etkileyebilecek birçok faktör mevcuttur. Bu faktörler; örneklerin hazırlanma aşaması, siklus düzeni, solüsyonlar ile maruz kalacak örnek yüzeylerinin oranı, solüsyonların pH değeri ve solüsyon içeriğindeki kimyasallar olarak gösterilmektedir [255].

Çürük süreci, demineralizasyon ve remineralizasyon sikluslarının sürekliliği olarak tanımlanmaktadır. Çürük önleyici ajanların etkisini araştırmak için pH siklus modeli en uygun yöntem olarak gözükmektedir [249].

## **2.7. Demineralizasyon ve Remineralizasyonun Tanı Yöntemleri ile Değerlendirilmesi**

Diş mine yüzeyinin demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası incelenmesi için birçok yöntem kullanılmaktadır. Birçok araştırmacı başlangıç çürük lezyonunu araştırmak için mikroradyografi, polarize ışık mikroskobu, mikrosertlik ve elektron mikroskobu gibi tanı yöntemleri üzerinde çalışmışlardır [23, 69, 256-258]. Son zamanlarda çürük araştırmalarında bu yöntemler arasında SEM-EDS analizi ve bilgisayarlı mikrotomografi (Mikro-CT) ölçümü sıklıkla kullanılmaktadır [71, 259-263].

### **2.7.1. Bilgisayarlı mikrotomografi (Mikro-CT)**

Bilgisayarlı mikrotomografi (Mikro-CT), 1982 yılında Elliot ve Dover tarafından geliştirilen mikro odaklı (odak nokta yarıçapı  $<100 \text{ nm}$ ) X ışını kaynağına sahip olan tomografi sistemidir. Mikro-CT, tarama yapılacak olan örneğe zarar vermeden iki (2-D) ve üç boyutlu (3-D) yüksek çözünürlükte dijital görüntüler alınmasını sağlamaktadır. Elde edilen tarama görüntüleri üzerinde kalitatif ve/veya kantitatif ölçüm ve analizler yapılabilmektedir. Mikro-CT, biyomedikal alanında özellikle kemik olmak üzere çoğunlukla sert doku çalışmalarında kullanılmaktadır [264].

Diş hekimliği alanında da farklı amaçlarla kullanılmaktadır [265, 266]. Mikro-CT, diş dokusundaki mineral dağılımını haritalamak için kullanılabilen yeni ve gelişen bir teknolojidir [267]. Doğrusal ölçüm yaparak doğrudan ölçüme göre daha güvenilir sonuçlar vermektedir [268]. Yapılan taramalarda objenin 3-D hacimsel verileri sayesinde gerçek tasarımı elde edilmektedir [269]. Üç boyutlu görüntü ile objenin her noktası radyoopasite olarak belirlenmektedir ve bu özellik dişin mineral yoğunluğunu göstermeye elverişlidir. Bu nedenle çürük lezyonların demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası özelliklerini belirlemede bu yöntem sıklıkla tercih edilmektedir [267, 270, 271].

### **2.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılım spektroskopisi (EDS)**

1965 yılında keşfedilen elektron mikroskobu, diş mine yüzeyinin topografik yapısını ve yüzeydeki değişikliklerin detaylı olarak incelenmesine olanak sağlamaktadır [272]. SEM; ayırım gücü, odak derinliği, görüntü ve analizi birleştirme özellikleri sayesinde örneklerin 3-D incelenmesine imkan vermekte ve araştırmalarda geniş kullanım alanına sahip olmaktadır [273, 274]. Mikro işlemci ve bilgisayar bağlantısı aracılığıyla veriler daha kolay ve hızlı şekilde görüntülenerek depolanabilmektedir. Odak derinliği özelliği sayesinde topografik ayrıntıların görüntülenmesi cihaza üstünlük kazanmaktadır [275, 276].

Enerji dağılım spektroskopisi (EDX, ayrıca EDS olarak da bilinir), SEM' e dahil edilebilen bir mikroanaliz şeklidir. Elektron ışınının numune yüzeyi ile etkileşimi; numune yüzeyinin en üst birkaç mikrometresindeki atomlar ve iyonlar tarafından X ışınlarının yayılmasına neden olmaktadır. Bir atomun iç katmanından bir elektron fırlatılıp, bir dış katman elektronu eksik elektronun yerini aldığı anda, X-ışını radyasyonu şeklinde enerji yayılmaktadır. X-ışınları analiz edilerek yüzeydeki kalsiyum, fosfat ve karbon gibi çeşitli elementlerin dağılımı hakkında ağırlıkça yaklaşık %1 konsantrasyonla bilgi verilmektedir [277, 278].

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Etik Kurul Onayı**

Araştırmaya ait etik onayı ‘Bezmialem Vakıf Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu’ komitesinden 22.10.2019 tarihinde 20/373 no’lu karar ile alınmıştır.

#### **3.2. Proje Onayı**

Çalışma için gerekli proje desteği, 20210229 proje numarası ile Bezmialem Vakıf Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından kabul edilmiştir.

#### **3.3. Dişlerin Toplanması**

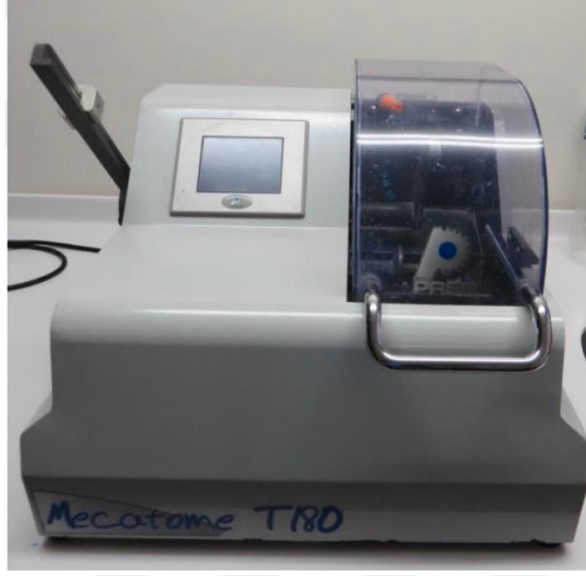
Araştırmamıza Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı’nda çekim kararı verilmiş olan 60 adet çürüksüz, restorasyon bulunmayan, mineralizasyon bozukluğu olmayan, mine yüzeyinde kırık ya da çatlak bulunmayan, eksofoliyel olmuş süt kesici ve molar dişler dahil edilmiştir.

#### **3.4. Mine Örneklerinin Hazırlanması**

Çekilen dişlerin yüzeylerindeki organik doku kalıntıları bir küret yardımıyla uzaklaştırılmış ve distile su ile yıkanarak temizlenmiştir. Deney aşamasına kadar mine örneklerinin dehidrate olmamaları için %0,1’lik timol içeren distile su içerisinde bekletilmiş ve solüsyon düzenli aralıklarla yenilenmiştir.

60 adet süt dişi Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi AR-GE Laboratuvarında bulunan su soğutmalı kesim cihazı (Mecatome T180 Presi, Fransa) (Şekil 3.1) çift taraflı kesen elmas ince bıçak (Isomet Diamond Wafering Blades, Buehler, ABD) kullanılarak mesiodistal veya bukkolingual olarak ikiye ayrılmıştır.

Daha sonra dişlerin kron kısımları kök kısımlarından ayrılmıştır.



**Şekil 3.1:** Su soğutmalı kesim cihazı (Mecatome T180 Presi, Fransa)

Dişlerin bukkal veya lingual parçalarından yaklaşık olarak 5 mm en, 5 mm boy ve 2 mm kalınlıkta mine kesitleri elde edilmiştir. 60 adet süt dişi mine kesitleri mine yüzeyleri açıkta kalacak şekilde silikon kalıplar (FixiForm, 25 mm çap, Struers, Almanya) kullanılarak kendi kendine polimerize olan epoksi resin (EpoFix Resin, Struers, Almanya) bloğa yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Epoksi resin mine yüzeylerinden uzak kalacak şekilde yerleştirilmiş ve 24 saat boyunca polimerizasyon için bırakılmıştır (Şekil 3.3).



**Şekil 3.2:** Epoksi Resin (EpoFix Resin, Struers, Almanya)



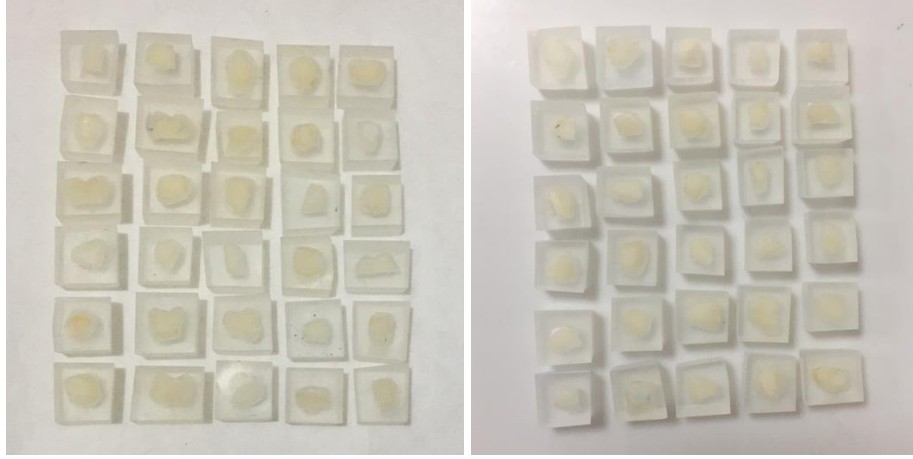
**Şekil 3.3:** Mine kesitlerinin silikon kalıplara (FixiForm, 25 mm çap, Struers, Almanya) yerleştirilmesi

Elde edilen epoksi resin örneklerinin yüzeyleri su soğutması altında 500, 1200, 5000 gritlik alüminyum oksitli ( $Al_2O_3$ ) abraziv kağıt diskler (DEMPAX, Zımpara Kağıdı, Metkon, Türkiye) kullanılarak 100 rpm hızda ve 10 sn boyunca polisaj cihazı (Polishing machine, Minitech 233, Presi, Fransa) ile düzleştirilmiştir. En son silika süspansiyon (0,05  $\mu m$ ; O.P.S. OXSİD, Polishing Süspansiyon, Metkon, Türkiye) kullanılarak örnek yüzeyleri cilalanmıştır (Şekil 3.4). Tüm epoksi rezine gömülü örneklerin karşıt yüzeyleri yere paralel olacak şekilde aynı işlemlerle hazırlanmıştır. Ardından her bir örnek 10 sn boyunca distile su ile yıkanmıştır.



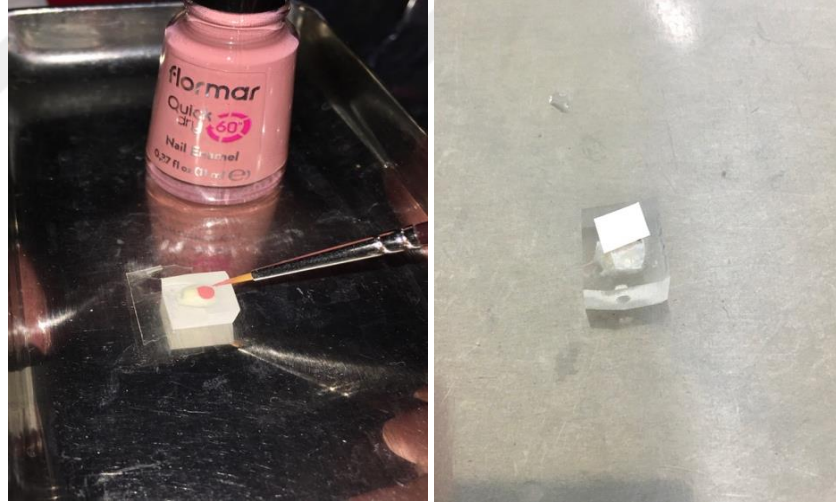
**Şekil 3.4:** Polisaj Cihazı (Polishing machine, Minitech 233, Presi, Fransa)

Hazırlanan örnekler yaklaşık 10 mm en, 10 mm boy ve 5 mm yükseklik olacak şekilde küçültülmüştür. Ardından örnekler, dehidrate olmaması için deney sürecine kadar oda sıcaklığında (20-22 °C) distile su içerisinde saklanmıştır (Şekil 3.5) [279].



**Şekil 3.5:** Çalışmada kullanılacak olan epoksi rezine gömülü 60 adet mine örneği

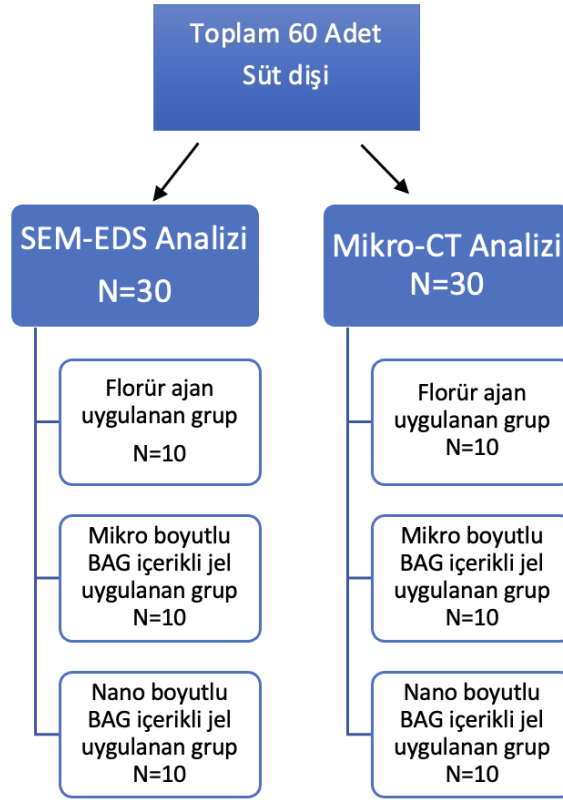
Mine örneklerinin yarısı tırnak cilası (Flormar, Türkiye) ile kapatılmış ve kuruması beklenmiştir. Uygulamalar esnasında tırnak cilasında deformasyon gelişmesini önlemek için tırnak cilasının üzerine adeziv bant yerleştirilmiştir (Şekil 3.6).



**Şekil 3.6:** Mine yüzeylerinin yarısının tırnak cilası ile kapatılması ve tırnak cilasının adeziv bant ile korunması

### 3.5. Mine Örnek Gruplarının Oluşturulması

Hazırlanan toplam 60 adet süt dişi örneği; 30 adet örnek Mikro-CT analizi için ayrılırken diğer 30 adet örnek ise SEM-EDS analizi için ayrılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7: Deney grupları ve örnek sayıları

### 3.6. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

Örneklerde yapay çürük lezyonu oluşturmak için kullanılan demineralizasyon solüsyonu Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Laboratuvarında deneyler öncesinde taze olarak hazırlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan demineralizasyon solüsyonu:

- 2.2 mM CaCl<sub>2</sub>
- 2.2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- 0.05 M Asetik asit

içecek ve 1 M KOH ile pH 4.4 olacak şekilde ayarlanmış ve oda sıcaklığında bekletilmiştir [280, 281].

### **3.7. pH Sıklustaki Demineralizasyon ve Remineralizasyon Solüsyonlarının Hazırlanması**

Çalışmamızda mine örneklerine uygulanacak olan pH sıklusta yer alan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonları Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Laboratuvarında deneyler öncesinde taze olarak hazırlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan pH sıklusta yer alan demineralizasyon solüsyonu:

- 1.5 mM CaCl<sub>2</sub>
- 0.9 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

içerecek ve 50 mM asetik asit ile pH 5.0 olacak şekilde ayarlanmıştır [282].

Çalışmamızda kullanılan pH sıklusta yer alan remineralizasyon solüsyonu:

- 1.5 mM CaCl<sub>2</sub>
- 0.9 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- 130 mM KCl

içerecek ve 100 mM Tris ile pH 7.0 olacak şekilde ayarlanmıştır [243, 282].

### **3.8. Yapay Çürük Lezyonlarının Oluşturulması**

Araştırmamızda toplam 60 adet mine örneğinde yapay olarak başlangıç mine lezyonu oluşturuldu. Hazırlanan mine örneklerinde yapay çürük lezyonu oluşturmak için 72 saat boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletildi [243, 280]. Yapay çürük oluşturmak için kullandığımız; 2.2 mM CaCl<sub>2</sub>, 2.2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05 M asetik asit içeren solüsyon 1 M KOH ile pH 4.4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Oda sıcaklığında her numune kendi numune kabında 5 ml solüsyon içerisinde bekletilmiştir.

### **3.9. Deney ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması**

Çalışmamızda örneklerde oluşturulan başlangıç mine çürüğü lezyonlarının remineralizasyonu amacıyla 3 farklı ajan kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak ise; her mine örneğinde yarısı tırnak cilası ile kapatılan doğal mine yüzeyi olarak

belirlenmiştir. Deney grupları şu şekildedir ve Tablo 3.1' de yer almaktadır:

- 1. Grup 1:** %5 NaF içerikli florür vernik (ProShield Varnish, PD, Almanya)
- 2. Grup 2:** Mikro boyutlu (ergitme yöntemiyle hazırlanan BAG) 0.15 gr 45S5 BAG tozu ile 0.5 ml %50' lik fosforik asit karışımından oluşan jel
- 3. Grup 3:** Nano boyutlu (sol-jel yöntemiyle hazırlanan BAG) 0.15 gr 45S5 BAG tozu ile 0.5 ml %50' lik fosforik asit karışımından oluşan jel

### 3.9.1. Florür vernik ajanının mine yüzeyine uygulanması

%5 NaF içerikli florür vernik, pH döngüde günde iki kez olmak üzere kendi aplikatörüyle 1 dakika boyunca yapay çürük oluşturulan süt dişi mine yüzeyine uygulanmıştır (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8:** Florür vernik uygulaması (ProShield Varnish, PD, Almanya)

**Tablo 3.1. Çalışmada deney gruplarında kullanılan materyaller ve içerikleri**

<b>Ürün Adı</b>	<b>Üretici Firma</b>	<b>Kimyasal İçerik</b>
<b>Proshield Varnish</b>	PD, Allershausen, Almanya	Sodyum florür, rosin, etanol ksilitol
<b>Mikro boyutlu (ergitme yöntemiyle hazırlanan) 0,15 gr 45S5 BAG tozu ile 0,5 ml %50' lik fosforik asit karışımından oluşan jel</b>	BONE-G, Meta Biyomühendislik ve Arge Hizmetleri A.Ş., Türkiye	%45 SiO <sub>2</sub> , %24,5 Na <sub>2</sub> O, %24,5 CaO ve %6 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%ağırlıkça) içerikli 45S5 biyoaktif cam ve %50' lik fosforik asit çözeltisi
<b>Nano boyutlu (sol-jel yöntemiyle hazırlanan) 0,15 gr 45S5 BAG tozu ile 0,5 ml %50' lik fosforik asit karışımından oluşan jel</b>	Yıldız Teknik Üni. Kimya ve Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü	%46,1 SiO <sub>2</sub> , %24,4 Na <sub>2</sub> O, %26,9 CaO ve %2,6 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mol cinsinden) içerikli 45S5 biyoaktif cam ve %50' lik fosforik asit çözeltisi
<b>Clearfil™ SE Bond</b>	Kuraray, Okayama, Japonya	<b>Primer İçerik:</b> 10-Metakriloiloksidodesil dihidrojen fosfat (MDP), 2- Hidroksietil metakrilat (HEMA), hidrofilik alifatik dimetakrilat, dl-kamforkinon, N,N-dietanol-p-tolidin, su  <b>Bond İçerik:</b> 10-Metakriloiloksidodesil dihidrojen fosfat (MDP), Bisfenol A diglisidil metakrilat (Bis-GMA), 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), hidrofobik alifatik dimetakrilat, dl- kamforkinon, N,N-dietanol-p- tolidin, koloidal silika

### **3.9.2. Biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve mine yüzeyine uygulanması**

#### **3.9.2.1. Mikro boyutlu biyoaktif camın üretimi**

45S5 biyoaktif cam numunelerinin üretimi, klasik ergitme yöntemi ile yüksek sıcaklık kül fırını kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ergitme işlemi ile elde edilen biyoaktif cam, yapısının içeriği yüzde ağırlıkça; % 24.5 Na<sub>2</sub>O, % 24.5 CaO, %6 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

ve %45 SiO<sub>2</sub> şeklindedir. Bu oranlardaki içeriğin oluşabilmesi için SiO<sub>2</sub>, CaCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub> kimyasallarından belirli miktarlarda tartılarak cam kavanoz içerisinde bir karışım elde edilmiştir. Platin pota içerisinde alınan bu karışım sırasıyla 1400 °C ve 1450 °C sıcaklıklarında 1 saat ve 2 saat ergitilmiştir. Ardından eriyik haldeki karışım dökme demir tezgah damlalar halinde dökülmüş ve 550 °C’ de 24 saat boyunca tavlama işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen 45S5 biyoaktif cam numuneleri mekanik olarak parçalanmış ve agat havan yardımı ile partikül boyutları 100 µm’ dan az olacak şekilde öğütülmüştür.

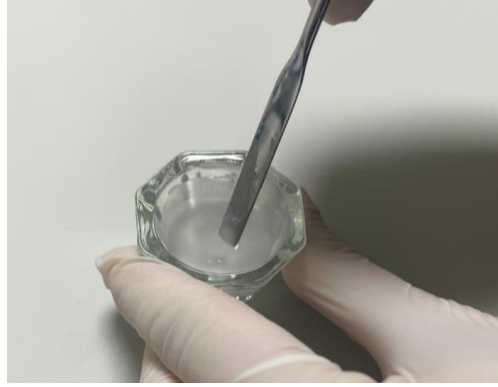
### **Mikro boyutlu biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve uygulanması**

Biyoaktif cam (BONE-G Active Ref:Bga025.05/2, Meta Biyomühendislik ve Arge Hizmetleri A.Ş.) ve %85 oranında fosforik asit seyreltilerek hazırlanan %50’ lik fosforik asit ile elde edilen karışım, her uygulama öncesi taze hazırlanmıştır. Mikro boyutlu BAG tozu (ortalama partikül boyutu <100 µm), hassas tartıda 0.15 gr olarak tartılmıştır. % 50’ lik fosforik asit ise, pipet ile 0.5 ml olacak şekilde ölçülmüştür (Şekil 3.9).



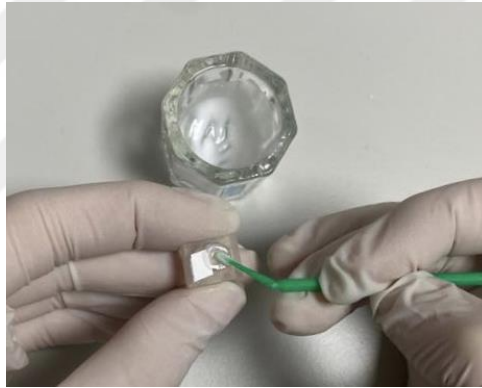
**Şekil 3.9:** Mikro boyutlu biyoaktif cam tozunun hassas tartı ile tartılması ve 0.5 ml %50’ lik fosforik asitin ölçülmesi

Belirtilen ölçülerdeki mikro boyutlu BAG tozu ve fosforik asit, spatula yardımı ile karıştırılıp jel formuna getirilmiştir (Şekil 3.10).



**Şekil 3.10:** Mikro boyutlu BAG tozu ve fosforik asitin karıştırılarak jel formuna getirilmesi

Mikro boyutlu BAG tozu ile fosforik asit karışımından hazırlanan jel, bond fırçası yardımı (Microbrush, orta kalınlık, ABD) ile hazırlanan örneklerin demineralize edilen yüzeylerine 1 dakika boyunca uygulandı (Şekil 3.11).



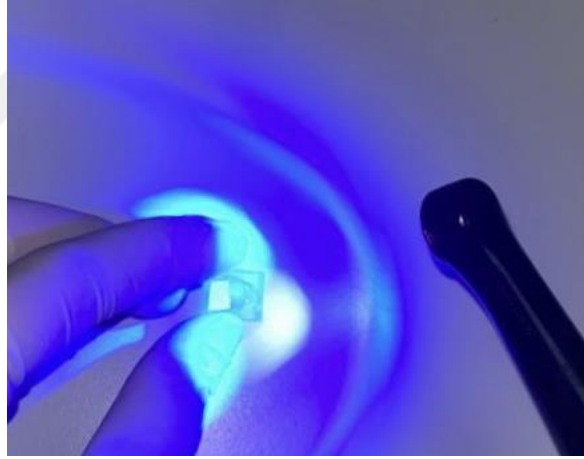
**Şekil 3.11:** Mikro boyutlu biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve diş yüzeyine uygulanması

Ardından bağlayıcı ajan (Clearfil SE Bond, Kuraray, Japonya), primer ve bond olmak üzere; jel kaplı diş numuneleri üzerine üründen çıkan tek kullanımlık fırçalar yardımıyla firma talimatlarına göre uygulanmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12: Primer ve bond uygulaması

Yüzeğe uygulanan bond sonrası led ışık (VALO, Ultradent, ABD) ile 20 sn boyunca sertleşme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.13). Bağlayıcı ajan, mikro boyutlu biyoaktif cam içerikli jel formunun daha uzun süre diş yüzeyinde kalmasını sağlamak ve diş ortam etkilerinden ajanı korumak amacıyla kullanılmıştır.



Şekil 3.13: Led ışık uygulaması

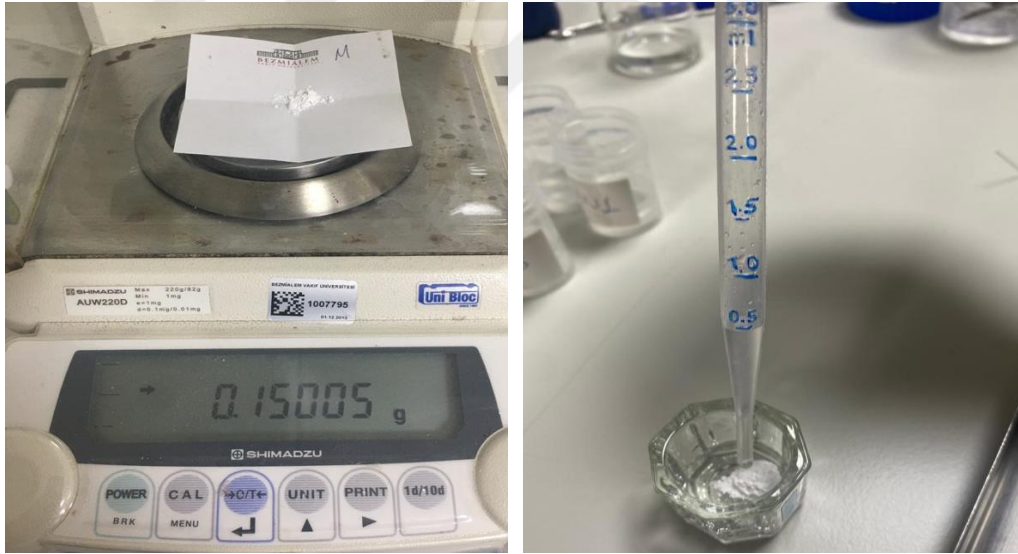
### 3.9.2.2. Nano boyutlu biyoaktif cam üretimi

Nano boyutlu 45S5 biyoaktif cam, sol-jel yöntemi ile Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalürji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarı'nda üretilmiştir. BAG bileşimi (mol cinsinden): %46.1 SiO<sub>2</sub>, %24.4 Na<sub>2</sub>O, %26.9 CaO ve %2.6 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> şeklindedir. Solün oluşması için öncüler olarak tetraetil ortosilik (TEOS), trietil fosfat (TEP), kalsiyum nitrat tetrahidrat (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O) ve sodyum nitrat (NaNO<sub>3</sub>) kullanılmıştır. Başlangıçta oda sıcaklığında 0.1 M HNO<sub>3</sub> sulu çözeltisine TEOS ilave edilmiştir. Net bir sol elde etmek için, su ve TEOS arasındaki molar oran

18'e ayarlanmıştır. Karışım hidroliz için en az 60 dakika karışmaya bırakılmış ve daha sonra sırayla her bir bileşik (TEP,  $\text{NaNO}_3$  ve  $\text{CaNO}_3$ ) bir önceki çözelti berraklaştığında ilave edilerek en az 1 saat karıştırılmıştır. Son olarak, bütün karışım berrak bir sol elde edilinceye kadar homojenize edilmiştir. Oluşan jel  $70^\circ\text{C}$ 'de 1 gün kurutulup ardından  $700^\circ\text{C}$ 'de 1 gün kalsine edilmiştir. Agregasyonu önlemek amacıyla agat havanda dövüldükten sonra farklı boyutlarda eleklerden geçirilmiştir. Partikül boyutları 90-110 nm olarak elde edilmiştir.

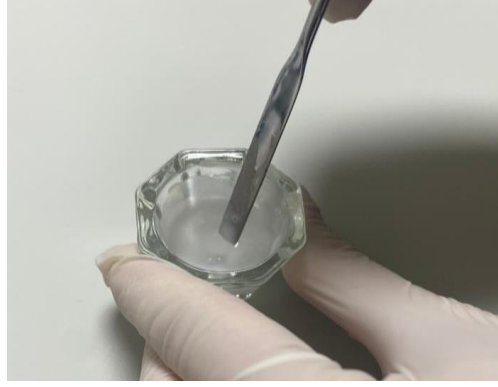
### Nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve uygulanması

Biyoaktif cam (Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Metalürji Fakültesi Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarı) ve %85 oranında fosforik asitten seyreltilerek hazırlanan %50' lik fosforik asit ile elde edilen karışım, her uygulama öncesi taze olarak hazırlanmıştır. Nano boyutlu BAG tozu, hassas tartıda 0.15 gr olarak tartılmıştır. % 50' lik fosforik asit, pipet ile 0.5 ml olacak şekilde ölçülmüştür (Şekil 3.15).



