

T.C.  
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**FARKLI İÇERİKLERDEKİ REMİNERALİZASYON  
AJANLARININ REMİNERALİZASYON  
KAPASİTELERİNİN VE ANTİMİKROBİYAL  
ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dt. Selçuk SAVAŞ**

**Tez DanıŐmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ**

**İZMİR  
Ekim 2015**

T.C.  
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**FARKLI İÇERİKLERDEKİ REMİNERALİZASYON  
AJANLARININ REMİNERALİZASYON  
KAPASİTELERİNİN VE ANTİMİKROBİYAL  
ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dt. Selçuk SAVAŞ**

**Tez DanıŐmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ**

Bu tez çalıŐması Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu (TÜBİTAK) tarafından  
213S108 proje numarası ile desteklenmiŐtir.

**İZMİR  
Ekim 2015**

T.C.  
İZMİR KATİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ  
ÇOCUK DIŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI İÇERİKLERDEKİ REMİNERALİZASYON AJANLARININ  
REMİNERALİZASYON KAPASİTELERİNİN VE  
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Selçuk SAVAŞ

Çocuk Diş Hekimliği Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından "Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi" olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14.10.2015

BAŞKAN  
Prof. Dr.  
Ece EDEN  
İmza

Kurum  
Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı

ÜYE  
İrd. Doc. Dr.  
Ebru KÜÇÜK YILMAZ  
İmza

Kurum  
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
Çocuk Diş Hekimliği  
Anabilim Dalı

ÜYE  
İrd. Doc. Dr.  
Merve AKGAY  
İmza

Kurum  
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi  
Çocuk Diş Hekimliği  
Anabilim Dalı

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca danışmanlığımı yapmış olan, bana her konuda yol gösteren, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım; her zaman sevgisini ve desteğini hissettiğim değerli hocam Pedodonti Ana Bilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Ebru KÜÇÜKYILMAZ'a,

Uzmanlık tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasında bana yardımcı olan İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZKAN'a

Tezimin hazırlanması sırasında bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Ana Bilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Merve AKÇAY'a, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı öğretim görevlisi Dr. Meltem ÖZDEN'e,

Tüm yaşantım boyunca her kararımı destekleyen ve her zaman yanımda olan sevgili aileme; her anımda yanımda olduğu gibi uzmanlık tezi çalışmalarım sırasında da hep yanımda olan, desteğini ve sevgisini her zaman hissettiğim, sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

25/08/2015

Selçuk SAVAŞ

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

Kabul ve Onay Sayfası.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mine Dokusu ve Histolojik Yapısı.....	3
2.2. Diş Çürüğü.....	4
2.3. Başlangıç Mine Çürüğü.....	4
2.4. Başlangıç Mine Çürüğü Oluşumunda Risk Faktörleri.....	5
2.4.1. Çevresel Faktörler.....	6
2.4.2. Bireysel Faktörler.....	7
2.5. Başlangıç Mine Çürüğünün Histolojisi.....	15
2.6. Diş Çürüğünün Dinamik Doğası.....	17
2.6.1. Diş Sert Dokularının Demineralizasyon Süreci.....	18
2.6.2. Diş Sert Dokularının Remineralizasyon Süreci.....	19
2.7. Demineralizasyon-Remineralizasyon Süreçlerini İnceleme Yöntemleri .....	21
2.7.1. Mikrosertlik Testi.....	21

2.7.2. Taramalı elektron Mikroskopu.....	23
2.7.3. Enerji Dağılımlı X Işınları Spektroskopisi.....	24
2.7.4. Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop.....	25
2.8. Yapay Çürük Modelleri.....	26
2.8.1. Çekimi planlanmış dişlerde yapılan çalışmalar.....	26
2.8.2. <i>In-vivo</i> hayvan modelleri.....	26
2.8.3. İnsan çenesinde <i>in-situ</i> çalışmalar.....	26
2.8.4. Yapay çene modelleri.....	27
2.8.5. Bakteriler Tarafından üretilen asitlerin kullanıldığı <i>in-vitro</i> demineralizasyon modeli.....	27
2.8.6. pH siklus modelini kullanıldığı <i>in-vitro</i> demineralizasyon modeli.....	27
2.8.7. Asit Tamponların Kullanıldığı <i>In-vitro</i> Demineralizasyon Modeli.....	28
2.9. Başlangıç Çürüklerini Önlemeye/Remineralize Etmeye Yönelik Yöntemle....	28
2.9.1. Flor ve Flor Bileşikleri .....	29
2.9.2. Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat (Biyoaktif Cam).....	30
2.9.3. Nano Hidroksiapatit.....	31
2.9.4. Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP).....	31
2.9.5. Gümüş ve gümüş bileşikleri.....	32
2.9.6. Kendiliğinden Birleşen Peptitler.....	33
2.9.7. Amonyum Heksaflorosilikat.....	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	35
3.1 Gereç.....	35
3.1.1. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan materyal ve gereçler.....	35
3.1.2. Antibakteriyel etkinliklerin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan materyal ve gereçler.....	43

3.2. Yöntem.....	44
3.2.1. Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi.....	44
3.2.2. Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi.....	54
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	60
3.3.1. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasına ait istatistiksel değerlendirmeler.....	60
3.3.2. Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasına ait istatistiksel değerlendirmeler.....	61
4. BULGULAR.....	63
4.1. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular.....	63
4.1.1. Mikrosertlik testine ait bulgular.....	63
4.1.2. Enerji Dağılımlı X-Işınları Spektroskopisi ve Taramalı Elektron Mikroskop Testlerine Ait Bulgular.....	66
4.1.3. Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopi Analizine Ait Bulgular.....	78
4.2. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi Aşamasına Ait Bulgular.....	86
4.2.1. Materyallerin Biyofilm Çürük Modeli Üzerinde Yaşayan Bakteri Sayısı Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi Aşamasına Ait Bulgular.....	86
4.2.2. Materyallerin Dental Plak pH'ı Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi Aşamasına Ait Bulgular.....	88
5. TARTIŞMA.....	89
6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	119
7. ÖZET.....	122
8.SUMMARY.....	124
9. KAYNAKLAR.....	126
10. ÖZGEÇMİŞ.....	139

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

<: Küçük

>: Büyük

µm: Mikrometre

Å: Angström

A. Naeslundii: Aktinomiçes Naeslundii

ACP: Amorföz Kalsiyum Fosfat

Ag: Gümüş

AHF: Amonyum heksafluorosilikat

APF: Asidüle Fosfat Florür

ANOVA: Analysis of Variance Test

C: Karbon

Ca: Kalsiyum

CaF<sub>2</sub>: Kalsiyum florür

CHX: Klorheksidin

Cl: Klor

CLSM: Konfokal lazer taramalı mikroskop

CO<sub>2</sub>: Karbondioksit

Cp: Centipoise

CPC: Setilpiridinyum klorür

CPP: Kazein Fosfopeptid

DNA: Deoksiribo nükleik asit

EDS: Enerji Dağılımlı Spektroskopisi

F-ATPase: F tipi adenzin trifosfataz

F: Flor

GTF: Glikoziltransferaz

HA: Hidroksiapatit

H<sup>+</sup>: Hidrojen



He-Ne: Helyum-Neon  
Ig: İmmünoglobülin  
K: Potasyum  
KCl: Potasyum klorür  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: Mono potasyum fosfat  
kV: Kilovolt  
L. acidophilus: Laktobasillus asidofilus  
LA: Lezyon Alanı  
LD: Lezyon derinliği  
LF: Lezyon floresans değişimi  
MANOVA: multivariate analysis of variance  
Mg: Magnezyum  
MgCl<sub>2</sub>6H<sub>2</sub>O: Magnezyum klorid heksahidrat  
mgr: Miligram  
ml: Mililitre  
mm: Milimetre  
mmol/l: Litre başına milimol  
MS: Mutans streptokok  
Na: Sodyum  
NaF: Sodyum florür  
nm: Nanometre  
O: Oksijen  
OH: Hidroksit  
P: Fosfor  
pH: Ortamdaki hidrojen iyonlarının konsantrasyonu  
Ppm: Milyonda bir birim  
S. Mutans: Streptokokkus Mutans  
S. *sobrinus*: Streptokokkus sobrinus  
SDF: Gümüş diamin florür  
SEM: Taramalı Elektron Mikroskop  
Si: Silisyum

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Şekil 1:</b> Steril deiyonize su.....	37
<b>Şekil 2:</b> Asidüle fosfat florür.....	37
<b>Şekil 3:</b> Gümüş diamin florür.....	37
<b>Şekil 4:</b> Kendiliğinden biraraya gelen peptitler.....	38
<b>Şekil 5:</b> Amonyum heksafluorosilikat.....	38
<b>Şekil 6:</b> Setilpiridinyum klorür.....	38
<b>Şekil 7:</b> Çalışmada kullanılan mikrosertlik test cihazı.....	40
<b>Şekil 8:</b> Çalışmada kullanılan taramalı elektron mikroskobu.....	40
<b>Şekil 9:</b> Çalışmada kullanılan konfokal lazer taramalı mikroskop.....	41
<b>Şekil 10:</b> Hassas kesme cihazı.....	41
<b>Şekil 11:</b> Manyetik karıştırıcı.....	42
<b>Şekil 12:</b> Etüv cihazı.....	42
<b>Şekil 13:</b> Stereomikroskop.....	42
<b>Şekil 14:</b> Polisaj cihazı.....	42
<b>Şekil 15:</b> Mikrosertlik testi için hazırlanan örnekler.....	46
<b>Şekil 16:</b> Konfokal lazer taramalı mikroskop için hazırlanmış örnekler.....	52
<b>Şekil 17:</b> Çalışmada kullanılan Rodamin-B solüsyonu.....	52
<b>Şekil 18:</b> Fotoğraf analiz programı aracılığı ile lezyon derinlik verilerinin elde edilmesi.....	53
<b>Şekil 19:</b> Fotoğraf analiz programı aracılığı ile lezyon alan analizi verilerinin elde edilmesi.....	53
<b>Şekil 20:</b> Fotoğraf analiz programı aracılığı ile lezyon floresans değişimine ait verilerin elde edilmesi.....	54
<b>Şekil 21:</b> 24 hücreli plakalara yerleştirilerek sterilize edilen mine örnekleri.....	55
<b>Şekil 22:</b> Çalışmada kullanılan Trypton Soy Broth besiyeri.....	56
<b>Şekil 23:</b> Biyofilm oluşturulan mine örneklerinin bekletildiği etüv cihazı .....	56
<b>Şekil 24:</b> Biyofilm oluşum aşaması.....	57
<b>Şekil 25:</b> pH metre ve mikroelektrot ile örneklerin pH değerlerinin ölçülmesi.....	58
<b>Şekil 26:</b> Biyofilm oluşum aşamasında örneklerin bulunduğu ortam pH seviyesi....	58

<b>Şekil 27:</b> Çalışmada kullanılan Vortex cihazı.....	59
<b>Şekil 28:</b> Çalışmada kullanılan besiyeri.....	60
<b>Şekil 29:</b> Biyofilm süspansiyonu ekilen pelet örneği.....	60
<b>Şekil 30:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası APF uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü.....	73
<b>Şekil 31:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası Curodont uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü.....	74
<b>Şekil 32:</b> Demineralizasyon solüsyonu sonrası SDF uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü.....	75
<b>Şekil 33:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası AHF uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü.....	76
<b>Şekil 34:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası AHF+CPC uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü.....	77

## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa

<b>Tablo 1:</b> Remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan ajanlar.....	36
<b>Tablo 2:</b> Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan solüsyonlar.....	39
<b>Tablo 3:</b> Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan cihazlar.....	39
<b>Tablo 4:</b> Antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan materyaller.....	43
<b>Tablo 5:</b> Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan cihazlar.....	44
<b>Tablo 6:</b> Mikrosertlik testi için çalışma gruplarının dağılımı.....	47
<b>Tablo 7:</b> Enerji dağılım spektroskopisi/Taramalı elektron mikroskop analizleri için çalışma gruplarının dağılımı.....	49
<b>Tablo 8:</b> Konfokal taramalı mikroskop çalışma gruplarının dağılımı.....	51
<b>Tablo 9:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama mikrosertlik değerlerine ait veriler.....	64
<b>Tablo 10:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen mikrosertlik farklarına ait veriler.....	65
<b>Tablo 11:</b> Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testinden elde edilen kalsiyum değerlerine ait veriler (%).....	67
<b>Tablo 12:</b> Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testinden elde edilen fosfor değerlerine ait veriler (%).....	68
<b>Tablo 13:</b> Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testinden elde edilen flor değerlerine ait veriler (%).....	69
<b>Tablo 14:</b> Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testinden elde edilen Ca/P oranlarına ait veriler (%).....	70
<b>Tablo 15:</b> Mine dokusu yüzeyinde materyallerin uygulanması sonrası 7. ve 30. günde oluşan elemental içerik farklarının grup içi karşılaştırması.....	70

<b>Tablo 16:</b> Mine dokusu yüzeyinde materyallerin uygulanması sonrası 7. günde oluşan elemental farklılıkların karşılaştırılması.....	72
<b>Tablo 17:</b> Grupların demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama lezyon derinliklerine ( $\mu\text{m}$ ) ait veriler.....	78
<b>Tablo 18:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon derinliklerinin farklarına ait veriler ( $\Delta\text{LD}$ ).....	79
<b>Tablo 19:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama lezyon alanlarına ( $\text{mm}^2$ ) ait veriler.....	81
<b>Tablo 20:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon alanlarının ( $\text{mm}^2$ ) farklarına ( $\Delta\text{LA}$ ) ait veriler.....	82
<b>Tablo 21:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama lezyon floresans değerlerine ait veriler.....	84
<b>Tablo 22:</b> Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon floresans farklarına ait veriler.....	85
<b>Tablo 23:</b> Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası biyofilm üzerinde yaşayan canlı bakteri sayılarına ait veriler.....	87
<b>Tablo 24:</b> Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası pH veriler.....	88

## 1. GİRİŞ

Diş çürüğü, diş sert dokularının karyojenik mikroorganizmalar tarafından lokalize yıkımı ile karakterize patolojik bir süreçtir.<sup>1,2</sup> Birçok gelişmiş ülkede diş çürüğü prevalansı geçmiş yıllara göre azalmış olsa da, günümüzde temel sağlık problemlerinden biri olarak önemini sürdürmektedir.<sup>1,3</sup> Bu durum özellikle ülkemizde büyük bir sorun olarak varlığını korumaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği kriterler doğrultusunda küçük yaştaki bireylerin çürük prevalansı ve tedavi gereksinimlerinin değerlendirildiği ülkemizde yapılan çalışmalarda, çocukların dişlerinde görülen çürük yüzdesinin, yine Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği ölçütleri kullanan 8 Avrupa ülkesinden fazla olması, bebeklikten başlanarak önlem alındığı takdirde engellenebilir bir hastalık olan diş çürüğünden korunmanın mümkün olduğu gerçeğinin ihmal edildiğini göstermektedir.<sup>4,5</sup>

Diş çürüğünün ilk safhası başlangıç çürük lezyonlarıdır ve bu aşama mine tabakasının dekalsifiye olduğunun göstergesidir.<sup>6</sup> Bu dönemde çürük, mine tabakası ile sınırlıdır ve mine yüzeyi henüz makroskobik olarak bozulmamış durumdadır. Demineralizasyonun ilerlemesi halinde mine yüzeyi zayıflar ve sonrasında makroskobik bir görüntü verecek şekilde kavitasyon oluşur.<sup>1,7</sup> Yapılan araştırmalar ile diş çürüğünün patolojik sürecinin anlaşılması ve demineralizasyon sürecine etki eden faktörlerin belirlenmesi sayesinde, bahsi geçen başlangıç çürük lezyonlarının geri döndürülebilir nitelikte olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>8</sup> Tamir olarak nitelenebilecek bu sürecin gerçekleşebilmesi için, ağız ortamının pH seviyesini düşüren etkenlerin ortadan kaldırılması, plakta oluşan asitlerin zamanla tükürük tarafından tamponlanması ve böylece pH'ın yükselerek nötr hale gelmesi, plak ve tükürüğün mineden çözünen minerallerin katkısıyla daha doymuş bir hal alması gerekmektedir. Bu noktadan sonra remineralizasyon olarak adlandırılan süreç başlamaktadır.<sup>9</sup> Remineralizasyon, çürük veya farklı nedenlerden dolayı mine dokusundan kaybedilen kalsiyum (Ca), fosfor (P) ve diğer iyonların tekrar mine yüzeyinde birikmesi yani mine dokusunun tekrar yenilenmesi olarak tanımlanmaktadır.<sup>10</sup>

Çürük riskini azaltıcı yönde uygulanacak girişimlerin yanı sıra, çürük etyolojisine yönelik remineralizasyon uygulamalarının da, çoğu zaman minede beyaz

opak bir leke halinde başlayan demineralizasyonun önlenmesinde esas etkenlerden biri olduğu artık bilinen bir gerçektir.<sup>11</sup> Konu ile ilgili yapılan araştırmalar erken çürük lezyonlarının remineralizasyonunun; diş çürüğü, diş kaybı ve restorasyon sayısındaki dramatik düşüşün esas sebebi olduğu bildirilmiştir.

Oldukça önemli bir sağlık problemi olan diş çürüğünün ve demineralizasyon-remineralizasyon olaylarının daha iyi anlaşılabilmesi için öncelikle sağlıklı mine dokusuna ait özelliklerin bilinmesi gereklidir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mine Dokusu ve Histolojik Yapısı

Vücutun en sert dokusu olma özelliğini taşıyan mine dokusu, anatomik kronun tümünü ve klinik kronun bir kısmını örten, daimi dişlerde kalınlığı kole bölgesinde sıfırdan başlayıp tüberkül tepesinde 2,5 mm'ye kadar ulaşan, düşük gerilme dayanıklılığı ve yüksek elastisite modülüne sahip kristalize yapıda poröz bir dokudur.<sup>12,13</sup> Sertliği, dişin dış yüzeyindeki konumuna göre değişebilir ve mine-dentin birleşimine doğru gittikçe azalır. Mine dokusunun rengi çoğunlukla beyaz ve translusenttir; rengi kalınlığına ve alttaki dentin dokusunun rengine göre değişiklik gösterir.<sup>12,14</sup> Mine dokusu, kimyasal olarak ağırlıkça % 95-98 ve hacimce %87 inorganik materyal içeren kristalize bir yapıdadır. Mine dokusu bileşenlerinin diğer kısmı ise organik ve ağırlıkça % 1 ve hacimce % 2 kadardır. Geriye kalan kısım ise sudur.<sup>12-14</sup> Minenin kristal yapıdaki inorganik bölümünü oluşturan ve en fazla bulunan mineral bileşen hidroksiapatittir (HA);  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  şeklinde formüle edilir ve hacimce % 90-92 oranında bulunur.<sup>12</sup> Mine yapısını oluşturan HA kristalleri 30 nm genişliğinde ve 90 nm kalınlığında olup, kemik ve dentindeki kristallerden yaklaşık 10 kat daha büyüktür ve elektron mikroskopunda kolaylıkla görülürler.<sup>12,14</sup> Minenin minör inorganik bileşenleri ise; demir, çinko, stronsiyum, florid, rubityum, brom, vanadyum, bakır, mangan, altın, gümüş, krom, kobalt gibi elementlerdir.<sup>12</sup> Minenin organik yapısının %58'ini proteinler, %40'ını lipidler ve geri kalanını da karbonhidratlar, sitrat ve laktozlar oluşturmaktadır. Organik yapı içerisinde metionin ve histidin olmak üzere 16 değişik aminoasit bulunmaktadır. Enomelin ve amelogenin, minenin organik bölümünün organizasyonunu sağlayan önemli proteinlerdir.<sup>12</sup>

Minedeki suyun %25'lik kısmı apatit kristallerine bağlı olup, diğer kısmı da apatit kristallerini bir kabuk gibi sarar. Metabolik aktivite gözlenmese de yapı içerisinde "fluoroapatit oluşumu" gibi biyokimyasal reaksiyonlar gerçekleşebilmektedir.<sup>12, 15</sup> Mine dokusunun histolojik temel birimini mine-dentin sınırından mine üst yüzeyine kadar uzanan mine prizmaları oluşturmaktadır. Mine prizmaları, ortalama olarak çapları ortalama 50 nm olan ve heksagonal bir yapıya



sahip 1000 adet hidroksiapatit kristalinden meydana gelmektedir ve prizmalar arasında yer alan boşluklar geniş olup, organik madde ve sudan oluşan matriks ile doldurulmuştur.<sup>12,15</sup> Olgun bir minedeki mine prizmaları ve prizmalar arası bölgedeki HA kristallerinin oryantasyonu mine matriksinin oluşumu esnasında şekillenir. Organik materyal minenin permabilitesini şekillendirir ve mine, küçük asit molekülleri, flor (F), Ca, P gibi çeşitli iyonları ölçülebilir oranda yapısına alacak kadar poröz yapıda olması itibariyle demineralizasyon ve remineralizasyon potansiyeli gösteren bir dokudur.<sup>12,15</sup>

## **2.2. Diş Çürüğü**

Günümüzde enfeksiyöz bir hastalık olarak kabul edilen çürük; diş sert dokularını oluşturan inorganik Ca, fosfat (PO<sub>4</sub>) kristalleri ile organik matriks arasındaki elektrostatik bağlantının, H<sup>+</sup> iyonları tarafından fizikokimyasal düzeyde bozulmasını takiben, dokuda submikroskopik, mikroskopik ve onun ardından da makroskopik madde kaybı ve kavite gelişimi ile sonuçlanan bir değişimdir.<sup>1-3</sup>

Mine dokusunun bütünlüğü, ortam pH'ı, dişi çevreleyen tükürük, plak sıvısının kompozisyonu ve kimyasal içeriği ile yakından ilişkilidir. Mine dokusunun bütünlüğünün bozulması için, kristal düzeyinde bir çözünmenin gerçekleşmesi gerekmektedir, bu da hem asitlerin mine içine difüzyonu, hem de çözünmüş minerallerin mine dışına taşınması ile gerçekleşmektedir.<sup>16-18</sup> Plak bakterileri tarafından fermentasyon yolu ile oluşturulan asitler, plak sıvısı içerisine sızarak hidrojen iyon konsantrasyonunun artmasına neden olur. Bunu, mine yapısında bulunan difüzyon kanallarının açılması sonucunda, mine yüzeyinde çözünmenin başlaması takip eder ve başlangıç mine çürüğü olarak adlandırılan çürüğün ilk belirtileri ortaya çıkar.<sup>16-18</sup>