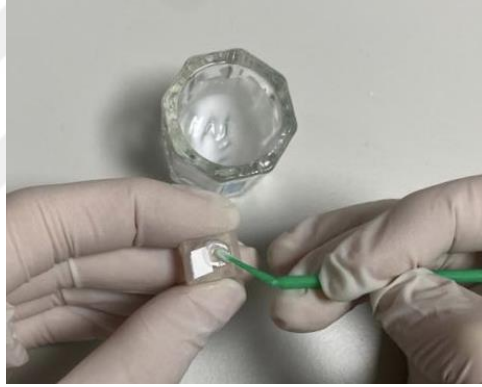
**Şekil 3.14:** Nano boyutlu biyoaktif cam tozunun hassas tartı ile tartılması ve 0.5 ml %50' lik fosforik asitin ölçülmesi

Belirtilen ölçülerdeki BAG tozu ve fosforik asit, spatula yardımı ile karıştırılıp jel formuna getirilmiştir (Şekil 3.16).



**Şekil 3.15:** Nano boyutlu BAG tozu ve fosforik asitin karıştırılarak jel formuna getirilmesi

Nano boyutlu BAG tozu ile fosforik asit karışımından hazırlanan jel, bond fırçası yardımı (Microbrush, orta kalınlık, ABD) ile hazırlanan örneklerin demineralize edilen yüzeylerine 1 dakika boyunca uygulanmıştır (Şekil 3.17).



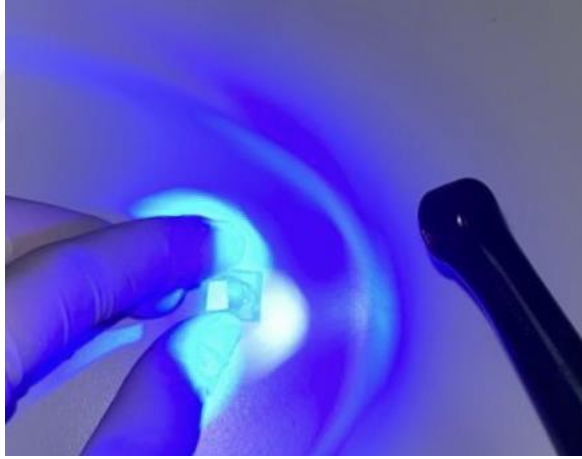
**Şekil 3.16:** Nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jelin hazırlanması ve diş yüzeyine uygulanması

Ardından bağlayıcı ajan (Clearfil SE Bond, Kuraray, Japonya), primer ve bond olmak üzere; jel kaplı diş numuneleri üzerine üründen çıkan tek kullanımlık fırçalar yardımıyla firma talimatlarına göre uygulandı (Şekil 3.18).



**Şekil 3.17:** Primer ve bond uygulaması

Yüzeğe uygulanan bond sonrası led ışık (VALO, Ultradent, ABD) ile 20 sn boyunca sertleşme işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.19). Bağlayıcı ajan, nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jel formunun daha uzun süre diş yüzeyinde kalmasını sağlamak ve diş ortam etkilerinden ajanı korumak amacıyla kullanılmıştır.



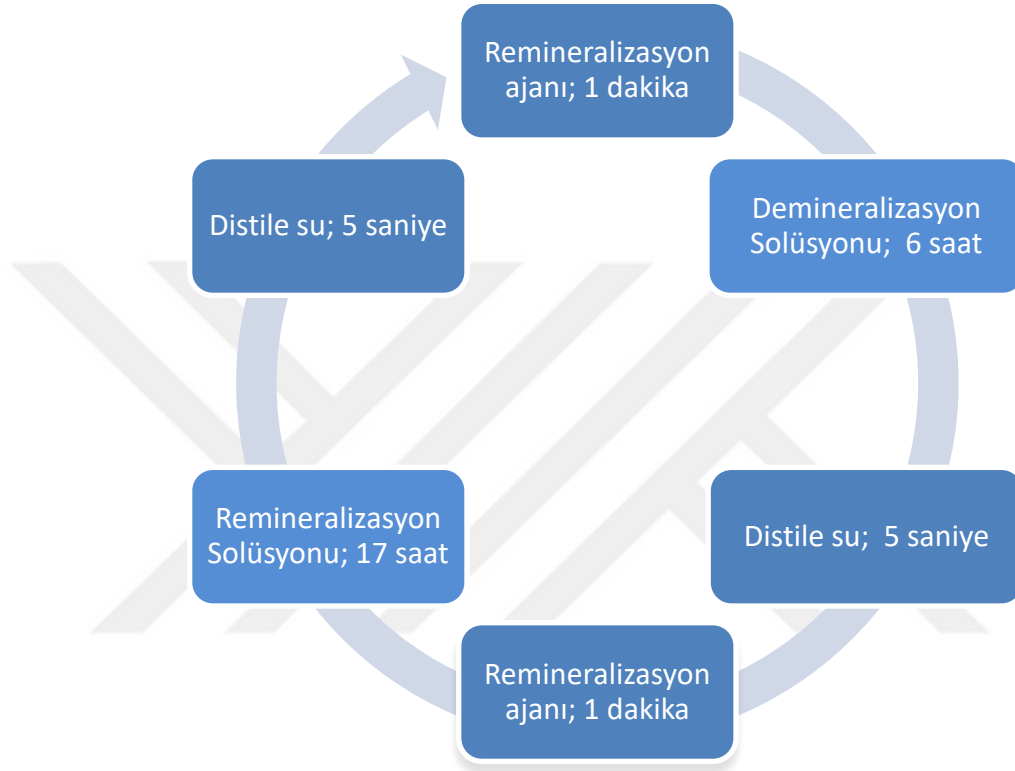
**Şekil 3.18:** Led ışık uygulaması

### **3.10. Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden pH Döngüsünün Uygulanması**

Çalışmada ağız ortamındaki gün boyu değişen pH değişikliklerini taklit etmek için ten Cate ve ark. tarafından önerilen pH siklus modeli kullanılmıştır [282]. Siklus prosedürleri Featherstone' nun laboratuvar pH siklus modeline göre modifiye edilmiştir (Şekil 3.19) [283].

Yapay çürük lezyonlarını oluşturmak için 72 saat süre ile demineralizasyon

solüsyonunda bekletilen örneklere daha sonra 6 gün boyunca oda sıcaklığında pH siklus uygulanmıştır. Her bir örnek kendi numune kabında 6 saat (her örnek için 5 ml) demineralizasyon solüsyonunda bekletildikten sonra 5 saniye distile su ile yıkanmış ve daha sonra 16 saat boyunca (her örnek için 5 ml) remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Remineralizasyon ajanları; demineralizasyon öncesi ve sonrasında olmak üzere günde iki defa uygulanmıştır (Şekil 3.19) [281-283].



Şekil 3.19: pH döngüsü

### 3.11. Bilgisayarlı Mikrotomografi (Mikro-CT) Analizi

Çalışmamızda örnekler, asetonlu pamuk peletler ile adeziv bant ve tırnak cilasına ait artıklardan temizlenip kurutulmuştur. Sağlam mineye (kontrol grubu) göre karşılaştırarak demineralizasyon sonrası ve pH siklus sonrası yüksek çözünürlüklü SkyScan 1174v2 (Kontich, Belçika) Mikro-CT cihazı kullanılarak taranmıştır. Tarama işlemleri İstanbul Üniversitesi 3 Boyutlu Tıbbi ve Endüstriyel Tasarım Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.20).



**Şekil 3.20:** Mikro-CT cihazı (SkyScan 1174v2, Kontich, Belçika)

Her numune için tarama koşulları 50 kVp, 800  $\mu$ A ışın akımı ve 40 W güç, 0,25 mm Al filtre ve 0,8°'lik adımlarla dönme şeklindedir. Her numune, 40 dakikalık bir entegrasyon süresi içinde 360° döndürülmüştür. Tarama sonrası elde edilen TIFF formatındaki görüntüler NRecon (Ver. 1.6.10.2; SkyScan) bilgisayar programı ile yeniden oluşturularak yatay kesitler BMP formatında kaydedilmiştir. Uygulanan pH siklus sonrası numuneler aynı tarama parametreleri kullanılarak tekrar taranmıştır. NRecon (Ver. 16 1.6.10.2; SkyScan) ve CTAn (Ver. 1.16.4.1+, SkyScan) yazılımı kullanılarak numunelerin görselleştirilmesi ve nicel ölçümü gerçekleştirilmiştir. Ölçülecek alanın sınırlarını belirlemek için, kesitlerin yatay düzleminde yarı otomatik olarak dairesel bir ilgi alanı (ROI) çizilmiştir. Belirlenen ROI'ler ile hacimsel farklar ayrı ayrı hesaplanmıştır. Numune verileri CTVol (Ver. 2.3.2.0; Skyscan) programına aktararak üç boyutlu modelleme görüntüleri elde edilmiştir. Numunelerin tarama öncesi ve sonrası, DataViewer (Ver. 1.5.0) yazılımı ile 3 boyutlu uzayda x-y-z düzlemlerinde hizalanmıştır. İlk olarak, uzaysal düzlemde hizalanan numunelerin ROI'si, demineralizasyon sonrası yalnızca bir kez belirlenmiştir. Uygulanan pH siklus sonrası, aynı numune için aynı ROI kullanılarak analiz yapılmıştır. Aynı uzaysal boyut koordinatlarına sahip aynı numunenin analizleri, taramalardan önce ve sonra yapılmıştır. Demineralizasyon sonrası ve pH siklus sonrası hacimsel fark ölçümleri, CTAn yazılımı (Ver. 1.16.4.1+, SkyScan) ile hesaplanmıştır.

### 3.12. Taramalı Elektron Mikroskobu ve Enerji Dağılım Spektroskopisi (SEM-EDS) Analizleri

Örnekler, asetonlu pamuk peletler ile adeziv bant ve tırnak cilasına ait artıklardan temizlenip kurutulmuştur. EDS ve SEM analizinden önce bütün numuneler havasız bir ortamda ince bir altın filmle kaplanmıştır. 30 adet örnek pH döngü sonrası SEM-EDS (Cressington Sputter Coater 108 auto-Cressington MTM-20, Dortmund, Almanya) ile mineral ölçümleri (Ca, P, F, Si, Na, Cl, O) yapılmıştır. Ayrıca x1000 ve x2500 büyütmede 12 kV ile SEM (EVO LS10, Zeiss, Oberkochen, Almanya) görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 3.21). EDS analizi x1000 büyütmede 12 kV ile numune yüzeyinden belirlenen 3 noktadan yapılan ölçüm ile gerçekleştirilmiştir. SEM-EDS analizi Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda uygulanmıştır.



Şekil 3.21: SEM cihazı (EVO LS10, Zeiss, Oberkochen, Almanya)

### 3.13. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS 23.0 programı (IBM, Şikago, ABD) kullanılarak yapılmıştır. BMD değerlerinin grup içi ve gruplar arası karşılaştırılmasında iki yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalarda Tukey testinden yararlanılmıştır. Ca, P, Ca/P ve Si değerlerinin gruplara göre karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen veriler Kruskal Wallis, normal dağılan veriler ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırılmıştır. Çoklu karşılaştırmalarda dağılımlar homojen olmadığından Tamhane's T2 testi kullanılmıştır. Analiz sonuçları ortalama  $\pm$ s.sapma, ortanca (minimum-maksimum) olarak sunulmuştur. Sonuçların değerlendirilmesi  $p < 0,05$  anlamlılık düzeyinde

yapılmıştır.



## **4. BULGULAR**

### **4.1. Mikro-CT Bulguları**

#### **4.1.1. Sağlam mine ve remineralizasyon sonrası mine yüzeyinden elde edilen BMD değerlerinin grup içi karşılaştırılması**

Fluor vernik grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. Fluor vernik grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri 1,42 g/cm<sup>3</sup> iken; remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri 1,39 g/cm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Mikro BAG grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır (p<0,001). Mikro BAG grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri 1,48 g/cm<sup>3</sup> iken; remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri 1,09 g/cm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Nano BAG grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır (p<0,001). Nano BAG grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri 1,46 g/cm<sup>3</sup> iken; remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri 0,98 g/cm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

#### **4.1.2. Demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası elde edilen BMD değerlerinin grup içi karşılaştırılması**

Fluor vernik grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur. Fluor vernik grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri 1,30 g/cm<sup>3</sup> iken; remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri 1,39 g/cm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir

(Tablo 4.1).

Mikro BAG grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0,001$ ). Mikro BAG grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $1,33 \text{ g/cm}^3$  iken; remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $1,09 \text{ g/cm}^3$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Nano BAG grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0,001$ ). Nano BAG grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $1,23 \text{ g/cm}^3$  iken; remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $0,98 \text{ g/cm}^3$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

#### **4.1.3. Remineralizasyon sonrası elde edilen BMD değerlerinin gruplararası karşılaştırılması**

Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0,001$ ). Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $1,39 \text{ g/cm}^3$  iken; mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $1,09 \text{ g/cm}^3$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0,001$ ). Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $1,39 \text{ g/cm}^3$  iken; nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $0,98 \text{ g/cm}^3$  olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p > 0,05$ ). Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $1,09 \text{ g/cm}^3$  iken; nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri  $0,98$

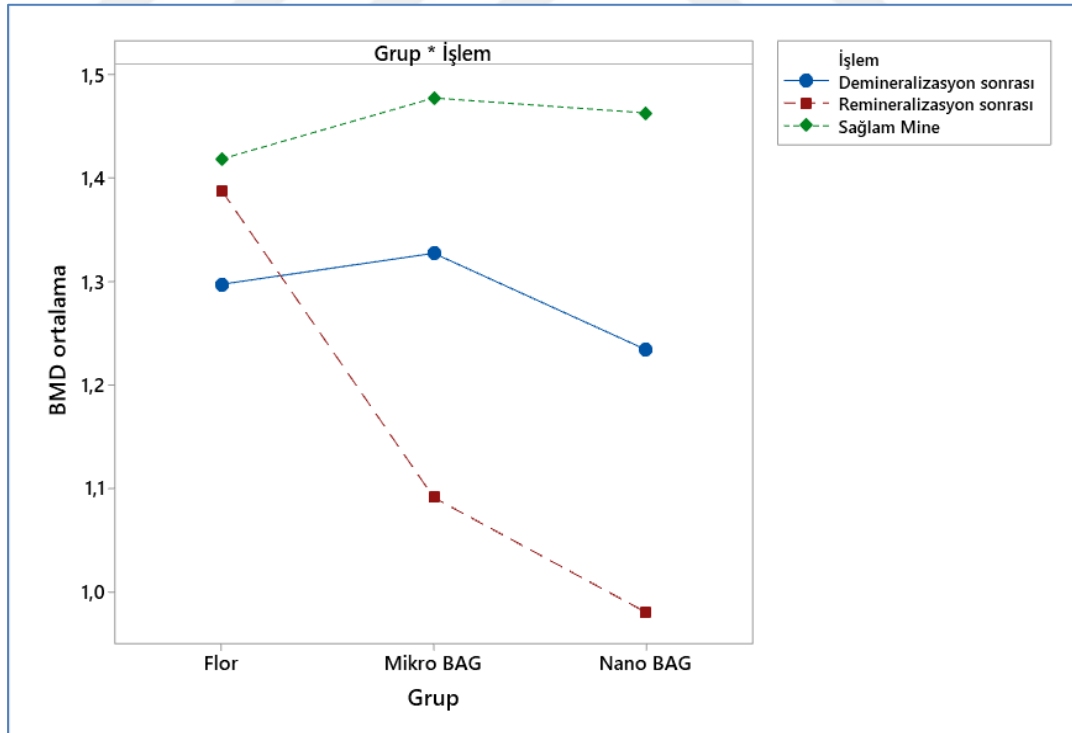
g/cm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1:** BMD ölçümlerine ait tanımlayıcı istatistikler ve çoklu karşılaştırma sonuçları

İşlem	Grup			Toplam
	Flor	Mikro BAG	Nano BAG	
Demineralizasyon sonrası	1,30 ± 0,09 <sup>AB</sup>	1,33 ± 0,12 <sup>AB</sup>	1,23 ± 0,12 <sup>BC</sup>	1,29 ± 0,11 <sup>a</sup>
Remineralizasyon sonrası	1,39 ± 0,10 <sup>AB</sup>	1,09 ± 0,21 <sup>CD</sup>	0,98 ± 0,16 <sup>D</sup>	1,16 ± 0,23 <sup>b</sup>
Sağlam Mine	1,42 ± 0,11 <sup>AB</sup>	1,48 ± 0,10 <sup>A</sup>	1,46 ± 0,14 <sup>A</sup>	1,45 ± 0,11 <sup>c</sup>
Total	1,37 ± 0,11 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,22 <sup>ab</sup>	1,23 ± 0,24 <sup>b</sup>	

<sup>a-c</sup>Aynı harfe sahip işlem ya da gruplar arasında fark yoktur; <sup>A-D</sup>Aynı harfe sahip Grup ve İşlem etkileşimleri arasında fark yoktur

Sağlam ve demineralizasyon sonrası mineden elde edilen ortalama BMD değerleri ile; fluor vernik, mikro BAG ve nano BAG jelin uygulanması sonrası (remineralizasyon sonrası) mineden elde edilen ortalama BMD değerlerinin birbirleri arasındaki etkileşimi veren grafik Şekil 4.1' de verilmiştir.



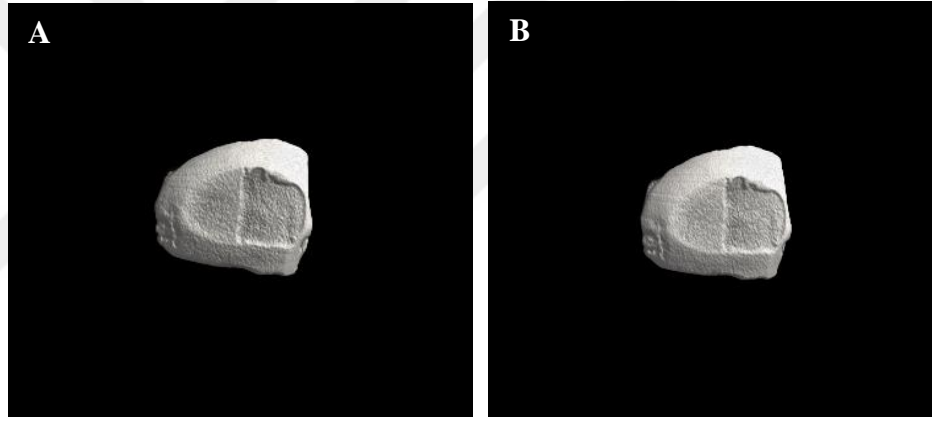
**Şekil 4.1:** Etkileşimler için ortalama değer grafiği

## 4.2. Mikro-CT ile Taraması Sonucu Elde Edilen Görüntüler

Demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası değişimin en belirgin olduğu kesitlerden görüntüler elde edilmiştir.

### 4.2.1. Florür vernik uygulanan gruba ait görüntüler

Mikro-CT ile yapılan taramalarda örneklerin 3 boyutlu görüntüleri elde edilmiştir. Demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası değişimin en belirgin olduğu kesitlerden görüntüler elde edilmiştir. Çürük oluşturulan alana florür vernik uygulaması sonrası mine yüzeyinde bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2:** Florür vernik uygulanan mine örneği görüntüsü (A: Demineralizasyon sonrası B: Florür vernik uygulaması sonrası)

### 4.2.2. Mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan gruba ait görüntüler

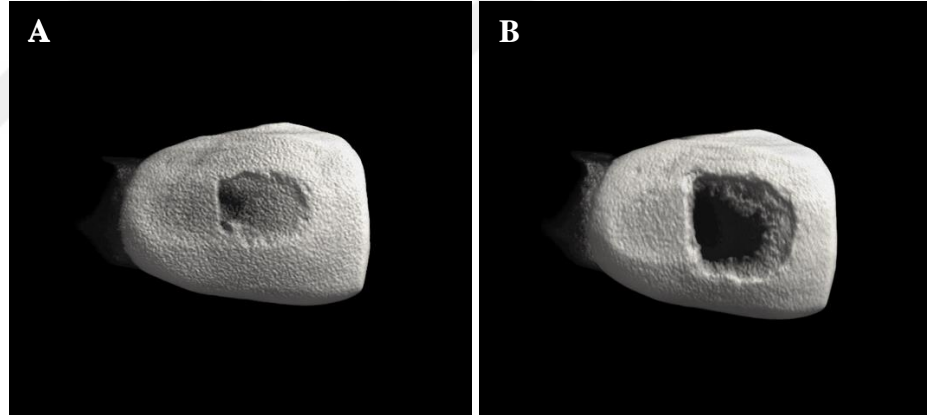
Mikro boyutlu BAG içerikli jelin uygulanması sonrası, mine yüzeyinde demineralize edilen bölgenin daha çok aşınmaya uğradığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3:** Mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneği görüntüsü (A: Demineralizasyon sonrası B: Jelin uygulanması sonrası)

#### 4.2.3. Nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan gruba ait görüntüler

Nano boyutlu BAG içerikli jelin uygulanması sonrası mine yüzeyinde demineralize edilen bölgenin daha çok aşınmaya uğradığı gözlemlenmektedir (Şekil 4.4).



**Şekil 4.4:** Nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneği görüntüsü (A: Demineralizasyon sonrası B: Jelin uygulanması sonrası)

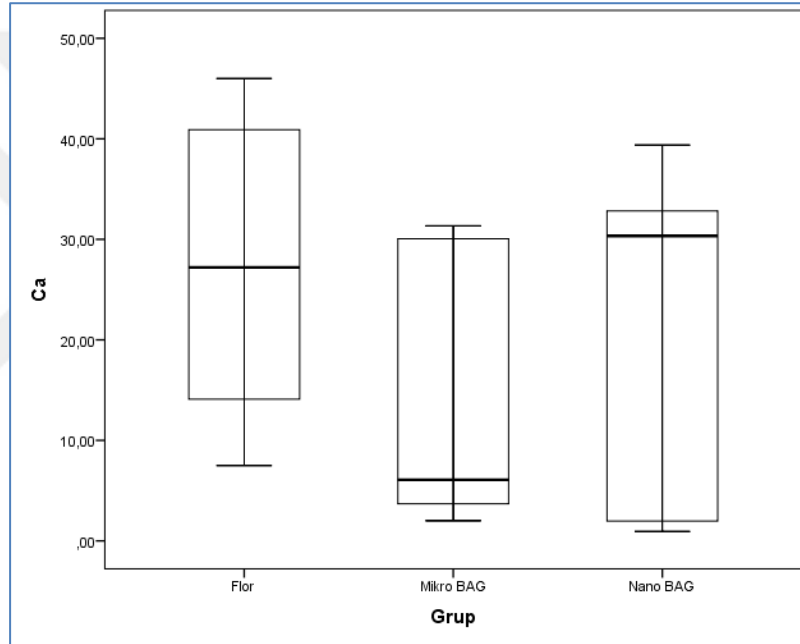
#### 4.3. SEM-EDS Bulguları

Gruplara göre ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ( $p= 0,140$ ). Fluor vernik grubunda ortanca değer 27,2 iken, mikro BAG grubunda 6,07 ve nano BAG grubunda 30,35 olarak elde edilmiştir (Tablo 4.2) (Şekil 4.5).

**Tablo 4.2:** Gruplara göre **ağırlıkça (%) Ca<sup>2+</sup>** değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Ağırlıkça (%) Ca <sup>2+</sup> Ortanca (minimum- maksimum)
Fluor vernik	27,2 (7,5 –46)
Mikro BAG	6,07 (2,01 –31,34)
Nano BAG	30,35 (0,94 - 39,38)
Test İstatistiği	3,939*
P	0,140

\*Kruskal Wallis analizi



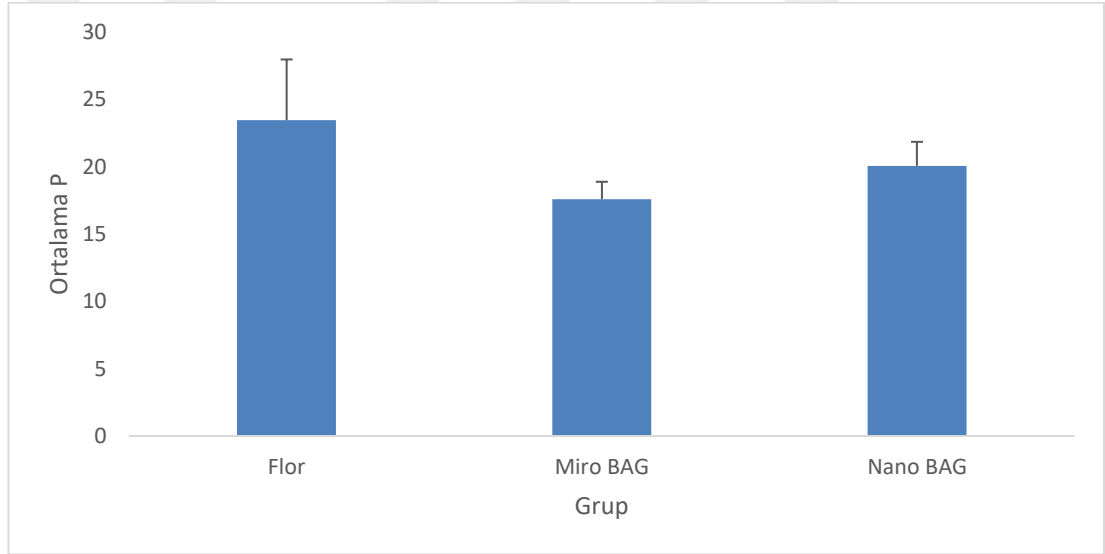
**Şekil 4.5:** Gruplara göre ağırlıkça (%) Ca<sup>2+</sup> değerleri için kutu grafiği

Gruplara göre ağırlıkça (%) P<sup>+</sup> ortalama değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p< 0,001). Fluor vernik grubunda ortalama değer 23,45 iken, mikro BAG grubunda 17,59 ve nano BAG grubunda 20,06 olarak elde edilmiştir (Tablo 4.3). Nano BAG grubu ile fluor grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ve mikro BAG grubunda elde edilen ortanca değer diğer gruplardan anlamlı olarak daha düşüktür (Şekil 4.6).

**Tablo 4.3:** Gruplara göre ağırlıkça (%) P<sup>+1</sup> değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Ağırlıkça (%) P <sup>+1</sup> Ortalama± standart sapma
Fluor vernik	23,45 ± 4,51 <sup>a</sup>
Mikro BAG	17,59 ± 1,28 <sup>b</sup>
Nano BAG	20,06 ± 1,78 <sup>a</sup>
Test İstatistiği	11,683**
P	<0,001

\*\*Tek yönlü varyans analizi; <sup>a-b</sup>Aynı harfe sahip gruplar arasında fark yoktur



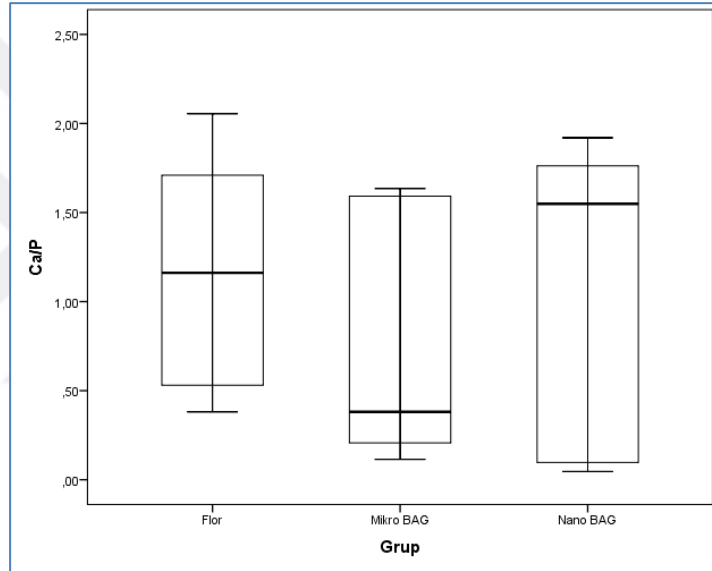
**Şekil 4.6:** Gruplara göre ağırlıkça (%) P<sup>+1</sup> değerlerine ait ortalama ve standart sapma grafiği

Gruplara göre ağırlıkça (%) Ca/P ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir (p=0,503). Fluor vernik grubunda ortanca değer 1,16 iken, mikro BAG grubunda 0,38 ve nano BAG grubunda 1,55 olarak elde edilmiştir (Tablo 4.4) (Şekil 4.7).