## **2.3. Başlangıç Mine Çürüğü**

Diş minesini üzerinde dental plak birikimi ile başlayan çürük oluşum süreci, klinik belirtiler vermeden önce, ultrastrüktürel olarak değişikliklerin gözlenmesine

olanak sağlar. Mine üzerinde temizlenmeden 1 hafta süre ile bırakılan dental plağın, yüzeyin kurutulmasını takiben klinik olarak çürük belirtisi vermediği bilinmektedir.<sup>19</sup> Bununla birlikte mine yüzeyi ultrastrüktürel olarak değerlendirildiğinde, mine kristallerinin periferlerinin kısmen bozulmasının bir sonucu olarak kristaller arası boşlukların arttığı ve minenin bütünlüğünün bozulduğu bildirilmiştir. Polarize ışık mikroskobu incelemelerinde, en dış tabakanın 20-100 µm altında, mineral kaybına bağlı olarak; doku porözitesinin arttığı saptanmıştır.<sup>19</sup> Dental plağın 2 hafta süre ile kaldırılmadığı durumda ise ortaya çıkan yapısal değişimler sonucu, klinikte mine dokusu hava ile kurutulduğunda opak lezyon görülebilir bir hal almaktadır. Bu evrede mine yapısında 1,5 mm<sup>2</sup> de 7-10 mg Ca kaybının olduğu kanıtlanmıştır.<sup>19</sup> Minenin 3-4 hafta süreyle karyojenik bir ortamda bırakılması ile yüzeyde kristaller arası boşlukların genişlediği ve porözitenin önemli oranda arttığı izlenmiştir.<sup>19</sup> "Opak mine lezyonu" ya da "başlangıç çürük lezyonu" olarak adlandırılan çürük lezyonunun ilk belirtilerinin gözle izlenebildiği ilk aşama budur.<sup>19</sup> Lezyonun klinikte gözlenebilir hale gelebilmesi için, 300-500 µm derinliğe kadar ilerlemiş olması gerekmektedir.<sup>19</sup>

Çürüğe bağlı opak mine lezyonları klinikte, özellikle mikrobiyal birikintilere yatkınlığın fazla olduğu bölgelerde gözlenir. Opak mine lezyonu aşamasında lezyonun ilerlemesi veya geriye dönüşmesi, çürüğe neden olan faktörler ve koruyucu önlemler arasındaki denge ile ilişkilidir. Aynı nedenle, lezyonun bir bölgesinde çürük hızlı iken, diğer kısmında yavaş veya durmuş olabilir.<sup>17-19</sup>

#### ***2.4. Başlangıç Mine Çürüğü Oluşumunda Risk Faktörleri***

Çürük; diş yüzeyi, tükürük ve pelikül gibi konak faktörleri ile diyet ve dental plağın da sürece dahil olduğu çok faktörlü bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Çürükle ilgili geliştirilen modern yaklaşımlar ise sosyal, davranışsal ve psikolojik faktörlerin de en az biyolojik faktörler kadar önem taşıdığını vurgulamaktadır.<sup>20-24</sup>

### **2.4.1. Çevresel faktörler**

#### ***Beslenme ile ilgili faktörler***

Kişinin günlük beslenmesinde temel olarak karbonhidratlar, yağlar ve proteinler yer alırken, mineral tuzları, vitaminler ve eser elementler de daha az oranda yer alırlar. Yiyecekler genel olarak karjogenik ve non-karyojenik olmak üzere sınıflandırılırlar. Bu ayırımı gerçekleştirebilmek için bir standarttan yararlanılır. Buna göre ağıza alındıktan 30 dakika sonra ağız pH'ını 5,7'den aşağı düşürmeyen gıdalar non-karyojenik olarak kabul edilirler.<sup>25-27</sup> Bununla birlikte alınan besinlerin fiziksel özellikleri de, besinin karyojenik etkisini belirleyen faktörler arasındadır. Daha fazla çiğneme gerektiren yiyecekler tükürük üretimini uyarırlar ve düşük karyojenik potansiyele sahiptirler.<sup>17,22,27</sup> Yiyeceğin yapışkan özellik gösterip göstermemesi, kolay veya zor çözünür olması, içeriğinde koruyucu faktörlerin (Ca, P, F gibi) bulunup bulunmaması da karyojenik potansiyeli ile doğrudan ilişkilidir. Yiyeceklerin karjogenitesini belirleyen önemli etkenlerden biri de tüketim zamanıdır. Normal öğünlerde tükürük salgısı daha fazladır ve bu öğünlerin dışında alınan yiyecekler daha çok karyojenite gösterirler. Bireylerin tükürük hızı, miktarı, dişin anatomik formu gibi etkenler de alınan gıdaların çürük oluşturma hızı ve şiddetini belirleyen faktörlerdir.<sup>17,22,27</sup>

#### ***Zaman***

Bireye ait uygun ortam, uygun substrat ve bu substratı fermente edebilen mikroorganizmaların varlığında, ortamda oluşan asidin diş sert dokusunun yıkımına neden olan olaylar zincirini başlattığı bilinmektedir. Ancak diş çürüğünün oluşması için gerekli tüm bu faktörlerin, bir arada belli bir süre (en az 30 dakika) bulunması gerekmektedir. Bu da çürük oluşumunda etkili olan bir diğer faktörün de zaman olduğunu ortaya koymaktadır.<sup>17,20</sup>

## **2.4.2. Bireysel faktörler**

### ***Diş ile ilgili faktörler***

Dişin ağız içerisindeki konumu, yüzey morfolojisi, yapısı, ultrastrüktürü ve ağız içerisine sürdükten sonra geçen süre diş çürüğünün ilerlemesi üzerine etkili faktörlerdir.<sup>28,29</sup> Dişin dental arktaki konumu; plak birikimi, temizlenebilirlik ve dişin asit ataklarına maruz kalış sıklığı açısından önem taşımaktadır.<sup>29</sup> Dental arka, plak birikiminin yüksek olduğu alanlar aynı zamanda çürük açısından yüksek riskli bölgelerdir. Molar dişlerin okluzal yüzeyleri en yüksek, alt anterior dişlerin lingual yüzeyleri en düşük çürük riskine sahip bölgelerdir.<sup>30,31</sup>

Minenin yapısı ve ultrastrüktürü, dişin çürüğe karşı direncini belirleyen diğer faktörlerdir. Hidroksiapatit kristallerinin tipi, boyutu ve kristallerin birbirlerine yakınlığı gibi ultrastrüktürel faktörler, minenin çözünürlüğü üzerine etki etmektedir.<sup>27-29</sup> Dişler sürdükten hemen sonra çürüğe daha yatkındırlar.<sup>31</sup> Bu durum, mine dokusunun sürme aşamasında henüz tam olgunlaşmamış olması ve sürmesi tamamlanmamış dişlerin okluziyona geçene kadarki süreçte ağız içerisindeki fizyolojik temizleme sağlayan kuvvetlerden faydalanamamasından kaynaklanmaktadır.<sup>22,31,32</sup>

Diş dizisindeki çapraşıklık, ortodontik aparey kullanımı ve hijyenik olmayan, diş dokusu ile yeterli uyumu göstermeyen restorasyonlar plak birikimi ve diş çürüğü oluşumunu arttıran diğer faktörlerdir.<sup>22</sup>

### ***Tükürük ile ilgili faktörler***

Tükürük; büyük tükürük bezleri olan parotis, submandibular ve sublingual tükürük bezlerinin ve ağız mukozası içine dağılmış çok sayıdaki küçük tükürük bezlerinin sekresyonu ile dişeti olduğundan kaynaklanan sıvıdan salınan kompleks bir sekresyondur. Yaklaşık %99'u sudur; %1'inde ise protein, glikoprotein, lipit benzeri büyük organik moleküller, glikoz, üre gibi küçük organik moleküller, bunların yanı sıra inorganik komponentler, epitelial hücreler, lökosit ve lenfosit gibi kan hücreleri, mikroorganizmalar ve ürünleri ile besin artıkları bulunmaktadır.<sup>33,34</sup>

Dişlerin çürükten korunmasında tükürüğün etkileri;

- **Kayganlaştırma (lubrikasyon):** Tükürüğün kayganlaştırma etkisi, çiğneme ve yutma için önem taşımaktadır ve bu kayganlaştırıcı etki ile tükürük, yiyeceklerin diş yüzeyine tutunmasını engeller. Tükürük; içerisinde bulunan su ve glikoproteinler sayesinde sert dokular üzerinde kaygan bir biyofilm tabaka oluşturur.<sup>35,36</sup> Besinler ayrıca tükürük yardımıyla yumuşak ve kıvamlı bir kitle haline dönüşür ve yutma kolaylaşır, ufalanan parçalar birbirine yapışarak yutulabilir hale gelir.<sup>35,36</sup>
- **Sulandırma ve temizleme:** Tükürüğün bol miktardaki su içeriği ağız ortamının besin maddelerinden ve özellikle karbonhidratlardan temizlenmesi için önemli bir katkıda bulunmaktadır. Tükürük akışımının yüksek olması, tükürüğün bu fonksiyonunu olumlu yönde etkilemektedir.<sup>36</sup>
- **Nötralizasyon ve tamponlama etkisi:** Tükürüğün anti-karyojenik fonksiyon görmesini sağlayan en önemli özelliği ağız içinde oluşan organik asitlerin tamponlanmasıdır.<sup>34</sup> Fermente edilebilen karbonhidratların bakteriler tarafından asitlere dönüştürülmesi sonucu plak pH'ı, kritik pH olan 5,5'in altına düşebilmektedir. Tükürük pH'ı normal şartlarda 6,5-7,5 arasındadır ve içerdiği tampon komponentleriyle, plak pH'ının yükseltilmesinde önemli bir rol oynar.<sup>34-37</sup> Uyarılmamış tükürüğün en önemli tampon komponenti inorganik fosfatlar iken, uyarılmış tükürüğün en önemli tampon komponenti bikarbonatlardır. Ayrıca tükürük içerisinde bulunan sialin ve arjinin gibi peptitler de plak pH'ını arttırmaktadır.<sup>37,38</sup> Tükürüğün uyarılması ile tamponlama kapasitesi yükselmektedir ve tükürük uyarımını arttırıcı, alkali tükürük salımını uyaran gıdaların yemeklerden sonra tüketimi çürük oluşumunun önlenmesine yardımcı olmaktadır.<sup>35,36</sup>
- **Remineralizasyon:** Tükürüğün remineralizasyon özelliği Ca ve P bakımından doyurulmasına bağlıdır. Başlangıç çürük lezyonları, tükürük içerisinde bulunan Ca, P ve F ile remineralize edilebilirler. Yapılan birçok çalışma, tükürük içerisinde bulunan minerallerin remineralizasyonda etkili olduğunu kanıtlamaktadır.<sup>34-37</sup>
- **Antimikrobiyal etki:** Tükürük içerisinde bulunan immunoglobulinler, diş çürüğünün önlenmesinde önemli katkı sağlamaktadırlar.<sup>34-37</sup> IgA,

bakterilerin agregasyonu ve sert/yumuşak dokulara adezyonunun önlenmesinde spesifik bir role sahiptir. Ayrıca, IgA virüslerin baskılanması ve bakteriyel ajanlara ve antijenlere karşı antikor görevini de üstlenmektedir.<sup>34-37</sup> IgG, gingival sulkustaki bakterilerin fagositozunda kullanılmaktadır. Tükürük antikorları dışında lizozin, laktoferrin ve laktoperoksidaz tükürükte antimikrobiyal etkiye sahip komponentlerdir.<sup>35,37</sup> Lizozin; mikroorganizmaların hücre membranlarının permeabilitesini artırır, osmotik dengeyi bozar ve mikroorganizmanın lizise uğramasını sağlar. Laktoferrin bir glikoproteindir ve antimikrobiyal etkisi demire olan yüksek afinitesinden kaynaklanmaktadır. Streptokoklara direk bakterisit etki göstermektedir. Ayrıca bakterilerin karbonhidrat kullanımını da inhibe etmektedir. Tükürük içerisinde yer alan peroksidazların (siyoloperoksidaz, miyeloperoksidaz); *Streptokokus mutans* (*S. mutans*) ve *laktobasillerin* üremelerinin durdurulmasında ve mikrobiyal dengenin sağlanmasında etkin rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>34-37</sup>

### ***Dental plak ve mikroorganizmalar***

Dental plak "dil, dudak, yanak ve tükürük ile mekanik olarak temizlenemeyen diş bölgelerinde yerleşen, yüzeye sıkıca yapışan, protein ve polisakkaritlerin oluşturduğu, içerisinde yoğun mikroorganizmaların bulunduğu, su spreyi ile uzaklaştırılamayan organik yığıntılar" olarak tanımlanan doğal bir biyofilmdir.<sup>38</sup> Kompleks ve dinamik mikrobiyal ekosistem olarak tanımlanan dental biyofilm, diş çürüklerinin ve periodontal hastalıkların gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Dental plağın yapısı öncelikle mikroorganizmalardan, %50-90 oranında da ekstraselüler polimer matriksten oluşmaktadır.<sup>39,40</sup> Dental plağın asidojenik (asit üretebilme yeteneği) potansiyeli aşağıdaki faktörelere bağlı olarak değişmektedir:

1) Dental plağın asidojenik potansiyeli, plak içerisinde yer alan mikroorganizmaların kompozisyonu ve metabolik aktiviteleri ile yakından ilişkilidir. Plak içerisinde asidojenik ve asidürik (asidi tolere etme yeteneği) bakterilerin miktarının fazla olması veya intrasellüler ve ekstrasellüler polisakkarit oluşturma yeteneği olan bakterilerin mevcudiyeti, plağın asidojenik potansiyelini yükseltir.<sup>39-41</sup> Plakta,

intrasellüler veya ekstrasellüler polisakkaritlerin mevcudiyeti, asitlerin etkisinin uzun süre devam etmesine neden olmaktadır.<sup>39-41</sup>

2) Dental plağın asidojenik potansiyelini belirleyen bir diğer husus, bireyin tükürük akım hızı ve tamponlama kapasitesidir. Karbonhidrat alımını takiben, plak pH'ı hızla düşmektedir ve pH'ın yükselmesini tükürük sağlayabilmektedir. Ancak bu etki yalnızca plağın en dış kısmı ile sınırlıdır.<sup>22,27,39</sup>

3) Plak pH'ının değişimine neden olan diğer faktörler ise diyetteki fermente karbonhidrat miktarı, plağın kalınlığı ve geçirgenliğidir.<sup>22,27</sup>

Diş yüzeyinde dental plak oluşumu; pelikül oluşumu, kolonizasyon ve maturasyon fazlarının sırasıyla gerçekleşmesinin ardından meydana gelmektedir.

### ***Dental plak oluşum evreleri***

Dişler ağız ortamına sürer sürmez ya da temizlendikten hemen sonra; tükürük ve bakteriler tarafından salgılanan tükürük proteinleri, glikoproteinler, immunoglobulinler (IgA, IgG, IgM) ve enzimler (lizozim, amilaz) içeren bir film tabaka ile kaplanır. Bu film tabakaya 'kazanılmış diş pelikülü' adı verilmektedir.<sup>42,43</sup> Bu tabaka, mineyi asit ataklarına karşı korumaktadır. Oral bakterilerin dental biofilm oluşturabilmesi için yapışma önemli bir ekolojik faktördür. Pelikül, farklı bakteri türlerinin yapışması için gereken spesifik reseptörleri içermektedir.<sup>44</sup> Ağız ortamında bulunan mikroorganizmalar piluslarıyla diş yüzeyine ve/veya adezinleriyle yüzeydeki peliküle tutunurlar. Mikroorganizmalar yapıştıkları yüzeylerde mikrokoloniler oluştururlar ve başlangıçta bu koloniler genellikle saf kümelerdir. Bu safhadan sonra, erken kolonize olan türler gelişirler ve ortam koşullarını diğer mikroorganizmalar için uygun hale getirirler.<sup>42-44</sup> Genetik olarak birbirinden farklı türdeki mikroorganizmaların birbirlerine adezin-reseptör mekanizmasına benzer bir şekilde bağlanmasına koagregasyon ismi verilir ve biyofilmin olgunlaşması bu olaya dayanmaktadır. Böylelikle oluşan tabakalar gittikçe kalınlaşır ve bakteri kümeleri büyümeye başlar.<sup>45</sup> Bakteri hücrelerinin bölünmesinin en fazla olduğu bu dönemde bakteriler bir yandan saldıkları ekzoenzim ve mediyatörler ile birbirlerinin bölünmesini indükler, diğer yandan yeni adezinler sentez ederek çevrelerini gruplar halinde bir intermikrobiyal matriks ile örterler. Biyofilm üzerine dışarıdan yeni bakteriler eklenir ve ölen bakteriler diğerleri tarafından besin maddesi olarak

kullanılır. Eğer oluşan bu biyofilm tabakası herhangi bir dış etken ile ortadan kaldırılmaz veya zarara uğramaz ise 1 hafta sonunda olgun dental biyofilm olarak tanımlanır.<sup>46</sup>

### ***Dental plak oluşumunu etkileyen faktörler***

Dental plak oluşumunu etkileyen faktörler arasında yüzey pürüzlülüğü ve yüzey enerjisi ilk sırada gelmektedir. Pürüzlü ve tutucu diş yüzeyleri bakterilerin ve gıda artıklarının birikimi için uygun sahalar olduğundan diş plağının oluşumuna katkıda bulunurlar. İlave olarak, pürüzlü yüzeylerin yüzey enerjisinin daha fazla olması nedeniyle biyofilm oluşumuna daha yatkın olduğu belirtilmektedir.<sup>28-31</sup> Bireylerin tükürüğünün kompozisyonu, miktarı ve viskozitesi de plak oluşumu için belirleyici faktörler arasındadır. Tükürük miktarı azaldıkça ve viskozitesi arttıkça dişler üzerinde tutunma artar ve sonuçta plak birikimi kolaylaşır. İlave olarak alınan diyetin tipi, içeriği, yoğunluğu ve akümüasyonu da plak kalınlığını etkiler.<sup>33-37</sup> Diyetteki sakkaroz, biyofilm oluşumu için gerekli besin kaynağını sağlamaktadır. Dental biyofilm matriksini daha pürüzlü bir yapıya çevirmesi nedeniyle en çok çürüğe neden olan karbonhidratın sakkaroz olduğu bildirilmektedir. Sakkarozun aynı zamanda fermente edilebilen bir karbonhidrat olması, dental biyofilm pH'ını değiştirmekte ve *mutans streptokokların (MS)* sayılarının yükselmesine neden olmaktadır.<sup>22,27,38</sup>

### ***Dental plağı oluşturan bakterilerin patolojik özellikleri***

Karyojenik bakteriler, fermente edilebilen karbonhidratları hızlı bir şekilde kullanarak asit üretebilme yetenekleri ile diğer bakterilerden ayrılmaktadır. Ayrıca bu bakterilerin, ekstrasellüler ve intrasellüler polisakkarit sentez edebilme yetenekleri mevcuttur. Sentez edilebilen ekstrasellüler polisakkaritlerin başında glukan ve fruktan gelmektedir.<sup>47,48</sup> Glukan; plak matriksinin oluşumunda kullanılırken, fruktan ise karbonhidrat bulunmayan ortamlarda metabolize edilmektedir. İntrasellüler polisakkaridler ise glikojene benzer depolanmış polimerlerdir. Ortamda şeker olmadığı durumlarda bakteriler intrasellüler polisakkaritleri kullanarak asit üretirler.<sup>47,48</sup> Karyojenik bakterilerin bir diğer özelliği; uygun olmayan çevresel



koşullarda dahi şeker metabolizmalarını sürdürebilme yetenekleridir. Normal şartlarda, birçok bakteri, asidik ortam koşullarına uzun süre tolerans gösterememektedir. *Mutans streptokoklar* ve *laktobasiller* gibi karyojenik bakteriler ise hem bu koşullarda canlı kalabilme yeteneğine hem de üreme ve şeker metabolize etme özelliklerini devam ettirirler.<sup>47,48</sup>

Diş çürüğü, farklı ve kompleks mikroorganizmaların oluşturduğu dental biyofilmin bulunduğu alanlarda meydana gelmektedir ve direkt olarak neden olan mikroorganizma türünü saptamak güç olduğundan, etiolojisinin anlaşılması zordur. Diş çürüğü sıklığının azaltılabilmesi için bu hastalığa neden olan mikroorganizmaların rollerinin anlaşılması gerekmektedir.