**Tablo 4.4:** Gruplara göre ağırlıkça (%) Ca/P değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Ağırlıkça (%) Ca/P Ortanca (minimum-maksimum)
Fluor vernik	1,16 (0,38 - 2,06)
Mikro BAG	0,38 (0,11 - 1,63)
Nano BAG	1,55 (0,05 - 1,92)
Test İstatistiği	1,373*
P	0,503

\*Kruskal Wallis analizi



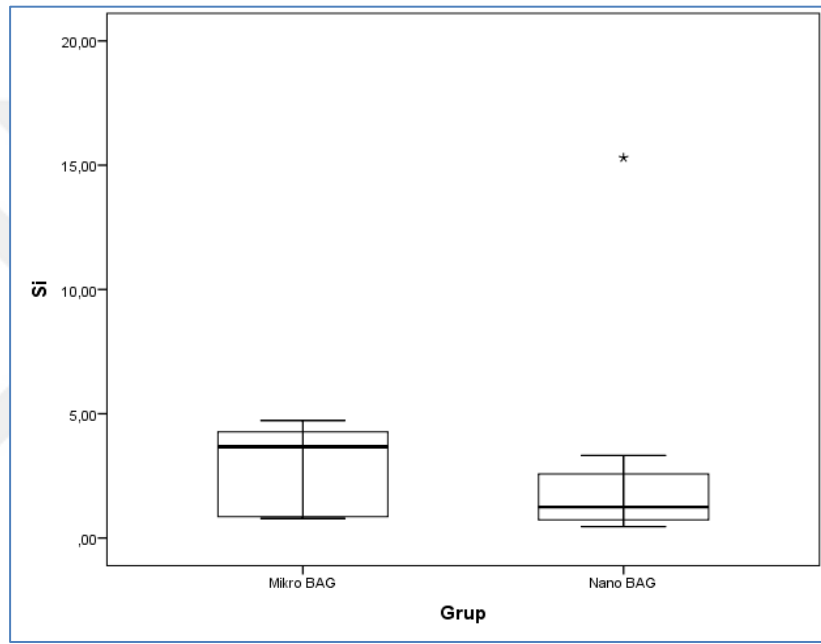
**Şekil 4.7:** Gruplara göre ağırlıkça (%) Ca/P değerleri için kutu grafiği

Gruplara göre ağırlıkça (%)  $Si^{+4}$  ortanca değerleri ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ( $p= 0,199$ ). Mikro BAG grubunda ortanca değer 3,67 iken, nano BAG grubunda ortanca değer 1,25 olarak elde edilmiştir (Tablo 4.5) (Şekil 4.8).

**Tablo 4.5:** Gruplara göre ağırlıkça (%) Si<sup>+4</sup> değerlerinin karşılaştırılması

Grup	Ağırlıkça (%) Si <sup>+4</sup> Ortanca (minimum-maksimum)
Mikro BAG jel	3,67 (0,79 - 4,73)
Nano BAG jel	1,25 (0,46 - 15,3)
Test İstatistiği	33,00*
P	0,199

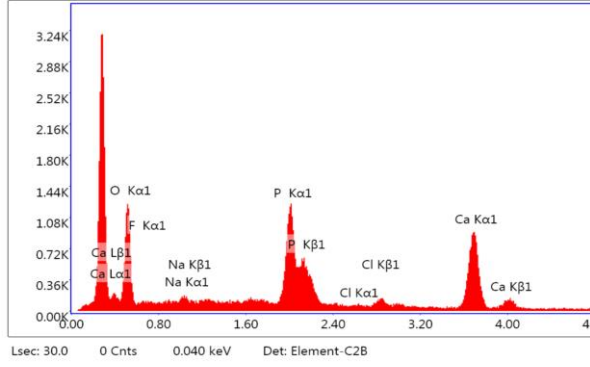
\*Mann Whitney U testi



**Şekil 4.8:** Gruplara göre ağırlıkça (%) Si<sup>+4</sup> değerleri için kutu grafiği

#### 4.3.1. Florür vernik ajanına ait EDS analizi örneği

Florür vernik uygulanmış yapay çürük oluşturulan süt dişi minesinin EDS analizinde; florür vernik ajana ait F elementi, dişin HAP yapısında bulunan Ca ve P elementleri ile, diş ve kullanılan pH döngü solüsyonlarının kimyasal formülünde yer alan Na, Cl, O elementleri saptanmıştır (Şekil 4.9).

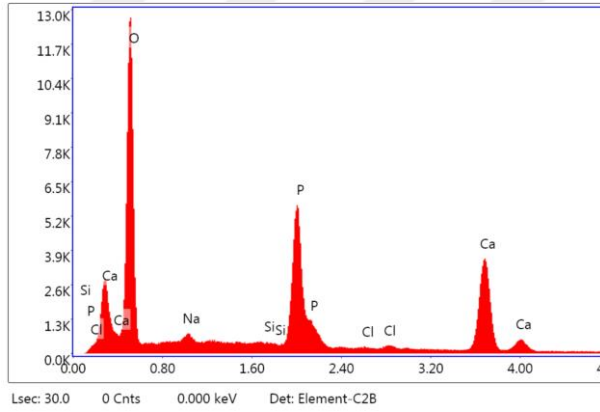


Element	Ağırlıkça %	Atomik %
O	29.0	7.8
F	0.1	0.1
Na	1.3	1.4
P	24.4	20.8
Cl	0.7	0.6
Ca	44.5	29.3
<b>Toplam</b>	<b>100</b>	

**Şekil 4.9:** pH döngüsü sonrası florür vernik ajan uygulanan mine örneğinin EDS mineral analiz grafiği

#### 4.3.2. Mikro boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait EDS analizi örneği

Mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanmış yapay çürük oluşturulan süt dişi minesinin EDS analizinde; jel içeriğinde bulunan BAG materyaline ait Si elementi, dişin HAP yapısında bulunan Ca ve P elementleri ile, diş ve kullanılan pH döngü solüsyonlarının kimyasal formülünde yer alan Na, Cl, O elementleri saptanmıştır (Şekil 4.10).



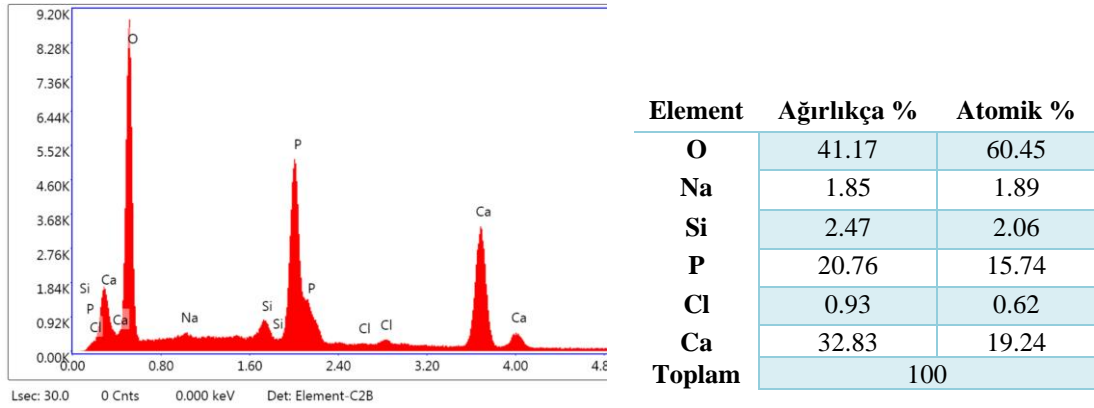
Element	Ağırlıkça %	Atomik %
O	46.78	65.78
Na	2.28	2.23
Si	0.81	0.65
P	19.11	13.88
Cl	0.61	0.39
Ca	30.42	17.07
<b>Toplam</b>	<b>100</b>	

**Şekil 4.10:** pH döngüsü sonrası mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneğinin EDS mineral analiz grafiği

#### 4.3.3. Nano boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait EDS analizi örneği

Nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanmış yapay çürük oluşturulan süt dişi minesinin EDS analizinde; jel içeriğinde bulunan BAG materyaline ait Si elementi, dişin HAP yapısında bulunan Ca ve P elementleri ile, diş ve kullanılan pH döngü

solüsyonlarının kimyasal formülünde yer alan Na, Cl, O elementleri saptanmıştır (Şekil 4.11).



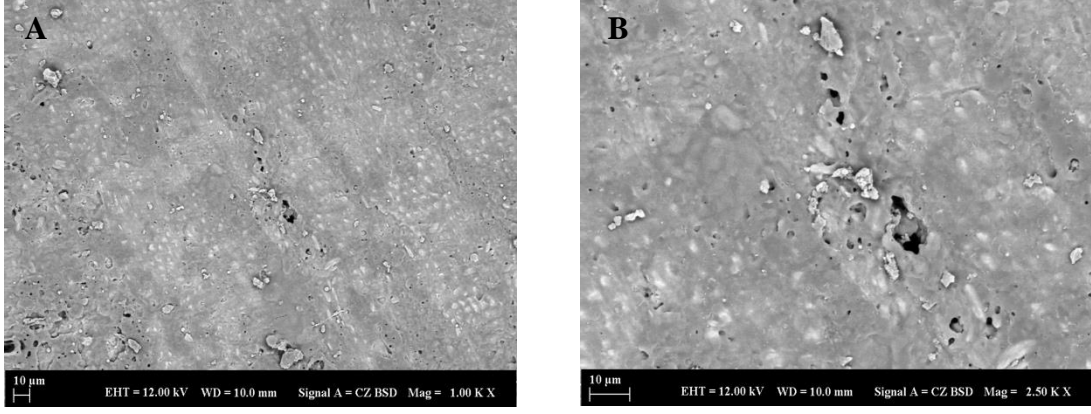
**Şekil 4.11:** pH döngüsü sonrası nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan mine örneğinin EDS mineral analiz grafiği

#### 4.4. Taramalı Elektron Mikroskobuna Ait Bulgular

Başlangıç çürüğü oluşturulan süt dişi mine örneklerine 6 günlük pH döngüsünde remineralizasyon ajanlarının uygulanması sonrası elde edilen her gruptan bir örneğe ait olan SEM görüntüleri gösterilmektedir.

##### 4.4.1. Florür vernik ajanına ait görüntüler

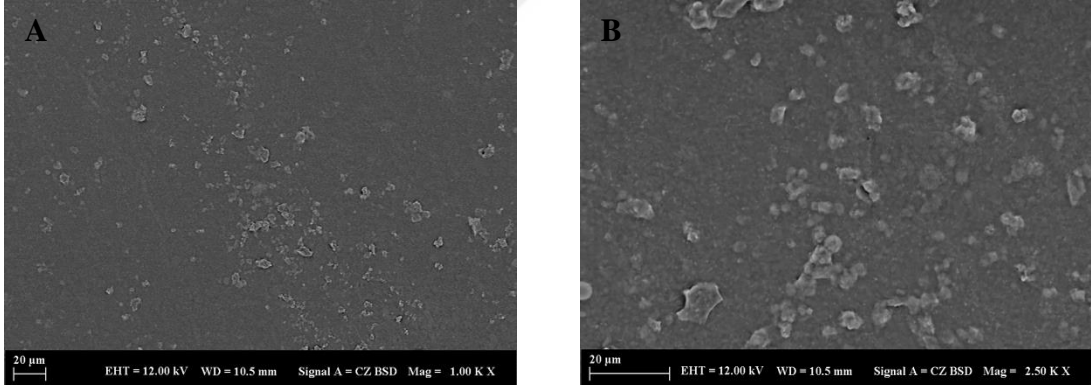
Florür vernik ajan uygulanan grupta; 6 günlük pH döngüsü uygulanması sonrası mine yüzeyindeki açığa çıkan mine prizmalarını kısmen örten tabaka ile kaplı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca demineralizasyon sonucu açığa çıkan mine prizmaları da görülebilmektedir. Florür vernik ajanın uygulanması sonucu mine yüzeyinde düzensiz mineral çökeltilerin varlığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12:** pH döngüsü sonrası florür vernik ajan uygulanan örneğin x1000 ve x2500 büyütmede SEM görüntüleri (A-B)

#### 4.4.2. Mikro boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait görüntüler

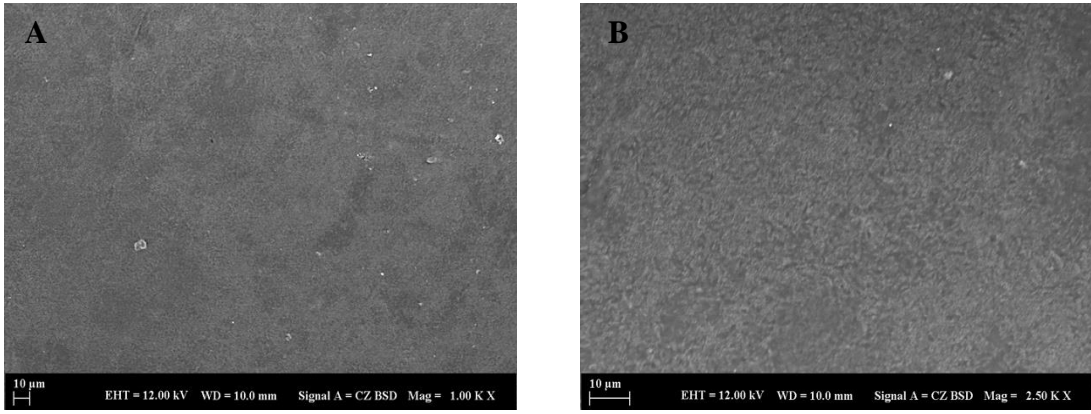
Mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan grupta; 6 günlük pH döngüsü uygulanması sonrası mine yüzeyinde demineralizasyon sonrası açığa çıkan mine prizmalarının üzerinin tamamen bir tabaka ile kaplandığı gözlemlenmiştir. SEM görüntülerinde mine yüzeyini kaplayan tabakanın üzerinde homojen olmayan çökeltilerin varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



**Şekil 4.13:** pH döngüsü sonrası mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan örneklerin x1000 ve x2500 büyütmede SEM görüntüleri (A-B)

#### 4.4.3. Nano boyutlu BAG içerikli jel ajanına ait görüntüler

Nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan grupta; 6 günlük pH döngüsü uygulanması sonrası mine yüzeyinde demineralizasyon sonrası açığa çıkan mine prizmalarının üzerinin tamamen bir tabaka ile kaplandığı gözlemlenmiştir. SEM görüntülerinde mine yüzeyini kaplayan tabakanın üzerinde oluşan küçük boyutlu çökeltilerin homojen şekilde dağılım gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.14).



**Şekil 4.14:** pH döngüsü sonrası nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jel uygulanan örneklerin x1000 ve x2500 büyütmede SEM görüntüleri (A-B)

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde kavitsiyonsuz başlangıç çürük lezyonları özellikle çocuklarda yaygın olarak görülmektedir. Bu durum uzun zamandır süregelen destekleyici kanıtların yanı sıra son yıllardaki epidemiyolojik çalışmalarla da doğrulanmıştır [284, 285]. Bu nedenle demineralizasyonun neden olduğu hasarın remineralizasyon ile onarılabileceği kavramı, çocuk diş hekimliğinde önemli bir yere sahiptir. Mine remineralizasyonunu teşvik etmek için çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmaktadır [286]. Özellikle başlangıç çürük lezyonlarının invaziv olmayan tekniklerle önlenmesi çürük önleyici materyaller alanında destekleyici çalışmaların yapılmasını gerektirmektedir. [14, 137, 281, 287]. Güncel çalışmalarda, nanoteknolojinin koruyucu diş hekimliğinde; diş çürüğünün mikron ve nano boyut düzeyinde remineralizasyonunda yeni stratejiler sağlayabileceği düşünülmektedir [288]. Tez çalışmamızda modern tanı yöntemlerinden Micro-CT ve SEM-EDS analiz yöntemleri kullanılarak mikro ve nano boyutlu biyoaktif camın erken çürük lezyonlarındaki remineralizasyona etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

### 5.1. Gereç ve Yöntemin Tartışılması

Süt dişi çürüklerinin tedavisinde geleneksel restorasyon yöntemi, özellikle tedavide uyumlu olmayan hastalarda zor olabilmektedir. Çürüklerin erken evrelerinde demineralizasyon sürecini tersine çevirmede girişimsel olmayan tedavi uygulamalarını tercih etmek daha doğru bir yaklaşımdır. Mine bütünlüğünü korumak ve kavitsiyonların oluşmasını önlemek amacıyla son yıllarda birçok remineralizasyon ajanı ortaya çıkmıştır.

Geçen yüzyılda Profesör Larry Hench tarafından piyasaya sürülen 45S5 biyoaktif cam, ilk olarak parçalı kırığa sahip ve eklem değiştirme operasyonu gereken hastalarda kullanılarak olumlu gelişmeler gözlemlenmiştir [289]. Sonrasında birçok tıp alanında kullanımı yaygınlaşmıştır. 45S5 biyoaktif cam, HAP açısından zengin bir tabakanın silikadan zengin tabakayı kaplayarak vücut sıvılarıyla etkileşimi ile sert ve yumuşak vücut dokularıyla biyouyumlu bir şekilde bağlanabilmektedir [290].

BAG, yüksek biyouyumluluğa sahip olması nedeniyle son yıllarda diş hekimliğinin birçok alanında kullanılmaktadır [291, 292]. Hem mine hem de dentin üzerinde remineralizasyon etkisi bulunmaktadır [293, 294]. Diş pulpa hücreleri için

düşük sitotoksositeye sahiptir [294]. Ayrıca ağız içi bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisi de doğrulanmıştır [295].

BAG' nin remineralizasyonu üzerine yapılan çalışmalar esas olarak mine ve dentin üzerine odaklanmıştır [23, 296-298]. Wu ve arkadaşları, BAG içerikli macunun dentin dokusunun mikrosertliğini iyileştirebileceğini ve demineralize dentinin yüzeyel tabakasında mineral birikimini destekleyebileceğini bildirmişlerdir [296]. Abbassy ve arkadaşları tarafından BAG içerikli macunun lezyon derinliğini ve minedeki mineral kaybını başarılı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir [299]. Bununla birlikte BAG' nin süt dişleri üzerindeki etkinliğine dair hala kanıtsal olarak eksiklikler bulunmaktadır. Ayrıca, mevcut çalışmalarda kullanılan macun ve ticari BAG içeren diş macunu rolü net olmayan katkı maddeleri içermektedir [237, 296, 299-301]. Bu nedenlerle, çalışmamızda; herhangi bir katkı maddesinin müdahalesini azaltmak için saf bir biyoaktif cam süspansiyon formu kullanılmış ve süt dişi minesini üzerindeki potansiyel remineralizasyon etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır.

Laboratuvar yöntemleri, oldukça kontrollü ve uygun maliyetli koşullar altında yeni ajanların çürük önleyici potansiyellerinin değerlendirilmesine izin vermektedir. Dolayısıyla araştırmacılara genellikle *in situ* ve/ veya klinik araştırmalardan önce değerli bilgiler sağladığı için çürük araştırmalarında anahtar rol oynamaktadır. *In vitro* çalışma modelleri, yeni ajanların özelliklerini ve etki mekanizmalarını keşfetme açısından, *in vivo* çürük çalışmalarına öncülük etmektedir [287, 302].

Diş çürüğü sürecinde ortodontik braketlerin etrafında, restorasyonların çevresinde sekonder olarak, okluzal veya düz yüzeylerde gelişen çürüğün erken belirtisi olan beyaz nokta lezyonu; kimyasal veya mikrobiyolojik sistemlerle laboratuvar ortamında oluşturulabilmektedir. Genel olarak çürüğün oluşumu ağız ortamında, laboratuvarındaki çürük modellerine göre daha uzun bir süreçte gerçekleşmektedir. Çürük modelleri sayesinde çok daha kısa bir zaman diliminde demineralizasyon ve remineralizasyon fazları hakkında birçok bilgiye erişilebilmektedir [303, 304].

*In vitro* çalışma modelleri; demineralizasyon ve remineralizasyonun sürekli değiştiği ve yalnızca araştırma ürünlerinin uygulandığı çok kısa bir süre boyunca kesintiye uğradığı klinik koşulları yansıtmalıdır [302]. Ağız ortamında gelişen çürük sürecine bakıldığında mikrobiyal biyofilmin metabolik etkisinin bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Bu durum pH döngü modelinde diş örneklerinin

demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarına dönüşümlü olarak maruz bırakılmasıyla taklit edilmektedir [305]. pH döngü protokolleri; uzun süreli aside maruz kalma süreleri olan demineralizasyon periyotları, klinik olarak meydana gelen asit ataklarının diş yüzeyine ve yüzey altı lezyon üzerindeki yıkıcı etkilerini taklit edecek şekilde tasarlanmaktadır. Remineralizasyon periyotları ise tükürüğün koruyucu ve onarıcı etkilerini yansıtmaktadır [306].

*In vitro* ve *in situ* çalışmalar için dental substrat seçiminde rehber olarak gösterilen incelemeler; Mellberg, Ogaard ve Rolla tarafından gösterilmektedir [307, 308]. Çalışmalarda, klinik açıdan anlamlı olması için insan dişleri arasından daimi büyük azı ve küçük azı dişleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte daimi dişler, genetik etkiler, çevresel koşullar (diyet, florür maruziyeti, önceki çürük tehdidi) ve yaş (erüpsiyon sonrası olgunlaşma ve dentin sklerozu) gibi değişkenler barındırmaktadır. Bu durum asidik koşullar altında büyük farklılıklara yol açmaktadır. Süt dişleri ise elde edilmesi zor ve deneysel manipülasyon için küçük yüzey alanlarına sahip oldukları için nadir olarak kullanılmaktadır. *In vitro* çalışmalarda süt dişleri kullanıldığında lezyonların ilerlemesinin kalıcı dişlere göre daha hızlı geliştiği dikkate alınmalıdır [89].

Çalışmalarda kullanılan diş tiplerinin mine dokularında yapısal ve kimyasal bileşenler açısından farklılıklar bulunmaktadır [244, 309]. Süt diş minesinde daimi diş minesine göre fluor konsantrasyonunun daha düşük ve organik madde konsantrasyonunun daha yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir [310, 311]. Naujoks ve arkadaşları tarafından süt dişi minesinde daha yüksek Ca/P oranı gözlemlenmesine rağmen daimi diş minesine göre daha düşük bir mineralizasyon derecesi tespit edilmiştir [312]. Sığır dişi minesinin ise; insan dişi minesinden daha gözenekli bir yapıya sahip olduğu için daha hızlı demineralize olduğu gözlemlenmiştir [244, 313]. Ancak Featherstone ve Mellberg' in yaptığı çalışmada, yapay çürük lezyonları oluşturulurken demineralizasyonun süt dişi minesinde daimi insan dişi ve sığır dişi minesine göre 1,5 kat daha hızlı geliştiği rapor edilmiştir [244]. Amaechi' nin hayvan ve insan dişleri kullanarak erozyon üzerine yaptığı çalışmada ise sığır dişi minesinde insan daimi dişi minesine göre; insan süt dişi minesinde ise insan daimi dişi minesine göre daha hızlı çürük lezyonu geliştiği gösterilmiştir [309]. Çalışmamızda çekilmiş keser, kanin ve molar süt dişleri kullanılmıştır. Süt dişi mine kalınlıklarının, daimi diş mine kalınlıklarına göre daha ince olup çürük oluşumunun daha hızlı geliştiği

bilinmektedir. Bu durum dikkate alındığında, dişlerde çatlak oluşumunu önlemek için dişlerin bukkal veya lingual parçalarından yaklaşık olarak 5 mm en, 5 mm boy ve 2 mm yükseklik olacak şekilde mine-dentin kesitleri oluşturulmuştur. Elde edilen kesitlerde yapay çürük oluşturulurken yıkıcı bir şekilde lezyon oluşumunu engellemek için örnekler demineralizasyon solüsyonda 3 gün bekletilmiştir. Ayrıca, demineralizasyon ve pH döngü işlemlerinde sağlam mine, tırnak cilası ve adeziv bant kullanılarak korunmuştur.

*In vitro* şartlarda gerçekleştirilen çalışmalarda, diş yüzeylerinin standardize edilmesi önem taşımaktadır. Kullanılan birçok analiz yönteminde, düz ve pürüzsüz diş yüzeylerinin oluşturulması gerekmektedir. Bu yüzden, ölçümlerin standardize yapılabilmesi için örnek yüzeylerinin cilalanması önerilmektedir [278]. Cilalama işlemi sırasında yaklaşık 100 µm kalınlığında prizmatik mine dokusu yüzeyden kaldırılmaktadır [14, 278, 314]. Bizim çalışmamızda; cilalı ve düz bir yüzey oluşturmak amacıyla örnekler, polisaj makinesinde abraziv kağıt diskler kullanılarak eşit dönme hızında (100 rpm) ve eşit sürelerde (10 sn) zımparalanmıştır..

*In vitro* çalışmalarda sonucu etkileyebilen önemli bir diğer faktör de çekilmiş dişlerin kullanılana kadar saklandığı solüsyon ve çekim zamanı ile kullanım süresi arasında geçen zamandır. Tez çalışmamızda seçilen tüm dişler, çekimden sonraki 1 aylık sürede kullanılmıştır. Çekilmiş dişlerin saklanma ortamında en çok kullanılan distile su veya serum fizyolojik solüsyonlarıdır [315]. Solüsyonlar içerisine, mikroorganizma üremesini önlemek amacıyla timol, formalin, gluteraldehit, kloramin T gibi antimikrobiyal maddeler de eklenmektedir [315, 316]. Yapılan çalışmalar sonucunda, günlerce timol içeren solüsyonda bekletilmiş dişlerin dahi mikro veya nano sertliğinde herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir [316]. Bu nedenle çalışmamızda dişler, üzerindeki doku artıkları uzaklaştırıldıktan sonra % 0,1'lik timol solüsyonunda bekletilmiştir.

Çeşitli demineralizasyon sistemleri, demineralizasyon esnasında dişler üzerinde *in vivo* şartlarını taklit edebilmek amacıyla geliştirilmiştir. Çalışmalardaki yapay çürük lezyonları, pH değeri 4.4 ile 5.0 aralığında değişen tamponlu laktat veya asetat jel içeren solüsyonlarda 16 saat ile 28 gün arasında değişen bir sürede bekletilmesiyle elde edilmektedir [243]. Kullanılan asidin tipi ve konsantrasyonu; demineralizasyon oranını ve lezyonun karakterini belirlemektedir. Aynı pH değeri ve konsantrasyon koşulları sağlansa da asetat tamponları laktat tamponlarına göre daha

hızlı ve derin lezyonlar oluşturmaktadır [245, 317, 318]. Kalsiyum, fosfat ve florun asidik bir tampon sistemine dahil edilmesi, çözeltiyi kısmen doyurmaktadır. Böylece yüzey ve yüzey altı katmanları olan doğal lezyonun karakterine sahip yapay çürük lezyonları oluşturulabilmektedir [280]. Demineralizasyon solüsyonuna flor ilavesi demineralizasyon hızı üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu için çalışmada gerçekleştirilen demineralizasyon ve remineralizasyon dengesine müdahale ederek sonuçları değiştirebilmektedir [258]. Çalışmamız demineralizasyonu önleme ve remineralizasyonu sağlamada biyoaktif camın etkisini florür ajanına karşı görebilmek için planlandığından kullandığımız solüsyonlara herhangi bir fluor ilavesi yapılmamıştır.

Thaveesangpanich ve Itthagaran' un yaptıkları birçok çalışmada süt dişlerini yapay çürük lezyonu oluşturabilmek için pH değeri 4,4 olan demineralize edici solüsyonda 96 saat bekletmişlerdir [247, 258, 319]. Bu çalışmalarda ortalama yapay çürük lezyon derinliği 100-120 µm olarak elde edilmiştir [247, 258, 319]. Süt dişi üzerinde yapılan diğer in vitro çalışmalarda ise; Zhang ve ark. ile Khandelwal ve ark. süt dişlerini asetik asit içeren pH değeri 4,4 olan solüsyonda 48 saat, Gangwar ve ark. laktik asit içeren pH değeri 4,4 olan solüsyonda 48 saat, Özalp ve Tulunoğlu ise laktik asit içeren pH değeri 5,0 olan solüsyonda 72 saat bekleterek lezyon oluşturmuşlardır [250, 320-322]. Özalp ve Tulunoğlu tarafından yapılan çalışmada kontrollü bir lezyon derinliği oluşturabilmek için mine yüzeyi her gün optik profilometre ile ölçülmüştür. 72 saat sonunda 90-100 µm derinliğe ulaşıldığında demineralizasyon sonlandırılmıştır [322]. Çalışmamızda yapay çürük lezyonu oluşturmak için asetik asit içeren ve pH değeri 4,4 olan demineralize edici solüsyon kullanılmıştır [247]. Çalışmada kullandığımız keser, kanin ve molar süt dişlerinden elde ettiğimiz kesitlerinin mine kalınlıkları farklıdır. Bu nedenle, süt dişi mine yüzeylerinde yıkıcı bir şekilde lezyon oluşturmamak ve lezyon derinliğinin dentine ulaşmasını önlemek amacıyla demineralizasyon aşaması 3 gün olarak belirlenmiştir.

Birçok laboratuvar çalışmasında pH döngüsü, çeşitli modellemelerle uygulanmıştır [118, 249]. *In vitro* pH döngü modeli kullanılan çalışmalar, demineralizasyon ve remineralizasyonun etkisinin sonucunun net olarak aynı anda ölçülmesine izin vermektedir. Kalsiyum, fosfat ve fluor iyon konsantrasyonları ile iyi karakterize edilmiş çözeltilerin yanı sıra pH değerinin 4.1 ile 5.0 aralığında dikkatlice hazırlanması önemlidir. Remineralizasyon solüsyonu, tükürüğün remineralize edici

özelliklerini taklit etmek için belli bir doyma derecesinde kalsiyum ve fosfat içermelidir. Yapılan çalışmalarda yaygın olarak remineralizasyon solüsyonlarının pH' sı 6.8 ile 7.0 aralığında olmaktadır [243, 258, 323]. Bu tür solüsyonlar, tükürüğün mineral iyon bileşimine ve aşırı doygunluğuna en yakın olarak Ten Cate ve Duijsters tarafından geliştirilmiştir [249]. Buna göre; demineralizasyon aşaması 6 saat süre ile; pH 5.0' te 1.5 mM Ca (CaCl<sub>2</sub>), 0.9 mM PO<sub>4</sub> (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 0.05 M asetat içermelidir. Remineralizasyon aşaması ise 17 saat süre ile, pH 7.0' de tükürüğün remineralize edici özelliklerini taklit etmek için bilinen doygunluk derecesinde (1.5 mM Ca ve 0.9 mM PO<sub>4</sub>) kalsiyum ve fosfat, 130-150 mM KCl (iyonik gücü sağlamak için) ve 100 mM tris veya 20 mM kakodilat tamponu içermelidir. Bazı araştırmacılar; demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarındaki iyon konsantrasyonları ile örneklerin maruz kalma sürelerini (demineralizasyon için 3 saat/6 saat/17 saat/gün ve remineralizasyon için 6 saat/17 saat/gün) çalışmanın odak noktasına göre değiştirebilmektedirler [243]. Çalışmamızda, tükürüğün iyon içeriği ve doygunluğu düşünülerek kullandığımız pH döngü solüsyonlarında bahsedilen konsantrasyonlar baz alınmıştır. Doyma eşiğine ulaşma riskini önlemek için remineralize ve demineralize edici solüsyonlar, pH döngüde her aşamaya geçişte yenilenmiştir. Ayrıca, solüsyonların pH' ı da günlük olarak ölçülmüştür.

Mine yüzeyindeki demineralizasyon ve remineralizasyonu in vitro koşullarda değerlendirirken intraoral pH değişimini taklit etmek için mine örnekleri günde 6 saate kadar demineralizasyona tabi tutulurken 24 saatlik periyodun geri kalanında remineralizasyona tabi tutulmaktadır. İncelenmek istenen ajanın gün içinde uygulanma süresi de düşünüldüğünde remineralizasyon aşaması için bu süre ortalama 17 saat olarak belirlenmektedir. Toplam demineralizasyon süresi genellikle mine yüzeyindeki plakta meydana gelen çeşitli düşük pH dönemlerinin toplamını modellemek için tasarlanmaktadır [283]. Bu in vitro model, bilimsel açıdan düşünüldüğünde yüksek düzeyde kontrol ve nispeten düşük değişkenlik anlamına gelmektedir. Böylece *in vivo* modellerde çokça rastlanan hastanın diyet ve farklı alışkanlıkları nedeniyle değişen pH döngülerinden kaçınılabilmektedir. Bununla birlikte, tez çalışmamıza benzer in vitro çalışmalarda da; ağız içi katı yüzey alanı, çözelti oranlarını veya tükürük/ plak sıvı bileşimi, karmaşık intraoral koşulları taklit edilebilmesindeki yetersizliklerden dolayı sınırlamalar bulunmaktadır [243].

İn-vitro modeller, klinik deneylerin tasarlanması için nicel verilerin elde

edilmesini kolaylaştırmaktadır. pH döngü modeli, farklı materyallerin yapay çürüklerde demineralizasyon ve remineralizasyon süreci üzerindeki önleyici etkisinin değerlendirilmesi için güçlü bir araç olarak görülmektedir [243]. Ten Cate ve Duijsters 1982' de, Featherstone ve arkadaşları 1986' da en yaygın kullanılan pH döngü modellerini tanımlamışlardır [249, 324]. 7 günlük pH döngüsü ile demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarına 0.25 ppm florür eklenerek 10 günlük pH döngüsü olmak üzere iki tip pH döngü modeli belirlenmiştir [249, 324]. Fluor içeren diş macunlarının daimi diş minesini üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada 10 günlük pH döngü modeli kullanılmıştır [319]. Bu model, oluşturulan çürük lezyonlarının doku derinliklerine ilerlediğini göstermektedir. Süt dişlerinde çürük mine lezyonlarının incelendiği başka bir çalışmada da aynı model kullanılmış ve lezyonlar 7.günden sonra değerlendirilemeyecek kadar geniş hale gelmiştir [258]. Thaveesangpanich ve arkadaşları tarafından pH döngü solüsyonlarına fluor ilavesi olmadan süt dişleri üzerinde bir pH döngü çalışması yapılmıştır [247]. Bunun sonucunda döngünün 8.gününde tüm örneklerin aşındığını ve değerlendirme için uygunsuz hale geldiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda da görüldüğü gibi daimi dişlerin minesinde 10 günlük pH döngüsü modeli kullanılabilirken, süt dişleri için 7 günlük pH döngüsü veya 0.25 ppm florür ilaveli 10 günlük döngü kullanılabilir [247, 258, 319, 325, 326]. Bunlar göz önüne alındığında tez çalışmamızda hazırlanan süt dişi örneklerinde kullanılan solüsyonlara fluor ilavesi yapılmadan ve oluşturulan mine lezyonunun değerlendirilebilecek boyutta kalabilmesi için pH döngüsü 6 gün boyunca yapılmıştır.

Yapılan birçok *in vitro* çalışma, daimi dişlerde kullanım için tasarlanmıştır [23]. Süt dişleri kullanılarak yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır [250, 320, 321, 327]. Süt dişleri üzerinde yapılan 10 günlük bir pH döngüsü çalışmasında, daimi dişler için yaygın olarak kullanılan pH değeri 4,4- 4,5 olan demineralize edici solüsyonun pH değeri 4,8 olarak değiştirilmiştir [327]. Benzer şekilde, bir diğer çalışmada da, süt dişleri için pH değeri 4,4 olan bir demineralize edici solüsyon kullanıldığında, lezyonların ya dentine uzandığı ya da mine yüzeyinin aşındığı tespit edilmiştir [247]. Çalışmanın sonucunda 8 günlük pH döngüsünden sonra lezyonların hiçbir detayı değerlendirilememiştir [247]. Bu sonuç göz önüne alınarak, bizim çalışmamızda da 6 günlük bir pH döngüsü modeli kullanılmıştır. Ayrıca, pH siklus aşamasında kullandığımız demineralizasyon solüsyonu da asetik asit içermektedir. Ancak pH

siklus daha uzun süre uygulandığı için pH değeri 5' te tutularak yıkıcı bir şekilde lezyon oluşumu engellenmeye çalışılmıştır.

Minede çürük lezyonu gelişim süreci, mine dokusunda kimyasal çözünme ve yüzey altı mineral kaybını içermektedir [328]. J.A. Gray' e göre sulu ortamda mine çözünmesi, mine dokusu boyunca kalsiyum ve fosfatın difüzyon katsayısına bağlı olarak difüzyon kontrollü bir şekilde gerçekleşmektedir [329-332]. J.A. Gray, tampon sıcaklığındaki 10 °C' lik bir artışla minenin çözünürlük oranının % 20 arttığını gözlemlemiştir [329]. Mine çözünme hızı, tampon hidrojen iyonlarının ve anyonlarının artan sıcaklıkla mine yüzeyine hızlı şekilde yayılmasına bağlı olarak gelişmektedir [329]. B.T. Amaechi ve arkadaşları lezyon gelişimi ve sıcaklık üzerine yaptıkları çalışmalarında 20 °C' de (yaklaşık oda sıcaklığı değeri), 37 °C' ye göre daha az mineral kaybının olduğunu tespit etmiştir [309]. Bunlar dikkate alındığında tez çalışmamızda numuneler, demineralizasyon ve pH döngüsü sürecinde her örnek kendi numune kabında olacak şekilde oda sıcaklığında saklanmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda bir in vitro pH döngüsünün doğal dişler üzerindeki etkisinin, ağız ortamındaki dişler üzerindeki bir aylık etkisine eşit olduğu bildirilmiştir [333]. Elde edilen bu bilgiler gösteriyor ki BAG' nın demineralizasyonu inhibe edici etkisinin pH döngüsü ile ölçülmesi yalnızca kısa vadeli sonuçlar sağlamaktadır [334].

Biyoaktif camın yapısındaki silika ağı parçalandıktan sonra kalsiyum iyonlarının salınımını arttırmak amacıyla biyoaktif malzemelerin seyreltilmiş asitlerle karıştırılmasına dayanan bazı teknikler geliştirilmiştir [24, 295, 298, 299]. Aynı zamanda, çeşitli remineralizasyon ajanlarının terapötik etkinliğini arttırabilmek amacıyla uygulanabilecek bir yöntem de mevcuttur [23]. Bu yöntem, remineralizasyon ajanların üzerine onu dış faktörlerden korumayı amaçlayan bir ışıkla sertleşen bağlayıcı madde (bonding ajan) uygulanmasını içermektedir. Yapılan birçok çalışmada da gösterildiği gibi remineralizasyon ajanı, uygulanan bağlayıcı ajanının etkisi ile yapay tükürükte çözünmekten ve yıkanmaktan korunmaktadır [23-25, 295, 298]. Bakry ve arkadaşlarının [23] yaptığı çalışma referans alınarak planladığımız tez çalışmamızda; biyoaktif cam tozları fosforik asit jel ile karıştırılarak diş yüzeyine uygulanabilecek jel formunda bir ajan elde edilmiştir. Bu jel formundaki ajanı pH döngü solüsyonlarının yıkama ve çözme etkisinden korumak amacıyla her uygulama sonrası materyallerin üzerine bonding ajanı uygulanmıştır.

Mine yüzeyine uygulanan farklı materyallerin lezyona etkisini, reaksiyon ürünlerini, yüzey ve iyon değişikliklerini değerlendirmek için birçok farklı teknik kullanılabilir. BAG üzerine yapılan çalışmalarda; FTIR-ATR (Fourier dönüşümlü kızılötesi-azaltılmış toplam yansıma) spektroskopisi, TMR (transversal mikroradografi), AFM (atomik kuvvet mikroskobu), Mikro-CT, optik profilometri, XRD (X-ışını difraksiyon spektroskopisi), CP-OCT (çapraz polarizasyon-optik koherens tomografisi), SEM, EDS ve konfokal lazer taramalı elektron mikroskobu gibi araçlar kullanıldığı gözlemlenmektedir [23, 25, 237, 250, 257, 334-336].

Örneklerde yapay lezyonların derinliği, mineral içeriği ve sertlik profillerini nitel olarak değerlendirmek için SEM kullanılabilir [89]. SEM, mine yüzeyinin topografik yapısı ve yüzeyde meydana gelen değişiklikleri detaylıca incelemeye olanak sağlamaktadır [337, 338]. İncelenmek istenen yüzey, x50 ile x300000 büyütme aralıklarında farklı boyutlarda görüntülenebilmekte ve örnekler en ince ayrıntısına kadar detaylandırılabilir [339]. SEM’ de örneklerin, düz yüzey ve kesitsel yüzeyler halinde görüntüsü oluşturulabilir. İncelenecek materyalin türü, boyutu, uygulanan tedavi prosedürü, görüntülenecek yüzeye göre görüntüleme yöntemi değerlendirilmektedir. Bu tez çalışmasında, demineralizasyon sonrası mine yüzeylerinde uygulanan remineralizasyon ajanları sonucunda meydana gelen yapısal değişikliklerin ve elemental analizin değerlendirilmesi için düz yüzey görüntüleme tekniği tercih edilmiştir.

Geleneksel SEM görüntülemeye inceleme yapılabilmesi için örneklerin kuru ve iletken olması gerekmektedir. Bu nedenle metalik yapıda olmayan örnekler, kurutulduktan sonra vakumlu ortamda ve argon gazı varlığında kaplanmalıdır. Kaplama materyali olarak genellikle altın kullanılmaktadır. Bunun birlikte grafit, platin, iridyum, tungsten, krom, osmiyum gibi metaller de kullanılabilir [337, 338]. Bunlar dikkate alındığında çalışmada, SEM-EDS analizinde incelenecek mine örnekleri, kurutulduktan sonra vakum altında altın ile kaplanmıştır.

EDS, iki aşamalı ölçüm yapan bir yöntemdir. İlk aşamada örnek yüzeyindeki elemental içerik kalitatif olarak saptanmaktadır. İkinci aşamada ise kalitatif olarak saptanan içeriğin kantitatif olarak hesabı yapılmaktadır [340]. Yapılan çalışmalarda kalitatif ölçüm, cihazın örnek yüzeyindeki iyonları tespit etmesi ve elemental içeriğin adlandırılması olarak belirtilmektedir. Kalitatif analizin yanı sıra EDS, örneklerde mevcut elementlerin konsantrasyonlarını ölçmek için kullanılmaktadır. Böylece

kantitatif analize imkân sağlamaktadır [340-343]. Kantitatif analizde doğru ölçüm yapabilmek için dikkat edilmesi gereken önemli noktalar bulunmaktadır. Bu aşamadaki en önemli nokta, tüm örneklerde ölçüm esnasında standart bir yöntem oluşturabilmektir [340]. Öncelikle incelenmek istenen örneklerin yüzeyleri mutlaka düz olmalıdır. Çünkü yüzeydeki düzensizlikler, oluşan X ışınlarının saçılım ve dağılımlarını etkilemekte ve elde edilen pik değerlerinin farklı olmasına neden olmaktadır. Diğer önemli nokta ise, analiz parametrelerinin inceleme esnasında her örnek için aynı olmasıdır [340]. Tez çalışmamızda doğru şekilde kantitatif analiz yapmak ve gerçeğe en yakın verileri elde edebilmek için standardizasyona önem verilmiştir. Bu amaçla, düz ve pürüzsüz yüzeyler elde edebilmek için örnek yüzeyleri zımparalanarak düzensizlikler giderilmiştir. Örneklerin incelenmesi sırasında atom numarası düşük olan (Ca, P, F, Na, O, Cl, Si) elementlerle çalışıldığından, spektrum oluşturulurken bekleme zamanı olabildiğince uzun tutulmuştur. Böylece elementlerin gerçek dağılımı ve konsantrasyonları doğru olarak saptanabilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, her bir örneğin EDS analiz zamanı 480 saniye olarak belirlenmiş ve her örnek yüzeyinden belirlenen üç noktadan ölçümler yapılmıştır.

Diş yüzeylerine uygulanan farklı işlemler ve bu yüzeylere uygulanan ajanlar, dokuların mineral içeriğini ve yapısını değiştirebilmektedir. Minenin inorganik yapısını hidroksiapatit kristali oluşturmaktadır. Kristal yapıyı oluşturan elementler arasında yer alan Ca ve P miktarında, yapıdaki diğer elementlere kıyasla meydana gelen değişiklikler; kristal yapının büyüklüğünü, geçirgenliğini ve çözünürlüğünü etkilemektedir [206, 340, 344]. Sağlam mine dokusunda Ca ve P ağırlıkça yüzdeleri ve ağırlıkça (%) Ca/P oranının, demineralize mine dokusuna göre daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu diş sert dokularında remineralizasyonun değerlendirildiği çalışmalarda Ca, P elementleri ve Ca/P oranı büyük önem arz etmektedir [206, 340, 344]. Çalışmamızda, başlangıç mine çürük lezyonu oluşturulan ve 3 farklı remineralizasyon ajanının etkisinin görmek istediğimiz için mine örneklerinde EDS analiziyle saptanan elementlerden ağırlıkça (%) Ca, P, Si elementleri ile ağırlıkça (%) Ca/P oranlarına ait veriler üzerinde durulmuştur.

EDS analizi ile atom numarası 11'den küçük olan elementlerin tespitini sınırlıdır. Atom numarası 6' nın altında olan elementler ise bu analiz ile saptanamamaktadır [188]. Bu bilgi dikkate alındığında örnekler arasında F iyon değişim yüzdelerini karşılaştırdığımızda anlamlı farklılıkların bulunamamasının F'un

atom numarasının 9 olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Mikro ve nano boyutlu biyoaktif cam içerikli jel içeren gruplarda ise EDS analizinde Si<sup>+4</sup> iyonunun tespit edilebilmesinde atom numarasının 14 olmasının etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Diş hekimliğinde çürük tespiti için radyografik ve dokusal muayeneler en çok tercih edilen tekniklerdir. *In vivo* çalışmalarda çürüğü tespit edebilmek amacıyla kullanılan yöntemlerden; çürük lezyonlarını gidermek ve dişleri ortodontik separelerle ayırmak altın standart olarak gösterilmektedir. *İn vitro* çalışmalarda ise histolojik kesit alma, çürük derinliğini tespit etmek ve doğrulamak için yaygın olarak kullanılmaktadır [345, 346]. Ancak histolojik kesit alma sırasında kesitler zarar görebilmekte veya mikrotom bıçağı kalınlığından dolayı numune kaybı nedeniyle ilgi alanı tehlikeye girebilmektedir. Kesit alma ile dokuyu görselleştirme yeteneği sınırlı olmaktadır. Bu durum histolojik doğrulamanın dezavantajları arasında yer almaktadır. Bu tür sınırlandırmaları aşabilmek için çürüklerin incelenmesinde tahribatsız bir görüntüleme yöntemi olan mikro-CT kullanılmaya başlanmıştır [281, 347-349]. Özkan ve arkadaşları, çürük tespitinde kullanılan görsel ve radyografik inceleme yöntemlerini; histolojik inceleme ve mikro-CT ile elde edilen skorlar ile karşılaştırmışlardır [350]. Hassasiyet, özgüllük ve doğruluk açısından Mikro-CT' nin en yüksek değerlere sahip olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda, Mikro-CT ve histolojik inceleme arasında iyi bir korelasyon gözlemlenmiştir. [350]. Mikro-CT' nin laboratuvar koşullarında çürük derinliğini araştırmak için yeni altın standart teknik olabileceğini gösteren ve destekleyen benzer çalışmalar mevcuttur [347-349, 351].

Dişlerin mineral yoğunluğunun (MD) değerlendirilmesi, minerallerin lezyonlar içindeki uzaysal dağılımı ile ilişkili değişiklikler hakkında bir fikir edinebilmek için demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında önemlidir. MD' yi ölçmek için radyografik yöntemlerin kullanılması tavsiye edilmektedir [352]. Transversal mikroradyografi (TMR), MD' nin iki boyutlu (2D) olarak *in vitro* koşullarda belirlenmesi için altın standart teknik olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte TMR' de kesitsel numunelere ihtiyaç duyulmaktadır. Aynı lezyonun longitudinal kesit üzerinde analizini sağlayabilmek için çalışma sırasında kaybolabilecek kırılğan kesitlerin hazırlanmasını içermektedir [353, 354]. Son yıllarda, dişleri incelemek için Mikro-CT kullanılmaktadır. Mikro-CT, nesnenin üç boyutlu (3D) olarak görüntüsünün elde edilmesinde kullanıldığı tahribatsız bir görüntüleme yöntemidir. *In vitro* çalışmalarda daha küçük numunelerde daha yüksek

çözünürlük sağlayan odaklanmış bir ışın kullanmaktadır [355]. Artefaktları azaltmak için alüminyum ve bakır filtrelerin yanı sıra yazılımla görüntülerde düzeltmeler sağlanabilmektedir. Bunlardan bağımsız olarak doğal mine beyaz nokta lezyonlarının 3D olarak Mikro-CT tabanlı mineral kaybı ve lezyon derinliği ölçümleri, TMR' den türetilen parametrelerle iyi bir korelasyon göstermektedir [356]. Bu tez çalışmasında demineralizasyon öncesi ve 3 farklı remineralizasyon ajan uygulaması sonrası sağlam mineye göre mineral yoğunluk değişimini değerlendirebilmek için Mikro-CT analizi kullanılmıştır. Örneklerin zarar görmeden, tekrarlanabilir analizlerle kalitatif ve kantitatif verilerinin elde edilebildiği saptanmıştır. 3 farklı ajanın uygulanması sonrası mine yüzeyinde meydana gelen morfolojik ve iyon değişimini tespit etmek için ise SEM-EDS analizi kullanıldı.

## **5.2. Bulguların Tartışılması**

Biyoaktif cam, diş sert dokularını yeniden mineralize edebilme yeteneğine sahiptir. Bu işlevi, biyoaktif cam materyalinden tükürük sıvısına iyonların ( $Ca^{+2}$ ,  $PO_4^{-3}$ , vb.) salınmasını ve ardından sıvıdaki aşırı doymuş iyonların diş sert dokularında çökmesini içermektedir [233, 238]. Mine dokusunun remineralize edilebilmesi için gerekli koşullar; demineralize mine üzerinde apatit oluşum çekirdeği olarak hizmet edecek olan mineral kalıntılarının sağlanması [357] ile remineralize edici ajanın çevresindeki ortamda bol miktarda kalsiyum ve fosfat iyonunun var olmasıdır [358]. Tez çalışmamızdaki koşullar kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların çökmesini ve demineralize mine yüzeyinde apatit oluşumunu destekleyen uygun bir ortam sağlamaktadır.

Abbassy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada elde edilen sonuçlara göre 45S5 BAG tozunun seyreltilmiş %50' lik fosforik asit ile karıştırılmasından sonra camdan kalsiyum, fosfat ve sodyum salınımı olabileceği ve bu iyonların bir kısmının beyaz nokta lezyonunu remineralize etmek için mine yüzeyinden nüfuz edebileceği bildirilmiştir [299]. Kalsiyum ve fosfat iyonlarından bazıları ise mine yüzeyinde çökecek olan kalsiyum-fosfat tuzlarını oluşturmak üzere etkileşime girmekte ve yüzeyde bir tabaka halini aldığı gözlemlenmiştir. Çalışmada demineralize mine yüzeyine BAG tozu ile fosforik asit karışımından oluşan jelin uygulanması sonrası Clearfil SE Bond uygulanmış ve bir gün boyunca remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Sonrasında yüzeyden, uygulanan Clearfil SE bond ve BAG içerikli jel

kaldırılarak tedavi edilen mine yüzeyine ortodontik braket yapıştırılmıştır. Bu şekilde SEM-EDS analiziyle yapılan ara yüz incelemesinde mine yüzeyinin üstünde silika içermeyen 10 µm kalsiyum-fosfat bakımından zengin katmandan oluştuğu gözlemlenmiştir. SEM görüntülerinde, FTIR/ATR ve XRD ile elde edilen sonuçlarını da doğrulayan “petal” şeklinde bruşit kristalleri olduğu tespit edilmiştir [299]. Petal şeklindeki bruşit kristallerinin genellikle düşük pH ortamında kalsiyum-fosfat bileşiklerini oluşturmakla ilişkili olduğu başka bir çalışmada da bildirilmiştir [34]. Bakry ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada mevcut çalışmamızda kullandığımız teknikte oluşturulan bruşit kristallerinin, yapay tükürük solüsyonunda 14 gün bekletilmesi sonucu kademeli olarak kararlı hidroksiapatit kristallerine dönüştüğü rapor edilmiştir [23]. Tris tamponlu çözelti kullanılarak yapılan bir in vitro çalışmada ise; 45S5 BAG’ ın yüzeyinde oluşan amorf bir kalsiyum-fosfattan zengin tabakanın 7-10 gün içinde apatit kristaline dönüştüğü bildirilmiştir [359].

Ali ve arkadaşları tarafından bruşit kristalleri oluşumu genellikle uygulanan BAG jelin düşük pH’ sına bağlı olduğu tespit edilmiştir [360]. Yüzeyde gözlemlenen bu kararsız kristaller, minenin alt yüzeyinde gerçekleşen yüksek kapasitedeki remineralizasyonu açıklamaktadır [360]. Çalışmamızda da kullanmış olduğumuz bu teknik ile pH’ sı 2.2 olan seyreltilmiş fosforik asit; yüksek alkalitesi ile bilinen 45S5 BAG ile karıştırılmış ve böylece mine asidin etkisine doğrudan maruz bırakılmamıştır. Çalışmamızda pH döngüsü aşamalarında demineralizasyon öncesi ve sonrası günde 2 kez olmak üzere BAG ve fosforik asit karışımı taze hazırlanarak uygulanmıştır. Bahsedilen pH, mine ve dentin defektlerini onarmak için sıklıkla kullanılan birçok restoratif materyelin pH’ ına eşdeğerdir. Ayrıca, Bakry ve arkadaşları tarafından bu karışımın pulpa hücreleri ile doğrudan temas halinde yerleştirildiğinde uyumluluğu daha önce rapor edilmiş olup, mine yüzeylerinde de güvenle uygulanabileceği gösterilmiştir [295]. Bu formulasyon kullanılarak mine yüzeyinde uygulama yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir [23-25, 299].

Geleneksel olarak biyoaktif camların biyoaktivitesi (yani apatit oluşturma kabiliyeti), camın kalsiyum ve fosfata doymuş bir çözelti olan ve kan plazmasında bulunan iyonik konsantrasyonları taklit eden simüle edilmiş vücut sıvısına daldırılmasıyla değerlendirilmektedir [361]. Cam, belirlenen süre içinde apatit oluşturursa geleneksel olarak biyoaktif sayılmaktadır. Bunun yanı sıra, ağız ortamındaki tükürük herhangi bir sıvı alımı sonrası seyreltilmiş duruma gelmektedir.

Nispeten,  $Ca^{+2}$  ve  $PO_4^{-3}$  açısından doygunluğunu yitirmektedir. Buna dayanarak genellikle tris tamponunda biyoaktif camların apatit oluşturma kabiliyetini ölçmeye yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Apatit çökmesinde tüketilen tüm  $Ca^{+2}$  ve  $PO_4^{-3}$  iyonlarının camdan salınmasını gerektirdiğinden ciddi anlamda bir biyoaktivite testini temsil etmektedir [362].

Liu ve arkadaşları; BAG' nin tek başına tris tamponlu çözeltisindeki davranışını incelemişlerdir [363]. Solüsyonda  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunun başlangıçta arttığı ve sonra kademeli olarak azaldığı,  $P^{+1}$  konsantrasyonunun ise 3. güne kadar düştüğü ve sonrasında sabit kaldığı gösterilmiştir. 6.günden sonra her iki iyon konsantrasyonu sabit kalarak aynı alım miktarının devam ettiği gösterilmiştir.  $Si^{+4}$  konsantrasyonunda diğerlerinden farklı olarak 7 gün boyunca sürekli artış görülmüştür. Kümülatif sonuca bakıldığında kalsiyum iyonu serbest bırakılırken fosfor iyonunun çözeltiden uzaklaştığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, başlangıçta BAG çözünmekte ve sonrasında çözünme ile çökmenin aynı anda meydana gelmektedir. Çökme ve dönüşüm reaksiyonları ile yeni bir tabaka oluşmaktadır. Bu da zayıf kristalize, kalsiyumdan eksik karbonatlı apatit oluşumuna yol açmaktadır. Böyle bir sonucun çözeltideki çeşitli iyonların aşırı doyma koşulları ile uyumlu olduğu belirtilmiştir [363].

Kangasniemi ve arkadaşları tarafından BAG' nin simüle vücut sıvısıyla etkileşimi sonucu ilk olarak silikadan zengin tabaka (Si, Ca, Na iyonlarını içeren) oluşturduğu gözlemlenmiştir [364]. Bu tabaka çok az miktarda  $P^{+1}$  iyonu içerdiği için Ca/P oranı çok yüksek (yaklaşık 6) olarak ölçülmüştür.  $P^{+1}$  iyonunun geçişi oldukça Ca/P iyon oranı 1' e yaklaşmaktadır. Silikadan zengin tabaka, simüle vücut sıvısından  $Ca^{+2}$  ve  $P^{+1}$  iyonlarının alınmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte  $Si^{+4}$  içeriği azaldıkça yüzeyde oluşan kalsiyum-fosfat küreciklerinin Ca/P oranının, HAP' nin Ca/P değeri olan 1.67 oranına yaklaştığı gözlemlenmiştir [364]. Andersson ve Kangasniemi tarafından yapılan çalışmada başlangıçta oluşan kalsiyum-fosfat kürelerinin amorf halde olduğu ve kristalizasyonun ise silika jel içinde başladığı gösterilmiştir. Kalsiyum-fosfat kürelerinin Ca/P oranının 1' e yakın bulunmasının ise fosfatın bir silika jele bağlanmasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Daha sonra yüzeyde apatit kristalleri belirlemektedir. Kristalleşen yüzey, cam yüzey üzerinde kapsamlı apatit oluşumu için çekirdeklenme bölgelerini sağlamaktadır [232]. Kangasniemi ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada iyon değişimlerine

bakıldığında çalışmamızdaki mikro ve nano boyutlu BAG içerikli jelin uygulandığı örneklerde  $Si^{+4}$  iyon düzeyi ile Ca/P oranı arasındaki ters orantıyı görebilmekteyiz. Özellikle HAP'ın 1,67 Ca/P oranına yaklaşan örneklerde  $Si^{+4}$  iyonu çok az miktarlarda tespit edilmiştir.

Bakry ve arkadaşları 45S5 biyoaktif cam ve fosforik asitten oluşan bir jel kullanarak başlangıç mine çürük lezyonlarını tedavi etmek için yeni bir teknik geliştirmişler ve etkisini değerlendirmişlerdir [23]. SEM-EDS ara yüz incelemelerinde demineralize mine yüzeyinde 70  $\mu m$  kalınlığında yeni bir tabaka oluştuğu tespit edilmiştir. Yeni oluşan tabakanın bir bruşit tabakası olduğu XRD analizi ile doğrulanmıştır. BAG içerikli jel uygulaması sonrası mine yüzeyinde oluşan kristal tabakanın fırçalama abrazyonundan etkilenmediği bildirilmiştir. Bu kristallerin, 14 gün boyunca yapay tükürükte saklandıklarında ise HAP kristallerine dönüştüğü bildirilmiştir. Mevcut teknikle yeni başlayan mine eroziv lezyonunun aşınmaya dayanıklı bir HAP kristalleri tabakası ile tedavi edilebileceği önerilmiştir [23].