### ***Mutans streptokoklar***

*Mutans streptokoklar*, yuvarlak veya oval şekilli, gram (+), katalaz (-) koklardır ve insanlarda meydana gelen diş çürüğünün en önemli patojeni olarak kabul edilen mikroorganizmalardır.<sup>49-51</sup> *MS'lar* fakültatif anaeroptur, fakat anaerobik olarak daha fazla ürerler ve üremeleri için gereken optimal sıcaklık 37°C'dir. *Mutans streptokoklar*, insanlarda ve hayvanlarda özellikle ağız içinde yumuşak dokularda, üst solunum yolunda, yemek borusunda, genitoüriner bölgede ve deride gözlenmektedir.<sup>49-51</sup> *MS'ların*; dental plakta bulunan, başarılı bir glikolitik sisteme ve yüksek çekim kuvvetine sahip, mannitol ve sorbitolu fermente eden, sakkarozdan ekstrasellüler glukun üreten mikroorganizmalar oldukları bildirilmiştir. *Mutans streptokokların* ekstrasellüler polisakkarit üretimi dental biyofilm oluşumu ve karyojenite ile yakından ilgilidir.<sup>49-51</sup> Ayrıca diyetdeki karbonhidratların uygun olmadığı dönemlerde karbonhidrat rezervi olarak görev yapan intrasellüler polisakkarid sentezi yaparlar. *Mutans streptokoklar* fermente edilebilen karbonhidratlardan asit oluştururlar, asit ortamda büyüme ve yaşama özelliğine sahiptirler, bu özellikleri diş çürüğü patojenitesinde rol oynamaktadır.<sup>52, 53</sup>

*Mutans streptokokların* diş yüzeyine tutunmasının, yüzey komponentleri olan piluslar ile mine pelikülünde bulunan tükürük bileşenleri arasındaki etkileşimler sonucu meydana geldiği düşünülmektedir. Diş üzerinde *MS'ların* birikimi ve kolonizasyonunda en önemli bileşikler sakarozdan sentez edilen, glukun ve fruktan ekstrasellüler polisakkaritleridir.<sup>50-53</sup> Glukun ve fruktan bakteri enzimleri ile hücre

dışında sentez edilir. Bu enzimler glikoziltransferazdır. Glukan ve fruktanın fonksiyonu; bakteri dış yüzeyine yapıştıktan sonra hem dişe hem de bakterilerin birbirine bağlanmasını arttırmaktır. Böylece extrasellüler matriks oluşur.<sup>50-53</sup>

Sakkaroz metabolizması, *mutans streptokokların* çürük oluşturmada kritik rol oynamaktadır.<sup>52</sup> *Mutans streptokoklar*; sakkaroz metabolizması için gerekli ekstrasellüler, hücre yüzeyine bağlı ve sitoplazmik enzimleri üretmektedir. Glikozil transferaz (GTF), sakkarozdan glukan oluşumunu katalize eden enzimdir ve serbest fruktoz oluşturur. Fruktoziltransferaz enzimi ise sakkarozun fruktoz kısmını polimerize eder ve serbest fruktan ve glukoz oluşturur. Fruktan, plak bakterileri tarafından üretilen hidrolaz enzimi tarafından katabolize edilmektedir.<sup>50-53</sup> *Mutans streptokoklar* tarafından glukanların üretimi, bakterinin birikimi ve çürük oluşturmada için kritik reaksiyonlardır. Sakkaroz metabolizmasına katılan diğer enzimlerden fosfotransferaz, sakroz-6-fosfat hidrolaz; sakkaroz transportundan ve fosforilasyonundan sorumludur.<sup>54,55</sup> MS, fosfotransferaz sistemi ile karbonhidratların hücre içine taşınmasını sağlamaktadır. Bu bakterilerin karbonhidratları hücre içine taşıma ve metabolize etme yeteneğine sahip olmaları, plakta bulunan metabolik yetenekleri sınırlı diğer bakterilerden daha üstün olmalarını sağlamaktadır.<sup>56</sup> İntrasellüler şeker metabolizması; çürük oluşumu açısından önemli bir diğer konu olup intrasellüler polisakkarit üretimi ve katabolize edilmesidir. Depolanan intrasellüler polisakkaritin kullanılması, bakterilerin metabolizması için herhangi bir besin maddesi bulamadıkları dönemlerde gerçekleşmektedir. Karbonhidratların depo edilmesi ve sonra parçalanmasıyla asit oluşumu, plak pH'nın düşmesine neden olmaktadır. Böylece, düşük plak pH'nın devamlılığı sağlanarak minerin demineralizasyonuna neden olmaktadır.<sup>57</sup>

*Mutans streptokoklar*, karbonhidrat antijenlerine ve DNA hibridizasyonuna göre 7 alt gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar; *Streptokokkus cricetus* (serotip a), *Streptokokkus rattus* (serotip b), *Streptokokkus mutans* (serotip c, e, f), *Streptokokkus sobrinus* (serotip g, h), *Streptokokkus downei* (serotip h), *Streptokokkus ferox* (serotip c) ve *Streptokokkus macacae* (serotip c)'dir.<sup>58,59</sup>

*Streptokokkus ferox*, *Streptokokkus rattus*, *Streptokokkus downei* ve *Streptokokkus macacae* insanlardan izole edilememektedir. *Streptokokkus cricetus* hamsterlardan, ratlardan, seyrek olarak insanlarda oral kavitede dental plaktan izole

edilebilmektedir. İnsanlardan sıklıkla izole edilebilen MS'lar *Streptokokkus sobrinus* ve *Streptokokkus mutans*'tır.<sup>58,59</sup>

### ***Streptokokkus sobrinus***

*Streptokokkus sobrinus* (*S. sobrinus*), *S. mutans*tan sonra diş çürüğünden en çok izole edilen mikroorganizmadır. *S. sobrinus* bakterisinin, *S. mutans*'ın bulunmadığı ortamlarda oldukça nadir olarak gözleendiği tespit edilmiştir.<sup>60</sup> Bununla birlikte, bu bakterilerin karyojenitlerini inceleyen birçok çalışma, *S. sobrinus*'un, *S. mutans*'a göre daha karyojenik olduğunu ve yumuşak çürük lezyonu oluşumunda daha etkili olduğunu belirtmektedir. *S. mutans* ve *S. sobrinus* bakterilerin birlikte bulunduğu çocuklardaki çürük aktivitesinin, yalnızca *S. mutans* izole edilen çocuklardan daha yüksek olduğunu bildiren birçok klinik çalışma mevcuttur.<sup>58-60</sup> *S. sobrinus*, *S. mutans*'ın aksine, aproksimal bölgelerden, fissürlere oranla daha fazla miktarlarda izole edilmektedir ve ağızda farklı yerleşim bölgelerini tercih etmektedirler.<sup>61</sup>

Ortamda bulunan sakkaroz ve GTF, *S.sobrinus*'un diş yüzeyinde kolonize olabilmesi için önemlidir. *S. sobrinus*; kazanılmış mine pelikülüne minimum düzeyde ve nonspesifik bir şekilde bağlanmakta ve ortamda sakkarozun bulunduğu durumlarda kolonize olduğu zaman glukan oluşumu görülmektedir.<sup>61</sup>

### ***Streptokokkus mutans***

*Streptokokkus mutans*, çürük etyolojisinde en çok sorumluluğa sahip mikroorganizmadır.<sup>52-56</sup> İnsan popülasyonunda çok geniş bir dağılım gösterir. Yoğunluk olarak değerlendirildiğinde, öncelikle okluzal fissür, sonra molar aproksimal daha sonra anterior aproksimal yüzeylerde yoğun olarak bulunurlar.<sup>48-52</sup> Dişlerin düz yüzeylerinde de kolonize olabilirler. Diş yüzeylerine tutunma, glukan ve fruktan polisakkaritleri aracılığıyla gerçekleşir.

*S. mutans*'ın 3 karyojenik faktörünün; asidojen, asidürik ve adezyon özellikleri olduğu bildirilmiştir.<sup>52-56</sup> Bu mikroorganizmanın asitleri tolere edebilme yeteneğinin, membrana bağlanan protein olan F-tipi adenozintrifosfataz (F-ATPase) sayesinde gerçekleştiği tespit edilmiştir. F-ATPase'in protonları hücrenin dışına

çektığı, hücre içi pH'ının düşmesini engellediği ve asite duyarlı enzimlerin, DNA ve proteinlerin asitten zarar görmesini önlediği bildirilmiştir. Bunun yanında fermante olabilen karbonhidratları metabolize edebildiği, asit üreterek biyofilm pH'ını düşürebildiği, asidik ortamlarda yaşayabildiği, üreyebildiği ve metabolizmasını devam ettirebildiği belirtilmektedir.<sup>50-56</sup>

## **2.5. Başlangıç Mine Çürüğünün Histolojisi**

Başlangıç mine çürüklerinin polarize ışık mikroskobu altında yapılan değerlendirmeleri sonucunda, en derin bölgeden yüzeye doğru 4 farklı tabakadan oluştuğu saptanmıştır.<sup>12</sup>

- Transludent (saydam) tabaka (por hacmi %1)
- Karanlık tabaka (por hacmi %2-4)
- Lezyon gövdesi (por hacmi %5-25)
- Yüzeysel tabaka (por hacmi %5'den az)

### ***Transludent (saydam) tabaka***

Minede çürük lezyonunun ilerlemesi ile ilgili ilk bulgu olarak değerlendirilen saydam tabaka, sürekli dişlerde %50, süt dişlerinde ise yalnızca %25 oranında görülmektedir.<sup>12</sup> Lezyonun en derin tabakası olması nedeniyle mine lezyonlarının ilerleme yönünü gösterir.<sup>12</sup> Saydam tabaka olarak adlandırılmasının nedeni görüntülenmesinde kullanılan kinolin solüsyonunun mine ile aynı kırılma indeksine sahip olması, bu nedenle porlar kinolin solüsyonu ile dolduğunda, lezyonun sağlam mine ile aynı kırılma indeksine sahip olarak tabakanın saydam görülmesidir.<sup>12</sup>

### ***Karanlık tabaka***

Mineral kaybının daha az olduğu bölgelerde mine yapısındaki porların boyutları daha küçüktür. Bu porlar kinolin solüsyonunu absorbe edemediğinden

polarize ışığı bloke ederler. Sonuç olarak polarize ışığı geçirmeyen bu tabaka ışık mikroskopunda karanlık olarak izlendiğinden "karanlık tabaka" olarak adlandırılmaktadır.<sup>12,19</sup> Klinikte hava veya buharla dolu olan bu porlar bölgenin opak görünmesine neden olur. Opak mine lezyonlarında, minedeki yapısal değişikliğin ikinci tabakası, karanlık tabakadır.<sup>12</sup> Karanlık tabakanın genişliği lezyonun ilerleme hızı ile ilişkili olarak değişebilmektedir. Karanlık tabaka, lezyonun birçok demineralizasyon ve remineralizasyon aşamalarından geçtiğini ifade eder. Çürüğün remineralizasyon aşamalarında, geniş porların bir kısmı daralarak, minenin geçirgenliği azalır. Bu nedenle, büyük kinolin molekülleri bu bölgelerden geçemez. Sonuç olarak, uzun bir geçmişi olan ve yavaş ilerleyen inaktif lezyonlarda karanlık tabaka daha geniş olarak gözlenir.<sup>12</sup> Karanlık tabaka süt dişlerindeki mine lezyonlarının % 85'inde, daimi dişlerin ise %95'inde gösterilmiştir.<sup>12</sup>

### ***Lezyon gövdesi***

Lezyon gövdesi başlangıç mine lezyonlarının en geniş tabakasıdır. Mikroradyografide radyolüsent olarak görülen lezyon gövdesinde, Retzius çizgileri belirgin olarak izlenir.<sup>12,19</sup> Mine yüzeyinde çürük, Retzius çizgileri boyunca ilerler.<sup>12</sup> Lezyon gövdesi en fazla por hacmine sahip olup; por hacmi periferde % 5'ten, merkezde % 25'e kadar değişim gösterir.<sup>12</sup> Sağlam mine ile karşılaştırıldığında bu tabakada % 24 mineral kaybı vardır. Bakteri ve tükürüğün girişine bağlı olarak su ve organik yapı artmıştır.<sup>12</sup> Bu bölgede mevcut porların genişlikleri bakterilerin sızması için yeterli ise, lezyon gövdesinde bakteriye rastlanabilir.

### ***Yüzeyel tabaka***

Mikroradyografilerde, radyoopak olarak görünen bu tabaka alt tabakadaki radyolüsent alanlardan ayırt edilebilir. Çürükten nispeten daha az etkilenmiş olan yüzey tabakasının genişliği, 20-100 µm arasında değişir.<sup>12,19</sup> Başlangıç çürük lezyonlarında mineral kaybı yüzey altında yüzeyel tabakaya oranla daha fazladır. Bunun ilk sebeplerinden biri, yüzeyel tabakanın diyet ve tükürükten absorbe edilen Ca, P ve F (flor) iyonları tarafından korunmasıdır. İlave olarak, mine yüzeyinde ya da pellikülda bulunan organik yapı elemanları, mineden mineral kaybını azaltan

seçici geçirgen bir bariyer oluşturur. Bu sayede yüzeyel tabaka demineralizasyona karşı korunur.<sup>12,19</sup> Yapılan *in vitro* çalışmalarda; mine yüzeyinden proteinlerin uzaklaşmasının, opak mine lezyonunun yapısına daha fazla Ca iyonu girmesine ve minerallerin yüzey boyunca ilerlemesine yol açtığı gösterilmiştir. İlave olarak, laboratuvar çalışmalarında minenin yüzeyel tabakasının, yüzey altı mineden kaynaklanan Ca ve PO<sub>4</sub> iyonlarının depozisyonu ile yeniden forme olduğu saptanmıştır. Daha stabil bir CaPO<sub>4</sub> fazının oluşumu yüzeyel tabakanın korunmasına yol açar. Yüzeyel tabakanın mineral içeriğinin sağlam mineye benzer olması, asit atakları sırasında yüzeyel tabakanın diğer tabakalardan daha az çözünmesine neden olur.<sup>62</sup>

*In vivo* koşullarda ise tükürük, diyet, alınan mineraller yüzey ve yüzey altı lezyonun remineralizasyonuna neden olmaktadır. Yapılan *in vivo* çalışmalarda, sadece yüzeyel minenin demineralize olduğu, çürük lezyonlarının hızla remineralize olabildiği gösterilmiştir. Ancak yüzey nispeten sağlam olmasına karşın lezyonların yüzey altında ilerlediği vakalarda, remineralizasyonun daha zor olduğu gösterilmiştir.<sup>22</sup>

## **2.6. Diş Çürüğünün Dinamik Doğası**

Mine dokusu, ağız ortamı ile dinamik bir denge halindedir ve çürük lezyonunun oluşabilmesi için bu dengenin bozulması gerekmektedir.<sup>63,64</sup> Ağız ortamının pH'ı kritik seviyenin altına düştüğü zaman, mine mineralleri yüzeyden uzaklaşmaya başlar ve kristallerin yüzeyinde bozulmalar gözlenir.<sup>63,64</sup>

Minenin çözünebilmesi için plak sıvısındaki asitlerin mineye difüze olabilecek kadar yüksek konsantrasyonda olması gerekmektedir. Ayrıca plak sıvısının çözünmüş mineralleri mine yüzeyine difüze edebilmesi için hidroksiapatite doymuş olması gerekmektedir.<sup>65</sup> Demineralizasyon nedeniyle ortaya çıkan ürünler, kristaller arası boşluklarda birikir ve demineralizasyon sıvısını aşırı doymuş hale getirene kadar çökmeye devam eder. Minerallerin birikimi demineralizasyon sürecinin yavaşlamasına yardımcı olur. Mine yüzeyinden uzaklaşan mineral iyonlarının miktarının, demineralizasyon oranının belirleyicisi olduğu düşünülmektedir.<sup>65</sup> Ortam pH'ı nötral seviyeye döndüğünde plak sıvısı Ca ve P

iyonlarıyla doymuş hale gelir ve mineral fazı çözünmez, çözülmüş minerallerin yeniden çökmesi sağlanır.<sup>65</sup> Kritik mine pH'sı 5,5 olarak kabul edilir. Ancak bu değer, sabit bir değer olarak kabul edilemez çünkü kritik pH; asidin tipi ve konsantrasyonu, F, Ca ve P konsantrasyonu ve ilgili bölgenin mineral çözünürlük özelliğine bağlı olarak değişir.<sup>65</sup>

Mine; yüzeyi altında çözünen minerallerden olduğu kadar, plak sıvısında yükselen Ca ve P iyon konsantrasyonlarından da faydalanır. Bu durum da mine alt yüzeyinde, mine yüzeyine göre daha çok demineralizasyon olmasına neden olur. Şartlar mine yüzeyinde doymamış halden aşırı doymuş hale döndüğünde, asitler yüzeydeki kristalleri etkileyemez hale gelir ve daha derinlerdeki doymamış bölgelere doğru ilerler. Bu yüzden demineralizasyon ve remineralizasyon aynı lezyonun farklı noktalarında aynı anda gözlemlenebilir.<sup>65</sup>

### ***2.6.1. Diş sert dokularının demineralizasyon süreci***

Diş çürüğü ağız ortamında demineralizasyon ve remineralizasyon dengesinin, demineralizasyon lehine değişimi ile gelişen episodik bir hastalıktır.<sup>1,2</sup> Normal koşullarda, tükürük ve plak sıvıları hidroksiapatit ve fluoroapatitten aşırı doymuş halde bulunur. Kritik pH'ın altında, hidroksiapatit fluoroapatite kıyasla diş dokusundan daha hızlı çözüldüğünden, oral sıvılar hidroksiapatitten aşırı doymuş hale gelir ve bu safha diş çürüğünün başlangıç yani demineralizasyon safhasıdır. Mine yüzeyinde fluoroapatit oluşumu sürerken yüzey altı hidroksiapatit çözülmeye başlar.<sup>65,66</sup>

Ortam pH'ı kritik değerinin altına düştükçe, apatitin çözünürlüğü ile paralel olarak minede demineralizasyon süreci ilerler. Bu değişim ile birlikte, plak içerisindeki asitlerin konsantrasyonu, asidin mine içerisine penetre olmasına yol açabilecek bir konsantrasyon değerine ulaşır.<sup>65,66</sup> Çürük lezyonunun oluşumu esnasında diş yüzeyinin yüzlerce mikron aşağısında aktif mineral kaybı izlenir. Diş dokularının demineralizasyon süreci, H<sup>+</sup> iyonlarının plaktan lezyon içerisine geçişi ve diş yüzeyinden çözünen mineral iyonlarının ise plağa doğru geçmesi ile özetlenebilir. Bu reaksiyon diyetle birlikte alınan karbonhidratların aktif fermentasyonu sonucu dental plakta artan H<sup>+</sup> konsantrasyonuna bağlı olarak

gerçekleşir.<sup>63</sup> Dental plağın Ca ve PO<sub>4</sub> iyonları ile doymuş halde olmasına rağmen, ortamdaki H<sup>+</sup> konsantrasyonundaki hızlı artış (100-1000 kat), H<sup>+</sup> iyonlarının minenin yüzey ve yüzey altı bölgelerindeki HA kristallerini çevreleyen porlardaki sıvıya doğru hızlı bir şekilde itilmesine ve porlara difüzyonuna sebep olur. Bu reaksiyon sonucunda yüzeyel minede mevcut olan Ca ve PO<sub>4</sub> iyonları da komşu biyofilm tabakasının içerisine doğru geçiş gösterir. Bu olay mine yüzeyinde demineralizasyon sürecinin başlangıcı olarak ifade edilmektedir.<sup>63</sup>

Plak asitlerinin mine içerisine difüzyonu ve kristallerin etkilenmesi, mine yapısında mevcut olan kristaller arası bölgeler aracılığıyla gerçekleşir.<sup>6,7</sup> Mine kristallerinin çaplarının azalmasını, kristallerin çözünmesi ve bunu da prizma kınlarının çözünmesi takip eder. Bu süreç, mine dokusunun porozitesinde anlamlı bir artışa yol açar.<sup>7</sup> Demineralizasyon ilerledikçe mine dokusunun derinliklerine doğru asit difüzyonu da ilerler.<sup>19</sup>

### ***2.6.2. Diş Sert Dokularının Remineralizasyon Süreci***

Diş sert dokularının demineralizasyon sürecinin geri döndürülebilmesi için ilk olarak geri dönebilir nitelikteki demineralize apatit kristallerinin varlığı ve apatitten aşırı doymun bir ortamın varlığı gereklidir.<sup>67,68</sup> Ağız ortamının pH'ı kritik pH'tan yüksek olduğunda, demineralize olmuş diş dokularının üzerine ortamda bulunan Ca ve P iyonları çöker.<sup>67,68</sup> Yavaş difüzyon nedeniyle lezyon gövdesinin remineralizasyonu güçlüklerle gerçekleşen bir durumdur. Oral hijyenin optimum olarak sağlandığı veya yüzeyel tabakanın kaldırıldığı durumlarda, lezyon gövdesindeki remineralizasyonun daha kolay gerçekleştiği bilinmektedir. Bununla birlikte, yüzeyel tabakanın kaldırılmasının, aynı zamanda lezyon gövdesinin demineralizasyon ataklarına da direkt maruz kalması anlamına geleceği unutulmamalıdır.<sup>67,68</sup>

Remineralizasyon sürecinin başlamasını sağlayan esas olay, plak asitlerinin zamanla tükürük tarafından tamponlanmasıdır. Bu durumda diş dokusundan çözünen mineraller, tekrar çökmeye başlar.<sup>68-70</sup> Remineralizasyon süreci esnasında öncelikle demineralizasyona uğrayan mine yüzeyinde hidroksiapatit kristallerini çevreleyen porlardaki sıvılar ile plak içerisindeki H<sup>+</sup> iyon konsantrasyonu eşitlenir. Daha sonra,



tükürük ve plak içerisinde yer alan Ca ve PO<sub>4</sub> iyon ve bileşikleri tükürük ve plaktan lezyon gövdesine doğru geçiş gösterir ve bu durum oral sıvılarda artmış olan Ca ve PO<sub>4</sub> iyonlarının remineralizasyon sürecini başlatması olarak ifade edilir.<sup>69,70</sup> Remineralizasyon esnasında, tükürük ve plaktaki aşırı doygun Ca ve PO<sub>4</sub> iyonlarının daha az doygun olan yüzeyel minedeki porlara difüzyonu, bahsi geçen ortamların eşit konsantrasyonlara ulaşmasına olanak sağlar.<sup>68-70</sup>

Remineralizasyon sürecinde, yapısal olarak hasara uğramış mine kristalleri tamir periyoduna girer. Bu yeni oluşan kristaller orjinal kristal boyutlarından daha küçük ya da büyük olabilir.<sup>68-70</sup> Başlangıç mine çürüğü lezyonlarının yüzeyel mine tabakasında çok az değişim görülmele birlikte, lezyon gövdesinde % 20-50 mineral kaybı mevcuttur. Remineralizasyon esnasında tükürük, biyofilm tabakası ve uygulanan remineralize edici ajanlarda bulunan Ca, PO<sub>4</sub> ve F iyon konsantrasyonları ve minerallerin sıvılardaki çözünürlüğü önem taşır.<sup>68,69</sup> Opak mine yüzeyinde ideal bir remineralizasyon ancak mineral iyonlarının dış yüzeyinden, minerale en fazla ihtiyaç duyulan bölge olan lezyon gövdesine difüzyonu ve minerallerin bu bölgede çökmesi ile gerçekleşebilmektedir.<sup>69,70</sup>

Remineralizasyon sırasında Ca, P ve F iyonları interprizmatik aralıklar boyunca minenin derin tabakalarına doğru ilerlerler. Hem flor hem de mineralize edici ajanlar remineralizasyon etkisine sahiptir. Ancak bu aşamada oluşan etki mekanizmaları birbirlerinden farklıdır. Ca ve PO<sub>4</sub> iyonları interprizmatik aralıklar boyunca penetre olarak, minenin biyolojik ve fiziksel özelliklerinde değişime neden olurlar. Bu değişimler, minenin permeabilitesinin azalması ve asitler karşısında direncinin artması şeklinde sonuçlanır.<sup>70</sup> F iyonu ise apatitin [3Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Ca(OH)<sub>2</sub>] yapısındaki OH iyonları ile yer değiştirerek fluoroapatit oluşumunu sağlar ve daha dirençli bir yapı ortaya çıkar.