Özetle bahsedilen çalışmalar, tez çalışmamızdaki mikro ve nano boyutlu BAG içerikli ajanların EDS analizinden elde edilen bilgiler dahilinde Ca/P oranının ve özellikle kalsiyum iyonunun beklenenden az seviyede bulunmasının nedenini açıklamaktadır. Çalışmamızda numuneleri sürekli olarak vücut sıvısı benzeri veya remineralizasyon solüsyonunda bekletmek yerine ağız ortamını taklit etmek için pH döngüsü kullanılmıştır. Liu ve arkadaşları [363] ile Andersson [232] ve Kangasnemi [364] tarafından yapılan çalışmalarda BAG materyalinin vücut benzeri sıvıda veya tris tampon çözeltide yarattığı;  $Ca^{+2}$ ,  $P^{+1}$  iyon salınımı ve hidroksiapatite dönüşüm reaksiyonları görülmektedir. Dönüşüm reaksiyonları bruşit kristallerinden HAP kristallerine geçişi içermektedir. Çalışmamızda bu etkinin tam olarak görülebilmesi için 6 günlük pH döngüsü yerine daha uzun bir pH döngüsünün kullanılması ile HAP kristallerine dönüşümünü sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Bakry ve arkadaşları tarafından BAG jelin uygulama sonrası 1.günde görülmeye başlanan bruşit kristallerinin, 7.günden itibaren kararlı HAP kristallerine dönüşmeye başladığı tespit edilmiştir [23]. Benzer şekilde pH döngüsünü 6 günde gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda, mikro ve nano boyutlu BAG içeren jel gruplarında düşük Ca/P oranlarının bulunması bruşit kristallerinin varlığını göstermektedir ve her iki BAG grubuna ait SEM görüntülerinde mine yüzeyini bir tabakanın kapladığı görülmektedir. EDS analizinden elde edilen veriler ile SEM görüntüleri birbirini destekler niteliktedir.

Wang ve arkadaşları tarafından yapay mine çürük lezyonu oluşturulan dişlere farklı biyoaktif materyaller içeren macunlar uygulanmıştır [300]. Elde edilen SEM görüntülerine göre CPP-ACP grubu yüzeydeki mineral birikintilerinin homojen şekilde dağılım göstermediği ve kısmen çözüldüğü; BAG içerikli diş macununun ise mine yüzeyini homojen şekilde kaplayan bir tabaka oluşturduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan CPP-ACP grubu mine yüzeyi mikrosertlik açısından anlamlı düzeyde BAG içerikli macundan daha yüksek etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [300].

Milly ve arkadaşları tarafından BAG ve distile su karışımının, başlangıç mine lezyon yüzeyinde yarattığı morfolojik değişimi ve lezyon derinliklerine etkisi incelenmiştir [293]. Negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde daha yüksek değerlerde yüzeysel ve kesitsel mikrosertlik gözlemlenmiştir. Raman mikroskobu ile BAG grubunda lezyon derinliğinde azalma olmadığı tespit edilmiştir. Lezyon yüzeyleri SEM analizinden önce iyice durulanmış olsa da BAG ve poliakrilik asit (PAA) içeren BAG grupları içinde mineral birikintilerinin kolayca tespit edilebildiği bildirilmiştir. PAA-BAG uygulanan grupta daha küçük yapıda mineral çökeltileri gözlemlenmiştir. Her iki grubun da lezyon yüzey gözenekliliğini tamamen bloke ettiği bildirilmiştir. [293].

Abbassy ve arkadaşları 45S5 BAG ve fosforik asit karışımından oluşan jelin remineralizasyona etkisini lezyon derinliği, kristal yapısı, yüzey morfolojik ve yüzey sertliği değişimi açısından incelemişlerdir [299]. Lezyon derinliğini demineralizasyon grubuna göre azalttığı ancak kontrol grubuna göre yüzey sertliğini azaltmada yetersiz kaldığını tespit etmişlerdir. FTIR/ATR, XRD ve SEM/EDS analizlerine göre BAG içerikli jelin mine yüzeyinde bir brusit kristal tabakası oluşturduğunu göstermişlerdir [299].

Bakry ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BAG ve flor içerikli macununun remineralizasyon etkinliği, bir florür jelinin etkinliği ile karşılaştırılmıştır [365]. Yapılan TMR analizine göre BAG ve flor içerikli macun uygulanan numunelerin lezyon derinliklerinde önemli bir düşüş görüldüğü, ancak lezyon derinlikleri gruplar arasında karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. SEM/EDS analizinde ise; BAG ve flor içerikli macun uygulanan mine yüzeylerinde kristal benzeri yapıların oluşumu gösterilmiştir [365].

Gangwar ve arkadaşları; çalışmalarında 40 süt dişi mine kesitinde 10 günlük pH döngü uygulaması ile biyoaktif camın remineralizasyona etkisini incelemişlerdir

[321]. SEM görüntülemesinde yüzey topografik değişikliklerine bakıldığında biyoaktif camın mine yüzeyinde çok daha pürüzsüz ve düzgün bir yüzey oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Biyoaktif camın süt dişlerinde yapay olarak oluşturulan çürük lezyonunu remineralize ettiği bildirilmiştir [321].

Taştan ve arkadaşları, başlangıç mine çürüğü oluşturulan sığır dişleri üzerinde florür, CPP-ACP, BAG içerikli diş macunu ile lazer uygulaması ve ozon uygulamasının tek başına veya birlikte kullanımının, remineralizasyon üzerinde etkinliğini değerlendirmişlerdir [256]. Mikrosertlik verileri karşılaştırıldığında en yüksek değer florürün lazer uygulaması ile birlikte kullanıldığı grupta izlenmiştir. EDS analiziyle ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  ve  $P^{+1}$  oranları değerlendirildiğinde en yüksek ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  değeri; BAG içerikli diş macununun lazer uygulaması ile birlikte kullanıldığı grupta izlenirken, en yüksek ağırlıkça (%)  $P^{+1}$  değeri ise BAG içerikli diş macunu, CPP-ACP'nin lazer uygulaması ile birlikte kullanıldığı, BAG içerikli diş macununun lazer uygulaması ile birlikte kullanıldığı ve BAG içerikli diş macununun ozon uygulaması ile birlikte kullanıldığı gruplarda gözlenmiştir [256].

Bakhsh ve arkadaşları, ortodontik braket çevresindeki demineralize mine yüzeyine BAG ve fosforik asit içerikli jel uygulaması sonrası 24 saat remineralizasyon solüsyonunda bekletmişlerdir [25]. Yapılan optik koherens tomografi analizi ile remineralizasyonu sağlayabilme açısından BAG jel uygulanan grup, diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve bu sonuçlar mikrosertlik analizi ile doğrulanmıştır [25].

Zhang ve arkadaşları çürük oluşturulmuş 65 süt dişi mine örneği üzerinde farklı oranlarda BAG ve distile su karışımından oluşan macununun etkisini değerlendirmek için 14 günlük pH döngü uygulamışlardır [250]. Elde edilen sonuçlara göre yüzeyde mikro küresel partiküllerin oluştuğu ve %6 BAG ve distile su karışımı en yoğun ve en düzgün yüzey oluşturduğu gözlemlenmiştir. EDS analizinde, BAG gruplarında demineralize gruba göre önemli ölçüde daha yüksek oranda ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  ve  $P^{+1}$  belirlenmiştir. %6 BAG ve distile su karışımı en yüksek mineral kazanım etkinliği gösteren grup olmuştur. Bu sonuçların remineralize edilen kristallerin hidroksikarbonat apatitten oluştuğu FTIR ile doğrulanmıştır [250].

Khandelwal ve arkadaşları, süt dişlerinde başlangıç mine çürüklerinde BAG ve nHAP içerikli diş macunlarının remineralizasyona etkilerinin karşılaştırıldığı ve değerlendirildiği bir çalışma yapmışlardır [320]. Başlangıç, demineralizasyon ve

remineralizasyon sonrası yapılan mikrosertlik ölçümleri değerlendirilmiştir. nHAP diş macunlarının remineralize edici etkinliğinin, istatistiksel olarak anlamlı olan BAG içerikli diş macunlarından biraz daha yüksek olduğu bulunmuştur [320].

Benjasuwantep ve arkadaşları, çocuklarda florozis riskini önlemek için alternatif bir remineralize edici ajan olarak süt dişlerinde florür bazlı ürünlere kıyasla biyoaktif camın mine çürüğü lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkisini değerlendirmişlerdir [257]. Çalışmada 7 günlük pH döngüsünde kullanılan ajanlar, mine yüzeyine günde iki kez uygulanmıştır. Her örneğin mineral yoğunluğunu belirlemek için Mikro-CT kullanılarak başlangıç, lezyon oluşumu sonrası ve tedavi sonrası olmak üzere üç kez incelenmiştir. İstatistiksel analiz sonucuna göre biyoaktif camın 500 ppm F ve CPP-ACP'ye karşı önemli bir remineralizasyon etkisinin olmadığı, ancak 1.000 ppm F içeren diş macunundan önemli ölçüde daha az olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, özellikle küçük çocuklarda çürüklerin remineralizasyonunda florozis riski önlemek için 500 ppm florür veya CPP-ACP yerine BAG' nın kullanılabilmesi önerilmiştir [257].

Farooq ve arkadaşları, florürlü diş macununa kıyasla yeni bir florürlü biyoaktif cam (F-BAG) diş macununun mine remineralizasyon etkinliğini analiz etmişlerdir [366]. Yapılan Mikro-CT incelemesinde tüm gruplarda demineralizasyondan sonra mine hacminin azaldığı, remineralizasyondan sonra ise arttığı tespit edilmiştir. Özellikle F-BAG diş macunu uygulanan grupta remineralizasyon sonrası BMD değerlerinde, florürlü diş macununun remineralizasyon sonrası BMD değerlerine göre daha fazla bir artış gözlemlenmiştir. Ancak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir [366].

Çalışmamızda süt dışında başlangıç mine çürüğü lezyonlarının remineralizasyonunda BAG içerikli ajanların uygulanması sonrası BMD değerlerine bakıldığında herhangi bir iyileştirici etkisi tespit edilememiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında BAG ve fosforik asit karışımı, daimi diş minesinde remineralizasyon etkisi incelenmiştir. BAG materyalinin süt dişi mine remineralizasyon incelenen çalışmalarda ise distile su ile karışımı veya macun formu kullanıldığı görülmektedir. Bunun yanı sıra, BAG ve fosforik asit karışımının süt dışında remineralizasyon etkisinin incelendiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda BAG ve fosforik asit içeriğindeki fosforik asit miktarı ve bağlayıcı ajan olarak kullandığımız primer materyalinin asidik etkisi süt dişi demineralize mine yüzeylerinde aşınma

meydana getirmiştir. Minede meydana gelen aşınma, mikro ve nano BAG gruplarında mikro-CT' den elde edilen görüntülerle de desteklenmektedir. Bunun sonucunda çalışmamızda, fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile mikro ve nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir.

Bakry ve arkadaşları, 45S5 biyoaktif cam içerikli jelin ve topikal florür uygulamasının aşınmış mine yüzeyinde mikrosertlik ve kimyasal yüzey değişiklikleri üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir [24]. Yapılan SEM-EDS analizine göre BAG uygulanan örneklerin tüm yüzeyinin kristal yapılarla kaplandığı gösterilmiştir. Topikal florür uygulanan grup ile kontrol grubu benzer  $Ca^{+2}$  ve  $P^{+1}$  değerlerini göstermiştir. Florür uygulanan gruplarda eser miktarda florür tespit edilmiştir. BAG jel uygulanan grupta yeni oluşan tabakanın eser miktarda silika içerirken kalsiyum ve fosfat açısından zengin olduğu tespit edilmiştir [24].

Gjorgievska ve Nicholson tarafından, beyazlatma sonrası dişlere uygulanan HAP, florürlü ve biyoaktif cam içerikli diş macunlarının minenin etkilenen bölgelerini remineralize etme potansiyeli değerlendirilmiştir [69]. SEM-EDS analiz sonuçlarına göre her iki BAG macunun uygulanması sonrası biyoaktif cam birikintilerinden oluşan koruyucu bir tabakanın oluştuğu gözlemlenmiştir. Bu birikintilerin, yıkama ve fırçalama ile çıkarılmadığı ve yüzeye sıkıca tutunduğu belirtilmiştir. Mine yüzeyinde en yüksek  $Ca^{+2}$  değeri BAG içerikli diş macununda görülürken; P iyonu florürlü diş macununda BAG içerikli macuna göre daha yüksek bulunmuştur. [69].

Gjorgievska ve Nicholson tarafından yapılan başka bir çalışmada CPP-ACP ve beyazlatma etkili BAG içerikli macunların remineralizasyon etki karşılaştırılmıştır [367]. Mine yüzeyinde ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  ve  $P^{+1}$  değerleri açısından kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık bulunurken; iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır [367].

Çalışmamızda EDS analizi verilerine bakıldığında en yüksek ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  değeri nano BAG içerikli jel (30,35) (% ağırlıkça) uygulanan grupta görülürken; en yüksek ağırlıkça (%)  $P^{+1}$  değeri florür vernik (23,45 ± 4,51) (% ağırlıkça) uygulanan grupta tespit edilmiştir. Ancak en düşük ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  değeri nano BAG içerikli jel (6,07) (% ağırlıkça) grubuna ait bulunmuştur. BAG gruplarındaki ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  arasındaki bu uyumsuzluğun nedeni; jel içeriğindeki fosforik asit miktarı ve bağlayıcı ajan olarak kullandığımız primerden kaynaklı olabilir. Bunun yanısıra 6

günlük pH döngüsünde ajanların günde 2 kez yapılan uygulamaları arasında 6 saat olmasından dolayı biyoaktif reaksiyonlarındaki iyon değişimini olumsuz yönde etkilediğini veya engellediğini düşünmekteyiz. Çünkü çalışmamızda ağırlıkça (%) Ca/P değerlerine baktığımızda en yüksek değer; 1,55 (% ağırlıkça) ile nano BAG içerikli grupta tespit edilmiştir. BMD değerlerine baktığımızda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değer 0,98 g/cm<sup>3</sup> ile nano BAG jel grubuna ait olup; bu BMD değeri, demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değerinden (1,23 g/cm<sup>3</sup>) daha düşüktür. EDS analizi ile elde ettiğimiz veriler istatistiksel olarak normal dağılım göstermediği için ortalama BMD değerleri ile birbirini desteklememektedir.

Gjorgievska ve Nicholson tarafından başka bir çalışmada beyazlatma etkili biyoaktif cam içerikli diş macunlarının uygulanması sonrası mine yüzeyinde interprizmatik madde içermeyen yeni bir mineral fazının çökmesi ve mine prizmalarına tutunmasından kaynaklanan "çiçek tarlası" olarak adlandırılan bir görüntü ortaya çıktığını öne sürmüşlerdir. Remineralizasyon sürecinin ikinci aşaması olarak gösterilen mine yüzeyindeki demineralize alanlarda remineralizasyon için iyon rezervuarı görevi görebilen birikintiler gözlemlenmiştir. Elde edilen EDS analizi sonuçlarına göre BAG macun uygulaması sonrası mine yüzeyinde Ca ve P seviyesinde hafif bir azalma ile Ca, P, F, Mg, Al, Si, P, Cl, Cu ve Zn iyonlarından oluşan birikintilerin varlığı tespit edilmiştir [69]. Bu araştırmacıların çalışmalarına ait EDS analizlerine bakıldığında [69, 367, 368]; çalışmamızda da ağırlıkça (%) Ca<sup>+2</sup> ve P<sup>+1</sup> iyonunun yanı sıra BAG içerikli macun uygulanmasına bağlı olarak eser miktarlarda ağırlıkça (%) Si<sup>+4</sup> iyonu tespit edilmiştir. Mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan grup ile nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan grup arasında ağırlıkça (%) Si<sup>+4</sup> değerleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Gjorgievska ve Nicholson tarafından yapılan çalışmalarda beyazlatma etkili BAG içerikli macunlara ait SEM görüntülerinde mine yüzeyinde büyük boyutlu mineral çökeltileri gözlemlenmektedir [69, 367, 368]. Bizim çalışmamızda yapılan SEM görüntülemelerinde ise mikro boyutlu BAG içerikli jel uygulanan grupta mine yüzeyini kaplayan tabakanın üzerinde seyrek ve homojen olmayan çökeltilerin varlığı görülürken; nano boyutlu BAG içerikli jel uygulanan grupta mine yüzeyini kaplayan tabakanın üzerinde oluşan küçük boyutlu çökeltilerin homojen bir şekilde dağılım gösterdiği tespit edilmiştir.

BAG jelin mine remineralizasyonuna olan etkisinin araştırıldığı çalışmalar,

genellikle örnekler, tükürük bileşimine benzer remineralize edici solüsyonlarda uzun süre bekletilerek yapılmıştır [23-25, 299]. BAG ortodontik adezivlerinin remineralizasyon etkisine bakıldığı çalışmalarda ise ana protokol pH döngüsü olarak belirlenmiş ve genellikle 14 günlük pH döngüsü uygulanmıştır [333, 369-372]. Süt dişlerinde BAG jelin veya BAG içerikli diş macununun mine remineralizasyonu üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda da pH döngüsünün uygulandığını görmekteyiz [250, 257, 320, 321]. Bahsedilen çalışmalara bakıldığında ağız ortamındaki bakterilerin meydana getirdiği asidik koşulları tam olarak taklit edebilecek kimyasal solüsyona rastlanmamaktadır. Esasen, plak benzeri bir ortamda bakteri içeren bir biyofilm modeli kullanmanın, kimyasal pH döngüsünden ziyade ağız ortamında meydana gelen asidik koşulları daha doğru yansıtacağı bildirilmektedir [373]. Ayrıca ağız ortamında BAG' dan gelen  $\text{Na}^+$  iyonları hidrojen katyonları ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) ile reaksiyona girerek  $\text{Ca}^{+2}$  ve  $\text{PO}^{-4}$  nin camdan salınmasını sağlayarak tükürük pH' ını geçici olarak yükseltmektedir [334]. Bu geçici pH artışı daha sonra, HAP oluşturmak için minede  $\text{Ca}^{+2}$  ve  $\text{PO}^{-4}$  çökmesine yardımcı olmaktadır [216, 334]. Sonuç olarak, BAG ve tükürük arasındaki bileşimler ve pH açısından farklılıklar göz önüne alındığında, BAG' ların tükürükteki ve pH döngü çözeltilerindeki remineralizasyon davranışını tam anlamıyla değerlendirebilmek mümkün olamamaktadır.

Çalışmamızda mine yüzeylerinde biyoaktif cam içerikli jel ajanlarını uygularken kullanmış olduğumuz mevcut teknik, kalsiyum-fosfat açısından zengin tabakanın oluşumunda önemli bir rolü olan reaksiyonun erken aşamalarında (uygulamadan sonraki ilk 24 saat) silika jel bakımından zengin tabakanın korunması için basit bir yol sağlamaktadır [374]. Bakry ve arkadaşları tarafından bu silika bakımından zengin tabaka, 24 saat sonra güçlü bir hava-su spreyi uygulanarak çıkarılmış ve mine yüzeyini kaplayan çözünmeyen bruşit kristalleri kalmıştır. XRD analizinde, BAG ve fosforik asit jelinin düşük pH'ından dolayı mine yüzeyinde bruşit kristallerinin oluşumu doğrulanmıştır. 0,1 mg BAG tozu ve 0,2 ml fosforik asitte oluşan jelin karıştırıldıktan hemen sonra pH' ı 2 olarak ölçülmüştür. Bu düşük pH, bruşit kristallerinin hızlı oluşumundan sorumlu olduğu bilinmektedir. Ancak bahsedilen çalışmada deney numuneleri remineralizasyon solüsyonunda saklandığı için jelin pH' ı 10 dakika içinde 4' e yükseldiği ve 24 saat boyunca pH' ının hafifçe yükselmeye devam ettiği gösterilmiştir [23].

Çalışmamızda, mikro boyutlu (ergitme yöntemiyle hazırlanmış BAG) ve nano boyutlu (sol-gel yöntemiyle hazırlanmış BAG) biyoaktif cam tozlarından nano BAG' nin yüksek su çekme özelliği sebebiyle literatürde geçen BAG tozu ve fosforik asit karışım oranı (0,1 mg BAG toz/ 0,2 ml fosforik asit) yerine 0,15 mg BAG toz/ 0,5 ml fosforik asit oranı kullanılmıştır. Bu sebeple çalışmamızda, literatürde 2 olarak belirtilen pH değerinden daha düşük bir değer elde edildiğini düşünmekteyiz.

Bakry ve arkadaşları [23, 24, 237, 365], Bakhsh ve arkadaşları [25], Ali ve arkadaşları [360], Abbassy ve arkadaşlarının [299] yaptıkları çalışmalar daimi diş mine yüzeyinde BAG ve fosforik asit içerikli jel; Milly ve arkadaşları [293] daimi diş minesini, Zhang ve arkadaşları [250] süt dişi minesini yüzeyinde BAG ve distile su karışımını kullanılarak mine remineralizasyonu açısından benzer sonuçlar verdiği görülmektedir. BAG ve fosforik asit içerikli jelin süt dişi minesinde pH döngüsü yapılarak kullanılan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bunu değerlendirmek amacıyla yapmış olduğumuz çalışmamızda BAG ve fosforik asit içerikli jelin süt dişi minesinin remineralizasyonunu sağlamayıp; özellikle demineralize mine BMD değerini düşürülecek yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Buna göre mikro BAG grubunda demineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $1,33 \text{ g/cm}^3$  iken uygulama sonrası remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $1,09 \text{ g/cm}^3$  olarak tespit edilmiştir. Nano BAG grubunda ise demineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $1,23 \text{ g/cm}^3$  iken uygulama sonrası remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $0,98 \text{ g/cm}^3$  olarak tespit edilmiştir. Florür vernik grubunda ise demineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $1,30 \text{ g/cm}^3$  iken uygulama sonrası remineralizasyon sonrası ortalama BMD değeri  $1,39 \text{ g/cm}^3$  tespit edilerek mineyi remineralize ettiği görülmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda florür vernik süt dişi başlangıç mine çürüğünün remineralizasyonun da daha etkili olduğunu elde edilen ortalama BMD değerleri ile gösterilmektedir.

Bakry'nin çalışması [23] ve aynı tekniğin kullanıldığı benzer çalışmalarda [24, 25, 237, 295, 298, 299, 365] bekletme sürelerinden (1gün, 7 gün, 14 gün) bağımsız olarak mine numuneleri, vücut sıvısı benzeri veya remineralizasyon solüsyonlarında saklanmıştır. Çalışmamızda pH döngü uygulamasında; ajanlar demineralizasyon öncesi ve demineralizasyon sonrası uygulanmıştır. BAG içerikli jeller her uygulamada taze olarak hazırlanmış ve uygulanmıştır. Döngü esnasında jelin numunelere ilk uygulanmasından sonra demineralizasyon solüsyonuna konulmasının, jelden kaynaklı

düşük pH' nın hızla yükselmesini engellediğini düşünmekteyiz. BAG içerikli jelin mine yüzeyine uygulanması sonrası en az 2 saat içinde biyoaktif reaksiyonlarına başladığı bildirilmiştir [23]. Yapılan çalışmalarda bruşit kristallerinin, uygulanan jelin mine yüzeyinde en az 1 gün bırakılması sonucunda oluştuğunu görmekteyiz. Çalışmamızda ajan uygulamaları arasında 6 saat bulunmaktadır. pH dögüsünün uygulanma mantığından dolayı BAG jelin mine yüzeyinde bruşit oluşturma ve HAP dönüşüm mekanizmasını engellendiğini düşünmekteyiz. Bunun sonucu olarak BMD değerleri incelendiğinde; mikro ve nano BAG gruplarında en düşük ortalama BMD değerleri remineralizasyon sonrasında elde edilirken, en yüksek ortalama değer sağlam mineden elde edilmiştir. Sonuç olarak mikro ve nano boyutlu BAG içerikli jelin remineralizasyona etkisinin olmadığı ve pH 2' den daha düşük olmasının etkisiyle mine yüzeylerinde demineralizasyona yol açtığı düşünülmektedir.

Bu sonuca göre remineralizasyonda altın standart olarak kabul edilen florür vernik uygulamasının minenin mineral yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkisi bulunduğu tespit edilmiştir.

## 6. SONUÇ

1. Fluor vernik grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p>0,05$ ). Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri, sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değerinden daha yüksek bulunmuştur.

2. Mikro BAG grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri, sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değerinden daha düşük bulunmuştur.

3. Nano BAG grubunda sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri, sağlam mineden elde edilen ortalama BMD değerinden daha düşük bulunmuştur.

4. Fluor vernik grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p>0,05$ ). Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri, demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değerinden daha yüksek bulunmuştur.

5. Mikro BAG grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri, demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değerinden daha düşük bulunmuştur.

6. Nano BAG grubunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen BMD değeri, demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değerinden daha düşük bulunmuştur.

7. Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD

değeri ile mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri, mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değerinden daha yüksek bulunmuştur.

8. Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0,001$ ). Fluor vernik grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri, nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değerinden daha yüksek bulunmuştur.

9. Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ( $p>0,05$ ). Mikro BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değeri ile nano BAG grubunda remineralizasyon sonrası elde edilen ortalama BMD değerinden daha yüksek bulunmuştur.

10. Gruplara göre ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ( $p= 0,140$ ). En yüksek ağırlıkça (%)  $Ca^{+2}$  ortanca değeri, nano BAG grubuna ait bulunmuştur.

11. Gruplara göre ağırlıkça (%)  $P^{+1}$  ortalama değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ( $p< 0,001$ ). En yüksek ağırlıkça (%)  $P^{+1}$  ortalama değeri, fluor vernik grubuna ait bulunmuştur.

12. Gruplara göre ağırlıkça (%) Ca/P ortanca değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir ( $p=0,503$ ). En yüksek ağırlıkça (%) Ca/P ortanca değeri, nano BAG grubuna ait bulunmuştur.

Çalışmamız sonucunda 3 farklı remineralizasyon ajanının süt dişlerinde yapay olarak oluşturulan başlangıç mine lezyonları üzerinde remineralizasyon etkisi değerlendirmiştir. Florür vernik ajanı, mikro ve nano boyutlu BAG içerikli jel ajanlarına göre başlangıç mine çürüğü lezyonlarının remineralizasyonunun sağlanmasında daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Süt dişlerindeki başlangıç mine çürüklerinde BAG içerikli jellerin uygulanmasında kullanılan mevcut tekniğin remineralizasyon yönünde etkili olabilmesi için geliştirilmesi gerekmektedir.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Ferrazzano G. F., Sangianantoni, G., Cantile, T. & Ingenito, A.** (2016). Relationship Between Social and Behavioural Factors and Caries Experience in Schoolchildren in Italy. *Oral Health Prev Dent*;14(1):55-61. 2015/11/04. doi: 10.3290/j.ohpd.a34996.
2. **Selwitz R. H., Ismail, A. I. & Pitts, N. B.** (2007). Dental caries. *Lancet*;369(9555):51-59. 2007/01/09. doi: 10.1016/s0140-6736(07)60031-2.
3. **Mohammadi N. & Farahmand Far, M. H.** (2018). Effect of fluoridated varnish and silver diamine fluoride on enamel demineralization resistance in primary dentition. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*;36(3):257-261. 2018/09/25. doi: 10.4103/jisppd.Jisppd\_4\_18.
4. **Ferrazzano G. F., Sangianantoni, S., Mitrano, R. L., Ingenito, A., Alcidi, B. & Cantile, T.** (2019). Assessing changes in oral health-related quality of life and body growth in 3-5 years old children following dental treatment under general anaesthesia due to severe dental caries. *Eur J Paediatr Dent*;20(3):214-218. 2019/09/07. doi: 10.23804/ejpd.2019.20.03.09.
5. **Chu C. H.** (2000). Treatment of early childhood caries: a review and case report. *Gen Dent*;48(2):142-148. 2001/02/24.
6. **Featherstone J. D.** (2000). The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc*;131(7):887-899. 2000/08/01. doi: 10.14219/jada.archive.2000.0307.
7. **Ferrazzano G. F., Coda, M., Cantile, T., Sangianantoni, G. & Ingenito, A.** (2012). SEM investigation on casein phosphopeptides capability in contrasting cola drinks enamel erosion: an in vitro preliminary study. *Eur J Paediatr Dent*;13(4):285-288. 2012/12/29.
8. **Slayton R. L.** (2015). Clinical Decision-making for Caries Management in Children: An Update. *Pediatr Dent*;37(2):106-110. 2015/04/24.
9. **Philip N.** (2019). State of the Art Enamel Remineralization Systems: The Next Frontier in Caries Management. *Caries Research*;53(3):284-295. doi: 10.1159/000493031.
10. **Silverstone L. M.** (1973). Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral sciences reviews*;3:100-160.
11. **Yikilgan I.** (2016). Diş Çürüğü ve Diş Sert Dokuları. *Turkiye Klinikleri Journal of Restorative Dentistry*;2:5-8.
12. **Mount G. J.** (2005). Defining, classifying, and placing incipient caries lesions in perspective. *Dent Clin North Am*;49(4):701-723, v. 2005/09/10. doi: 10.1016/j.cden.2005.05.012.
13. **Banerjee A.** (2013). Minimal intervention dentistry: part 7. Minimally invasive operative caries management: rationale and techniques. *Br Dent J*;214(3):107-111. 2013/02/09. doi: 10.1038/sj.bdj.2013.106.
14. **Cochrane N. J., Cai, F., Huq, N. L., Burrow, M. F. & Reynolds, E. C.** (2010). New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*;89(11):1187-1197. 2010/08/27. doi: 10.1177/0022034510376046.
15. **Pitts N. B., Zero, D. T., Marsh, P. D., Ekstrand, K., Weintraub, J. A., Ramos-Gomez, F., Tagami, J., Twetman, S., Tsakos, G. & Ismail, A.** (2017). Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*;3:17030. 2017/05/26. doi: 10.1038/nrdp.2017.30.
16. **Leal S. C.** (2014). Minimal intervention dentistry in the management of the paediatric patient. *Br Dent J*;216(11):623-627. 2014/06/14. doi: 10.1038/sj.bdj.2014.449.
17. **Lynch R. J. & Smith, S. R.** (2012). Remineralization agents - new and effective or just marketing hype? *Adv Dent Res*;24(2):63-67. 2012/08/18. doi: 10.1177/0022034512454295.
18. **ten Cate J. M. & Arends, J.** (1980). Remineralization of artificial enamel lesions in vitro: III. A study of the deposition mechanism. *Caries Res*;14(6):351-358. 1980/01/01. doi: 10.1159/000260477.
19. **Bjarnason S. & Finnbogason, S. Y.** (1991). Effect of different fluoride levels in dentifrice on the development of approximal caries. *Caries Res*;25(3):207-212. 1991/01/01. doi: 10.1159/000261369.
20. **Reynolds E. C., Cai, F., Cochrane, N. J., Shen, P., Walker, G. D., Morgan, M. V. & Reynolds, C.** (2008). Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate.

- J Dent Res*;87(4):344-348. 2008/03/26. doi: 10.1177/154405910808700420.
21. **Dean J. A.** (2021). *McDonald and Avery's Dentistry for the Child and Adolescent*: Elsevier Health Sciences.
22. **Demir G.** (2020). Current Overview of Remineralization Materials and Technologies. *Yeditepe Dental Journal*;16:81-94. doi: 10.5505/yeditepe.2020.16023.
23. **Bakry A. S., Takahashi, H., Otsuki, M. & Tagami, J.** (2014). Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dent Mater*;30(3):314-320. 2014/01/18. doi: 10.1016/j.dental.2013.12.002.
24. **Bakry A. S., Marghalani, H. Y., Amin, O. A. & Tagami, J.** (2014). The effect of a bioglass paste on enamel exposed to erosive challenge. *J Dent*;42(11):1458-1463. 2014/06/08. doi: 10.1016/j.jdent.2014.05.014.
25. **Bakhsh T. A., Bakry, A. S., Mandurah, M. M. & Abbassy, M. A.** (2017). Novel evaluation and treatment techniques for white spot lesions. An in vitro study. *Orthod Craniofac Res*;20(3):170-176. doi: 10.1111/ocr.12193.
26. **Featherstone J. D.** (2004). The caries balance: the basis for caries management by risk assessment. *Oral Health Prev Dent*;2 Suppl 1:259-264. 2005/01/14.
27. **Featherstone J. D.** (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J*;53(3):286-291. 2008/09/11. doi: 10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x.
28. **Featherstone J. D. B.** (1984). - Diffusion Phenomena and Enamel Caries Development 1.- 268.
29. **Kidd E. A. & Fejerskov, O.** (2004). What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*;83 Spec No C:C35-38. 2004/08/03. doi: 10.1177/154405910408301s07.
30. **Featherstone J. D.** (1999). Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol*;27(1):31-40. 1999/03/23. doi: 10.1111/j.1600-0528.1999.tb01989.x.
31. **Pitts N. B., Baez, R. J., Diaz-Guillory, C., Donly, K. J., Alberto Feldens, C., McGrath, C., Phantumvanit, P., Seow, W. K., Sharkov, N., Songpaisan, Y., Tinanoff, N. & Twetman, S.** (2019). Early Childhood Caries: IAPD Bangkok Declaration. *J Dent Child (Chic)*;86(2):72. 2019/08/10.
32. **Ismail A. I., Hasson, H. & Sohn, W.** (2001). Dental caries in the second millennium. *J Dent Educ*;65(10):953-959. 2001/11/09.
33. **Usha C. & R, S.** (2009). Dental caries - A complete changeover (Part I). *J Conserv Dent*;12(2):46-54. 2009/04/01. doi: 10.4103/0972-0707.55617.
34. **Zero D. T.** (1995). In situ caries models. *Adv Dent Res*;9(3):214-230; discussion 231-214. 1995/11/01. doi: 10.1177/08959374950090030501.
35. **Fletcher F.** (2013). Pediatric dentistry: infancy through adolescence, 5th edition. *British Dental Journal*;214(11):602-602. doi: 10.1038/sj.bdj.2013.579.
36. **Fejerskov O M. F.** (1990). Risk assessment in dental caries. In: Bader JD, editor. Risk assessment in dentistry. . *University of North Carolina Dental Ecology*:215-217.
37. **Fejerskov O. & Kidd, E.** (2009). *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*: Wiley.
38. **Schafer T. E. & Adair, S. M.** (2000). Prevention of dental disease. The role of the pediatrician. *Pediatr Clin North Am*;47(5):1021-1042, v-vi. 2000/11/04. doi: 10.1016/s0031-3955(05)70256-x.
39. **Mandel I. D.** (1989). The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc*;119(2):298-304. 1989/08/01. doi: 10.14219/jada.archive.1989.0211.
40. **Wöltgens J. H., Bervoets, T. J., Witjes, F. & Driessens, F. C.** (1981). Effect of post-eruptive age on Ca and P loss from human enamel during demineralization in vitro. *Arch Oral Biol*;26(9):721-725. 1981/01/01. doi: 10.1016/0003-9969(81)90189-8.
41. **Ribeiro N. M. & Ribeiro, M. A.** (2004). [Breastfeeding and early childhood caries: a critical review]. *J Pediatr (Rio J)*;80(5 Suppl):S199-210. 2004/12/08. doi: 10.2223/1241.
42. **Hara A. T. & Zero, D. T.** (2010). The caries environment: saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. *Dent Clin North Am*;54(3):455-467. 2010/07/16. doi: 10.1016/j.cden.2010.03.008.

43. **Köhler B., Andréén, I.&Jonsson, B.**(1984). The effect of caries-preventive measures in mothers on dental caries and the oral presence of the bacteria *Streptococcus mutans* and lactobacilli in their children. *Arch Oral Biol*;29(11):879-883. 1984/01/01. doi: 10.1016/0003-9969(84)90086-4.
44. **Gill J.**(2016). Dental Caries: The Disease and its Clinical Management, Third Edition. *British Dental Journal*;221(8):443-443. doi: 10.1038/sj.bdj.2016.767.
45. **Marsh P. D.**(2004). Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res*;38(3):204-211. 2004/05/22. doi: 10.1159/000077756.
46. **Hamada S.&Slade, H. D.**(1980). Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev*;44(2):331-384. 1980/06/01. doi: 10.1128/mr.44.2.331-384.1980.
47. **Koga T., Okahashi, N., Takahashi, I., Kanamoto, T., Asakawa, H.&Iwaki, M.**(1990). Surface hydrophobicity, adherence, and aggregation of cell surface protein antigen mutants of *Streptococcus mutans* serotype c. *Infect Immun*;58(2):289-296. 1990/02/01. doi: 10.1128/iai.58.2.289-296.1990.
48. **Balakrishnan M., Simmonds, R. S.&Tagg, J. R.**(2000). Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J*;45(4):235-245. 2001/02/28. doi: 10.1111/j.1834-7819.2000.tb00257.x.
49. **Loesche W. J.&Syed, S. A.**(1973). The predominant cultivable flora of carious plaque and carious dentine. *Caries Res*;7(3):201-216. 1973/01/01. doi: 10.1159/000259844.
50. **Shovlin F. E.&Gillis, R. E.**(1969). Biochemical and antigenic studies of lactobacilli isolated from deep dentinal caries. I. Biochemical aspects. *J Dent Res*;48(3):356-360. 1969/05/01. doi: 10.1177/00220345690480030501.
51. **Takei M., Kobayashi, Y., Iwasaki, S.&Fujihashi, T.**(1971). Distribution of lactobacilli in oral cavities. *Japanese journal of microbiology*;15(1):109-112.
52. **Touger-Decker R.&van Loveren, C.**(2003). Sugars and dental caries. *Am J Clin Nutr*;78(4):881s-892s. 2003/10/03. doi: 10.1093/ajcn/78.4.881S.
53. **Geddes D. A.**(1975). Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Res*;9(2):98-109. 1975/01/01. doi: 10.1159/000260149.
54. **Stephan R. M.&Miller, B. F.**(1943). A Quantitative Method for Evaluating Physical and Chemical Agents which Modify Production of Acids in Bacterial Plaques on Human Teeth. *Journal of Dental Research*;22(1):45-51.
55. **Stephan R. M.**(1940). Changes in Hydrogen-Ion Concentration on Tooth Surfaces and in Carious Lesions. *Journal of the American Dental Association*;27:718-723.
56. **Higham S. M.&Edgar, W. M.**(1989). Human dental plaque pH, and the organic acid and free amino acid profiles in plaque fluid, after sucrose rinsing. *Arch Oral Biol*;34(5):329-334. 1989/01/01. doi: 10.1016/0003-9969(89)90105-2.
57. **Geddes D. A.&McNee, S. G.**(1982). The effect of 0.2 per cent (48 mM) Naf rinses daily on human plaque acidogenicity in situ (stephan curve) and fluoride content. *Arch Oral Biol*;27(9):765-769. doi: 10.1016/0003-9969(82)90027-9.
58. **Stephan R. M.**(1944). Intra-Oral Hydrogen-Ion Concentrations Associated With Dental Caries Activity. *Journal of Dental Research*;23(4):257-266. doi: 10.1177/00220345440230040401.
59. **Preston A. J.&Edgar, W. M.**(2005). Developments in dental plaque pH modelling. *J Dent*;33(3):209-222. 2005/02/24. doi: 10.1016/j.jdent.2004.10.008.
60. **Thylstrup A.&Fejerskov, O.** (1986). *Textbook of Cariology*: John Wiley & Sons, Limited.
61. **Newbrun E.** (1989). *Cariology*. Chicago ... Quintessence Publishing.
62. **Marsh P. D.**(2003). Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology (Reading)*;149(Pt 2):279-294. 2003/03/08. doi: 10.1099/mic.0.26082-0.
63. **Takahashi N.&Nyvad, B.**(2008). Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res*;42(6):409-418. 2008/10/04. doi: 10.1159/000159604.
64. **Hicks J., Garcia-Godoy, F.&Flaitz, C.**(2004). Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent*;28(2):119-124. 2004/02/19. doi: 10.17796/jcpd.28.2.617404w302446411.

65. **García-Godoy F. & Hicks, M. J.** (2008). 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*;139 Suppl:25s-34s. 2008/07/03. doi: 10.14219/jada.archive.2008.0352.
66. **Loesche W. J.** (1986). Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological reviews*;50(4):353-380.
67. **Harris N. O. & García-Godoy, F.** (2004). *Primary preventive dentistry*. Upper Saddle River, N.J.: Pearson Education.
68. **Tung M. S. & Eichmiller, F. C.** (2004). Amorphous calcium phosphates for tooth mineralization. *Compend Contin Educ Dent*;25(9 Suppl 1):9-13. 2005/01/14.
69. **Gjorgievska E. S., Nicholson, J. W., Slipper, I. J. & Stevanovic, M. M.** (2013). Remineralization of demineralized enamel by toothpastes: a scanning electron microscopy, energy dispersive X-ray analysis, and three-dimensional stereo-micrographic study. *Microsc Microanal*;19(3):587-595. 2013/05/11. doi: 10.1017/s1431927613000391.
70. **ten Cate J. M.** (1999). Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand*;57(6):325-329. 2000/04/25. doi: 10.1080/000163599428562.
71. **Hicks J., Garcia-Godoy, F. & Flaitz, C.** (2004). Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J Clin Pediatr Dent*;28(3):203-214. 2004/05/28. doi: 10.17796/jcpd.28.3.w06104271746j34n.
72. **Dentistry A. A. o. P.** (2021). Policy on early childhood caries (ECC): Consequences and preventive strategies. *Pediatr Dent*:81-84.
73. **Zafar S.** (2009). Early childhood caries (ECC): aetiology, clinical considerations and consequences and management. *International Dentistry Australasian Edition*;4:26-36.
74. **Reisine S. & Douglass, J. M.** (1998). Psychosocial and behavioral issues in early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol*;26(1 Suppl):32-44. 1998/07/22. doi: 10.1111/j.1600-0528.1998.tb02092.x.
75. **Dentistry A. A. o. P.** (2020). Policy on Dietary Recommendations for Infants, Children, and Adolescents. *Pediatr Dent*:84-86.
76. **Alazmah A.** (2017). Early Childhood Caries: A Review. *J Contemp Dent Pract*;18(8):732-737. 2017/08/18. doi: 10.5005/jp-journals-10024-2116.
77. **Köhler B., Bratthall, D. & Krasse, B.** (1983). Preventive measures in mothers influence the establishment of the bacterium *Streptococcus mutans* in their infants. *Arch Oral Biol*;28(3):225-231. 1983/01/01. doi: 10.1016/0003-9969(83)90151-6.
78. **Weyant R. J., Tracy, S. L., Anselmo, T. T., Beltrán-Aguilar, E. D., Donly, K. J., Frese, W. A., Hujoel, P. P., Iafolla, T., Kohn, W., Kumar, J., Levy, S. M., Tinanoff, N., Wright, J. T., Zero, D., Aravamudhan, K., Frantsve-Hawley, J. & Meyer, D. M.** (2013). Topical fluoride for caries prevention: executive summary of the updated clinical recommendations and supporting systematic review. *J Am Dent Assoc*;144(11):1279-1291. doi: 10.14219/jada.archive.2013.0057.
79. **Gao S. S., Zhang, S., Mei, M. L., Lo, E. C. & Chu, C. H.** (2016). Caries remineralisation and arresting effect in children by professionally applied fluoride treatment - a systematic review. *BMC Oral Health*;16:12. 2016/02/03. doi: 10.1186/s12903-016-0171-6.
80. **Hu J. C., Chun, Y. H., Al Hazzazi, T. & Simmer, J. P.** (2007). Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*;186(1):78-85. 2007/07/14. doi: 10.1159/000102683.
81. **Sperber G. H.** (2018). *Oral Anatomy, Histology and Embryology*, 5th edition. By B. K. B. Berkowitz, G. R. Holland, B. J. Moxham. (ISBN 978-0-7234-3812-0; Intn'l ISBN 978-0-7234-3813-7; eISBN 978-7020-7452; pp. vi + 461; illustrated, soft cover; US\$ 140.00; £64.99) Edinburgh, Lon. *J Anat Journal of Anatomy*;233(6):854.
82. **Nanci A.** (2013). Ten Cate's Oral Histology (Eighth Edition). In: Nanci A, editor (pp.122-164) St. Louis (MO): Mosby; p.
83. **Simmer J. P. & Hu, J. C.** (2001). Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ*;65(9):896-905. 2001/09/25.
84. **Robinson C., Shore, R. C., Brookes, S. J., Strafford, S., Wood, S. R. & Kirkham,**

- J.(2000). The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med*;11(4):481-495. 2001/01/02. doi: 10.1177/10454411000110040601.
85. **Reith E. J.** (1970). The stages of amelogenesis as observed in molar teeth of young rats. *J Ultrastruct Res*;30(1):111-151. 1970/01/01. doi: 10.1016/s0022-5320(70)90068-7.
86. **Featherstone J. D.** (1984). Diffusion Phenomena and Enamel Caries Development. *Karger, Basel*:259-268. doi: <https://doi.org/10.1159/000408746>.
87. **Jose M.** (2008). *Essentials of oral biology : oral anatomy, histology, physiology & embryology*. New Delhi, India: CBS Publishers & Distributors.
88. **Avery J. K.** (2002). *Oral development and histology*. Stuttgart; New York: Thieme.
89. **Whittaker D. K.** (1982). Structural variations in the surface zone of human tooth enamel observed by scanning electron microscopy. *Arch Oral Biol*;27(5):383-392. 1982/01/01. doi: 10.1016/0003-9969(82)90147-9.
90. **Goldberg M. E.** Enamel and Dentin Carious Lesions. 2020.
91. **Arends J. & Christoffersen, J.** (1986). The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res*;65(1):2-11. 1986/01/01. doi: 10.1177/00220345860650010201.
92. **Darling A.** (1956). Studies of the early lesion of enamel caries with transmitted light, polarized light and radiography. *Br Dent J*;101:329-341.
93. **Miller J.** (1958). Note on the early carious lesion in enamel. *Brit dent J*;105:135-136.
94. **Applebaum E.** (1932). Incipient Dental Caries. *Journal of Dental Research*;12(4):619-627. doi: 10.1177/00220345320120040901.
95. **Al D.** (1958). Studies of the early lesion of enamel caries. Its nature, mode of spread, and points of entry. *Br Dent J*;105:1-19.
96. **Darling A.** (1961). The Selective Attack of Caries on the Dental Enamel: Charles Tomes Lecture delivered at the Royal College of Surgeons of England on 21st July 1961. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*;29(6):354.
97. **Darling A. I.** (1963). Resistance of the Enamel to Dental Caries. *Journal of Dental Research*;42(1):488-496. doi: 10.1177/00220345630420015601.
98. **Goldberg M. E.** The Early Enamel Carious Lesion. 2016.
99. **Silverstone L. M., Hicks, M. J. & Featherstone, M. J.** (1988). Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. *Quintessence Int*;19(10):683-711. 1988/10/01.
100. **Silverstone L. M., Hicks, M. J. & Featherstone, M. J.** (1988). Dynamic factors affecting lesion initiation and progression in human dental enamel. II. Surface morphology of sound enamel and carieslike lesions of enamel. *Quintessence Int*;19(11):773-785. 1988/11/01.
101. **Haikel Y., Frank, R. M. & Voegel, J. C.** (1983). Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesions. *Caries Res*;17(1):1-13. 1983/01/01. doi: 10.1159/000260643.
102. **Hallsworth A. S., Robinson, C. & Weatherbell, J. A.** (1972). Mineral and magnesium distribution within the approximal carious lesion of dental enamel. *Caries research*;6 2:156-168.
103. **Arends J J. W., Schuthof J.** The Ultrastructure of Surface Enamel in Relation to De- and Remineralization. In: Leach SAEWM ed. Demineralization and remineralization of teeth, Oxford: IRL Press, 1983: 155–164.
104. **Goldberg M., Arends, J., Septier, D. & Jongbloed, W. L.** (1981). Microchannels in the surface zone of artificially produced caries-like enamel lesions. *J Biol Buccale*;9(3):297-314. 1981/09/01.
105. **Thylstrup A F. J., Fredebo L.** Surface Morphology and Dynamics of Early Enamel Caries Development. In: Leach SAEWM, editor. Demineralization and remineralization of teeth. 1983 1983; Oxford. IRL Press; p. 165-184.
106. **Anders T.** (1994). Textbook of clinical cariology. *Munksgaard textbook*:259-281.
107. **Gorelick L., Geiger, A. M. & Gwinnett, A. J.** (1982). Incidence of white spot formation after bonding and banding. *American journal of orthodontics*;81(2):93-98.
108. **Holmen L., Thylstrup, A., Øgaard, B. & Kragh, F.** (1985). A scanning electron microscopic study of progressive stages of enamel caries in vivo. *Caries research*;19(4):355-367.

109. **Houwink B.**(1974). The index of refraction of dental enamel apatite. *British dental journal*;137(12):472-475.
110. **Brodelt R., O'brien, W., Fan, P., Frazer-Dib, J.&Yu, R.**(1981). Translucency of human dental enamel. *Journal of dental research*;60(10):1749-1753.
111. **Cury J. A.&Tenuta, L. M. A.**(2009). Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Brazilian oral research*;23:23-30.
112. **Zantner C., Martus, P.&Kielbassa, A. M.**(2006). Clinical monitoring of the effect of fluorides on long-existing white spot lesions. *Acta Odontologica Scandinavica*;64(2):115-122.
113. **Karlsson L., Lindgren, L.-E., Trollsås, K., Angmar-Månsson, B.&Tranaeus, S.**(2007). Effect of supplementary amine fluoride gel in caries-active adolescents. A clinical QLF study. *Acta Odontologica Scandinavica*;65(5):284-291.
114. **Kudiyirickal M. G.&Ivancaková, R.**(2008). Early enamel lesion part II. Histo-morphology and prevention. *Acta Medica (Hradec Kralove)*;51(3):151-156. 2008/01/01.
115. **Leach S. A. E. W. M.** Demineralization and remineralization of teeth. 1983; Oxford. IRL Press.
116. **Ten Cate J. M.**(1990). In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res*;69 Spec No:614-619; discussion 634-616. 1990/02/01. doi: 10.1177/00220345900690s120.
117. **International Congress in Honour of Professor Dr. Hans-R. M. hlemann M. h. H. R. G. B. E.** Cariology today. 1984; Basel; New York. Karger.
118. **Featherstone J. D., Glena, R., Shariati, M.&Shields, C. P.**(1990). Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res*;69 Spec No:620-625; discussion 634-626. 1990/02/01. doi: 10.1177/00220345900690s121.
119. **Berg J. H. S. R. L.**(2016). Early childhood oral health.
120. **Sampaio F. C.&Levy, S. M.**(2011). Systemic fluoride. *Monogr Oral Sci*;22:133-145. 2011/06/28. doi: 10.1159/000325161.
121. **Murray J. J. J. G. N. R.-G. A. J.** (1991). *Fluorides in caries prevention*. Oxford: Wright.
122. **Control C. f. D.&Prevention.**(1999). Achievements in public health, 1900-1999: fluoridation of drinking water to prevent dental caries. *MMWR*;48:933-940.
123. **Clarkson B.**(1996). Rational use of fluorides in caries control. *Fluoride in dentistry*:347-357.
124. **Beltran E. D.&Burt, B. A.**(1988). The pre-and posteruptive effects of fluoride in the caries decline. *Journal of public health dentistry*;48(4):233-240.
125. **Thylstrup A.**(1990). Clinical evidence of the role of pre-eruptive fluoride in caries prevention. *Journal of dental research*;69(2\_suppl):742-750.
126. **Dentistry A. A. o. P.**(2018). Fluoride therapy. *The Reference Manual of Pediatric Dentistry Chicago, IL: American Academy of Pediatric Dentistry*;262:265.
127. **Marinho V. C., Higgins, J. P., Sheiham, A.&Logan, S.**(2004). Combinations of topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels, varnishes) versus single topical fluoride for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*;2004(1):Cd002781. 2004/02/20. doi: 10.1002/14651858.CD002781.pub2.
128. **Marinho V. C., Higgins, J. P., Logan, S.&Sheiham, A.**(2003). Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*;2003(4):Cd002782. 2003/10/30. doi: 10.1002/14651858.Cd002782.
129. **O'Mullane D. M., Baez, R. J., Jones, S., Lennon, M. A., Petersen, P. E., Rugg-Gunn, A. J., Whelton, H.&Whitford, G. M.**(2016). Fluoride and Oral Health. *Community Dent Health*;33(2):69-99. 2016/06/29.
130. **Pessan J. P., Toumba, K. J.&Buzalaf, M. A. R.**(2011). Topical use of fluorides for caries control. *Monogr Oral Sci*;22:115-132. 2011/06/28. doi: 10.1159/000325154.
131. **Ogard B., Seppä, L.&Rølla, G.**(1994). Professional topical fluoride applications--clinical efficacy and mechanism of action. *Adv Dent Res*;8(2):190-201. 1994/07/01. doi: 10.1177/08959374940080021001.
132. **ten Cate J. M.**(1997). Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride

- mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci*;105(5 Pt 2):461-465. 1997/12/12. doi: 10.1111/j.1600-0722.1997.tb00231.x.
133. **Shellis R. P. & Duckworth, R. M.** (1994). Studies on the cariostatic mechanisms of fluoride. *Int Dent J*;44(3 Suppl 1):263-273. 1994/06/01.
134. **Robinson C., Kirkham, J. & Weatherell, J.** (1996). Fluoride in teeth and bone. *Fluoride in dentistry*:69-87.
135. **Duckworth R. M.** (2013). Pharmacokinetics in the oral cavity: fluoride and other active ingredients. *Monogr Oral Sci*;23:125-139. 2013/07/03. doi: 10.1159/000350590.
136. **Ten Cate J. & Featherstone, J.** (1991). Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*;2(3):283-296.
137. **Amaechi B. T. & van Loveren, C.** (2013). Fluorides and non-fluoride remineralization systems. *Monogr Oral Sci*;23:15-26. 2013/07/03. doi: 10.1159/000350458.
138. **Chow L. C., Takagi, S., Carey, C. M. & Sieck, B. A.** (2000). Remineralization effects of a two-solution fluoride mouthrinse: an in situ study. *J Dent Res*;79(4):991-995. 2000/06/01. doi: 10.1177/00220345000790041601.
139. **Whitford G. M., Buzalaf, M. A., Bijella, M. F. & Waller, J. L.** (2005). Plaque fluoride concentrations in a community without water fluoridation: effects of calcium and use of a fluoride or placebo dentifrice. *Caries Res*;39(2):100-107. 2005/03/03. doi: 10.1159/000083154.
140. **Whitford G. M., Schuster, G. S., Pashley, D. H. & Venkateswarlu, P.** (1977). Fluoride uptake by *Streptococcus mutans* 6715. *Infect Immun*;18(3):680-687. 1977/12/01. doi: 10.1128/iai.18.3.680-687.1977.
141. **Van Loveren C.** (1990). The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res*;69 Spec No:676-681; discussion 682-673. 1990/02/01. doi: 10.1177/00220345900690s131.
142. **Hamilton I.** (1996). Fluoride effects on oral bacteria, Fejerskov O, Ekstrand. *J: Fluoride in dentistry*:230-251.
143. **Shen C. & Autio-Gold, J.** (2002). Assessing fluoride concentration uniformity and fluoride release from three varnishes. *J Am Dent Assoc*;133(2):176-182. 2002/03/01. doi: 10.14219/jada.archive.2002.0141.
144. **Arends J. & Ten Cate, J.** (1981). Tooth enamel remineralization. *Journal of Crystal Growth*;53(1):135-147.
145. **Øgaard B., Rølla, G., Arends, J. & Ten Cate, J.** (1988). Orthodontic appliances and enamel demineralization Part 2. Prevention and treatment of lesions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*;94(2):123-128.
146. **Willmot D.** (2004). White lesions after orthodontic treatment: does low fluoride make a difference? *Journal of orthodontics*;31(3):235-242.
147. **Murray J., Rugg-Gunn, A. & Jenkins, G.** (1991). Fluoride toothpastes and dental caries. *Fluorides in caries prevention*;9:127-160.
148. **Marthaler T. M.** (2004). Changes in dental caries 1953–2003. *Caries research*;38(3):173-181.
149. **Goswami M., Saha, S. & Chaitra, T. R.** (2012). Latest developments in non-fluoridated remineralizing technologies. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*;30(1):2-6. 2012/05/09. doi: 10.4103/0970-4388.95561.
150. **Reynolds E.** (1997). Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *Journal of dental research*;76(9):1587-1595.
151. **Cochrane N. & Reynolds, E.** (2012). Calcium phosphopeptides—mechanisms of action and evidence for clinical efficacy. *Advances in dental research*;24(2):41-47.
152. **Shen P., Cai, F., Nowicki, A., Vincent, J. & Reynolds, E.** (2001). Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Journal of dental research*;80(12):2066-2070.
153. **Cochrane N., Saranathan, S., Cai, F., Cross, K. & Reynolds, E.** (2008). Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries research*;42(2):88-97.