Diş dokularının remineralizasyonu üzerine yapılan çalışmalar, başlangıç çürük lezyonlarının remineralize olabileceğini ve mineralizasyon seviyesindeki azalmanın sağlam mine düzeyine kadar yükselebileceğini ileri sürmektedir. Bu etkinin mineralize edici ajanların flor ile kombine kullanıldığında daha kalıcı olduğu ve demineralizasyona karşı daha fazla direnç olduğu gözlenmiştir.<sup>70,71</sup>

## 2.7. Demineralizasyon-Remineralizasyon Süreçlerini İnceleme Yöntemleri

Başlangıç mine çürüklerinin oluşumunda ilk aşama asit atakları nedeniyle mine dokusunun en dış tabakasında oluşan mineral kaybıdır. Minenin mineral kaybı ile birlikte optik yapısında da değişiklikler olduğundan demineralize mine, ışığı daha az yansıtır ve bu değişiklikler sonucu beyaz nokta lezyonları görülür. Başlangıç aşamasındaki diş çürüklerinin önlenmesinde koruyucu uygulamaların etkinliği kadar, lezyonların erken aşamada teşhisi de önemlidir. Günümüzde, çürük lezyonlarının teşhis edilebilmesine olanak sağlayan birçok yöntem klinisyenler tarafından kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında görsel/dokunsal muayene ve radyografik inceleme yöntemleri geleneksel yöntemler olarak adlandırılmaktadır. Dijital radyografi, diyetli lazer floresans, elektriksel iletkenlik, fiber optik transillüminasyon, dijital fiberoptik transillüminasyon, kantitatif ışık etkili floresans, alternatif akım empedans spektroskopisi, ultrasonografi, kızılötesi termografi gibi yöntemler ise günümüzde kullanılan, geleneksel yöntemlere alternatif, objektif tekniklerdir ve klinisyenlere çürük lezyonlarının teşhisinde yol göstermektedir.<sup>72-76</sup>

Her ne kadar gerek geleneksel, gerekse yeni geliştirilen yöntemler ile çürük lezyonlarının teşhisinde ilerleme kaydedilmiş olsa da, başlangıç mine lezyonlarının tespitinde ve lezyonların demineralizasyon-remineralizasyon seyirlerinin izlenmesinde kullanılan yöntemler sınırlı bir doğruluğa sahiptir.

Başlangıç çürük lezyonları üzerine etkileri değerlendirilecek piyasaya yeni sürülmüş materyalleri, klinikte kullanmadan önce laboratuvar ortamında değerlendirmek, materyallerin etkinliğinin anlaşılabilmesi için önemlidir. Mikrosertlik testi, enerji dağılım spektroskopisi (EDS), taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ve konfokal lazer taramalı mikroskopisi (CLSM) bu amaçla *in-vitro* çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerdir.<sup>77-81</sup>

### 2.7.1. Mikrosertlik testi

Sertlik, malzemelerin plastik deformasyona karşı direnç gösterebilme kabiliyetidir. Sertlik ölçümü, malzemeye bilinen miktardaki bir yük uygulanması ile ölçülebilir. Batıcı uç olarak elmas gibi sert malzemelerin kullanılmasıyla deformasyon sadece kuvvetin uygulandığı malzemede sınırlı tutulur.<sup>82-85</sup>

Diş hekimliğinde kullanılan restoratif materyallerin mekanik özelliklerinin veya diş sert dokularına uygulanan tedavi yöntemlerinin laboratuvar şartlarında birbirleriyle karşılaştırılmasında kullanılan test yöntemlerinin başında yüzey sertliği ölçümleri gelmektedir.<sup>82-85</sup> Yüzey sertliği ölçümlerinde kullanılan test metotlarından bazıları; Rockwell, Barcol, Shore A, Brinell, Knoop ve Vicker's'dir.<sup>86-88</sup> Hangi sertlik testinin uygulanacağı, beklenen sertlik değerine ve materyalin cinsine bağlı olarak belirlenir. Bu yöntemlerin ortak çalışma prensibi; kuvvetin materyale, simetrik şekilli bir işaretleyici uçla uygulanması ve bu ucun materyale olan penetrasyon miktarının belirlenmesidir. Çeşitli sertlik testleri arasındaki farkı oluşturan parametreler; işaretleyici ucun imal edildiği maddenin cinsi, bu ucun geometrisi ve yüklenen ağırlıktır. İşaretleyici uç; çelik, tungsten karpit veya elmas gibi maddelerden yapılabileceği gibi küre, koni veya piramit şeklinde farklı geometrilere sahip olabilmektedir.<sup>82-89</sup> Diş hekimliğinde temel olarak iki çeşit mikrosertlik ölçme şekli kullanılmaktadır; Knoop sertlik testi ve Vickers sertlik testi.

Bunlardan ilki olan Knoop sertlik testi, 1939 yılında National Bureau Standard (USA) tarafından geliştirilmiştir. Knoop sertlik testi, mikrosertlik ölçme cihazına, tepe açısı 172 derece olan piramit biçiminde elmas bir uç takılması ve ışık mikroskobu altında cisimlerin yüzeylerine belirli ağırlıkların belirli sürelerde uygulanmasıyla yüzeyler üzerinde izler oluşturulması ve bu izlerin derinliklerinin değerlendirilmesi ile uygulanır.<sup>90-92</sup> Bu izin derinliği ve genişliği mikroskop altında ölçülerek okunan değer, test yöntemine ait spesifik tablodaki uygun karşılığı bulunarak, sertlik birimine çevrilmektedir.<sup>90-92</sup>

Mikrosertlik ölçümleri için kullanılan diğer bir yöntem ise, 1921 yılında Vickers şirketi tarafından geliştirilen Vickers sertlik testi yöntemidir. Bu deney yöntemi de Knoop sertlik testi ile aynı prensip ile uygulanmaktadır. Farklı olarak tepe açısı 136 derece olan eşkenar piramit şekilli elmas bir uç kullanılmaktadır ve Knoop sertlik ölçümleri ile karşılaştırıldığında nispeten daha sığ izler bırakır.<sup>93-96</sup> Vicker's sertlik testi, kırılma malzemelerin sertliğinin ölçülmesine uygun olduğu için diş dokusunun ve dental materyallerin sertliğinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Vicker's sertlik değeri, uygulanan yük biriminin yüzeyde oluşturduğu çökme alanına bölünmesiyle hesaplanmaktadır.<sup>93-96</sup>

Mikrosertlik test yöntemleri uygulanırken özellikle yükün darbesiz uygulanmasına, numune yüzeyinin parlak ve düzgün olmasına, elmas ucun darbeden ve çarpmadan korunmasına dikkat edilmelidir.<sup>90-96</sup>

### **2.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)**

Taramalı elektron mikroskobu, örnekleri 3 boyutlu inceleme imkânı sağlayan; biyolojik bilimlerde, tıp ve kriminal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan bir araştırma yöntemidir. Manfred von Ardenne öncülüğünde 1930'lu yıllarda geliştirilmiştir.<sup>97-100</sup> SEM, çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışır. En sık kullanıldığı biçimiyle, yüzeyden yayılan ikincil elektronlarla yapılan ölçüm, özellikle yüzeyin topografik yapısıyla ilişkili bir görüntü oluşturur. SEM'de görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların örnek üzerine odaklanması, bu elektron demetinin örnek yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve örneğe ait atomlar arasında oluşan etkileşimin uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekrana aktarılmasıyla elde edilir.<sup>97-100</sup> Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir. Günümüzde SEM'in ayırım gücü 0,05 nm'ye kadar inmiştir. Büyütme miktarı ise 5x - 300000x arasında değişmektedir.<sup>100</sup> Geleneksel SEM incelemesi için örnekler iletken olmalıdır. Bu nedenle metalik olmayan örneklerin kurutulduktan sonra, vakumlu ortamda ve argon gazı varlığında kaplanmaları gereklidir. Kaplama materyali olarak genellikle altın kullanılmakla birlikte; platin, osmiyum, iridyum, tungsten, krom, grafit gibi metaller de kullanılabilir. Örnekler statik elektrik şarjını önleyecek kadar iletken olsalar dahi, çözümülemeyi artırmak ve sinyalleri kuvvetlendirmek için kaplanmaları önerilir.<sup>101-104</sup>

Gerek ayırım gücü, gerek odak derinliği ve gerek görüntü ve analizi birleştirme özelliği, taramalı elektron mikroskobunu araştırma ve incelemelerde geniş ölçüde kullanılan bir aygıt haline getirmiştir. Bunun yanında mikro işlemci ve bilgisayarların mikroskopla birlikte kullanılmaları cihaza kullanım kolaylığı sağlamıştır. Diğer yöntemlerle çok uzun sürebilecek ayrıntılı veri toplama işlemlerinin çok kısa zamanda tamamlanabilmesini sağlamaktadır. İlave olarak,

SEM'in odak derinliği, diğer mikroskoplara göre daha fazladır. Örneğin 1000x büyütmede optik mikroskobun odak derinliği yalnızca 0,1  $\mu\text{m}$  iken, taramalı elektron mikroskobunda 30  $\mu\text{m}$  dir. Böylece incelenen numunelerin yüzey özellikleri daha kesin ve daha ayrıntılı olarak görüntülenebilmektedir. SEM ile yapılan yüzey analizinin rk benzeri lezyonların değerlendirilmesinde güçlü bir metot olduğu bildirilmiştir.<sup>100,102,105-107</sup>

### 2.7.3. Enerji dağılım spektroskopisi (EDS)

EDS, rnek zerine X işını gönderilmesi ve geri emilen X-işınlarının karakteristiğini ölçerek, nicel olarak element analizi yapan bir yöntemdir.<sup>108-111</sup> Yöntemin uygulanması esnasında, numunenin yüzeyine yüksek enerjili elektronlar çarptığında bu çarpışmalardan dolayı, yüzeyden bazı elektronlar kopar. Eğer bu elektronlar, iteki (ekirdeğe yakın) orbitallerden koparılmışlarsa atomlar kararlılıklarını kaybederler. Tekrar kararlı hale gelebilmek için dış orbitallerdeki elektronlar i orbitallerdeki boşlukları doldururlar. Dış orbitallerdeki elektronların enerjileri i orbitallerdeki elektronların enerjilerinden daha yüksek olduğu için, dış orbital elektronları i orbitalleri doldururken belli bir miktar enerji kaybetmek zorundadırlar. Bu kaybedilen enerji X-işını şeklinde ortaya çıkar. Ortaya ıkan X-işınlarının enerjisi ve dalga boyu sadece atomla ilgili olmayıp o atomun alişverişte bulunan orbitalleri ile de ilgili karakteristik bir özelliktir. Bu sayede örnek içerisinde bulunan elementler, bir grafik üzerinde karakteristik enerji seviyelerine göre belirlenir ve elementlerin yüzdeleri, elementlerin piklerinin altındaki alanlarla doğru orantılıdır.<sup>112</sup>

EDS, genellikle mühendislik ve kimya alanında kullanılmasına rağmen, dış hekimliği alanında da birçok çalışmada kullanılmaktadır. Bu yöntem ile örnek yüzeyine temas etmeden katı, toz ve sıvı şeklindeki farklı türdeki materyallerin ölçümleri yapılabilmektedir. EDS alışmalarında, Ca ve P yüzdeleri elde edilebilirken, aynı zamanda flor ve diğer elementleri içeren ajanların mine üzerine etkisi de ölçülebilir.<sup>106,108,109,111</sup>

#### **2.7.4. Konfokal lazer taramalı mikroskop (CLSM)**

Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop; 1955 yılında geliştirilmiştir ve özellikle biyoloji ve patoloji bölümlerinde geniş kullanım alanı bulan, hücre biyolojisinde kullanılan nondestruktif bir mikroskopik tomografi tekniğidir.<sup>113-115</sup> Tekniğin diş hekimliği alanında kullanımı, diş ile restoratif materyal arayüzünü incelemek amacıyla ilk kez Watson tarafından gerçekleştirilmiştir. CLSM aracılığı ile örneklerin izlenebilmesi için, çeşitli floresans özellikli boyalar kullanılmaktadır.<sup>113-120</sup> Yöntemin uygulanması esnasında aydınlatma, odaklanmış bir lazer kaynağından elde edilir ve taramalar örnek üzerinde çizgiler halinde yapılır. Yansıtılan lazer ışını ve örnekten yayılan floresan ışık karışımı aynı objektif ile tutularak dikroik ayna ile bir fotodedektör üzerine odaklanır. Fotodedektör önünde bulunan konfokal açıklık, örnek üzerindeki tek bir noktadan yayılan floresan ışığın toplanmasını sağlar. Bu şekilde odaklanılan noktanın etrafından yayılan ışığın toplanması azaltılır. Sonuç olarak taranan örnek, yüksek çözünürlükte görüntülenir. Konfokal lazer tarama mikroskobu; x, y, z yönlerinde tabakalar halinde tarama yapmaktadır ve elde edilen görüntüler, bilgisayar ortamında üç boyutlu hale getirilebilmektedir.<sup>120</sup> CLSM örnek taramaları için; Argon, HeNe gibi lazerler ve 10x, 20x, 40x büyütme objektif lensler kullanılmaktadır. Eger dış tabakanın yüzey altı alanları ile çalışılacaksa örnek hazırlanması için özel bir işleme gerek yoktur. Odaklanılan bölge dışından gelen tüm yansımalar engellenerek sadece tam olarak odaklanılan alan izlenir. CLSM ile doğal nemlerinde olan dişlerle çalışmak mümkündür. Örneklerin hassas kesim cihazları ile ince kesitler halinde hazırlanması ve kurutulması gibi uygulamaların olmaması hata oluşumunu engeller.<sup>120</sup> CLSM'un bir diğer avantajı, örnek yüzeylerindeki düzensizliklerin göz ardı edilebilmesidir. Saçılan, yansıyan ve odaklanan alan dışından gelen floresans ışığı elimine edilebildiğinden yalnızca odaklanılan alanın görüntüsü net olarak elde edilebilmektedir. Ayrıca, dijital görüntüleme uygulaması ile yapıların yüzey özellikleri 3 boyutlu olarak her açıdan izlenebilmekte ve kaydedilebilmektedir.<sup>120</sup>

Laboratuvar ortamında gerçekleştirilen çalışmalarda, yeni geliştirilen materyallerin remineralizasyon kabiliyetlerinin değerlendirilebilmesi amacıyla sıklıkla yapay çürük modelleri kullanılmaktadır. Günümüze kadar yapılmış olan birçok çalışmada, farklı amaçlarla çeşitli yapay çürük modelleri denenmiştir.<sup>121-124</sup>

## **2.8. Yapay Çürük Modelleri**

*In vitro* çalışmalarda, materyallerin remineralizasyon etkinliklerinin değerlendirilebilmesi için, başlangıçta yapay çürük lezyonlarının oluşturulması gerekmektedir. Yöntemlerin uygulanabilirliği, elde edilen sonuçların değerlendirileceği yöntem, materyallerin etkinlikleri ile ilgili olası sonuçlar ve zaman-maliyet gibi faktörler göz önüne alınarak kullanılabilir çeşitli yapay çürük modelleri bulunmaktadır.

### **2.8.1. Çekimi planlanmış dişlerde yapılan çalışmalar**

Çekimi planlanmış dişlerde yapılan çalışmalar doğal demineralizasyon ve remineralizasyon süreçlerini en doğru şekilde yansıtan çalışma dizaynlarıdır. Dişlerin tükürük ve plak ile tamamen doğal ortamda bulunmaları ve beslenme kontrolünün de sağlanabilmesi nedeniyle sonuçları en güvenilir yöntemlerdir.<sup>123</sup>

### **2.8.2. In-vivo hayvan modelleri**

*In vivo* hayvan modeli çalışmaları özellikle kobay fareler üzerinde gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı, pahalı ve zaman alıcı olmasıdır. İlave olarak insan tükürüğünün yapısı, çalışmalarda kullanılan hayvanlara kıyasla farklılık göstermektedir ve elde edilen sonuçlar tam olarak gerçeği yansıtmayabilir.<sup>125,126</sup>

### **2.5.3. İnsan çenesinde in-situ çalışmalar**

Bu tip modelleme çalışmalarında, *in vitro* olarak hazırlanan diş sert doku kesitleri, genellikle özel dizayn edilmiş bir aparey aracılığıyla gönüllü taşıyıcıların ağız ortamında test edilir. Sağlam mine ve dentin yapıları bu yöntem ile demineralizasyon açısından değerlendirilebilirken, kısmen demineralize edilmiş mine ve dentin dokuları remineralizasyon modeli olarak kullanılabilir.<sup>127-129</sup>

Etik onay alınması aşamasındaki zorluklar, taşıyıcı birey bulma güçlükleri, taşıyıcıların çalışma dizaynına tam riayetindeki eksiklikler, her taşıyıcıya ait aparey

hazırlamanın maliyeti gibi güçlükler nedeniyle yöntemin kullanılması her zaman mümkün olamamaktadır.

#### ***2.8.4. Yapay çene modelleri***

Ağız ortamının taklit edilmesi amacıyla, laboratuvar ortamında oluşturulan bir düzenekte; diş sert dokuları, patojen mikroorganizmalar, tükürük akışı ve besin maddeleri birarada tutulur. Her ne kadar bu modelleme yöntemi bazı çalışmalarda kullanılmış olsa da, genel kanı ağız ortamının henüz eksiksiz bir şekilde taklit edilemediği yönündedir.<sup>128,129</sup>

#### ***2.8.5. Bakteriler tarafından üretilen asitlerin kullanıldığı in-vitro demineralizasyon modeli***

Bakteriler tarafından üretilen asitlerin kullanıldığı yapay çürük modelleri; demineralizasyonu istenen diş örneklerinin, fermantasyon sonucu organik asit üretebilen bakterilerin bulunduğu ortam içerisinde bekletilmesi veya diş örnekleri üzerine bu mikroorganizmaların ekilmesi yoluyla kullanılır.<sup>130</sup> Belli bir ısıda yapılan inkübasyon periyodunun ardından örnekler üzerinde demineralizasyon elde edilir. Bu yöntemin en büyük dezavantajı, pH düzeyinin ve oluşan lezyon derinliğinin kontrol edilememesidir.<sup>130</sup>

#### ***2.8.6. pH siklus modelinin kullanıldığı in-vitro demineralizasyon modeli***

Bu tür yapay çürük oluşturma modelinde; demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarının birarada kullanılması ile ağız ortamında oluşan değişikliklerin bir örneği elde edilebilmektedir. Yöntem uygulanırken, solüsyonlar düzenli olarak yenilenmektedir ve böylece solüsyon içeriklerinin ve solüsyonun etkinliğinin azalmasının önüne geçilebilmektedir. Demineralizasyon solüsyonlarında genellikle 4,1-4,5 gibi düşük pH derecesine sahip; asetik asit, Ca ve P içeren asit tamponları kullanılmaktadır. Remineralizasyon solüsyonları içerisinde yer alan Ca ve P iyonları ise doğal tükürüğün içerdiği seviyede tutulmaktadır. Solüsyonlar içerisinde daldırılan örnekler, çalışmanın amaçları ve dizaynı doğrultusunda belirlenen süre kadar burada tutulurlar, planlanan zamanlarda solüsyonlar yenilenir ve farklı iki



solüsyon arasında tespit edilen aralıklar ile daldırma işlemi tekrarlanarak lezyonların oluşmasına izin verilir.<sup>131-133</sup>

### **2.8.7. Asit tamponların kullanıldığı in-vitro demineralizasyon modeli**

Yapay çürük modeli oluşturulmasında en kolay yöntemlerden birisi asit tamponlarının kullanıldığı modellerdir. Demineralizasyon yaratılacak örnekler, solüsyonlar içerisine istenilen derinlikte başlangıç çürük lezyonu oluşturulana kadar bırakılır. Elde edilen bu tür lezyonlar, doğal çürük lezyonları ile benzer özellikler göstermektedir.<sup>133</sup> Solüsyonun pH derecesi, çürük oluşumu için gerekli olan kiritik pH değerinin altına inmelidir, yaygın olarak kullanılan solüsyonların pH'ı 4,5-5.0 arasında değişmektedir. Bu solüsyonlar içerisinde asit olarak laktik ya da asetik asit gibi organik asitler kullanılabilir ancak sitrik ve hidroklorik asit kullanımı tercih edilmez.<sup>133-136</sup> Çünkü bu asitler, mine dokusu içerisine zayıf organik asitlerin penetre olabildiği gibi penetre olamayıp sadece yüzeyde madde kaybına neden olan bir demineralizasyona neden olurlar. Asit tamponlarının kullanıldığı *in vitro* demineralizasyon modellerinin en büyük avantajı, standart bir demineralizasyonun sağlanabilmesidir.<sup>133-136</sup> Ayrıca; solüsyonların pH değişimlerinin kolaylıkla takip edilebilmesi, uygulama basamaklarının kolay olması, kullanıcıya bağlı hatalar içermemesi, ucuz bir yöntem olması ve oluşan lezyonların derinliğinin kontrol edilebiliyor oluşu, diğer avantajlı yönleri olarak sıralanabilir. Bu yöntemler ile hazırlanmış yapay çürük modellerine ilişkin birçok çalışma yayınlanmıştır.<sup>134-136</sup>

### **2.9. Başlangıç Mine Çürüğünü Önlemeye ve Remineralize Etmeye Yönelik Yöntemler**

Diş sert dokuları, ağız ortamındaki pH değişim dinamiklerinden sürekli olarak etkilenmektedir. Ağız ortamında pH seviyesinin minenin hidroksiapatit kristalleri için kritik değer sayılan 5,5'in altına düşmesi, minenin yapısında bulunan Ca ve P iyonlarının çözünerek yapıdan uzaklaşmasına neden olmakta ve diş sert dokularının demineralizasyonu olarak adlandırılan süreç başlamaktadır.<sup>1, 137</sup> Ortam pH'ındaki bu değişiklik diyet karbonhidratlarının varlığında plak bakterileri tarafından üretilen organik asitlerin yarattığı etkiden kaynaklanmaktadır. Eğer pH

seviyesini kritik düzeyde tutan faktörler ortadan kalkmaz ise, mine yapısında bulunan minerallerin fazla miktarda kaybı gözlenerek diş çürüğünün tipik karakteristiği olan mine dokusu kaybı ve kavitasyon meydana gelmektedir.<sup>138</sup> Mine dokusundaki bu kayıp, pH tekrar normal seviyeye gelene kadar devam etmektedir. Ağız ortamının pH seviyesini düşüren faktörler kısa bir süre için etki ederse, pH değerinin tekrar yükselmesi sonucu çözünen iyonlar mine üzerine çökelir ve remineralizasyon olarak adlandırılan süreç meydana gelir.<sup>137,138</sup>

Son yıllarda, diş çürüğünün patolojik sürecinin anlaşılması ve remineralizasyon ve demineralizasyon süreçlerine etki eden faktörlerin belirlenmesi sayesinde koruyucu uygulamalar ön plana çıkmıştır. Demineralizasyon ve remineralizasyon olarak adlandırılan diş sert dokularında mineral dengesinin değişimini yansıtan bahsi geçen süreçler arasındaki denge, oral çevreyi etkileyen birçok faktör nedeniyle bozulabilmektedir.<sup>139</sup> Çürükten koruyucu uygulamaların amacı, demineralizasyonu oluşmadan engellemek veya demineralize olan alanları kavitasyon oluşmadan remineralize ederek diş sert dokularını eski sağlığına kavuşturmadır.<sup>138-140</sup>

Günümüze kadar, remineralizasyonda en önemli rolü oynayan Ca ve P iyonlarına tükürüğün doygunluğunu arttırmak suretiyle veya ortamda bulunan bu iyonların diş yüzeyine çökmesinde katalizör rol oynayacak ideal remineralizasyon ajanını elde edebilmek için pek çok çalışma yapılmıştır. Bunun yanı sıra, diş sert dokularının demineralizasyon sürecini önlemek amacıyla kullanılan materyallerle ilgili de birçok çalışma mevcuttur.