154. **Hamba H., Nakamura, K., Nikaido, T., Tagami, J. & Muramatsu, T.** (2020). Remineralization of enamel subsurface lesions using toothpaste containing tricalcium phosphate and fluoride: an in vitro  $\mu$ CT analysis. *BMC oral health*;20(1):1-9.
155. **Karlinsey R. L., Mackey, A. C., Walker, E. R. & Frederick, K. E.** (2010). Preparation, characterization and in vitro efficacy of an acid-modified beta-TCP material for dental hard-tissue remineralization. *Acta Biomater*;6(3):969-978. 2009/09/01. doi: 10.1016/j.actbio.2009.08.034.
156. **Pfarrer A. M. & Karlinsey, R. L.** (2009). Challenges of implementing new remineralization technologies. *Adv Dent Res*;21(1):79-82. 2009/09/01. doi: 10.1177/0895937409335643.
157. **Karlinsey R. L. & Pfarrer, A. M.** (2012). Fluoride plus functionalized  $\beta$ -TCP: a promising combination for robust remineralization. *Adv Dent Res*;24(2):48-52. 2012/08/18. doi: 10.1177/0022034512449463.
158. **Burg K. J., Porter, S. & Kellam, J. F.** (2000). Biomaterial developments for bone tissue engineering. *Biomaterials*;21(23):2347-2359. 2000/10/31. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00102-2.
159. **Vandiver J., Dean, D., Patel, N., Bonfield, W. & Ortiz, C.** (2005). Nanoscale variation in surface charge of synthetic hydroxyapatite detected by chemically and spatially specific high-resolution force spectroscopy. *Biomaterials*;26(3):271-283. 2004/07/21. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.02.053.
160. **KANI T., KANI, M., ISOZAKI, A., SHINTANI, H., OHASHI, T. & TOKUMOTO, T.** (1989). Effect to apatite-containing dentifrices on dental caries in school children. *Journal of Dental Health*;39(1):104-109.
161. **Lv K. L., Zhang, J. X., Meng, X. C. & Li, X. Y.** Remineralization effect of the nano-HA toothpaste on artificial caries. *Key Engineering Materials*. 2007 Trans Tech Publ; p. 267-270.
162. **Kim M., Kwon, H., Choi, C. H. & Kim, B.** Combined effects of nano-hydroxyapatite and NaF on remineralization of early caries lesion. *Key Engineering Materials*. 2007 Trans Tech Publ; p. 1347-1350.
163. **Yamagishi K., Onuma, K., Suzuki, T., Okada, F., Tagami, J., Otsuki, M. & Senawangse, P.** (2005). A synthetic enamel for rapid tooth repair. *Nature*;433(7028):819-819.
164. **Huang S., Gao, S., Cheng, L. & Yu, H.** (2011). Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res*;45(5):460-468. 2011/09/07. doi: 10.1159/000331207.
165. **Pepla E., Besharat, L. K., Palaia, G., Tenore, G. & Migliau, G.** (2014). Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Ann Stomatol (Roma)*;5(3):108-114. 2014/12/17.
166. **Huang S. B., Gao, S. S. & Yu, H. Y.** (2009). Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater*;4(3):034104. 2009/06/06. doi: 10.1088/1748-6041/4/3/034104.
167. **Najibfard K., Ramalingam, K., Chedjieu, I. & Amaechi, B. T.** (2011). Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent*;22(5):139-143. 2011/01/01.
168. **Mellberg J. R., Ripa, L. W. & Leske, G. S.** (1983). Fluorido in preventive dentistry Theory and clinical applications.
169. **Wefel J. S. & Harless, J. D.** (1987). The use of saturated DCPD in remineralization of artificial caries lesions in vitro. *J Dent Res*;66(11):1640-1643. 1987/11/01. doi: 10.1177/00220345870660110701.
170. **Chow L. C., Guo, M. K., Hsieh, C. C. & Hong, Y. C.** (1981). Apatitic fluoride increase in enamel from a topical treatment involving intermediate  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  formation, an in vivo study. *Caries Res*;15(5):369-376. 1981/01/01. doi: 10.1159/000260540.
171. **Sullivan R. J., Charig, A., Blake-Haskins, J., Zhang, Y. P., Miller, S. M., Strannick, M., Gaffar, A. & Margolis, H. C.** (1997). In vivo detection of calcium from dicalcium phosphate dihydrate dentifrices in demineralized human enamel and plaque. *Adv Dent Res*;11(4):380-387. doi: 10.1177/08959374970110040201.
172. **Sullivan R., Masters, J., Cantore, R., Roberson, A., Petrou, I., Strannick, M.,**

- Goldman, H., Guggenheim, B.&Gaffar, A.**(2001). Development of an enhanced anticaries efficacy dual component dentifrice containing sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate. *American journal of dentistry*;14:3A-11A.
- 173.**Harris R. S., Nizel, A. E.&Walsh, N. B.**(1967). The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. *J Dent Res*;46(1):290-294. 1967/01/01. doi: 10.1177/00220345670460012901.
- 174.**McGaughey C.&Stowell, E. C.**(1977). Effects of polyphosphates on the solubility and mineralization of HA: relevance to a rationale for anticaries activity. *J Dent Res*;56(6):579-587. 1977/06/01. doi: 10.1177/00220345770560060501.
- 175.**Gonzalez M., Jeansonne, B. G.&Feagin, F. F.**(1973). Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. *J Dent Res*;52(2):261-266. 1973/03/01. doi: 10.1177/00220345730520021301.
- 176.**ten Cate J. M., Buijs, M. J., Miller, C. C.&Exterkate, R. A.**(2008). Elevated fluoride products enhance remineralization of advanced enamel lesions. *J Dent Res*;87(10):943-947. 2008/09/24. doi: 10.1177/154405910808701019.
- 177.**Ikemi T.&Koulourides, T.**(1988). Abrasion biopsy in studies of mineral density of experimental enamel lesions. *Journal of dental research*;67(2):508-514.
- 178.**Lippert F., Lynch, R., Eckert, G., Kelly, S., Hara, A. T.&Zero, D. T.**(2011). In situ fluoride response of caries lesions with different mineral distributions at baseline. *Caries research*;45(1):47-55.
- 179.**Moretto M. J., Magalhães, A. C., Sasaki, K. T., Delbem, A. C.&Martinhon, C. C.**(2010). Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. *Caries Res*;44(2):135-140. 2010/04/02. doi: 10.1159/000302902.
- 180.**Takeshita E. M., Exterkate, R. A., Delbem, A. C.&ten Cate, J. M.**(2011). Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel de- and remineralization in vitro. *Caries Res*;45(5):494-497. 2011/09/29. doi: 10.1159/000331209.
- 181.**Takeshita E. M., Castro, L. P., Sasaki, K. T.&Delbem, A. C.**(2009). In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res*;43(1):50-56. 2009/01/29. doi: 10.1159/000196507.
- 182.**Manarelli M., Vieira, A., Matheus, A., Sasaki, K.&Delbem, A. C. B.**(2011). Effect of mouth rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion: an in vitro study. *Caries research*;45(6):506-509.
- 183.**To-o K., Kamasaka, H., Nishimura, T., Kuriki, T., Saeki, S.&Nakabou, Y.**(2003). Absorbability of calcium from calcium-bound phosphoryl oligosaccharides in comparison with that from various calcium compounds in the rat ligated jejunum loop. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*;67(8):1713-1718.
- 184.**Duke S.**(1986). Effect induced by a chalk-based toothpaste on the pH changes of plaque challenged by a high sugar diet over an 8-hour period. *Caries research*;20(4):381-384.
- 185.**Cury J., Francisco, S., Simões, G., Cury, A. D. B.&Tabchoury, C.**(2003). Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on enamel demineralization in situ. *Caries research*;37(3):194-199.
- 186.**Savaş S.&KÜÇÜKYILMAZ, E.**(2014). DİŞ HEKİMLİĞİNDE KULLANILAN REMİNERALİZASYON AJANLARI VE ÇÜRÜK ÖNLEYİCİ AJANLAR. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*;24(3):113-125.
- 187.**Szöke J., Banoczy, J.&Proskin, H.**(2001). Effect of after-meal sucrose-free gum-chewing on clinical caries. *Journal of dental research*;80(8):1725-1729.
- 188.**Cai F., Shen, P., Walker, G. D., Reynolds, C., Yuan, Y.&Reynolds, E. C.**(2009). Remineralization of enamel subsurface lesions by chewing gum with added calcium. *Journal of Dentistry*;37(10):763-768.
- 189.**Kitasako Y., Tanaka, M., Sadr, A., Hamba, H., Ikeda, M.&Tagami, J.**(2011). Effects of a chewing gum containing phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) and fluoride on remineralization and crystallization of enamel subsurface lesions in situ. *Journal of dentistry*;39(11):771-779.
- 190.**KAMASAKA H., IMAI, S., NISHIMURA, T., KURIKI, T.&NISHIZAWA, T.**(2002). Effect of Phosphoryl Oligosaccharides from Potato Starch on Acid Fermentation by

Mutans Streptococci. *口腔卫生学会杂志*52(1):66-71.

191. **Alkilzy M., Santamaria, R. M., Schmoedel, J. & Splieth, C. H.** (2018). Treatment of Carious Lesions Using Self-Assembling Peptides. *Adv Dent Res*;29(1):42-47. doi: 10.1177/0022034517737025.

192. **Brunton P., Davies, R., Burke, J., Smith, A., Aggeli, A., Brookes, S. & Kirkham, J.** (2013). Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides—a clinical safety trial. *British dental journal*;215(4):E6-E6.

193. **Kirkham J., Firth, A., Vernals, D., Boden, N., Robinson, C., Shore, R., Brookes, S. & Aggeli, A.** (2007). Self-assembling peptide scaffolds promote enamel remineralization. *Journal of dental research*;86(5):426-430.

194. **Tang C., Ulijn, R. V. & Saiani, A.** (2011). Effect of glycine substitution on Fmoc-diphenylalanine self-assembly and gelation properties. *Langmuir*;27(23):14438-14449. 20111101. doi: 10.1021/la202113j.

195. **Kind L., Stevanovic, S., Wuttig, S., Wimberger, S., Hofer, J., Müller, B. & Piele, U.** (2017). Biomimetic Remineralization of Carious Lesions by Self-Assembling Peptide. *J Dent Res*;96(7):790-797. 20170327. doi: 10.1177/0022034517698419.

196. **Schmidlin P., Zobrist, K., Attin, T. & Wegehaupt, F.** (2016). In vitro re-hardening of artificial enamel caries lesions using enamel matrix proteins or self-assembling peptides. *Journal of Applied Oral Science*;24:31-36.

197. **Alkilzy M., Tarabaih, A., Santamaria, R. M. & Splieth, C. H.** (2018). Self-assembling Peptide P(11)-4 and Fluoride for Regenerating Enamel. *J Dent Res*;97(2):148-154. 2017/09/12. doi: 10.1177/0022034517730531.

198. **Hayashi Y., Ohara, N., Ganno, T., Yamaguchi, K., Ishizaki, T., Nakamura, T. & Sato, M.** (2007). Chewing chitosan-containing gum effectively inhibits the growth of cariogenic bacteria. *Arch Oral Biol*;52(3):290-294. 2006/11/23. doi: 10.1016/j.archoralbio.2006.10.004.

199. **Roller S. & Covill, N.** (1999). The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *Int J Food Microbiol*;47(1-2):67-77. doi: 10.1016/s0168-1605(99)00006-9.

200. **Rhoades J. & Roller, S.** (2000). Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Applied and environmental microbiology*;66(1):80-86.

201. **Bae K., Jun, E., Lee, S., Paik, D. & Kim, J.** (2006). Effect of water-soluble reduced chitosan on Streptococcus mutans, plaque regrowth and biofilm vitality. *Clinical oral investigations*;10(2):102-107.

202. **Fujiwara M., Hayashi, Y. & Ohara, N.** (2004). Inhibitory effect of water-soluble chitosan on growth of Streptococcus mutans. *New Microbiol*;27(1):83-86. 2004/02/18.

203. **Nakamoto T., Simmons Jr, W. B. & Falster, A. U.** Products of apatite-forming-systems. Google Patents, 1999.

204. **Nakamoto T., Simmons Jr, W. B. & Falster, A. U.** Apatite-forming-systems: Methods and products. Google Patents, 2001.

205. **Kargul B., Özcan, M., Peker, S., Nakamoto, T., Simmons, W. B. & Falster, A. U.** (2012). Evaluation of human enamel surfaces treated with theobromine: a pilot study. *Oral Health and Preventive Dentistry*;10(3):275.

206. **Amaechi B., Porteous, N., Ramalingam, K., Mensinkai, P., Vasquez, R. C., Sadeghpour, A. & Nakamoto, T.** (2013). Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries research*;47(5):399-405.

207. **Lippert F.** (2017). The effects of fluoride, strontium, theobromine and their combinations on caries lesion rehardening and fluoridation. *Archives of oral biology*;80:217-221.

208. **Thorn A. K., Lin, W. S., Levon, J. A., Morton, D., Eckert, G. J. & Lippert, F.** (2020). The effect of theobromine on the in vitro de- and remineralization of enamel carious lesions. *J Dent*;103s:100013. 2020/01/01. doi: 10.1016/j.jjodo.2020.100013.

209. **Najeeb S., Sultan, Z., Ghabbani, H., Zafar, M. & Sefat, F.** (2019). Nano glass ionomer cement: modification for biodental applications. (pp.217-227)

210. **Najeeb S., Khurshid, Z., Zafar, M. S., Khan, A. S., Zohaib, S., Martí, J. M., Sauro, S., Matinlinna, J. P. & Rehman, I. U.** (2016). Modifications in Glass Ionomer Cements: Nano-Sized Fillers and Bioactive Nanoceramics. *Int J Mol Sci*;17(7). 20160714. doi:

10.3390/ijms17071134.

211. **Zafar M. S., Khurshid, Z. & Almas, K.** (2015). Oral tissue engineering progress and challenges. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*;12(6):387-397. doi: 10.1007/s13770-015-0030-6.

212. **Hench L. L., Splinter, R. J., Allen, W. & Greenlee, T.** (1971). Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of biomedical materials research*;5(6):117-141.

213. **Baino F., Hamzehlou, S. & Kargozar, S.** (2018). Bioactive Glasses: Where Are We and Where Are We Going? *Journal of functional biomaterials*;9(1):25. doi: 10.3390/jfb9010025.

214. **Lu X., Kolzow, J., Chen, R. R. & Du, J.** (2019). Effect of solution condition on hydroxyapatite formation in evaluating bioactivity of B(2)O(3) containing 45S5 bioactive glasses. *Bioact Mater*;4:207-214. 20190605. doi: 10.1016/j.bioactmat.2019.05.002.

215. **Hassanein O. E. & El-Brolosy, T.** (2006). An investigation about the remineralization potential of bio-active glass on artificially carious enamel and dentin using Raman spectroscopy. *Egypt J Solids*;29(1):69-80.

216. **Skallevold H. E., Rokaya, D., Khurshid, Z. & Zafar, M. S.** (2019). Bioactive Glass Applications in Dentistry. *Int J Mol Sci*;20(23). 20191127. doi: 10.3390/ijms20235960.

217. **Hench L. L., Hench, J. W. & Greenspan, D.** (2004). Bioglass: a short history and bibliography. *J Aust Ceram Soc*;40:1-42. doi: 10.1007/978-94-011-0541-5\_1.

218. **Ferreira M. M., Brito, A. F., Brazete, D., Pereira, I. C., Carrilho, E., Abrantes, A. M., Pires, A. S., Aguiar, M. J., Carvalho, L., Botelho, M. F. & Ferreira, J. M. F.** (2018). Doping  $\beta$ -TCP as a Strategy for Enhancing the Regenerative Potential of Composite  $\beta$ -TCP-Alkali-Free Bioactive Glass Bone Grafts. Experimental Study in Rats. *Materials (Basel)*;12(1):4. doi: 10.3390/ma12010004.

219. **Lowe B., Ottensmeyer, M. P., Xu, C., He, Y., Ye, Q. & Troulis, M. J.** (2019). The Regenerative Applicability of Bioactive Glass and Beta-Tricalcium Phosphate in Bone Tissue Engineering: A Transformation Perspective. *Journal of functional biomaterials*;10(1):16. doi: 10.3390/jfb10010016.

220. **Rodriguez O., Alhalawani, A., Arshad, S. & Towler, M. R.** (2018). Rapidly-Dissolving Silver-Containing Bioactive Glasses for Cariostatic Applications. *Journal of Functional Biomaterials*;9(2):28.

221. **Peitl Filho O., Latorre, G. & Hench, L. L.** (1996). Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5. *Journal of biomedical materials research*;30 4:509-514.

222. **Prasad D., Vyas, V. & Ershad, M.** (2017). Crystallization and mechanical properties of (45S5-HA) biocomposite for biomedical implantation. *Ceramics - Silikaty*;61:1-10. doi: 10.13168/cs.2017.0039.

223. **Wilson J., Pigott, G. H., Schoen, F. J. & Hench, L. L.** (1981). Toxicology and biocompatibility of bioglasses. *J Biomed Mater Res*;15(6):805-817. doi: 10.1002/jbm.820150605.

224. **Fernandes H. R., Gaddam, A., Rebelo, A., Brazete, D., Stan, G. E. & Ferreira, J. M. F.** (2018). Bioactive Glasses and Glass-Ceramics for Healthcare Applications in Bone Regeneration and Tissue Engineering. *Materials (Basel)*;11(12). 20181212. doi: 10.3390/ma11122530.

225. **Wu C., Fan, W., Gelinsky, M., Xiao, Y., Simon, P., Schulze, R., Doert, T., Luo, Y. & Cuniberti, G.** (2011). Bioactive SrO-SiO<sub>2</sub> glass with well-ordered mesopores: Characterization, physiochemistry and biological properties. *Acta Biomaterialia*;7(4):1797-1806.

226. **Li R., Clark, A. E. & Hench, L. L.** (1991). An investigation of bioactive glass powders by sol-gel processing. *J Appl Biomater*;2(4):231-239. doi: 10.1002/jab.770020403.

227. **Sepulveda P., Jones, J. R. & Hench, L. L.** (2001). Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*;58(6):734-740. doi: 10.1002/jbm.10026.

228. **Iviglia G., Kargozar, S. & Baino, F.** (2019). Biomaterials, Current Strategies, and Novel Nano-Technological Approaches for Periodontal Regeneration. *J Funct Biomater*;10(1).

20190102. doi: 10.3390/jfb10010003.

229. **Reynolds E. C.** (2008). Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J*;53(3):268-273. doi: 10.1111/j.1834-7819.2008.00061.x.

230. **Hill R.** (1996). An alternative view of the degradation of bioglass. *Journal of Materials Science Letters*;15(13):1122-1125.

231. **Gunawidjaja P. N., Mathew, R., Lo, A. Y. H., Izquierdo-Barba, I., García, A., Arcos, D., Vallet-Regí, M. & Edén, M.** (2012). Local structures of mesoporous bioactive glasses and their surface alterations in vitro: inferences from solid-state nuclear magnetic resonance. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*;370(1663):1376-1399. doi: 10.1098/rsta.2011.0257.

232. **Andersson O. H. & Kangasniemi, I.** (1991). Calcium phosphate formation at the surface of bioactive glass in vitro. *J Biomed Mater Res*;25(8):1019-1030. doi: 10.1002/jbm.820250808.

233. **Hench LL A. O.** (1993). Bioactive glasses. In: Hench LL WJ, editor. *Introduction to bioceramics* (pp.45-47) Singapore: World Scientific; p.

234. **Burwell A. K., Litkowski, L. J. & Greenspan, D. C.** (2009). Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. *Adv Dent Res*;21(1):35-39. 20090731. doi: 10.1177/0895937409335621.

235. **Ramadoss R., Padmanaban, R. & Subramanian, B.** (2021). Role of bioglass in enamel remineralization: Existing strategies and future prospects—A narrative review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*;110(1):45-66.

236. **Stoor P., Söderling, E. & Salonen, J. I.** (1998). Antibacterial effects of a bioactive glass paste on oral microorganisms. *Acta Odontologica Scandinavica*;56(3):161-165.

237. **Bakry A. S. & Abbassy, M. A.** (2019). The efficacy of a bioglass (45S5) paste temporary filling used to remineralize enamel surfaces prior to bonding procedures. *J Dent*;85:33-38. 20190427. doi: 10.1016/j.jdent.2019.04.010.

238. **Dai L. L., Mei, M. L., Chu, C. H. & Lo, E. C. M.** (2019). Mechanisms of Bioactive Glass on Caries Management: A Review. *Materials (Basel)*;12(24):4183. doi: 10.3390/ma12244183.

239. **Haghighi R., Ahmadvand, M. & Moshaverinia, S.** (2016). Remineralizing Effect of Topical NovaMin and Nano-hydroxyapatite on caries-like Lesions in Primary teeth. *J Contemp Dent Pract*;17(8):645-649. 20160801. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1905.

240. **Erickson R. L. & Glasspoole, E. A.** (1995). Model investigations of caries inhibition by fluoride-releasing dental materials. *Adv Dent Res*;9(3):315-323; discussion 324-331. 1995/11/01. doi: 10.1177/08959374950090031801.

241. **Schemehorn B. R., Orban, J. C., Wood, G. D., Fischer, G. M. & Winston, A. E.** (1999). Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent*;10(1 Spec No):13-16. 2000/02/25.

242. **ten Cate J. M., Timmer, K., Shariati, M. & Featherstone, J. D.** (1988). Effect of timing of fluoride treatment on enamel de- and remineralization in vitro: a pH-cycling study. *Caries Res*;22(1):20-26. doi: 10.1159/000261078.

243. **Buzalaf M. A., Hannas, A. R., Magalhães, A. C., Rios, D., Honório, H. M. & Delbem, A. C.** (2010). pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci*;18(4):316-334. doi: 10.1590/s1678-77572010000400002.

244. **Featherstone J. D. & Mellberg, J. R.** (1981). Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res*;15(1):109-114. doi: 10.1159/000260508.

245. **Featherstone J. D. & Rodgers, B. E.** (1981). Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res*;15(5):377-385. doi: 10.1159/000260541.

246. **ten Cate J. M.** (1994). In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res*;8(2):125-133. doi: 10.1177/08959374940080020201.

247. **Thaveesangpanich P., Itthagarun, A., King, N. M., Wefel, J. S. & Tay, F. R.** (2005). In vitro model for evaluating the effect of child formula toothpastes on artificial caries in primary dentition enamel. *Am J Dent*;18(3):212-216.

248. **Itthagarun A., Thaveesangpanich, P., King, N. M., Tay, F. R. & Wefel, J. S.** (2007). Effects of different amounts of a low fluoride toothpaste on primary enamel lesion progression: a preliminary study using in vitro pH-cycling system. *Eur Arch Paediatr Dent*;8(1):69-73. doi: 10.1007/bf03262573.
249. **ten Cate J. M. & Duijsters, P. P.** (1982). Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res*;16(3):201-210. doi: 10.1159/000260599.
250. **Zhang R., Qi, J., Gong, M., Liu, Q., Zhou, H., Wang, J. & Mei, Y.** (2021). Effects of 45S5 bioactive glass on the remineralization of early carious lesions in deciduous teeth: an in vitro study. *BMC Oral Health*;21(1):576. 20211112. doi: 10.1186/s12903-021-01931-3.
251. **Donly K. J.** (1994). Enamel and dentin demineralization inhibition of fluoride-releasing materials. *Am J Dent*;7(5):275-278.
252. **Tsanidis V. & Koulourides, T.** (1992). An in vitro model for assessment of fluoride uptake from glass-ionomer cements by dentin and its effect on acid resistance. *J Dent Res*;71(1):7-12. doi: 10.1177/00220345920710011201.
253. **Featherstone J. D.** (1996). Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater*;12(3):194-197. doi: 10.1016/s0109-5641(96)80021-2.
254. **Staninec M., Giles, W. S., Saiku, J. M. & Hattori, M.** (1988). Caries penetration and cement thickness of three luting agents. *Int J Prosthodont*;1(3):259-263.
255. **Cury J. A., do Amaral, R. C., Tenuta, L. M., Del Bel Cury, A. A. & Tabchoury, C. P.** (2010). Low-fluoride toothpaste and deciduous enamel demineralization under biofilm accumulation and sucrose exposure. *Eur J Oral Sci*;118(4):370-375. doi: 10.1111/j.1600-0722.2010.00745.x.
256. **Taştan E., Güler, E. & Bal, F. A.** (2021). Farklı Remineralizasyon Ajanlarının Lazer ve Ozon Tedavisi ile Kombine Kullanımının Başlangıç Çürüklerine Etkisinin İn-Vitro Olarak İncelenmesi. *Türkiye Klinikleri Dishekimliği Bilimleri Dergisi*;27(2):269-279.
257. **Benjasuwantep P., Rirattanapong, P. & Vongsavan, K.** (2017). The remineralization effect of bioactive glass on enamel caries-like lesions in primary teeth. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*;48:1127-1132.
258. **Thaveesangpanich P., Itthagarun, A., King, N. M. & Wefel, J. S.** (2005). The effects of child formula toothpastes on enamel caries using two in vitro pH-cycling models. *Int Dent J*;55(4):217-223. doi: 10.1111/j.1875-595x.2005.tb00319.x.
259. **Besic F. C.** (1953). Carieslike Enamel Changes by Chemical Means. *Journal of Dental Research*;32(6):830-839. doi: 10.1177/00220345530320061101.
260. **Coolidge T. B., Besic, F. C. & Jacobs, M. H.** (1955). A microscopic comparison of clinically and artificially produced changes in enamel. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*;8(11):1204-1210. doi: 10.1016/0030-4220(55)90384-4.
261. **Applebaum E.** (1940). The radiopaque surface layer of enamel and caries. *Journal of Dental Research*;19(1):41-46.
262. **Gray J. A.** (1963). Physical chemistry of enamel dissolution. *Mechanism of hard tissue destruction*:213-260.
263. **Thewlis J.** (1940). The Structure of Teeth as Shown by X-ray Examination. *The Structure of Teeth as Shown by X-ray Examination*(238).
264. **Davis G. R. & Wong, F. S.** (1996). X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiol Meas*;17(3):121-146. doi: 10.1088/0967-3334/17/3/001.
265. **Kon K., Shiota, M., Ozeki, M., Yamashita, Y. & Kasugai, S.** (2009). Bone augmentation ability of autogenous bone graft particles with different sizes: a histological and micro-computed tomography study. *Clin Oral Implants Res*;20(11):1240-1246. 20090830. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01798.x.
266. **Tanaka R., Shibata, Y., Manabe, A. & Miyazaki, T.** (2010). Micro-structural integrity of dental enamel subjected to two tooth whitening regimes. *Arch Oral Biol*;55(4):300-308. 20100324. doi: 10.1016/j.archoralbio.2010.02.009.
267. **Efeoglu N., Wood, D. & Efeoglu, C.** (2005). Microcomputerised tomography evaluation of 10% carbamide peroxide applied to enamel. *J Dent*;33(7):561-567. 20050212. doi: 10.1016/j.jdent.2004.12.001.

268. **Kim I., Paik, K. S. & Lee, S. P.** (2007). Quantitative evaluation of the accuracy of micro-computed tomography in tooth measurement. *Clin Anat*;20(1):27-34. doi: 10.1002/ca.20265.
269. **Flannery B. P., Deckman, H. W., Roberge, W. G. & D'Amico, K. L.** (1987). Three-Dimensional X-ray Microtomography. *Science*;237(4821):1439-1444. doi: 10.1126/science.237.4821.1439.
270. **Huang T. T., Jones, A. S., He, L. H., Darendeliler, M. A. & Swain, M. V.** (2007). Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray micro-tomography. *J Dent*;35(9):737-743. 20070801. doi: 10.1016/j.jdent.2007.06.001.
271. **Kinney J. H., Marshall, G. W., Jr. & Marshall, S. J.** (1994). Three-dimensional mapping of mineral densities in carious dentin: theory and method. *Scanning Microsc*;8(2):197-204; discussion 204-195.
272. **Hayat M. A.** (1974). *Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy*: Van Nostrand Reinhold Company.
273. **Al-Nazhan S.** (2004). SEM observations of the attachment of human periodontal ligament fibroblasts to non-demineralized dentin surface in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*;97(3):393-397. doi: 10.1016/j.tripleo.2003.08.004.
274. **Babay N.** (2001). SEM study on the effect of two different demineralization methods with saturated tetracycline hydrochloride on diseased root surfaces. *The journal of Contemporary dental practice*;2(2):25-35.
275. **Breschi L., Gobbi, P., Falconi, M., Mazzotti, G., Prati, C. & Perdigão, J.** (2003). Ultra-morphology of self-etching adhesives on ground enamel: A high resolution SEM study. *American Journal of Dentistry*;16:57A-62A.
276. **Breschi L., Gobbi, P., Mazzotti, G., Ellis, T., Sacher, E. & Stangel, I.** (1999). Field emission in-lens SEM study of enamel and dentin. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*;46(3):315-323.
277. **Barbour M. E. & Rees, J. S.** (2004). The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *Journal of Dentistry*;32(8):591-602. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2004.05.001>.
278. **Attin T. & Wegehaupt, F. J.** (2014). Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci*;25:123-142. 20140626. doi: 10.1159/000360355.
279. **Grobler S. R., du Toit, I. J. & Basson, N. J.** (1994). The effect of honey on human tooth enamel in vitro observed by electron microscopy and microhardness measurements. *Arch Oral Biol*;39(2):147-153. doi: 10.1016/0003-9969(94)90110-4.
280. **ten Cate J. M. & Duijsters, P. P.** (1983). Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. *Caries Res*;17(3):193-199. doi: 10.1159/000260667.
281. **Lo E. C., Zhi, Q. H. & Itthagarun, A.** (2010). Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *J Dent*;38(4):352-359. 20100114. doi: 10.1016/j.jdent.2010.01.001.
282. **ten Cate J. M., Buijs, M. J. & Damen, J. J.** (1995). pH-cycling of enamel and dentin lesions in the presence of low concentrations of fluoride. *Eur J Oral Sci*;103(6):362-367. doi: 10.1111/j.1600-0722.1995.tb01858.x.
283. **Stookey G. K., Featherstone, J. D., Rapozo-Hilo, M., Schemehorn, B. R., Williams, R. A., Baker, R. A., Barker, M. L., Kaminski, M. A., McQueen, C. M., Amburgey, J. S., Casey, K. & Faller, R. V.** (2011). The Featherstone laboratory pH cycling model: a prospective, multi-site validation exercise. *Am J Dent*;24(5):322-328.
284. **Ismail A. I., Brodeur, J. M., Gagnon, P., Payette, M., Picard, D., Hamalian, T., Olivier, M. & Eastwood, B. J.** (1992). Prevalence of non-cavitated and cavitated carious lesions in a random sample of 7-9-year-old schoolchildren in Montreal, Quebec. *Community dentistry and oral epidemiology*;20(5):250-255.
285. **Gustafsson B. E., Quensel, C. E., Lanke, L. S., Lundqvist, C., Grahnen, H., Bonow, B. E. & Krasse, B.** (1954). The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odontol Scand*;11(3-4):232-264. doi: 10.3109/00016355308993925.
286. **Clark D. C., Hann, H. J., Williamson, M. F. & Berkowitz, J.** (1995). Effects of lifelong