### ***2.9.1. Flor ve flor bileşikleri***

Günümüzde diş çürüklerini önlemek amacıyla en çok kullanılan materyal olan flor, diş minesini üzerinde çürük önleyici etkisini demineralizasyonu önleyici ve remineralizasyonu arttırıcı birçok yoldan göstermektedir. Pellikül ve plak formasyonunun önlenmesi, plak mikroorganizmalarının asit üretiminin inhibisyonu, doğal minedeki hidroksiapatit yapısından çürüğe karşı daha dirençli bir yapı olan fluorhidroksiapatit oluşumunun sağlanması, Ca ve P iyonlarının diş yüzeyine çökmesinin hızlandırılması ve bakterisit özellikleri florun çürük önleyici ve

remineralize edici etkisini açıklamaktadır.<sup>141,142</sup> Flor; sistemik olarak veya topikal olarak uygulanabilmektedir. Günümüzde kabul edilen görüş; topikal olarak uygulanan flor preparatlarının daha etkili olduğu yönündedir.<sup>142</sup> Bu nedenle tükürük ve dental plakta flor iyonu varlığı demineralizasyonun önlenmesi ve remineralizasyonun sağlanması için önemlidir.

Florun çürük önleyici etkisinin kanıtlanmasıyla beraber tek başına flor veya flor ile kombine edilen birçok ürün hakkında detaylı çalışmalar yapılmıştır. Nalbantgil ve ark.; sodyum florür (NaF) içerikli flor verniklerinin ortodontik braketler çevresinde oluşturdukları etkileri değerlendirdikleri çalışmalarında, verniklerin hem demineralizasyondan korunmada hem de demineralizasyonun geri döndürülmesinde oldukça etkin materyaller olduklarını bulmuşlardır.<sup>143</sup> Başka bir çalışmada; 5-7 yaş arası çocukların anterior dişlerinden başlangıç çürük lezyonuna sahip olanlara 12 ay boyunca düzenli aralıklarla uygulanan sodyum florür ve gümüş diamin florür (SDF) solüsyonlarının etkileri değerlendirilmiş ve 12 ay sonunda demineralizasyonun anlamlı derecede inhibe edildiği ve remineralizasyonun sağlandığı sonucuna varılmıştır.<sup>144</sup> *In vitro* bir çalışmada; %1,23 asidüle fosfat jelin (APF) demineralize diş yüzeyine topikal olarak uygulanmasının demineralizasyonun geri döndürülmesinde oldukça etkili bir yöntem olduğu belirtilmiştir.<sup>145</sup> Flor salan cam iyonmerlerin demineralize diş sert dokuları üzerindeki etkilerini değerlendiren bir çalışmada, yüksek flor salımı yapan restoratif materyallerin remineralizasyonda daha başarılı sonuçlar verdiği vurgulanmıştır.<sup>146</sup> Çalışmaların sonuçları gözden geçirildiğinde flor ve flor bileşikleri, demineralizasyonun inhibisyonu, remineralizasyonun sağlanması, antibakteriyel etkisi ve kolay ulaşılabilirliği ile çürük önleyici programlarda yaygın olarak tercih edilen faydalı materyaller olarak değerlendirilmektedir.

### **2.9.2. Kalsiyum sodyum fosfosilikat (biyoaktif cam)**

Son yıllarda diş hekimliğinde kullanım alanı bulan biyoaktif camlar, biyomateryal olarak adlandırılan malzeme grubundandır. Biyoaktif camlar, diş hekimliğinde dentin hassasiyetinin giderilmesi, vital tedaviler, kemik rejenerasyonu, diş sert dokularının remineralizasyonu, antibakteriyel tedaviler gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Diş sert dokularının remineralizasyonu amacıyla

değerlendirildiğinde; biyoaktif camlar tükürük ile temas haline geldiğinde, remineralizasyon için kullanılabilir olan sodyum, Ca ve P iyonlarının salımı gerçekleşmekte ve bu sayede minenin kompozisyonunu oluşturan hidroksiapatite benzer hidroksikarbon apatit oluşmaktadır. Bu nedenle biyoaktif camların diş hekimliğinde remineralizasyon amacıyla kullanılabilmesi düşünülmektedir.<sup>147-150</sup> Biyoaktif camların partikül boyutları nano seviyelerdedir. Bu özelliği nedeniyle daha hızlı iyon salımı gerçekleştirebilmekte ve biyoaktif özelliği daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır.

Flor içeren ticari bir diş macunu ile flor ve kalsiyum sodyum fosfosilikat ürününün karşılaştırıldığı bir çalışmada kalsiyum sodyum fosfosilikat diş temizleyici ajanın erken dönem çürük lezyonlarında daha yüksek derecede remineralizasyon sağladığı sonucuna varılmıştır.<sup>151</sup> Prabhakar ve ark., biyoaktif cam ile sodyum florürün başlangıç çürük lezyonları üzerine etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, biyoaktif camların florlu bileşiklere alternatif bir remineralizasyon ajanı olarak kullanılabilmesini bildirmişlerdir.<sup>152</sup>

### **2.9.3. Nano hidroksiapatit**

Mine dokusu kompleks bir yapı göstermekle beraber esas olarak 20-40 nm boyutundaki hidroksiapatit nanopartiküllerinden meydana gelmiştir. İlk olarak üretilen sentetik mikrohidroksiapatit materyaller yüksek biyouyumlu özelliğe sahip olmaları ve diş minesine benzer kimyasal özellikler göstermeleri nedeniyle remineralizasyon çalışmalarında yer almış materyallerdir. Diğer taraftan mikrohidroksiapatitler diğer kalsiyum fosfat bileşikleriyle kıyaslandığında daha az çözünürlüğe sahiptir.<sup>153-155</sup> Bu nedenle hidroksiapatitin çözünürlüğünü artırarak salınan Ca ve P iyonlarının oranını arttırmak amacıyla nanohidroksiapatitler geliştirilmiş ve remineralizasyon çalışmaları bu doğrultuda yoğunlaşmıştır.

Nanohidroksiapatit ve aminflorid içerikli diş macunlarının remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirildiği *in vitro* bir çalışmada, çalışma sonuçları nanohidroksiapatit içerikli diş macununun başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunda daha başarılı olduğunu göstermiştir. Huang ve arkadaşları ise dinamik pH siklusu koşullarında optimal nanohidroksiapatit konsantrasyonu ve

nanohidroksiapatitin başlangıç çürük lezyonları üzerine etkilerini *in-vitro* olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, %10 nanohidroksiapatit konsantrasyonunun en uygun konsantrasyon olduğunu ve düzenli olarak kullanımının remineralizasyonun teşvikinde yararlı olduğunu göstermişlerdir.<sup>154</sup> Yüzde 10 nanohidroksiapatit ile %2 sodyumflorürün remineralizasyon üzerine etkilerini değerlendiren bir çalışmada, 20 nm genişliğindeki nano hidroksiapatit kristallerinin florla kıyaslandığında başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunda daha başarılı olduğunu belirtilmiştir.<sup>155</sup> Bunun yanında, nötral koşullar altında HA'in remineralizasyonu tam olarak sağlayamadığını, asidik koşullarda hidroksiapatitin daha fazla çözünerek iyonların salımının ve penetrasyon derinliğinin artarak remineralizasyonu daha hızlı gerçekleştiğini de belirtilmiştir.<sup>155</sup>

#### **2.9.4 Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat**

Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) kompleksi; tüm hayvansal sütlerin içerisinde yer alan kazein fosfopeptidin, içerdiği fosfoseril uzantılar boyunca amorf kalsiyum fosfatı bağlayarak solüsyon içerisinde çökelmeleri için gerekli boyuta ulaşmalarını engellemesiyle meydana gelmektedir. CCP-ACP; çürük önleyici etkisini bakteriyel kolonizasyonu önleyerek, dental plağın Ca ve P iyon seviyesini yükselterek ve serbest Ca ve P iyonlarını bağlayarak göstermektedir.<sup>156-158</sup> Günümüzde CCP-ACP; solüsyon, şekersiz sakız, gargara, diş macunu gibi ürünlerde remineralizasyona olan katkıları nedeniyle kullanılmaktadır.

CPP-ACP nanokompleksinin çürük önleyici etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. CPP-ACP içerikli ağız çalkalama sularının *in-situ* değerlendirildiği bir çalışmada, başlangıç çürük lezyonlarında yüksek oranda remineralizasyon sağladığı bildirilmiştir.<sup>157</sup> CPP-ACP içerikli diş macunlarının dentin yüzeyinde oluşturulan başlangıç çürük lezyonları üzerine etkilerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada ise, materyalin diş yüzeyinde Ca ve P çökmesi sağlayarak remineralizasyona anlamlı derecede katkıda bulunduğu gösterilmiştir.<sup>158</sup>

### 2.9.5. Gümüş ve gümüş bileşikleri

Gümüş bileşikleri gümüş nitratın süt dişlerinde çürük insidansının azaltılması amacıyla kullanılmaya başlamasıyla diş hekimliği alanında popülerlik kazanmıştır. Daha sonra daimi dişlerde çürük önleyici ajan, kavite dezenfektanı ve hassasiyet giderici olarak kullanım alanı bulmuştur.<sup>159</sup> Gümüş iyonu, asidik koşullarda diş sert dokularının çözünürlüğünü azaltması ve demineralize dokuların remineralizasyonunu sağlaması nedeniyle farklı remineralizasyon çalışmalarına konu olmuştur.<sup>159-161</sup> Zhi ve arkadaşlarının gümüş ve flor iyonlarını demineralize diş yüzeylerine topikal olarak uygulayarak oluşan etkileri değerlendirdikleri çalışmalarında; her iki iyonun yüzeyde mineral depozisyonu sağladığı, birlikte uygulandıklarında ise remineralizasyon üzerine anlamlı etkilerinin olmadığı bildirilmiştir.<sup>160</sup> Gümüş iyonu içerikli primerlerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmalarda gümüş içeriğinin gümüş iyonu içermeyen kontrol gruplarına göre antibakteriyel özelliklere katkı sağladığı bildirilmiştir.<sup>161,162</sup> Yapılan çalışmalar ışığında, gümüşün pozitif etkilerinin flor ile birlikte kullanılması amacıyla SDF bileşiği geliştirilmiştir. Bu aşamadan sonra SDF bileşiği; diş sert dokularının remineralizasyonu, pit ve fissür çürüklerin önlenmesi, sekonder çürüklerin önlenmesi, kök çürüklerinin engellenmesi, dentin hassasiyetinin giderilmesi ve enfekte kök kanallarının tedavisi gibi amaçlarla birçok çalışmaya konu olmuştur.<sup>163-166</sup> Nishino ve arkadaşları, yaptıkları *in vivo* çalışmada, daimi molar dişlerin pit ve fissürlerine topikal olarak uyguladıkları SDF'nin çürük insidansını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir.<sup>163</sup> *In vivo* bir çalışmada; amalgam ile restore edilmeden önce SDF solüsyonu ile kavite dezenfeksiyonu yapılan süt dişlerinde, sekonder çürük gelişmediği bildirilmiştir. Mei ve arkadaşları, %38'lik SDF solüsyonunun demineralizasyonu önlediğini, mineral kaybını minimale indirdiğini ve karyojenik bakteriler üzerine bakterisit etki gösterdiğini bildirmişlerdir.<sup>166</sup>

### 2.9.6. Kendiliğinden birleşen peptitler

Anyonik peptitlerin, diş sert dokuları üzerinde yarattığı olumlu etkiler nedeniyle remineralizasyon çalışmalarında kullanılabilir nitelikte olduğu düşünülmektedir. Peptitlerin bu etkisi, mineral kaybının azaltılması ve mineral

kazancının arttırılması yoluyla gerçekleşmektedir. Bu peptitler geleneksel remineralizasyon ajanlarından farklı olarak, diş yüzeyinde iyonların çökmesine olanak veren bir iskelet yapı oluşturmaktadırlar, oluşan bu iskelet yapı yoluyla mineral depozisyonu sağlanmaktadır.<sup>167</sup> Peptitlerin remineralizasyon etkilerinin incelendiği *in vivo* çalışmanın sonuçlarına göre, tek seferlik bir uygulamadan sonra bile anlamlı derecede remineralizasyon sağlanabilmektedir. Yazarlar, anyonik peptitlerin diş sert dokularının remineralizasyonunda kullanılabilir olduğunu iddia etmektedirler.<sup>167</sup>

### **2.9.7. Amonyum heksaflorosilikat (AHF)**

Literatürde remineralizasyon ajanları arasında son dönemde popüler olan bir diğer malzeme ise AHF'dir. Yapılan az sayıdaki çalışmada, AHF'nin diş sert dokularının demineralizasyona olan direncini arttırdığı ve içeriğinde bulunan silikat sayesinde hidroksiapatit formasyonunu uyardığı bildirilmiştir.<sup>168-170</sup> Yapısına ilave edilebilen antimikrobiyal ajanlar sayesinde, kendi antimikrobiyal özelliklerinin daha da geliştirilebileceğini gösteren bir çalışma da mevcuttur.<sup>171</sup>

Diş hekimliğinde çürüklerin önlenmesi ve diş yapısının korunması hem bireysel hem de toplumsal açıdan büyük önem taşımaktadır. Çürüğün ilk safhası olan başlangıç çürük lezyonları, geri döndürülebilir özelliktedir ve piyasada bu amaçla kullanılan birçok ürün bulunmaktadır. Her ne kadar bu materyaller, remineralizasyon kapasitesileri ve antimikrobiyal etkinlik açısından değerlendirildiğinde faydalı olsalar da, materyallerin etkinliklerinin ölçmesi amacıyla kıyaslamalı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu nedenle bu tez çalışmasında, farklı içeriklere sahip remineralizasyon ajanlarının mine yüzeyinde gerçekleştirecekleri değişikliklerin mikrosertlik testi, taramalı elektron mikroskop, enerji dağılım spektroskopisi ve konfokal lazer taramalı mikroskop ile değerlendirilmesi; ayrıca mine yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası üzerine olan antimikrobiyal etkilerinin ve dental plak pH'ı üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, topikal olarak mine yüzeyine uygulanan farklı remineralizasyon ajanlarının (i) remineralizasyon kapasitelerini ve (ii) antibakteriyel etkinliklerini karşılaştırmalı olarak incelemek amacıyla *in-vitro* koşullarda gerçekleştirildi. Araştırmanın gerçekleştirilebilmesi için İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Girişimsel Olmayan İşlemler Etik Kurulu'ndan 2013-204 numaralı etik kurul onayı alındı.

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan gereçler

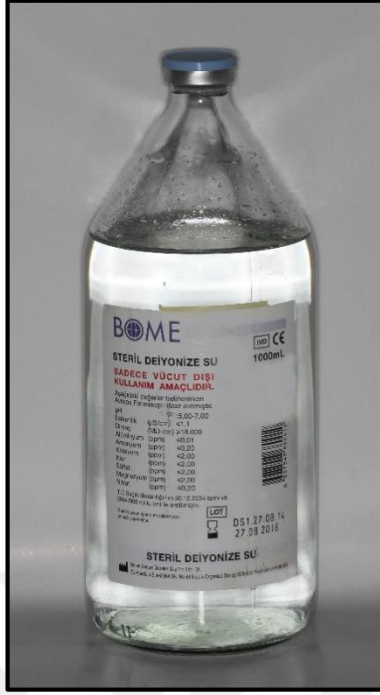
###### *Materyaller*

Remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan ajanlar Tablo 1 ve Şekil 1-6'da gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan steril deiyonize su, %1,23 asidüle fosfat florür, kendiliğinden birleşen peptitler ve %38 gümüş diamine florür hazır preparat olarak kullanılırken, amonyum heksafluorosilikat ve setilpiridinyum klorit solüsyonları laboratuvar ortamında hazırlandı. Çalışmada kullanılacak olan amonyum heksafluorosilikat solüsyonu yoğunluğunun (0.476 mmol/l) elde edilebilmesi amacı ile iki kere distile edilmiş su kullanılarak toz halindeki preparatın dilüsyonu sağlandı. Setilpiridinyum klorit ilaveli amonyum heksafluorosilikat solüsyonu ise yine aynı yoğunlukta (0.476 mmol/l) hazırlanırken, toz içeriği oranı %90 amonyumheksafluorosilikat, %10 ise setilpiridinyum klorit olarak belirlendi.



**Tablo 1: Remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan ajanlar**

Ürün Adı	İçerikleri	Marka ve Üretici Firma	Uygulama Prosedürü
<b>Steril Deiyonize Su</b>	Klor, amonyum, sülfat, magnezyum, kalsiyum, sodyum (<2 ppm)	Bome Ltd. Şti., Ankara, Türkiye	Mikrofirça aracılığıyla 4 dakika boyunca topikal olarak uygulanır.
<b>%1,23 Asidüle Fosfat Florür</b>	Sodyum florid, ortofosforik asit	Sultan Topex APF gel, Sultan Dental Products, USA	Mikrofirça aracılığıyla 4 dakika boyunca topikal olarak uygulanır.
<b>Kendiliğinden Birleşen Peptitler</b>	P <sub>11-4</sub> Peptit (amino asit)	Curodont, Credentis AG, Windisch, Switzerland	0.5 ml steril su ile karıştırılan bir damla solüsyon lezyon yüzeyine damlatılır.
<b>%38 Gümüş Diamin Florür</b>	AgFH <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	Saforide; Tokyo Seiyaku Kasei Co. Ltd., Osaka, Japan	Mikrofirça aracılığıyla 3 dakika boyunca topikal olarak uygulanır.
<b>Amonyum Heksafluorosilikat</b>	H <sub>8</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> Si	Sigma Aldrich, St. Louis, USA	Mikrofirça aracılığıyla 3 dakika boyunca topikal olarak uygulanır.
<b>Amonyum Heksafluorosilikat + Setilpiridinyum Klorür</b>	H <sub>8</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> Si + C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> CIN-H <sub>2</sub> O	Sigma Aldrich, St. Louis, USA	Mikrofirça aracılığıyla 3 dakika boyunca topikal olarak uygulanır.



Şekil 1: Steril deiyonize su



Şekil 2: Asidüle fosfat florür



Şekil 3: Gümüş diamin florür



Şekil 4: Kendiliğinden birleşen peptitler



Şekil 5: Amonyum heksafluorosilikat



Şekil 6: Setilpiridinyum klorür

Remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan solüsyonlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2: Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan solüsyonlar**

<b>Demineralizasyon Solüsyonu</b>	100 mmol/l sodyum hidroksit, 100 mmol/l laktik asit, %6 hidroksietilsellüloz, pH: 4,5; Viskozite: 100 cP
<b>Yapay Tükürük</b>	MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , KCl, kalsiyum laktat, flor, sodyum karboksimetilsellüloz, metil-4-hidroksibenzoat; pH: 7,2
<b>Rodamin B Çözeltisi</b>	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> C <sub>1</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

### *Cihazlar*

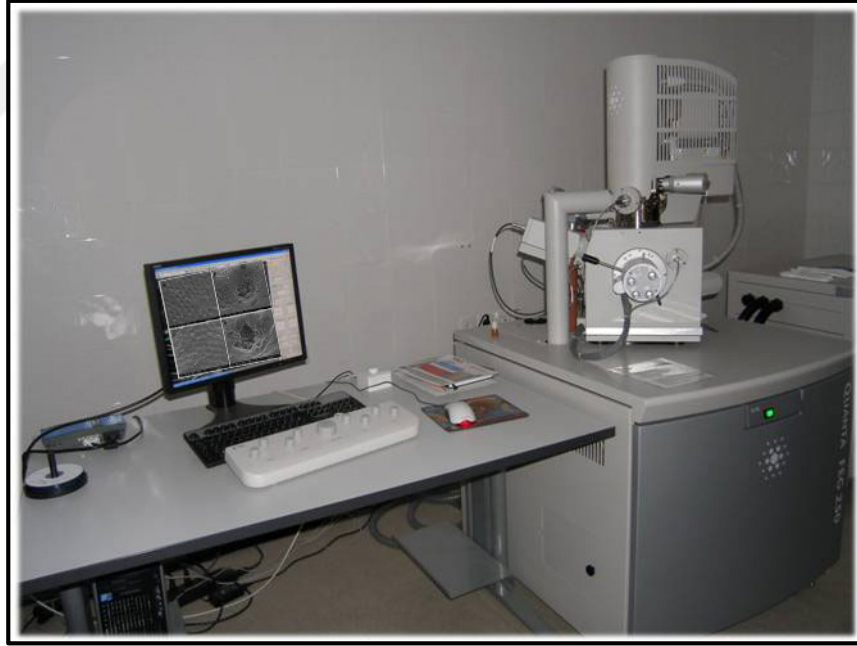
Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan cihazlar Tablo 3 ve Şekil 7-14'de gösterilmiştir.

**Tablo 3: Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan cihazlar**

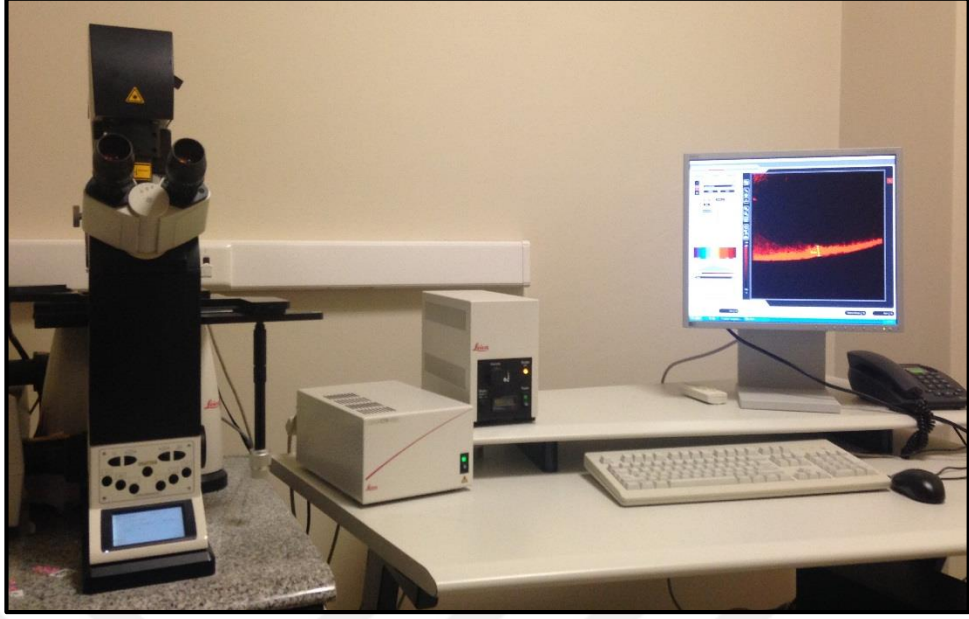
<b>Mikrosertlik Test Cihazı</b>	Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan
<b>Taramalı Elektron Mikroskobu</b>	Quanta-FEG 250, FEI Company, OR, USA
<b>Konfokal Lazer Taramalı Mikroskobu</b>	Leica TCS-SPE, Microsystems GmbH, Mannheim, Germany
<b>Hassas Kesme Cihazı</b>	Buehler Inc., Lake, Bluff, IL, USA
<b>Polisaj Cihazı</b>	PRESI Mecatech234, Tavernolles City, France
<b>Stereomikroskop</b>	Olympus SZ61, Olympus Optical Co, Tokyo, Japan
<b>Manyetik Karıştırıcı</b>	Heidolph MR Hei-Standard, Heidolph, Kehlheim, Germany
<b>Etüv</b>	EN055, NüveA.Ş., İzmir, Türkiye



Şekil 7: Çalışmada kullanılan mikrosertlik test cihazı



Şekil 8: Çalışmada kullanılan taramalı elektron mikroskobu



Şekil 9: Çalışmada kullanılan konfokal lazer taramalı mikroskop



Şekil 10: Çalışmada kullanılan hassas kesme cihazı



Şekil 11: Çalışmada kullanılan manyetik karıştırıcı



Şekil 12: Çalışmada kullanılan etüv cihazı



Şekil 13: Çalışmada kullanılan stereomikroskop



Şekil 14: Çalışmada kullanılan polisaj cihazı

### 3.1.2. Antibakteriyel etkinliklerin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan materyal ve gereçler

#### Materyaller

Antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan materyaller Tablo 4’de gösterilmiştir.

**Tablo 4: Antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan materyaller**

Ürün Adı	İçerikleri	Marka ve Üretici Firma	Uygulama Prosedürü
<b>Steril Deiyonize Su</b>	Klor, amonyum, sülfat, magnezyum, kalsiyum, sodyum (<2 ppm)	Bome Ltd. Şti., Ankara, Türkiye	Mikrofırça aracılığıyla 4 dakika boyunca topical olarak uygulanır.
<b>%1,23 Asidüle Fosfat Florür</b>	Sodyum florid, ortofosforik asit	Sultan Topex APF gel, Sultan Dental Products, USA	Mikrofırça aracılığıyla 4 dakika boyunca topical olarak uygulanır.
<b>%38 Gümüş Diamin Florür</b>	AgFH <sub>6</sub> N <sub>2</sub>	Saforide; Tokyo Seiyaku Kasei Co. Ltd., Osaka, Japan	Mikrofırça aracılığıyla 3 dakika boyunca topical olarak uygulanır.
<b>Amonyum Heksafluorosilikat</b>	H <sub>8</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> Si	Sigma Aldrich, St. Louis, USA	Mikrofırça aracılığıyla 3 dakika boyunca topical olarak uygulanır.
<b>Amonyum Heksafluorosilikat + Setilpiridinyum Klorür</b>	H <sub>8</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> Si + C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> CIN-H <sub>2</sub> O	Sigma Aldrich, St. Louis, USA	Mikrofırça aracılığıyla 3 dakika boyunca topical olarak uygulanır.
<b>% 0,2 Klorheksidin Glukonat</b>	Su, alkol, gliserin, sodyum sakkarin, klorheksidin glukonat.	Klorhex, Drogan, Ankara, Türkiye	Mikrofırça aracılığıyla 3 dakika boyunca topical olarak uygulanır.
<b>Mikroorganizma</b>	<i>StreptokokkusMutans</i> (UA159)	ATCC, Rockville, MD, USA	-
<b>Tripton Soy Broth</b>	Kazein enzimsel hidrolizati, dipotasyum hidrojen fosfat, sodyum klorid, maya ekstresi	SigmaAldrich, St. Louis, USA	-
<b>Brain Heart Infusion Agar</b>	Agar, beyin ekstresi, dekstroz, disodyum fosfat, kalp özü, proteoz pepton	Sigma Aldrich, St. Louis, USA	-



## *Cihazlar*

Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan cihazlar Tablo 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 5: Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasında kullanılan cihazlar**

Vortex Karıştırıcı	MX-F, Scilogex, San Diego, USA
Etüv	EN055, NüveA.Ş., İzmir, Türkiye
pH Metre	WTW InoLab pH/Ion7320, WTW Corp, Weilheim, Germany
Mikroelektrot	WTW Sentix Mic-d Elektrot, WTW Corp, Weilheim, Germany

### **3.2. Yöntem**

Araştırma iki aşamada ve *in-vitro* koşullarda gerçekleştirildi;

1. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi
2. Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi

#### **3.2.1. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi**

Kullanılan materyallerin başlangıç çürük lezyonlu mine dokusunda oluşturduğu değişiklikleri değerlendirmek amacıyla 3 ayrı test yöntemi uygulandı;

- a. Uygulanan tedavilerin mine dokusunun sertliği üzerinde oluşturduğu etkilerin değerlendirilebilmesi amacıyla 'Mikrosertlik Test Cihazı' kullanılarak **Vickers Mikrosertlik Testi** uygulandı.
- b. Mine dokusunda oluşturulan demineralize alanların remineralizasyonu için uygulanan 6 farklı tedavinin etkinliğini belirlemek amacıyla yüzeydeki

değişiklikler **Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)** ile değerlendirildi. Ayrıca bu alanlarda mineral düzeyinde meydana gelen değişiklikler **Enerji Dağılım Spektroskopisi (EDS)** yöntemi ile değerlendirildi.

- c. Mine dokusunda oluşturulan demineralize alanlar ile tedavi sonrasında elde edilen remineralizasyon alanlarının ortalama lezyon derinliği, lezyon alanı ve lezyon floresans değerlerine ait verileri ölçebilmek amacıyla **Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop (CLSM)** kullanıldı.

### ***Mikrosertlik Testi***

Uygulanan tedavilerin mine dokusunun sertliği üzerine olan etkilerinin değerlendirildiği mikrosertlik testi şu aşamalardan oluştu;

- Mine dokusuna ait örneklerin hazırlanması
- Demineralizasyon solüsyonunun hazırlanması ve uygulanması
- Demineralizasyon sonrası mikrosertlik ölçümleri
- Tedavi prosedürlerinin uygulanması
- Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası mikrosertlik ölçümleri

### ***Mikrosertlik analizleri için örneklerin hazırlanması***

Çalışmanın bu aşamasında; 1 aylık süre içerisinde çeşitli nedenlerle çekilmiş, çürük içermeyen insan 3. molar dişleri kullanıldı. Çekimden sonra dişler, çalışma zamanına kadar +4 °C'de distile su içerisinde bekletildi. Dişler yumuşak doku artıkları ve eklentilerden arındırılarak flor içermeyen pomza ve fırça ile temizlendi. Pomzadan arındırmak için 15 saniye yıkanıp kurutulduktan sonra bir stereomikroskop altında çürük, hipoplazi, kırık, çatlak içermediği saptanan dişler çalışmaya dâhil edildi.

Remineralizasyon kapasiteleri değerlendirilen 6 materyal için; her grupta 20 adet dişin, bukkal ve lingual yarıları kullanılacak şekilde toplam 120 diş, 240 diş yüzeyi hazırlandı (her grup için 40 adet diş yüzeyi). Bunun için öncelikle dişlerin kronları, düşük hızlı bir hassas kesme cihazı (Isomet Saw, Buechler Ltd, Evanston IL, ABD) ve çift taraflı kesen 0,3 mm kalınlığında elmas separe ile köklerinden

ayrıldı. Sonrasında dişler mezyo-distal yönde tekrar ikiye ayrılarak bukkal ve lingual yüzeyler elde edildi ve diş yüzeyleri polisaj cihazı aracılığıyla 600, 800 ve 1200 abraziv kağıt diskler ( $Al_2O_3$ ) kullanılarak zımparalandı. Zımparalama esnasında zımparalama yönü değiştirilerek bir önceki zımparanın sebep olduğu izler ortadan kaldırıldı. Elde edilen mine yüzeyleri stereomikroskop altında incelendi ve istenilen pürüzsüz yüzeyin elde edilemediği durumlarda zımparalama işlemi tekrarlandı. Daha sonra elde edilen örnekler; demineralizasyon ve remineralizasyon uygulanacak olan yüzeyleri açıkta kalacak şekilde alt ve üst kısımları birbirine paralel olan, 15 mm iç çap ve 20 mm yüksekliğe sahip kalıplar içerisine akrilik yardımıyla gömüldü (Şekil 15). Bu işlemin ardından örneklerin orta kısımlarına 4 x 4 mm'lik pencereler hazırlamak amacıyla etiketler yapıştırıldı. Etiket dışında kalan doğal diş yüzeyleri aside dirençli vernik ile kapatıldı.



Şekil 15: Mikrosertlik testi için hazırlanan örnekler

### ***Demineralizasyon solüsyonunun hazırlanması ve uygulanması***

Diş yüzeylerine uygulanan demineralizasyon ve remineralizasyon işlemlerinin mine dokusunda oluşturduğu sertlik değişimlerini değerlendirmek amacıyla örneklere yapıştırılan 4 x 4 mm'lik etiketler çıkarılarak, 240 adet örnek yüzeyinde yapay çürük lezyonu oluşturulması aşamasına geçildi. Örnekler 7 gün boyunca her bir örnek için 10 ml demineralizasyon solüsyonu içeren kapaklı numune kapları içinde bekletildi. Demineralizasyon solüsyonu 100 mmol/l sodyum hidroksit

ve 100 mmol/l laktik asit karışımı ile 4.5 pH değerinde olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan karışım içerisine %6 hidroksietilsellüloz ilave edilerek, viskozitesinin 100cp olması sağlandı.

### ***Demineralizasyon sonrası mikrosertlik ölçümleri***

Demineralizasyon sonrası mikrosertlik ölçümleri, Vickers ucu bulunan mikrosertlik analiz cihazı ile yapıldı. Mikrosertlik ölçüm cihazı üzerindeki tablaya, alt ve üst yüzeyi birbirine paralel hazırlanan örnekler, dış yüzeyleri yukarıya bakacak şekilde yerleştirildi. Vickers ucunun oluşturduğu çentiğin diagonal uzunluğu cihazın üzerinde yer alan mikroskoptaki ölçüm sistemi aracılığıyla saptanarak örneklerin Vickers sertlik değeri hesaplandı. Ölçümler, 15 saniye boyunca 200 gr kuvvet uygulaması ile yapıldı ve her örnekten 3 adet ölçüm yapılarak bu ölçümlerin ortalaması o örneğin mikrosertlik değeri olarak kaydedildi. Bu aşamada; standardizasyonu sağlamak amacıyla, mikrosertlik değerleri 180-230 aralığında olan dişler çalışmaya dahil edilirken, bu aralıkta olmayan örnekler çalışma dışı bırakıldı. Eksik örnek sayısını tamamlamak amacıyla yukarıda anlatılan basamaklar takip edilerek, yeni örnekler hazırlanıp bunların da bahsedilen sertlik aralığında olması sağlandı. Daha sonra örnekler rastgele olarak çalışma gruplarına ayrıldı (Tablo 6).

**Tablo 6: Mikrosertlik testi için çalışma gruplarının dağılımı**

<b>Materyaller</b>	<b>Süre</b>	<b>Süre</b>
	<b>7 gün</b>	<b>30 gün</b>
<b>Deiyonize Su (Kontrol)</b>	Grup 1	Grup 2
<b>Asidüle Fosfat Florür (APF)</b>	Grup 3	Grup 4
<b>Kendiliğinden birleşen peptitler (Curodont)</b>	Grup 5	Grup 6
<b>Gümüş DiaminFlorür (SDF)</b>	Grup 7	Grup 8
<b>Amonyum Heksafluorosilikat (AHF)</b>	Grup 9	Grup 10
<b>Amonyum Heksafluorosilikat+Setilpiridinyum Klorür (AHF+CPC)</b>	Grup 11	Grup 12

### ***Tedavi prosedürlerinin uygulanması***

Demineralizasyon işleminin ardından, çalışmada kullanılan materyaller, üretici firmaların önerileri doğrultusunda uygulandı. Tüm örneklerle uygulanan ajanların eşit ölçüde kullanılması amacıyla; materyallerin ağırlık cinsinden miktarları mikrofırçaya emdirilmiş materyal, fırça ile birlikte hassas terazi yardımıyla tartılarak belirlendi ve her materyalden yaklaşık 0.22 mgr kullanıldı. Kontrol grubuna ise deiyonize su uygulandı. Uygulamaların ardından her grupta örneklerin yarısı 7 gün, yarısı 30 gün boyunca yapay tükürükte 37°C etüv içerisinde bekletildi.

### ***Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası mikrosertlik ölçümleri***

Materyallerin mine dokusu üzerinde oluşturduğu sertlik değişimlerini değerlendirmek amacıyla uygulama sonrası mikrosertlik analizi yapıldı. Mikrosertlik ölçümleri demineralizasyon işlemi öncesinde yapılan mikrosertlik testiyle aynı koşullarda ve aynı basamaklar ile gerçekleştirildi. Tedavi sonrası yapılan ölçümlerin, demineralizasyon sonrası ölçümler ile aynı yerden yapılmamasına dikkat edildi.

### ***Enerji Dağılım Spektroskopisi/Taramalı Elektron Mikroskop Analizleri***

Diş yüzeylerine uygulanan demineralizasyon ve tedavi işlemlerinin mine dokusunun yüzeyinde ve dişin mineral yapısında oluşturduğu değişimleri değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen SEM-EDS analizleri şu aşamalardan oluştu;

- Mine dokusuna ait örneklerin hazırlanması
- Demineralizasyon solüsyonunun hazırlanması ve uygulanması
- Tedavi prosedürlerinin uygulanması
- SEM görüntülerinin elde edilmesi ve EDS analizlerinin gerçekleştirilmesi

### ***SEM-EDS analizleri için örnek hazırlanması***

Çalışmanın bu aşamasında; yeni çekilmiş, çürük içermeyen toplam 100 adet insan 3. molar dişi kullanıldı. Çekimden sonra dişler, çalışma zamanına kadar +4

°C’de distile su içerisinde bekletildi. Mikrosertlik testi ile aynı basamaklar uygulanarak hazırlanan ve demineralize edilen örnekler, her materyal için 20 diş olacak şekilde SEM görüntülemesi ve EDS analizi için kullanılmak üzere çalışma gruplarına ayrıldı (Tablo 7). Örneklerin bukkal yüzeyleri tedavi işleminin uygulanacağı, lingual yüzeyleri ise kontrol grubu oluşturmak amacıyla yalnızca yapay tükürük içerisinde bekletilecek örnekler olarak belirlendi. Uygulanan tedavilerin ardından, örneklerin yarısı 7 gün, diğer yarısı 30 gün boyunca yapay tükürük içerisinde bekletildi.

**Tablo 7: Enerji dağılım spektroskopisi/Taramalı elektron mikroskop analizleri için çalışma gruplarının dağılımı**

Materyaller	Süre	Süre
	7 gün	30 gün
Asidüle Fosfat Florür (APF)	Grup 1	Grup 2
Kendiliğinden birleşen peptitler (Curodont)	Grup 3	Grup 4
Gümüş DiaminFlorür (SDF)	Grup 5	Grup 6
Amonyum Heksafluorosilikat (AHF)	Grup 7	Grup 8
Amonyum Heksafluorosilikat+Setilpiridinyum Klorür (AHF+CPC)	Grup 9	Grup 10

### *SEM görüntülerinin ve EDS analizlerinin elde edilmesi*

Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine örneklerine uygulanan farklı materyallerin oluşturduğu mineral depozisyonlarının değerlendirilebilmesi amacıyla SEM görüntülemesi ve mineral içeriğindeki değişikliğin tespiti amacıyla EDS incelemesi, EDS X-ışını dedektör sisteminin bağlandığı taramalı elektron mikroskopu (Quanta-FEG 250, FEI Company, OR, USA) ile yapıldı. Bu amaçla örnekler, vakum kaplama aygıtı kullanılarak  $10^{-4}$  torr vakum altında 100 Angstrom ( $A^\circ$ ) kalınlığında altın-palladyum ile kaplandı. Kaplama işleminin ardından,

örnekler, alüminyum tablolar aracılığıyla SEM'e yerleştirildi ve 5000x, 25000x büyütmelerde 5 kV gerilim uygulanarak 10 mm çalışma mesafesinde SEM görüntüleri elde edildi. Görüntüler elde edildikten sonra, EDS-X ışını dedektörü aracılığıyla, mine yüzeyindeki Ca, P, F, O, C, Na, Mg, Ag, Si, K, Cl elementlerinin oranları yüzde cinsinden belirlendi.

### ***Konfokal Taramalı Mikroskop (CLSM) Analizleri***

Mine dokusunda oluşturulan demineralize alanlar ile tedavi sonrasında elde edilen remineralizasyon alanlarının lezyon ortalama derinliği, lezyon ortalama alanı ve lezyon floresans değerlerine ait verileri ölçebilmek amacıyla gerçekleştirilen konfokal taramalı mikroskop analizleri şu aşamalardan oluştu;

- Mine dokusuna ait örneklerin hazırlanması
- Demineralizasyon solüsyonunun hazırlanması ve uygulanması
- Tedavi prosedürlerinin uygulanması
- Konfokal taramalı mikroskop analizlerinin gerçekleştirilmesi

### ***Örneklerin hazırlanması***

Çalışmanın bu aşamasında, yeni çekilmiş, çürük içermeyen toplam 120 molar diş kullanıldı. Dişler, çalışma zamanına kadar +4°C'de distile su içerisinde bekletildi. Yumuşak doku artıkları ve eklentilerden arındırılan dişler flor içermeyen pomza ve fırça ile temizlendi. Mikrosertlik testinde anlatıldığı şekilde kesilerek hazırlanan diş örneklerinin bukkal yüzeyleri her grupta 10 adet örnek olacak şekilde gruplara ayrıldı (Tablo 8). Diş yüzeyleri polisaj cihazı aracılığıyla 600, 800 ve 1200 abraziv kağıt diskler ( $Al_2O_3$ ) kullanılarak zımparalandı.

### ***Demineralizasyon solüsyonunun hazırlanması ve uygulanması***

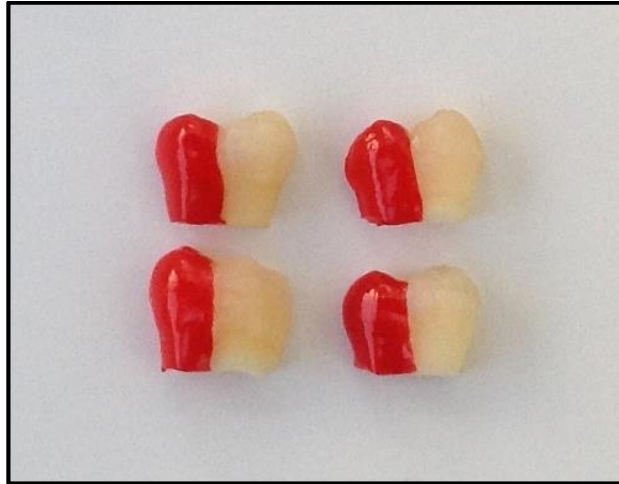
120 adet diş yüzeyinde yapay çürük lezyonu oluşturulması amacıyla örnekler mikrosertlik testinde tarif edildiği şekilde 7 gün boyunca demineralize edildi.

**Tablo 8: Konfokal taramalı mikroskop analizleri için çalışma gruplarının dağılımı**

Materyaller	Süre	Süre
	7 gün	30 gün
Deiyonize Su (Kontrol)	Grup 1	Grup 2
Asidüle Fosfat Florür (APF)	Grup 3	Grup 4
Kendiliğinden birleşen peptidler (Curodont)	Grup 5	Grup 6
Gümüş DiaminFlorür (SDF)	Grup 7	Grup 8
Amonyum Heksafluorosilikat (AHF)	Grup 9	Grup 10
Amonyum Heksafluorosilikat + Setilpiridinyum Klorür (AHF+CPC)	Grup 11	Grup 12

#### *Tedavi prosedürlerinin uygulanması*

Deminerlizasyon işleminin ardından deiyonize su ile yıkanan örneklerin bukkal yüzeylerinin mezyal yarısı, tedavi prosedürlerinin kontrol edilebilmesi amacıyla aside dirençli vernik ile kapatıldı (Şekil 16). Çalışmada kullanılan materyaller, üretici firmaların önerileri doğrultusunda başlangıç çürük lezyonu oluşturulan mine dokusu üzerine uygulandı. Uygulamanın ardından her grupta örneklerin yarısı 7 gün, yarısı 30 gün boyunca yapay tükürükte, 37°C etüv içerisinde bekletildi.