- consumption of fluoridated water or use of fluoride supplements on dental caries prevalence. *Community Dent Oral Epidemiol*;23(1):20-24. doi: 10.1111/j.1600-0528.1995.tb00192.x.
287. **Neto F. R., Maeda, F., Turssi, C.&Serra, M.**(2009). Potential agents to control enamel caries-like lesions. *Journal of dentistry*;37(10):786-790.
288. **Hannig M.&Hannig, C.**(2010). Nanomaterials in preventive dentistry. *Nat Nanotechnol*;5(8):565-569. 2010/06/29. doi: 10.1038/nnano.2010.83.
289. **Hench L. L.**(1980). Biomaterials. *Science*;208(4446):826-831. doi: doi:10.1126/science.6246576.
290. **Hench L. L.**(2015). Opening paper 2015-some comments on bioglass: four eras of discovery and development. *Biomedical glasses*;1(1).
291. **Khijmatgar S., Reddy, U., John, S., Badavannavar, A. N.&T, D. S.**(2020). Is there evidence for Novamin application in remineralization?: A Systematic review. *J Oral Biol Craniofac Res*;10(2):87-92. 20200122. doi: 10.1016/j.jobcr.2020.01.001.
292. **Ma Q., Chen, J., Xu, X.&Wang, T.**(2020). Impact of transparent tray-based application of bioactive glasses desensitizer on the permeability of enamel and dentin to hydrogen peroxide: an in vitro study. *BMC Oral Health*;20(1):103. doi: 10.1186/s12903-020-01096-5.
293. **Milly H., Festy, F., Watson, T. F., Thompson, I.&Banerjee, A.**(2014). Enamel white spot lesions can remineralise using bio-active glass and polyacrylic acid-modified bio-active glass powders. *J Dent*;42(2):158-166. 20131125. doi: 10.1016/j.jdent.2013.11.012.
294. **Manz A. S., Attin, T., Sener, B.&Sahrmann, P.**(2019). Dentin tubule obturation of a bioglass-based dentin desensitizer under repeated exposure to lactic acid and brushing. *BMC Oral Health*;19(1):274. doi: 10.1186/s12903-019-0962-7.
295. **Bakry A. S., Tamura, Y., Otsuki, M., Kasugai, S., Ohya, K.&Tagami, J.**(2011). Cytotoxicity of 45S5 bioglass paste used for dentine hypersensitivity treatment. *J Dent*;39(9):599-603. 20110624. doi: 10.1016/j.jdent.2011.06.003.
296. **Wu Q., Mei, M. L., Wu, X., Shi, S., Xu, Y., Chu, C. H.&Chen, Y.**(2020). Remineralising effect of 45S5 bioactive glass on artificial caries in dentine. *BMC Oral Health*;20(1):49. 20200211. doi: 10.1186/s12903-020-1038-4.
297. **Taha A. A., Patel, M. P., Hill, R. G.&Fleming, P. S.**(2017). The effect of bioactive glasses on enamel remineralization: A systematic review. *J Dent*;67:9-17. 20170920. doi: 10.1016/j.jdent.2017.09.007.
298. **Bakry A. S., Takahashi, H., Otsuki, M.&Tagami, J.**(2013). The durability of phosphoric acid promoted bioglass–dentin interaction layer. *Dental Materials*;29(4):357-364. doi: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.12.002>.
299. **Abbassy M. A., Bakry, A. S., Almoabady, E. H., Almusally, S. M.&Hassan, A. H.**(2021). Characterization of a novel enamel sealer for bioactive remineralization of white spot lesions. *J Dent*;109:103663. 20210420. doi: 10.1016/j.jdent.2021.103663.
300. **Wang Y., Mei, L., Gong, L., Li, J., He, S., Ji, Y.&Sun, W.**(2016). Remineralization of early enamel caries lesions using different bioactive elements containing toothpastes: An in vitro study. *Technol Health Care*;24(5):701-711. doi: 10.3233/thc-161221.
301. **Ali S., Farooq, I., Al-Thobity, A. M., Al-Khalifa, K. S., Alhooshani, K.&Sauro, S.**(2020). An in-vitro evaluation of fluoride content and enamel remineralization potential of two toothpastes containing different bioactive glasses. *Biomed Mater Eng*;30(5-6):487-496. doi: 10.3233/bme-191069.
302. **White D. J.**(1992). The comparative sensitivity of intra-oral, in vitro, and animal models in the 'profile' evaluation of topical fluorides. *J Dent Res*;71 Spec No:884-894. doi: 10.1177/002203459207100s19.
303. **Featherstone J. D.** (1995). *Clinical aspects of de/remineralization of teeth*: International Association for Dental Research.
304. **Ten Cate J.&Mundorff-Shrestha, S.**(1995). Working group report 1: laboratory models for caries (in vitro and animal models). *Advances in dental research*;9(3):332-334.
305. **Featherstone J. D., Stookey, G. K., Kaminski, M. A.&Faller, R. V.**(2011). Recommendation for a non-animal alternative to rat caries testing. *Am J Dent*;24(5):289-294.
306. **Faller R. V., Pfarrer, A. M., Eversole, S. L., Cox, E. R., Landrigan, W. F.&Wang, Q.**(1997). The comparative anticaries efficacy of Crest toothpaste relative to some marketed

- Chinese toothpastes – results of in vitro pH cycling testing. *International Dental Journal*;47(6):313-320. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1875-595X.1997.tb00455.x>.
307. **Mellberg J. R.** (1992). Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res*;71 Spec No:913-919. doi: 10.1177/002203459207100s25.
308. **Ogaard B. & Rølla, G.** (1992). Intra-oral models: comparison of in situ substrates. *J Dent Res*;71 Spec No:920-923. doi: 10.1177/002203459207100s26.
309. **Amaechi B. T., Higham, S. M. & Edgar, W. M.** (1999). Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil*;26(8):624-630. doi: 10.1046/j.1365-2842.1999.00433.x.
310. **Jenkins G. N.** (1978). *The physiology and biochemistry of the mouth*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
311. **Stack M. V.** (1953). Variation in the organic content of deciduous enamel and dentine. *Biochem J*;54(2):xv.
312. **Naujoks R., Schade, H. & Zelinka, F.** (1967). Chemical composition of different areas of the enamel of deciduous and permanent teeth. (The content of Ca, P, CO<sub>2</sub>, Na and N<sub>2</sub>). *Caries Res*;1(2):137-143. doi: 10.1159/000259508.
313. **Arends J., Christoffersen, J., Ruben, J. & Jongebloed, W. L.** (1989). Remineralization of bovine dentine in vitro. The influence of the F content in solution on mineral distribution. *Caries Res*;23(5):309-314. doi: 10.1159/000261198.
314. **Featherstone J. D.** (2009). Remineralization, the natural caries repair process--the need for new approaches. *Adv Dent Res*;21(1):4-7. doi: 10.1177/0895937409335590.
315. **Zeczkowski M., Tenuta, L. M. A., Ambrosano, G. M. B., Aguiar, F. H. B. & Lima, D.** (2015). Effect of different storage conditions on the physical properties of bleached enamel: An in vitro vs. in situ study. *J Dent*;43(9):1154-1161. 20150622. doi: 10.1016/j.jdent.2015.06.004.
316. **Aydın B., Pamir, T., Baltacı, A., Orman, M. N. & Turk, T.** (2015). Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *European journal of dentistry*;9(02):262-266.
317. **Sperber G. H. & Buonocore, M. G.** (1963). Effect of different acids on character of demineralization of enamel surfaces. *J Dent Res*;42:707-723. doi: 10.1177/00220345630420022001.
318. **Gray J. A.** (1966). Kinetics of enamel dissolution during formation of incipient caries-like lesions. *Arch Oral Biol*;11(4):397-422. doi: 10.1016/0003-9969(66)90105-1.
319. **Itthagarun A., Wei, S. & Wefel, J.** (1997). De/remineralisation from different commercial dentifrices: a pH-cycling study. *International Dental Journal*;47(6):321-328.
320. **Khandelwal J., Bargale, S., Dave, B., Poonacha, K., Kariya, P. & Vaidya, S.** (2020). Comparative evaluation of remineralising efficacy of bioactive glass agent and nano-hydroxyapatite dentifrices on artificial carious lesion in primary teeth: An in vitro study. *Advances in Human Biology Original Article*;10(3):129-133. doi: 10.4103/aihb.Ai hb\_85\_20.
321. **Gangwar A., Jha, K. K., Thakur, J. & Nath, M.** (2019). In Vitro evaluation of remineralization potential of novamin on artificially induced carious lesions in primary teeth using scanning electron microscope and vickers hardness. *Indian J Dent Res*;30(4):590-594. doi: 10.4103/ijdr.IJDR\_326\_16.
322. **Ozalp S. & Tulunoğlu, O.** (2014). SEM–EDX analysis of brushing abrasion of chitosan and propolis based toothpastes on sound and artificial carious primary enamel surfaces. *International Journal of Paediatric Dentistry*;24(5):349-357.
323. **Yu O. Y., Zhao, I., Mei, M. L., Lo, E. & Chu, C.-H.** (2017). A Review of the Common Models Used in Mechanistic Studies on Demineralization-Remineralization for Cariology Research. *Dentistry Journal*;5:20. doi: 10.3390/dj5020020.
324. **Featherstone J.** (1986). Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. *Factors relating to demineralisation and remineralisation of the teeth*.
325. **Kumar V. L., Itthagarun, A. & King, N. M.** (2008). The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro

- study. *Aust Dent J*;53(1):34-40. doi: 10.1111/j.1834-7819.2007.00006.x.
326. **Rana R., Itthagarun, A.&King, N. M.**(2007). Effects of dentifrices on artificial caries like lesions: an in vitro pH cycling study. *Int Dent J*;57(4):243-248. doi: 10.1111/j.1875-595x.2007.tb00127.x.
327. **Mendes F. M.&Nicolau, J.**(2004). Utilization of laser fluorescence to monitor caries lesions development in primary teeth. *J Dent Child (Chic)*;71(2):139-142.
328. **Meurman J. H.&ten Cate, J. M.**(1996). Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci*;104(2 ( Pt 2)):199-206. doi: 10.1111/j.1600-0722.1996.tb00068.x.
329. **Gray J. A.**(1962). Kinetics of the dissolution of human dental enamel in acid. *J Dent Res*;41:633-645. doi: 10.1177/00220345620410031601.
330. **Flim G. J.&Arends, J.**(1977). The temperature dependency of <sup>45</sup>Ca diffusion in bovine enamel. *Calcif Tissue Res*;24(2):173-177. doi: 10.1007/bf02223312.
331. **de Rooij J. F., Kolar, Z.&Arends, J.**(1980). Phosphate diffusion in whole bovine enamel at pH 7. *Caries Res*;14(6):393-402. doi: 10.1159/000260482.
332. **Longworth L. G.**(1954). Temperature Dependence of Diffusion in Aqueous Solutions. *The Journal of Physical Chemistry*;58:770-773.
333. **Firzok H., Zahid, S., Asad, S., Manzoor, F., Khan, A.&Shah, A.**(2019). Sol-gel derived fluoridated and non-fluoridated bioactive glass ceramics-based dental adhesives: Compositional effect on re-mineralization around orthodontic brackets. *Journal of Non-Crystalline Solids*;521:119469. doi: 10.1016/j.jnoncrysol.2019.119469.
334. **Taha A. A., Fleming, P. S., Hill, R. G.&Patel, M. P.**(2018). Enamel Remineralization with Novel Bioactive Glass Air Abrasion. *J Dent Res*;97(13):1438-1444. 20180806. doi: 10.1177/0022034518792048.
335. **Dai L. L., Mei, M. L., Chu, C. H.&Lo, E. C. M.**(2021). Remineralizing effect of a new strontium-doped bioactive glass and fluoride on demineralized enamel and dentine. *J Dent*;108:103633. 20210311. doi: 10.1016/j.jdent.2021.103633.
336. **Memarpour M., Razmjouei, F., Rafiee, A.&Vossoughi, M.**(2021). Remineralization effects of self-assembling peptide P 11 -4 associated with three materials on early enamel carious lesions: An in vitro study. *Microscopy Research and Technique*;85. doi: 10.1002/jemt.23937.
337. **O'brien W. J.**(2002). Dental materials and their selection, 2002. *Quintessence*.
338. **Craig R.**(1993). Direct esthetic restorative materials: Restorative dental materials. *Mbsby, Missouri*:248-282.
339. **Dabanoğlu A.&Yücel, T.**(2003). Farklı polimerizasyon tekniklerinin yüzey sertliği üzerine etkileri. *Araştırmalar İÜ*;5:84-88.
340. **Contreras-Bulnes R., Olea-Mejia, O., Rodríguez Vilchis, L., Scougall-Vilchis, R.&Centeno-Pedraza, C.**(2012). Structural Changes on Human Dental Enamel Treated with Er:YAG, CO<sub>2</sub> Lasers and Remineralizing Solution: EDS Analysis.
341. **Wyroba E., Suski, S., Miller, K.&Bartosiewicz, R.**(2015). Biomedical and agricultural applications of energy dispersive X-ray spectroscopy in electron microscopy. *Cell Mol Biol Lett*;20(3):488-509. doi: 10.1515/cmbll-2015-0028.
342. **De Menezes Oliveira M. A., Torres, C. P., Gomes-Silva, J. M., Chinelatti, M. A., De Menezes, F. C., Palma-Dibb, R. G.&Borsatto, M. C.**(2010). Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech*;73(5):572-577. doi: 10.1002/jemt.20796.
343. **Austin R. S., Stenhagen, K. S., Hove, L. H., Dunne, S., Moazzez, R., Bartlett, D. W.&Tveit, A. B.**(2011). A qualitative and quantitative investigation into the effect of fluoride formulations on enamel erosion and erosion-abrasion in vitro. *J Dent*;39(10):648-655. 20110728. doi: 10.1016/j.jdent.2011.07.006.
344. **Suge T., Kawasaki, A., Ishikawa, K., Matsuo, T.&Ebisu, S.**(2008). Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion. *Dent Mater*;24(2):192-198. 20070601. doi: 10.1016/j.dental.2007.03.009.
345. **Chu C. H., Lo, E. C.&You, D. S.**(2010). Clinical diagnosis of fissure caries with conventional and laser-induced fluorescence techniques. *Lasers Med Sci*;25(3):355-362. 20090304. doi: 10.1007/s10103-009-0655-6.

346. **Novaes T. F., Matos, R., Raggio, D. P., Imparato, J. C., Braga, M. M. & Mendes, F. M.** (2010). Influence of the discomfort reported by children on the performance of approximal caries detection methods. *Caries Res*;44(5):465-471. 20100923. doi: 10.1159/000320266.
347. **Soviero V. M., Leal, S. C., Silva, R. C. & Azevedo, R. B.** (2012). Validity of MicroCT for in vitro detection of proximal carious lesions in primary molars. *J Dent*;40(1):35-40. 20110912. doi: 10.1016/j.jdent.2011.09.002.
348. **Mitropoulos P., Rahiotis, C., Stamatakis, H. & Kakaboura, A.** (2010). Diagnostic performance of the visual caries classification system ICDAS II versus radiography and micro-computed tomography for proximal caries detection: an in vitro study. *J Dent*;38(11):859-867. 20100721. doi: 10.1016/j.jdent.2010.07.005.
349. **Kamburoğlu K., Kurt, H., Kolsuz, E., Öztaş, B., Tatar, I. & Çelik, H. H.** (2011). Occlusal caries depth measurements obtained by five different imaging modalities. *J Digit Imaging*;24(5):804-813. doi: 10.1007/s10278-010-9355-9.
350. **Özkan G., Kanli, A., Başeren, N. M., Arslan, U. & Tatar, İ.** (2015). Validation of micro-computed tomography for occlusal caries detection: an in vitro study. *Braz Oral Res*;29(1):S1806-83242015000100309. 20151009. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0132.
351. **Rodrigues J. A., Neuhaus, K. W., Diniz, M. B., Hug, I., Stich, H., Karlsson, L. & Lussi, A.** (2012). Comparison among gold standard techniques used for the validation of methods for occlusal caries detection. *Microsc Res Tech*;75(5):605-608. 20111022. doi: 10.1002/jemt.21097.
352. **Ten Bosch J. J. & Angmar-Månsson, B.** (1991). A review of quantitative methods for studies of mineral content of intra-oral caries lesions. *J Dent Res*;70(1):2-14. doi: 10.1177/00220345910700010301.
353. **Mellberg J. R., Castrovence, L. A. & Rotsides, I. D.** (1986). In vivo remineralization by a monofluorophosphate dentifrice as determined with a thin-section sandwich method. *J Dent Res*;65(8):1078-1083. doi: 10.1177/00220345860650080701.
354. **Thomas R. Z., Ruben, J. L., de Vries, J., ten Bosch, J. J. & Huysmans, M. C.** (2006). Transversal wavelength-independent microradiography, a method for monitoring caries lesions over time, validated with transversal microradiography. *Caries Res*;40(4):281-291. doi: 10.1159/000093186.
355. **Elliott J. C. & Dover, S. D.** (1982). X-ray microtomography. *J Microsc*;126(Pt 2):211-213. doi: 10.1111/j.1365-2818.1982.tb00376.x.
356. **Hamba H., Nikaido, T., Sadr, A., Nakashima, S. & Tagami, J.** (2012). Enamel lesion parameter correlations between polychromatic micro-CT and TMR. *J Dent Res*;91(6):586-591. 20120403. doi: 10.1177/0022034512444127.
357. **Tay F. R. & Pashley, D. H.** (2008). Guided tissue remineralisation of partially demineralised human dentine. *Biomaterials*;29(8):1127-1137. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.11.001>.
358. **Peters M. C.** (2010). Strategies for Noninvasive Demineralized Tissue Repair. *Dental Clinics of North America*;54(3):507-525. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.03.005>.
359. **Hench L. L. & Wilson, J.** (1984). Surface-active biomaterials. *Science*;226(4675):630-636.
360. **Ali S., Farooq, I. & Iqbal, K.** (2014). A review of the effect of various ions on the properties and the clinical applications of novel bioactive glasses in medicine and dentistry. *The Saudi Dental Journal*;26(1):1-5. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2013.12.001>.
361. **Kokubo T., Kushitani, H., Sakka, S., Kitsugi, T. & Yamamuro, T.** (1990). Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res*;24(6):721-734. doi: 10.1002/jbm.820240607.
362. **Farooq I., Tylkowski, M., Müller, S., Janicki, T., Brauer, D. S. & Hill, R. G.** (2013). Influence of sodium content on the properties of bioactive glasses for use in air abrasion. *Biomed Mater*;8(6):065008. 20131128. doi: 10.1088/1748-6041/8/6/065008.
363. **Liu C., Chen, C. W. & Ducheyne, P.** (2008). In vitro surface reaction layer formation and dissolution of calcium phosphate cement-bioactive glass composites. *Biomed Mater*;3(3):034111. 20080808. doi: 10.1088/1748-6041/3/3/034111.

364. **Kangasniemi I. M., Vedel, E., de Blick-Hogerworst, J., Yli-Urpo, A. U. & de Groot, K.** (1993). Dissolution and scanning electron microscopic studies of Ca,P particle-containing bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*;27(10):1225-1233. doi: 10.1002/jbm.820271003.
365. **Bakry A. S., Abbassy, M. A., Alharkan, H. F., Basuhail, S., Al-Ghamdi, K. & Hill, R.** (2018). A Novel Fluoride Containing Bioactive Glass Paste is Capable of Re-Mineralizing Early Caries Lesions. *Materials (Basel)*;11(9). 20180906. doi: 10.3390/ma11091636.
366. **Farooq I., Ali, S., Farooqi, F. A., AlHumaid, J., Binhasan, M., Shabib, S., Vohra, F. & Abduljabbar, T.** (2021). Enamel Remineralization Competence of a Novel Fluoride-Incorporated Bioactive Glass Toothpaste-A Surface Micro-Hardness, Profilometric, and Micro-Computed Tomographic Analysis. *Tomography*;7(4):752-766. 20211109. doi: 10.3390/tomography7040063.
367. **Gjorgievska E. S. & Nicholson, J. W.** (2010). A preliminary study of enamel remineralization by dentifrices based on Recalden (CPP-ACP) and Novamin (calcium-sodium-phosphosilicate). *Acta Odontol Latinoam*;23(3):234-239.
368. **Gjorgievska E. & Nicholson, J. W.** (2011). Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. *Aust Dent J*;56(2):193-200. doi: 10.1111/j.1834-7819.2011.01323.x.
369. **Manfred L., Covell, D. A., Crowe, J. J., Tufekci, E. & Mitchell, J. C.** (2013). A novel biomimetic orthodontic bonding agent helps prevent white spot lesions adjacent to brackets. *Angle Orthod*;83(1):97-103. 20120627. doi: 10.2319/110811-689.1.
370. **Lee S.-M., Yoo, K.-H., Yoon, S.-Y., Kim, I.-R., Park, B.-S., Son, W.-S., Ko, C.-C., Son, S.-A. & Kim, Y.-I.** (2018). Enamel Anti-Demineralization Effect of Orthodontic Adhesive Containing Bioactive Glass and Graphene Oxide: An In-Vitro Study. *Materials*;11(9):1728.
371. **Kim Y. M., Kim, D. H., Song, C. W., Yoon, S. Y., Kim, S. Y., Na, H. S., Chung, J., Kim, Y. I. & Kwon, Y. H.** (2018). Antibacterial and remineralization effects of orthodontic bonding agents containing bioactive glass. *Korean J Orthod*;48(3):163-171. 20180420. doi: 10.4041/kjod.2018.48.3.163.
372. **Song H.-K., Yoo, K.-H., Yoon, S.-Y., Na, H. S., Chung, J., Son, W.-S., Lee, S.-M. & Kim, Y.-I.** (2019). In Vitro Effect of Gallium-Doped Bioactive Glass on Enamel Anti-Demineralization and Bond Strength of Orthodontic Resins. *Applied Sciences*;9(22):4918.
373. **ten Cate J. M.** (2015). Models and role models. *Caries Res*;49 Suppl 1:3-10. 20150413. doi: 10.1159/000380870.
374. **Li P., Nakanishi, K., Kokubo, T. & de Groot, K.** (1993). Induction and morphology of hydroxyapatite, precipitated from metastable simulated body fluids on sol-gel prepared silica. *Biomaterials*;14(13):963-968. doi: 10.1016/0142-9612(93)90186-6.

## **8. EKLER**

**Ekler 1:** Etik kurul kararı

**Ekler 2:** Etik kurul kararındaki değişiklikler

**Ekler 3:** Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu



## Ekler 1: Etik kurul kararı

### BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42) KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Yapay Olarak Çürük Oluşturulan Süt ve Daimi Dişlerde Biyoaktif Cam İçerikli Jelin Remineralizasyona Etkisinin Değerlendirilmesi
-----------------------	---

22.10.2019

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Pınar KINAY TARAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Pedodonti			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	-	-		Gerekli Değil <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	-	-		Gerekli Değil <input type="checkbox"/>	Var <input checked="" type="checkbox"/>
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 20/373	Tarih: 22.10.2019			
	Yürütücülüğünü Dr. Öğr. Üyesi Pınar KINAY TARAN' ın yaptığı "Yapay Olarak Çürük Oluşturulan Süt ve Daimi Dişlerde Biyoaktif Cam İçerikli Jelin Remineralizasyona Etkisinin Değerlendirilmesi" isimli çalışma Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş ve etik açıdan uygun bulunmuştur.				

Sayfa 1 / 2

Etik Kurul Başkanı  
Prof. Dr. İsmail MERAL

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-42)  
KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Yapay Olarak Çürük Oluşturulan Süt ve Daimi Dişlerde Biyoaktif Cam İçerikli Jelün Remineralizasyona Etkisinin Değerlendirilmesi
-----------------------	---

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. İsmail MERAL

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E	H	E	H	
Prof. Dr. İsmail MERAL	Fizyoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ömer SOYSAL	Göğüs Cerrahisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Nuran YILDIRIM	Tıp Tarihi ve Etik	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Türkinaz AŞTI	Hemşirelik Bölümü	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK	Tıp Eğitimi ve Bilişimi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Teoman AYDIN	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fahri AKBAŞ	Tıbbi Biyoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Binnur AYDOĞAN TEMEL	Eczacılık	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aclan ÖZDER	Aile Hekimliği	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Nazmiye DÖNMEZ	Restoratif Diş Tedavisi	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Pelin YILDIZ	Tıbbi Patoloji	Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Av. Mustafa Fırat ALKAYA	Hukuk	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eda BAYRAKTAR	Sivil Üye	Bezmialem Vakıf Üniversitesi	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

\* :Toplantıda Bulunma

**Karar:**  Onaylandı  Reddedildi

Sayfa 2 / 2

Etik Kurul Başkanı  
Prof. Dr. İsmail MERAL

## Ekler 2: Etik kurul kararındaki değişiklikler

Evrak Tarih ve Sayısı: 02.03.2022-53313



T.C.  
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Teknoloji Transfer Ofisi  
Etik Kurullar Birimi

Sayı : E-54022451-050.05.04-53313  
Konu : Etik Kurul Kararı - Pınar KINAY TARAN

02.03.2022

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar KINAY TARAN  
Dış Hekimliği Fakültesi Dekanlığı - Doktor Öğretim Üyesi

25/10/2019-17219 evrak tarih ve numarasıyla etik kurul onayı alınmış "Yapay Olarak Çürük Oluşturulan Süt ve Daimi Dişlerde Biyoaktif Cam İçerikli Jelin Remineralizasyona Etkisinin Değerlendirilmesi" isimli çalışma başlığının "Yapay Olarak Çürük Oluşturulan Süt Dişlerinde Biyoaktif Cam İçerikli Jelin Remineralizasyona Etkisinin Değerlendirilmesi" şeklinde değiştirilmesi Üniversitemiz Etik Kurullar Birimi'nin 22.02.2022 tarihli, 04 sayılı Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu toplantısında değerlendirilmiş olup, mevcudun oybirliğiyle onaylanmasına karar verilmiştir.

Gereğini ve bilgilerinizi arz/rica ederim.

Prof.Dr. İsmail MERAL  
Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik  
Kurulu Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu :BSU48K93M3 Pin Kodu :54142 Belge Takip Adresi : <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5394&eD=BSU48K93M3&eS=53313>  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi Adnan Menderes Bulvarı (Vatan Caddesi) Fatih/İstanbul Bilgi için: Gözde ASLANBAY  
Telefon No:0 (212) 523 22 88 Faks No:0 (212) 533 23 36 Unvan: Uzman  
e-Posta:info@bezmialem.edu.tr İnternet Adresi:www.bezmialem.edu.tr



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

### Ekler 3: Bilgilendirilmiş onam formu

 <b>BEZMİALEM</b> VAKIF ÜNİVERSİTESİ	<b>BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU</b>			
	Doküman Kodu: ÜNV-GOAEK-FRM-002	Yayın Tarihi: 17.09.2019	Revizyon No: 02	Revizyon Tarihi: 07.12.2021

“Yapay olarak çürük oluşturulan süt dişlerinde biyoaktif cam içerikli jelin remineralizasyona etkisinin değerlendirilmesi”

Aşağıda bilgileri yer almakta olan bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını, bilgilerinizin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neleri içerdiğini, olası yararları ve risklerini ya da rahatsızlık verebilecek yönlerini anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer çalışmaya katılma kararı verirsiniz, **Çalışmaya Katılma Onayı Formu**'nu imzalayınız. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Çalışmaya katıldığınız için size herhangi bir ödeme yapılmayacak ya da sizden herhangi bir maddi katkı/malzeme katkısı istenmeyecektir. Araştırmada kullanılacak tüm malzemeler ve yapılabilecek tüm harcamalar araştırmacı tarafından karşılanacaktır

#### **ÇALIŞMANIN KONUSU VE AMACI**

- *Çalışmamızın amacı, yapay olarak çürük oluşturulmuş süt dişlerinde biyoaktif cam içerikli jel formunun dişin tamirindeki (kaybedilen mineral kısmının geri kazandırılmasında) etkisinin değerlendirilmesidir.*
- *Çalışmanın Bezmialem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi araştırma laboratuvarında 60 adet çekilmiş süt dişi üzerinde yapılması planlanmaktadır.*

#### **ÇALIŞMA İŞLEMLERİ**

*Çalışmada kullanılmak üzere çocuğunuzun diş tedavisi sırasında çekimi gereken süt dişleri, tıbbi atık olarak imha edilmek yerine saklanarak deney işlemlerinde kullanılacaktır. Deneyde dişlerin üzerinde yapay olarak çürük oluşturulup, dişin farklı yüzeylerine farklı materyaller uygulanacaktır. Dişin üzerinde oluşacak olan tamir yüzeyi farklı test yöntemleri ile analiz edilecektir.*

#### **ÇALIŞMADA YER ALMAMIN YARARLARI NELERDİR?**

*Araştırmanın sonucunda, diş yüzeylerinde uygulanan materyaller sonucu oluşacak tamir yüzeylerinin karşılaştırılacaktır. Böylece, dişin tamiri için kullanılabilecek bir uygulama materyali bulunabilecektir.*

#### **BU ÇALIŞMAYA KATILMAMIN MALİYETİ NEDİR?**

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

#### **ÇALIŞMAYA KATILMALI MIYIM?**

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemezseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, araştırmacı Bilge Akarca tarafından sizin için en uygun tedavi planı uygulanacaktır. Aynı şekilde çalışmayı yürüten araştırmacı Bilge Akarca çalışmaya devam etmeniz sizin için yararlı olmayacağına karar verebilir ve sizi çalışma dışı bırakabilir, bu durumda da sizin için en uygun tedavi seçilecektir.

 <b>BEZMÎÂLEM</b> VAKIF ÜNİVERSİTESİ	<b>BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU</b>			
	Doküman Kodu: ÜNV-GOAEK-FRM-002	Yayın Tarihi: 17.09.2019	Revizyon No: 02	Revizyon Tarihi: 07.12.2021

### **KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?**

Çalışma araştırmamız Bilge Akarca kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Yalnızca gereği halinde, sizinle ilgili bilgileri etik kurullar ya da resmi makamlar inceleyebilir. Çalışmanın sonunda, kendi sonuçlarınızla ilgili bilgi istemeye hakkınız vardır. Çalışma sonuçları çalışma bitiminde tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

### **SORU VE PROBLEMLER İÇİN BASVURULACAK KİŞİLER:**

ADI : Bilge Akarca

GÖREVİ : Araştırmacı

TELEFON :

### **ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI**

Yukarıdaki bilgileri ilgili araştırmacı ile ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorum ve bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Araştırmacı, saklamam için bu belgenin bir kopyasını bana teslim etmiştir.

<b>Gönüllü Adı Soyadı</b>		<b>Tarih ve İmza</b>	
<b>Telefon</b>			

<b>Vasi (var ise) Adı Soyadı</b>		<b>Tarih ve İmza</b>	
<b>Telefon</b>			

<b>Görüşme Tanığı Adı Soyadı</b>		<b>Tarih ve İmza</b>	
<b>Telefon</b>			

<b>Araştırmacı Adı Soyadı</b>		<b>Tarih ve İmza</b>	
<b>Telefon</b>			

## 9. ÖZGEÇMİŞLER

**Ad-Soyad** : Bilge AKARCA

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2012, Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
- **Yüksek Lisans.** : 2012, Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