**Şekil 16:** Konfokal lazer taramalı mikroskop için hazırlanmış örneklerin görüntüsü

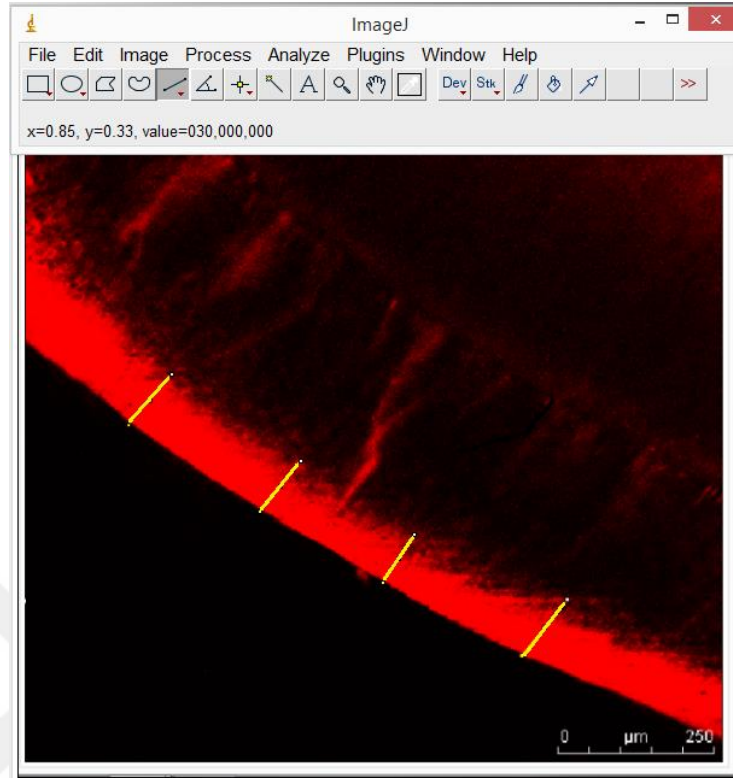


### *Konfokal taramalı mikroskop analizlerinin yapılması*

Tedavi işlemlerinin tamamlanmasının ardından, örneklerin üzerindeki aside dayanıklı cila çıkarıldı. Daha sonra örneklerin her birinden, hassas kesme cihazı yardımıyla bukkal yüzeye dik olacak şekilde mezyo-distal yönde 1 mm kalınlığında hem demineralize alanı hem de tedavi uygulanan alanı içerisine alan kesitler elde edildi. Tüm kesitler, stereomikroskop altında incelenerek mine çatlağı, kırık, yüzey defekti içerenler çalışma dışı bırakıldı ve her bir diş için en ideal kesit belirlendi. Daha sonra örnekler, 1 saat boyunca Rodamin-B solüsyonu (Şekil 17) içerisinde bekletildi, ardından deiyonize su ile yıkandı ve inceleme amacıyla konfokal lazer taramalı mikroskopun tablası üzerine yerleştirildi. Örnekler tabla üzerinde x10 büyütmede, 532 nm dalga boyuna sahip Helyum-Neon lazeri ile taratılarak hem demineralize, hem de remineralize alanların görüntüsü elde edildi. Elde edilen görüntüler bir bilgisayara aktarıldı ve ImageJ (Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD) fotoğraf analiz programı aracılığıyla derinlik ölçümü, lezyon alan analizi ve floresans değişimi açısından değerlendirilerek veriler kaydedildi (Şekil 18-20). Bu amaçla lezyon alanı ile derinliği için programın seçim aracı kullanılarak incelenmek istenen lezyon bölgeleri işaretlendi ve cetvel yardımı ile ölçümler otomatik olarak kayıt edildi. Lezyon floresans analizi için ise aktarılan resimler otomatik olarak programın floresans ölçümü için özelleştirilmiş seçim aracı ile yapıldı ve veriler kaydedildi. Her bir örnek için ölçümler beş kere tekrarlandı.

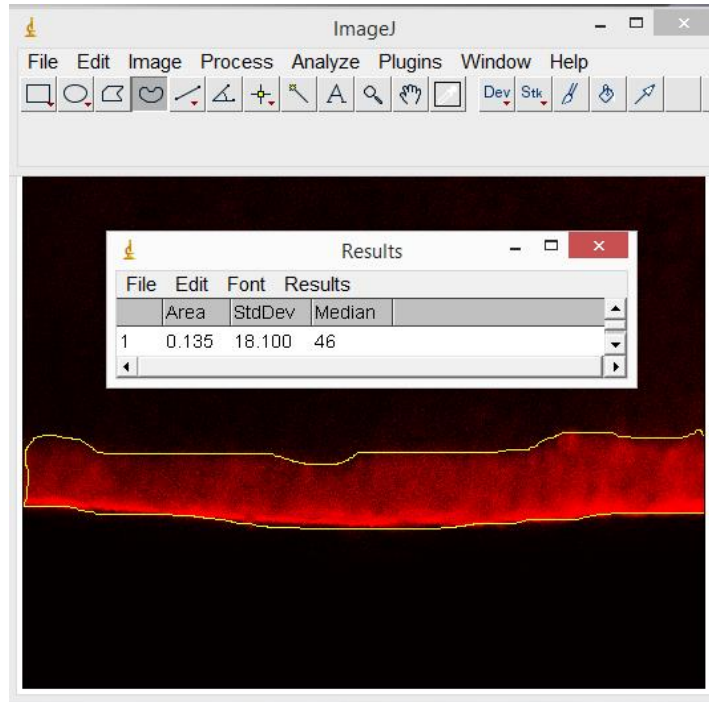


**Şekil 17:** Çalışmada kullanılan Rodamin-B solüsyonu

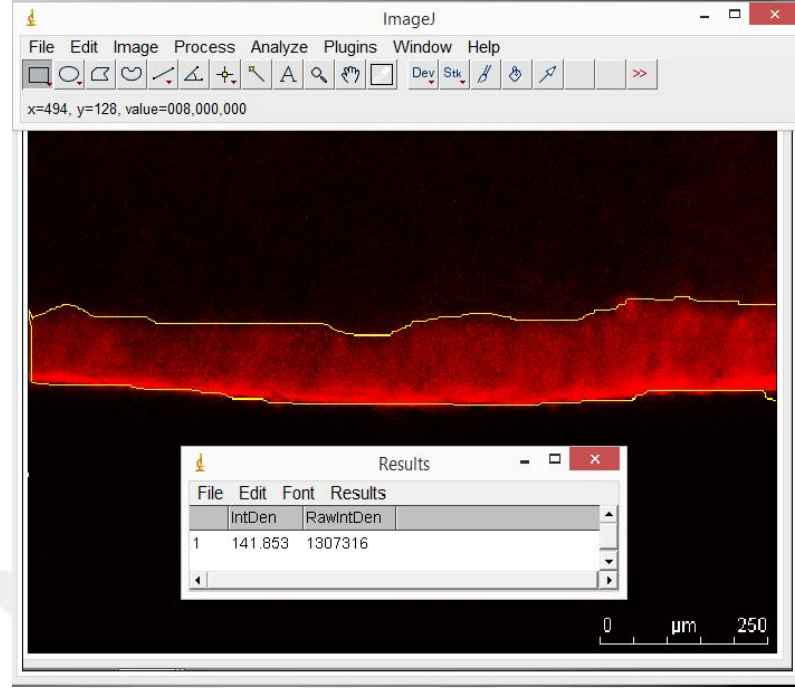


**Şekil 18:** Fotoğraf analiz programı aracılığı ile lezyon derinlik verilerinin elde edilmesi

\*Sarı çizgiler lezyon derinliklerini ölçmek amacıyla kullanılmıştır.



**Şekil 19:** Fotoğraf analiz programı aracılığı ile lezyon alan analizi verilerinin elde edilmesi



Şekil 20: Fotoğraf analiz programı aracılığı ile lezyon floresans değişimine ait verilerin elde edilmesi

### 3.2.2. Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi

Çalışmada, ajanların antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirmesi aşaması 2 ayrı basamakta gerçekleştirilmiştir;

- Çalışmada kullanılan farklı içerikli ajanların antibakteriyel kapasitelerini değerlendirmek amacıyla, oluşturulan *S. mutans* biyofilm çürük modeli üzerine materyallerin uygulanmasının ardından biyofilmde yaşayan canlı bakteri sayısının değerlendirilmesi
- Oluşturulan *S. mutans* biyofilm çürük modelinin oluşumu esnasında ve üzerine materyallerin uygulanmasının ardından plak pH'ında oluşan değişikliklerin değerlendirilmesi.

Bu basamaklar şu aşamalar ile gerçekleştirildi.

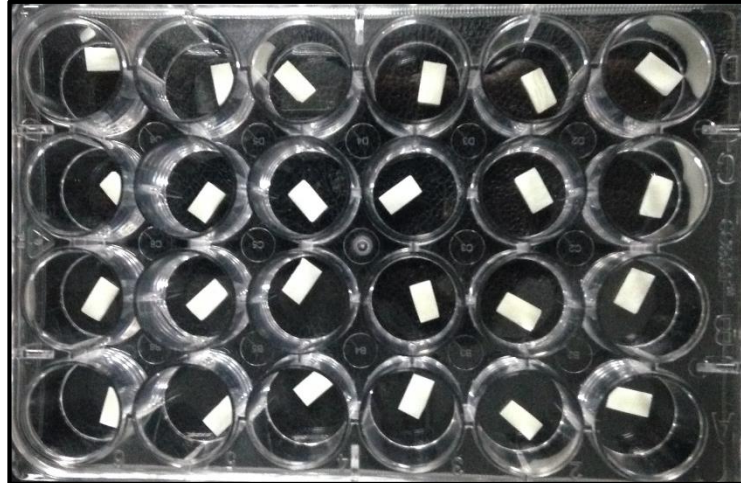
- Mine dokusuna ait örneklerin hazırlanması
- Kazanılmış pelikül tabakasının oluşturulması
- Örnekler üzerinde biyofilm oluşturulması
- Antibakteriyel materyallerin uygulanması
- Plaktaki pH değişimlerinin değerlendirilmesi
- Plakta yaşayan bakteri sayısının değerlendirilmesi

### ***Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi amacıyla örnek hazırlanması***

Çalışmada kullanılan materyallerin antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek amacıyla her grupta 8 adet örnek olacak şekilde toplam 48 adet, hipoplazi, çürük, kırık içermeyen yeni çekilmiş sığır kesici dişi kullanıldı. Çekimden sonra dişler, çalışma zamanına kadar +4 °C’de distile su içerisinde bekletildi. Dişler yumuşak doku artıkları ve eklemlerden arındırılarak flor içermeyen pomza ve fırça ile temizlendi. Sığır kesici dişlerinin kron kısımları köklerinden ayrıldı ve hassas kesme cihazı kullanılarak dişlerin bukkal yüzeylerinden 7 x 4 x 1 mm boyutlarında mine blokları elde edildi. Çalışmaya dahil edilen mine blokları 600-, 800-, 1200 gritlik abrazyv kağıt diskler kullanılarak zımparalandı.

### ***Kazanılmış pellik tabakasının oluşturulması***

Hazırlanan mine örnekleri, 24 hücreli plakalara yerleştirilerek etilen oksit ile sterilize edildi (Şekil 21). Örnekler, kazanılmış pellik tabakasının oluşturabilmesi amacıyla daha önce otoklavda sterilize edilmiş olan yapay tükürük solüsyonu içerisine yerleştirildi ve 30 dakika boyunca bir karıştırıcı içerisinde (37°C, 60 rpm) bırakıldı.



**Şekil 21:** 24 hücreli plakalara yerleştirilerek sterilize edilen mine örnekleri

### ***Hazırlanan mine örnekleri üzerinde biyofilm oluşturulması***

Çalışmada kullanılan mikroorganizma, (*S. mutans* UA159), %1 glikoz içeren Trypton Soy Broth (Şekil 22) içinde % 5 CO<sub>2</sub> li ortamda 37°C’de inkübatörde 24 saat bekletilerek kültürleri hazırlandı (Şekil 23).



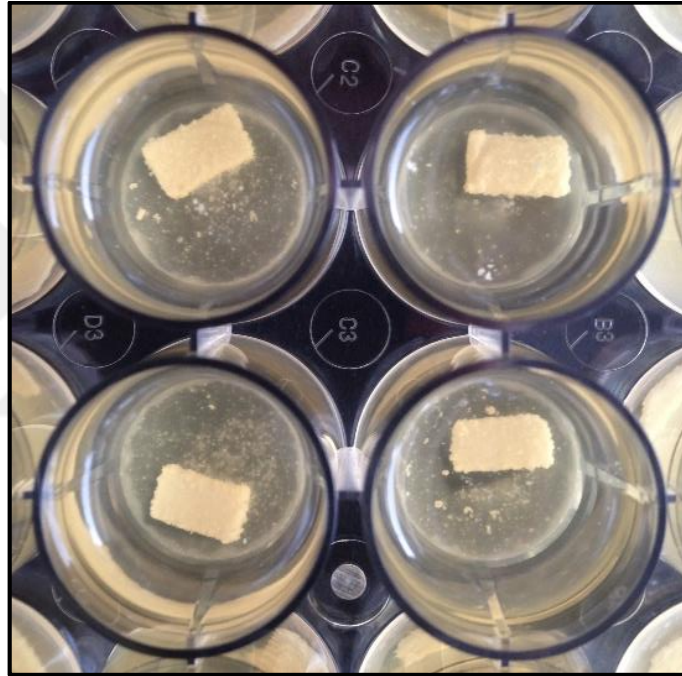
**Şekil 22:** Çalışmada kullanılan Trypton Soy Broth besiyeri



**Şekil 23:** Biyofilm oluşturulan mine örneklerinin bekletildiği etüv cihazı

Kültürleri elde edilen mikroorganizmalardan, çalışmada kullanılacak sayıda mikroorganizma elde edilebilmesi amacıyla, %1 glikoz içeren 50 ml miktarında Trypton Soy Broth besiyeri hazırlandı. Mikroorganizmalardan hazırlanan besiyerine

aşılama işlemi yapılarak 37°C’de %5 CO<sub>2</sub>’li ortamda 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon periyodunun ardından, optik densitede, 600 nm dalga boyunda, absorbans değeri 1.5 olarak ölçülen mevcut kültürden 2 ml alınarak, sterilize edilen mine örnekleri üzerine ekildi ve % 5 CO<sub>2</sub>’li ortamda 37°C’de 24 saat inkübe edildi. 24 saat inkübasyon periyodunun ardından, örnekler, günde 8 defa (saat 8.30-10.00-11.30-13.00-14.30-16.00-17.30-19.00) % 10 sukroz içeren besiyerine bir dakika süre ile yerleştirildi ve 1 dakika sonra %1 glikoz içeren Trypton Soy Broth besiyerine geri alındı (Şekil 24). Gün içerisinde, ilk ve son sukroz uygulamasının ardından besiyeri, toplamda 2 kere yenisiyle değiştirildi. Bu işleme 7 gün süresince devam edildi.

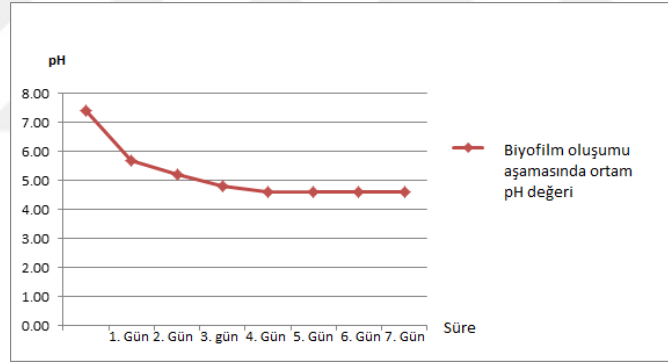


**Şekil 24:** Biyofilm oluşum aşaması

Biyofilm oluşum aşamasında, mine örneklerinin bulunduğu ortamın pH değeri bir pH metre (WTW InoLab pH/Ion7320, WTW Corp, Weilheim, Germany) ve mikroelektrot (WTW Sentix Mic-d Electrode, WTW Corp, Weilheim, Germany) aracılığı ile ölçülerek, ortam pH’ındaki değişiklikler kaydedildi (Şekil 25). Ölçümler, 7 gün süresince sabah 08.30 ve akşam 19.00’da olmak üzere günde iki kere, besiyerleri yenisi ile değiştirilmeden hemen önce gerçekleştirildi ve böylece biyofilmin içerisindeki mikroorganizmaların asidojenitesinin belirlenmesi sağlandı (Şekil 26). Yedi günün sonunda yeterli asidojeniteye ulaştığı düşünülen biyofilm üzerine tedavi işlemlerinin uygulanması aşamasına geçildi.



Şekil 25: pH metre ve mikroelektrot aracılığıyla örneklerin pH değerlerinin ölçülmesi



Şekil 26: Biyofilm oluşum aşamasında örneklerin bulunduğu ortam pH seviyesi

### ***Tedavi prosedürlerinin uygulanması***

Mine örnekleri üzerinde biyofilm oluşumu amacıyla gerçekleştirilen 7 günlük periyodun ardından, antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilecek olan materyaller, her grupta 8 adet mine örneği olacak şekilde üretici firmaların önerileri doğrultusunda uygulandı. Materyallerin uygulanmasının ardından, artık kalmaması amacıyla örnekler 1 dakika boyunca deiyonize su ile yıkandı. Uygulamanın ardından; mine örnekleri, materyallerin dental plak üzerine olan etkinliklerinin gözlenebilmesi için 2 gün boyunca 37 derecede %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübe edildi.

### ***Plak pH'ındaki değişimin değerlendirilmesi***

İki gün inkübasyon periyodunun ardından, antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilen materyallerin dental plak pH'ına olan etkilerini değerlendirmek amacıyla, örneklerin bulunduğu ortamın pH'ı bir pH metre ve mikroelektrot yardımıyla ölçüldü bir kere ölçüldü ve kayıt edildi.

### ***Plakta yaşayan bakteri sayısının değerlendirilmesi***

Mine yüzeyinde oluşturulmuş biyofilm üzerine uygulanan farklı ajanların antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek amacıyla öncelikle, mine örnekleri üzerinde oluşturulan biyofilm tabakası örneklerden ayrıldı. Bu amaçla örnekler ilk olarak 3 kere 1 ml % 0.9 NaCl ile yıkandı ve ardından 9 ml % 0.9 NaCl içeren steril cam tüpleri içerisine yerleştirildi. Tüpler, bir vorteks karıştırıcıya (Şekil 27) aktarılarak biyofilmin dış yüzeylerinden ayrılması sağlandı.

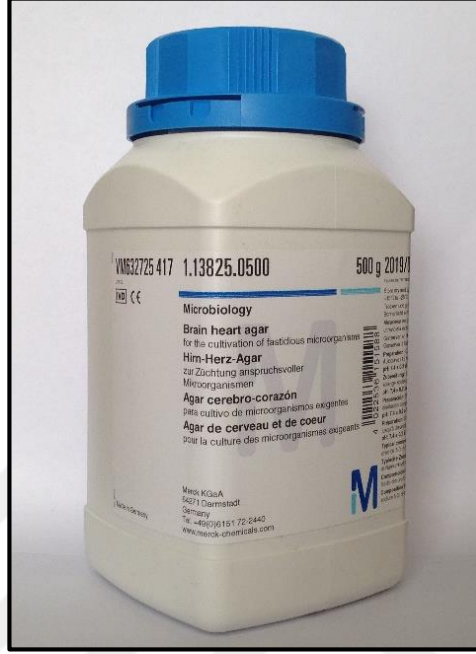


**Şekil 27:** Çalışmada kullanılan Vortex cihazı

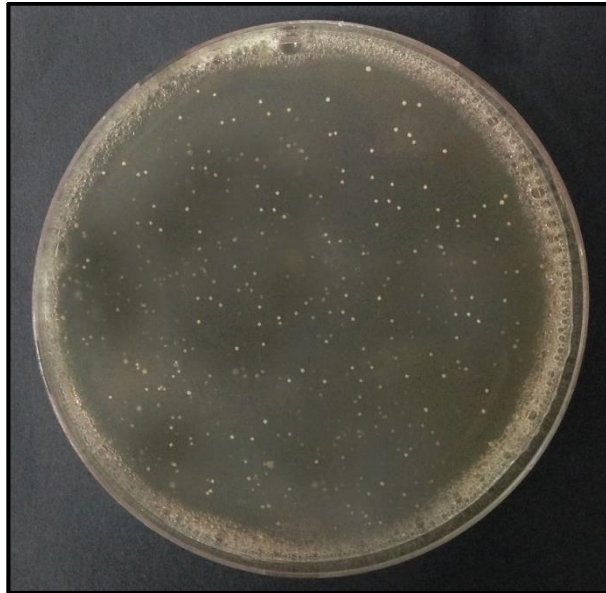
Bu amaçla her bir örneğin bulunduğu cam tüp, 3 defa 15 saniye süre boyunca karıştırıcıda tutuldu. Elde edilen süspansiyon üzerinden biyofilm değerlendirmesi yapabilmek amacıyla, 10 kat seyreltme işlemi ( $0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  ve  $10^{-8}$ ) gerçekleştirildi. Biyofilm süspansiyonları dilüe edildikten sonra, her



süspansiyondan 1 ml alınarak, 9 cm'lik Brain Heart Infussion Agar (Şekil 28) içeren peletler içerisine (Şekil 29) ekim yapıldı ve 48 saat 37°C, %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübe edildi.



Şekil 28: Çalışmada kullanılan besiyeri



Şekil 29: Biyofilm süspansiyonu ekilen pelet örneği

Bu süre sonunda; besiyeri yüzeyinde oluşan koloniler sayılarak (Şekil 29), sulandırma oranı ve ekim miktarı ile orantılı olarak (Tespit edilen koloni sayısı/Sulandırma oranı x ekim miktarı) her bir diş bloğu üzerinde canlı kalan mikroorganizma sayısı belirlendi ve kaydedildi.

### **3.3. İstatistiksel Değerlendirme**

Araştırmanın istatistiksel değerlendirmeleri İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Ana Bilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Verilerin değerlendirilmesi için istatistik paket programı (SPSS, Versiyon 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanıldı. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Varyansların homojenliği ise Levene testiyle incelendi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma olarak gösterildi. Değerlendirmeler için istatistiksel önem aralığı  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

#### **3.3.1. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasına ait istatistiksel değerlendirmeler**

Çalışmada kullanılan örneklerin tedavi prosedürleri öncesi ve sonrası mikrosertlik değerleri ile grupların kendi içerisindeki 7 ve 30 günlük tedavi sonuçlarının analizleri eşleştirilmiş örnekler t testi ile gerçekleştirilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırması ise MANOVA ve Tukey testleri ile yapılmıştır. Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi sonucu her bir grup için elde edilen, yapay tükürükte bekletilen kontrol yüzeyleri ile tedavi prosedürleri uygulandıktan sonra yapay tükürükte bekletilen yüzeylerin Ca, P, F içerikleri ile Ca/P oranlarının karşılaştırılması Wilcoxon Signed-Rank testi aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Her bir grup için  $\Delta Ca$ ,  $\Delta P$ ,  $\Delta F$  ve  $\Delta Ca/P$  değerlerine ait 7 ve 30 günlük sonuçlar Wilcoxon signed rank test ve two-related samples analizleri ile kıyaslanmıştır. Çoklu grup kıyaslamaları MANOVA ve Tukey testleri ile gerçekleştirilmiştir. CLSM görüntülemesi ile demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon derinliği, lezyon alanı ve lezyon floresans değişimine ait değerler ile her bir grup için  $\Delta L$ ,  $\Delta LA$ , ve  $\Delta F$  değerlerine ait 7 ve 30

günlük sonuçlar eşleştirilmiş örnekler t testi aracılığıyla kıyaslanmıştır. Çoklu grup kıyaslamaları MANOVA ve Tukey testleri ile gerçekleştirilmiştir.

### ***3.3.2. Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasına ait istatistiksel değerlendirmeler***

Çalışmada kullanılan test materyallerinin oluşturulan *S. mutans* biyofilm tabakası üzerine uygulanmalarının ardından biyofilm üzerinde yaşayan canlı bakteri sayıları ve plak pH'ı üzerine etkilerinin gruplararası kıyaslamaları tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi ile gerçekleştirilmiştir.



#### **4. BULGULAR**

Çalışmadan elde edilen bulgular;

1. Farklı materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular

- Mikrosertlik testine ait bulgular
- Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi değerlendirmelerine ve taramalı elektron mikroskop görüntülemesine ait bulgular
- Konfokal lazer taramalı mikroskop testine ait bulgular

2. Farklı remineralizasyon materyallerinin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular

başlıkları altında değerlendirildi.

#### **4.1. Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi Aşamasına Ait Bulgular**

##### **4.1.1. Mikrosertlik testine ait bulgular**

Yapılan mikrosertlik ölçümleri sonucunda demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası (7 ve 30 gün) elde edilen mikrosertlik (ortalama ve standart sapma) değerleri Tablo 9'da gösterilmiştir.

Eşleştirilmiş örneklem t testi (paired sample t test) bulgularına göre, demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası (7 ve 30 gün) elde edilen mikrosertlik değerleri arasındaki farkın tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası mikrosertlik değerlerinde artış meydana geldiği saptandı ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 9:** Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama mikrosertlik değerlerine ait veriler

		Tedavi			<i>p</i> değeri
		Demineralizasyon Sonrası	Prosedürlerinin Uygulanması Sonrası	$\Delta$ VHN	
		Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	
<b>7 Gün</b>	Kontrol	199,7 (23,6)	210,5 (19,93)	10,80 (7,42)	<b>0,000*</b>
	APF	199,80 (17,16)	232,65 (13,55)	32,85 (13,50)	<b>0,000*</b>
	Curodont	191,10 (12,84)	204,05 (11,22)	12,95 (6,41)	<b>0,000*</b>
	SDF	196 (15,79)	215,35 (17,35)	19,35 (8,34)	<b>0,000*</b>
	AHF	193,15 (21,62)	224,55 (18,87)	31,40 (23,20)	<b>0,000*</b>
	AHF+CPC	191,25 (17,85)	213,60 (16,05)	22,35 (10,51)	<b>0,000*</b>
<b>30 gün</b>	Kontrol	197,55 (16,36)	213,75 (15,46)	16,20 (10,56)	<b>0,000*</b>
	APF	195,65 (16,77)	238,15 (10,87)	42,50 (16,17)	<b>0,000*</b>
	Curodont	189,25 (22,14)	235,1 (18,19)	45,85 (18,00)	<b>0,000*</b>
	SDF	192,75 (17,55)	218,85 (13,92)	26,10 (14,37)	<b>0,000*</b>
	AHF	193,95 (21,36)	233,15 (15,64)	39,20 (22,90)	<b>0,000*</b>
	AHF+CPC	198,95 (22,00)	227,05 (22,70)	28,10 (24,50)	<b>0,000*</b>

Demineralizasyon işlemi sonrası elde edilen ortalama mikrosertlik değerleri ile tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası (7 ve 30 gün) elde edilen mikrosertlik değerlerine ait farkların ( $\Delta$ VHN) ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

**Tablo 10:** Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen mikrosertlik farklarına ait veriler

Gruplar	$\Delta$ VHN	
	7 Gün	30 Gün
	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)
<b>Kontrol</b>	10,80 <sup>A,a</sup> (7,42)	16,20 <sup>A,a</sup> (10,56)
<b>APF</b>	32,85 <sup>A,b</sup> (13,50)	42,50 <sup>B,b,d</sup> (16,17)
<b>Curodont</b>	12,95 <sup>A,a</sup> (6,41)	45,85 <sup>B,b</sup> (18,00)
<b>SDF</b>	19,35 <sup>A,a,c</sup> (8,34)	26,10 <sup>A,a,d</sup> (14,37)
<b>AHF</b>	31,40 <sup>A,b,c</sup> (23,20)	39,20 <sup>A,b,d</sup> (22,90)
<b>AHF+CPC</b>	22,35 <sup>A,a,b</sup> (10,51)	28,10 <sup>A,a,d</sup> (24,50)

\*Büyük harfler tedavi süreleri arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

\*Küçük harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası (7 ve 30 gün) elde edilen  $\Delta$ VHN değerlerini kıyaslamak amacı ile gerçekleştirilen tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA) ve Tukey testi sonuçlarına göre, materyaller kendi içerisinde iki farkı tedavi periyodu açısından kıyaslandığında, APF ve Curodont grupları için istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur. Kontrol grubu, SDF, AHF ve AHF+CPC grupları için ise bu fark anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

7 günlük tedavi süresi sonrası elde edilen  $\Delta VHN$  değerleri gruplar arasında kıyaslandığında, en yüksek artış APF ve AHF gruplarında gözlenirken, bu fark kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

30 günlük tedavi süresi sonrası elde edilen  $\Delta VHN$  değerleri gruplar arasında kıyaslandığında ise, mikrosertlik değerlerindeki artış şu şekilde sıralanmıştır: Curodont > APF > AHF > AHF+CPC > SDF > Kontrol. Curodont, APF ve AHF gruplarında mikrosertlik değerlerinde görülen artış, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). SDF ve AHF+CPC gruplarında gözlenen artış ise, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

#### ***4.1.2. Enerji dağılım spektroskopisi ve taramalı elektron mikroskop testlerine ait bulgular***

##### ***Enerji dağılım spektroskopisine ait bulgular***

Çalışmanın bu aşamasında enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testine ait bulgular;

- Örneklerin Ca içeriklerinin belirlenmesine ait bulgular
  - Örneklerin P içeriklerinin belirlenmesine ait bulgular
  - Örneklerin F içeriklerinin belirlenmesine ait bulgular
  - Örneklerin Ca/P oranlarının belirlenmesine ait bulgular
- şeklinde değerlendirildi.

Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopi analizlerine göre; her bir grup için, yapay tükürükte bekletilen kontrol yüzeyleri ile tedavi prosedürleri uygulandıktan sonra yapay tükürükte bekletilen yüzeylerin Ca içeriklerinin ortalama ve standart sapma değerleri (% , ağırlıkça) Tablo 11’de gösterilmiştir.

Wilcoxon signed rank testi analizlerine dayalı 7 günlük tedavi prosedürlerinin sonuçları değerlendirildiğinde, yapay tükürükte bekletilen yüzeylere kıyasla, tedavi uygulanan yüzeylerde; tüm gruplarda Ca değerlerinde artış gözlenirken; bu fark yalnızca AHF grubu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). 30

günlük tedavi prosedürlerinin sonuçları değerlendirildiğinde ise, elde edilen ortalama Ca değerlerinin, yalnızca yapay tükürükte bekletilen yüzeylere kıyasla tüm tedavi gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 11:** Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopi testinden elde edilen Ca değerlerine ait veriler (%)

Gruplar	Yapay Tükürük	Tedavi + Yapay Tükürük	$\Delta$ Ca	<i>p</i> <i>değeri</i>	
	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)		
7 Gün	APF	27,45 (0,71)	28,27 (0,64)	0,83 (0,81)	0,508
	Curodont	26,48 (1,76)	28,02 (1,54)	1,56 (0,88)	0,059
	SDF	25,26 (2,38)	26,05 (4,24)	0,79 (1,01)	0,285
	AHF	27,88 (2,23)	30,86 (2,62)	2,98 (0,97)	<b>0,022*</b>
	AHF+CPC	26,84 (1,16)	28,13 (2,87)	1,29 (1,26)	0,374
30 Gün	APF	26,54 (1,79)	29,85 (2,17)	3,31 (0,86)	<b>0,013*</b>
	Curodont	25,36 (1,45)	28,22 (0,97)	2,96 (1,07)	<b>0,009*</b>
	SDF	27,55 (2,22)	29,92 (2,03)	2,36 (0,91)	<b>0,037*</b>
	AHF	26,54 (2,21)	29,56 (2,95)	3,02 (40,90)	<b>0,047*</b>
	AHF+CPC	28,25 (1,76)	30,26 (1,46)	2,02 (0,78)	<b>0,028*</b>

Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopi analizlerine göre; her bir grup için, yapay tükürükte bekletilen kontrol yüzeyleri ile tedavi prosedürleri uygulandıktan sonra yapay tükürükte bekletilen yüzeylerin P içeriklerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 12’de gösterilmiştir.

7 ve 30 günlük tedavi prosedürleri sonucu mine yüzeyindeki P içeriğinin APF/7gün, SDF/7 gün ve AHF+CPC/30 gün gruplarında azaldığı, diğer tüm gruplarda arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte yapay tükürükte bekletilen kontrol



yüzeyleri ile tedavi prosedürleri uygulanan yüzeyler arasındaki fark yalnızca AHF/7 gün grubu için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 12:** Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testinden elde edilen P değerlerine ait veriler (%)

Gruplar	Yapay Tükürük	Tedavi + Yapay Tükürük	Fark $\Delta P$	$p$ değeri	
	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)		
7 Gün	APF	15,28 (0,11)	14,76 (0,98)	<b>-0,52</b> <b>(0,72)</b>	0,086
	Curodont	14,96 (0,69)	15,16 (0,69)	0,20 (0,18)	0,314
	SDF	13,96 (1,17)	13,68 (2,68)	<b>-0,28</b> <b>(0,85)</b>	0,919
	AHF	15,23 (0,98)	16,08 (0,71)	0,85 (0,44)	<b>0,028*</b>
	AHF+CPC	15,00 (0,58)	15,11 (1,02)	0,11 (0,11)	0,859
30 Gün	APF	15,08 (0,91)	15,57 (1,06)	0,49 (0,41)	0,314
	Curodont	14,64 (0,68)	15,14 (0,58)	0,50 (0,41)	0,169
	SDF	15,24 (1,02)	15,79 (0,63)	0,55 (0,56)	0,208
	AHF	14,94 (1,05)	15,36 (1,10)	0,42 (0,93)	0,445
	AHF+CPC	15,48 (0,71)	15,42 (0,78)	<b>-0,06</b> <b>(0,61)</b>	0,721

Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi analizlerine göre; her bir grup için, yapay tükürükte bekletilen kontrol yüzeyleri ile tedavi prosedürleri uygulandıktan sonra yapay tükürükte bekletilen yüzeylerin F içeriklerinin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 13'de gösterilmiştir.

7 ve 30 günlük tedavi prosedürleri sonucu mine dokusunun F içeriğindeki değişimler değerlendirildiğinde; Curodont/30gün, SDF/30 gün, AHF/7 gün ve AHF+CPC/30 gün gruplarında, yalnızca yapay tükürükte bekletilen yüzeylere kıyasla, tedavi gruplarında yüzeylerin F içeriğinde azalma olduğu, diğer gruplarda

ise arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte yalnızca AHF/30 gün grubundaki F artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 13:** Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testinden elde edilen F değerlerine ait veriler (%)

		Yapay Tükürük	Tedavi + Yapay Tükürük	$\Delta F$	$p$ değeri
		Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	
7 Gün	APF	0,45 (0,20)	0,50 (0,22)	0,05 (0,16)	0,594
	Curodont	0,69 (0,31)	0,84 (0,35)	0,15 (0,19)	0,359
	SDF	0,62 (0,30)	0,68 (0,42)	0,06 (0,27)	0,799
	AHF	0,77 (0,38)	0,62 (0,18)	<b>-0,15</b> <b>(0,21)</b>	0,575
	AHF+CPC	0,71 (0,25)	0,81 (0,25)	0,10 (0,31)	0,374
30 Gün	APF	0,57 (0,31)	0,66 (0,21)	0,09 (0,16)	0,286
	Curodont	0,53 (0,16)	0,44 (0,15)	<b>-0,09</b> <b>(0,14)</b>	0,169
	SDF	0,77 (0,28)	0,67 (0,21)	<b>-0,10</b> <b>(0,14)</b>	0,161
	AHF	0,61 (0,30)	0,91 (0,30)	0,30 (0,20)	<b>0,047*</b>
	AHF+CPC	0,88 (0,20)	0,78 (0,34)	<b>-0,10</b> <b>(0,28)</b>	0,445

Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopi analizlerine göre; her bir grup için, yapay tükürükte bekletilen kontrol yüzeyleri ile tedavi prosedürleri uygulandıktan sonra yapay tükürükte bekletilen yüzeylerin Ca/P oranlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 14’de gösterilmiştir.

Buna göre, 7 ve 30 günlük tedavi prosedürleri sonrası elde edilen Ca/P oranları; yalnızca yapay tükürükte bekletilen kontrol yüzeyleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 14:** Enerji dağılımlı x-ışınları spektroskopisi testinden elde edilen Ca/P oranlarına ait veriler (%)

		Yapay Tükürük	Tedavi + Yapay Tükürük	$\Delta$ Ca/P	
		Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	<i>p</i> değeri
7 Gün	APF	1,79 (0,04)	1,92 (0,11)	0,12 (0,04)	<b>0,007*</b>
	Curodont	1,76 (0,31)	1,85 (0,03)	0,08 (0,05)	<b>0,008*</b>
	SDF	1,81 (0,04)	1,92 (0,09)	0,11 (0,10)	<b>0,013*</b>
	AHF	1,83 (0,04)	1,92 (0,10)	0,09 (0,07)	<b>0,028*</b>
	AHF+CPC	1,79 (0,04)	1,86 (0,11)	0,07 (0,08)	<b>0,050*</b>
30 Gün	APF	1,76 (0,02)	1,91 (0,07)	0,15 (0,05)	<b>0,005*</b>
	Curodont	1,73 (0,07)	1,86 (0,05)	0,13 (0,04)	<b>0,005*</b>
	SDF	1,81 (0,04)	1,90 (0,05)	0,09 (0,05)	<b>0,008*</b>
	AHF	1,78 (0,03)	1,92 (0,07)	0,15 (0,06)	<b>0,005*</b>
	AHF+CPC	1,82 (0,04)	1,96 (0,05)	0,13 (0,06)	<b>0,007*</b>

Yapılan elemental içerik analizi sonucunda yapay tükürükte bekletilen yüzeyler ile tedavi prosedürleri uygulandıktan sonra yapay tükürükte bekletilen örneklerden (7 ve 30 gün) elde edilen ortalama Ca, P, F iyon değerleri ve Ca/P oranlarına ait farkların ( $\Delta$ Ca,  $\Delta$ P,  $\Delta$ F,  $\Delta$ Ca/P) ortalama ve standart sapma değerleri ve grup içi karşılaştırmaları Tablo 15’de gösterilmiştir.

Wilcoxon signed rank test ve two-related samples analizlerine göre her bir grup için 7 ve 30 günlük sonuçlar kıyaslandığında;  $\Delta$ Ca,  $\Delta$ P,  $\Delta$ Ca/P değerleri için istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).  $\Delta$ F değeri için ise, yalnızca

Curodont grubu için istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenirken ( $p < 0.05$ ), diğer gruplar için oluşan fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 15:** Mine dokusu yüzeyinde materyallerin uygulanması sonrası 7. ve 30. günde oluşan elemental içerik farklarının grup içi karşılaştırması

Gruplar	$\Delta\text{Ca}$			$\Delta\text{P}$			$\Delta\text{F}$			$\Delta\text{Ca/P}$		
	7 Gün	30 Gün	<i>p</i>	7 Gün	30 Gün	<i>p</i>	7 Gün	30 Gün	<i>p</i>	7 Gün	30 Gün	<i>p</i>
<b>APF</b>	0,83 (0,81)	3,31 (0,87)	0,059	-0,52 (0,72)	0,49 (0,41)	0,074	0,05 (0,16)	0,09 (0,16)	0,878	0,12 (0,04)	0,15 (0,05)	0,358
<b>Curodont</b>	1,56 (0,88)	2,96 (1,07)	0,139	0,20 (0,18)	0,50 (0,41)	0,610	0,15 (0,19)	-0,09 (0,14)	<b>0,037*</b>	0,08 (0,05)	0,13 (0,04)	0,305
<b>SDF</b>	0,79 (1,01)	2,36 (0,91)	0,721	0,28 (0,85)	0,55 (0,56)	0,799	0,06 (0,27)	-0,10 (0,14)	0,386	0,11 (0,10)	0,09 (0,05)	0,575
<b>AHF</b>	2,98 (0,97)	3,02 (0,90)	0,878	0,85 (0,44)	0,42 (0,93)	0,241	-0,15 (0,21)	0,30 (0,20)	0,114	0,09 (0,07)	0,15 (0,06)	0,092
<b>AHF+CPC</b>	1,29 (1,26)	2,02 (0,78)	0,575	0,11 (0,11)	0,06 (0,61)	0,799	0,10 (0,31)	-0,10 (0,28)	0,169	0,07 (0,08)	0,13 (0,06)	0,202

Yapılan elemental içerik analizi sonucunda  $\Delta\text{Ca}$ ,  $\Delta\text{P}$ ,  $\Delta\text{F}$ ,  $\Delta\text{Ca/P}$  değerlerinin 7 ve 30 günlük sonuçlarının gruplar arası karşılaştırması Tablo 16'da gösterilmektedir.

MANOVA ve Tukey testi bulgularına göre, 7 ve 30 günlük tedavi periyotlarının elemental içerik üzerine etkileri gruplar arasında kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 16:** Mine dokusu yüzeyinde materyallerin uygulanması sonrası 7. ve 30. günde oluşan elemental farklılıkların karşılaştırılması

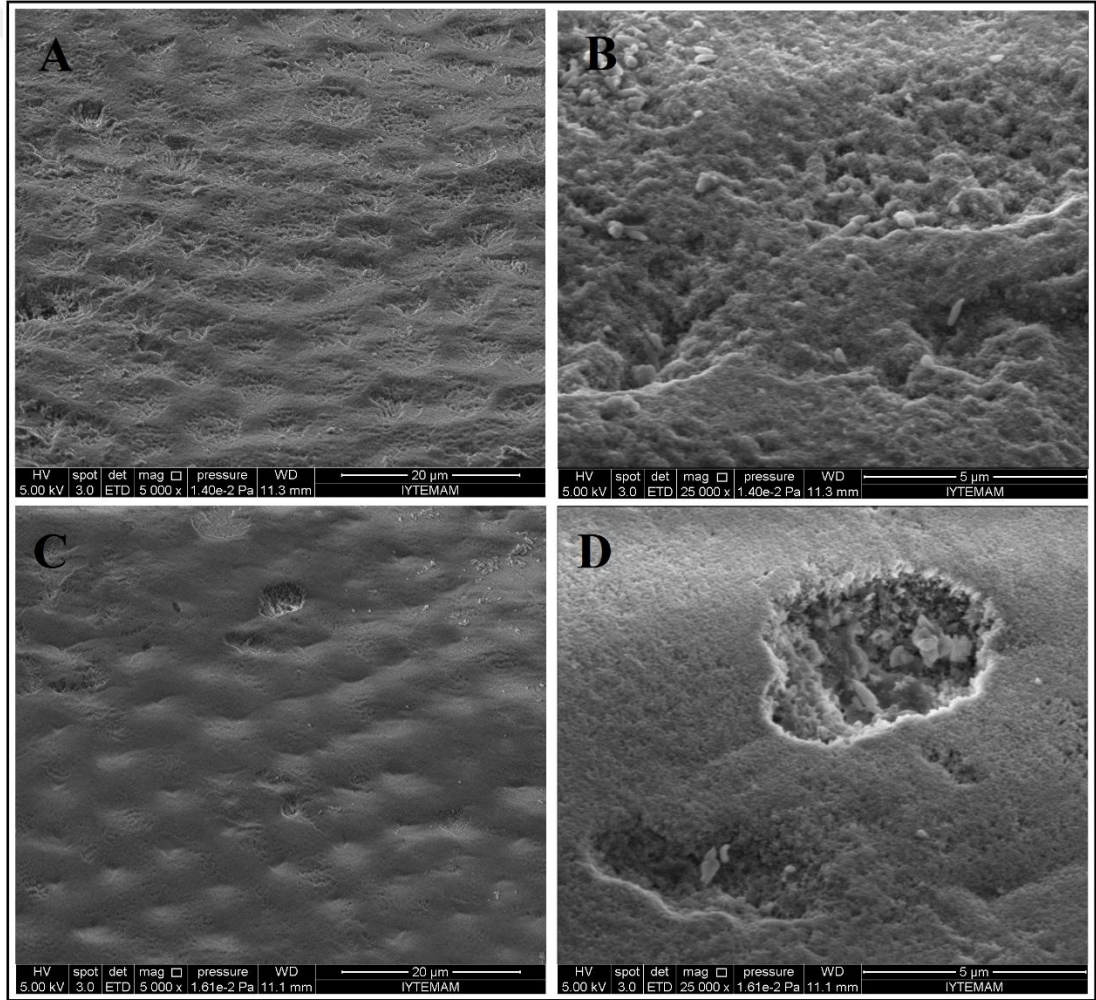
Gruplar	$\Delta\text{Ca}$	$\Delta\text{P}$	$\Delta\text{F}$	$\Delta\text{Ca/P}$	
	Ort. (St. Sapma)	Ort. (St. Sapma)	Ort. (St. Sapma)	Ort. (St. Sapma)	
7 Gün	APF	0,83 <sup>a</sup> (0,81)	0,52 <sup>a</sup> (0,72)	0,05 <sup>a</sup> (0,16)	0,12 <sup>a</sup> (0,04)
	Curodont	1,56 <sup>a</sup> (0,88)	0,20 <sup>a</sup> (0,18)	0,15 <sup>a</sup> (0,19)	0,08 <sup>a</sup> (0,05)
	SDF	0,79 <sup>a</sup> (1,01)	0,28 <sup>a</sup> (0,85)	0,06 <sup>a</sup> (0,27)	0,11 <sup>a</sup> (0,10)
	AHF	2,98 <sup>a</sup> (0,97)	0,85 <sup>a</sup> (0,44)	-0,15 <sup>a</sup> (0,21)	0,09 <sup>a</sup> (0,07)
	AHF+CPC	1,29 <sup>a</sup> (1,26)	0,11 <sup>a</sup> (0,11)	0,10 <sup>a</sup> (0,31)	0,07 <sup>a</sup> (0,08)
30 Gün	APF	3,31 <sup>a</sup> (0,87)	0,49 <sup>a</sup> (0,41)	0,09 <sup>a</sup> (0,16)	0,15 <sup>a</sup> (0,05)
	Curodont	2,96 <sup>a</sup> (1,07)	0,50 <sup>a</sup> (0,41)	-0,09 <sup>a</sup> (0,14)	0,13 <sup>a</sup> (0,04)
	SDF	2,36 <sup>a</sup> (0,91)	0,55 <sup>a</sup> (0,56)	-0,10 <sup>a</sup> (0,14)	0,09 <sup>a</sup> (0,05)
	AHF	3,02 <sup>a</sup> (0,90)	0,42 <sup>a</sup> (0,93)	0,30 <sup>a</sup> (0,20)	0,15 <sup>a</sup> (0,06)
	AHF+CPC	2,02 <sup>a</sup> (0,78)	0,06 <sup>a</sup> (0,61)	-0,10 <sup>a</sup> (0,28)	0,13 <sup>a</sup> (0,06)

\*Harfler tedavi gruplar arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

### *Taramalı elektron mikroskop değerlendirmesine ait bulgular*

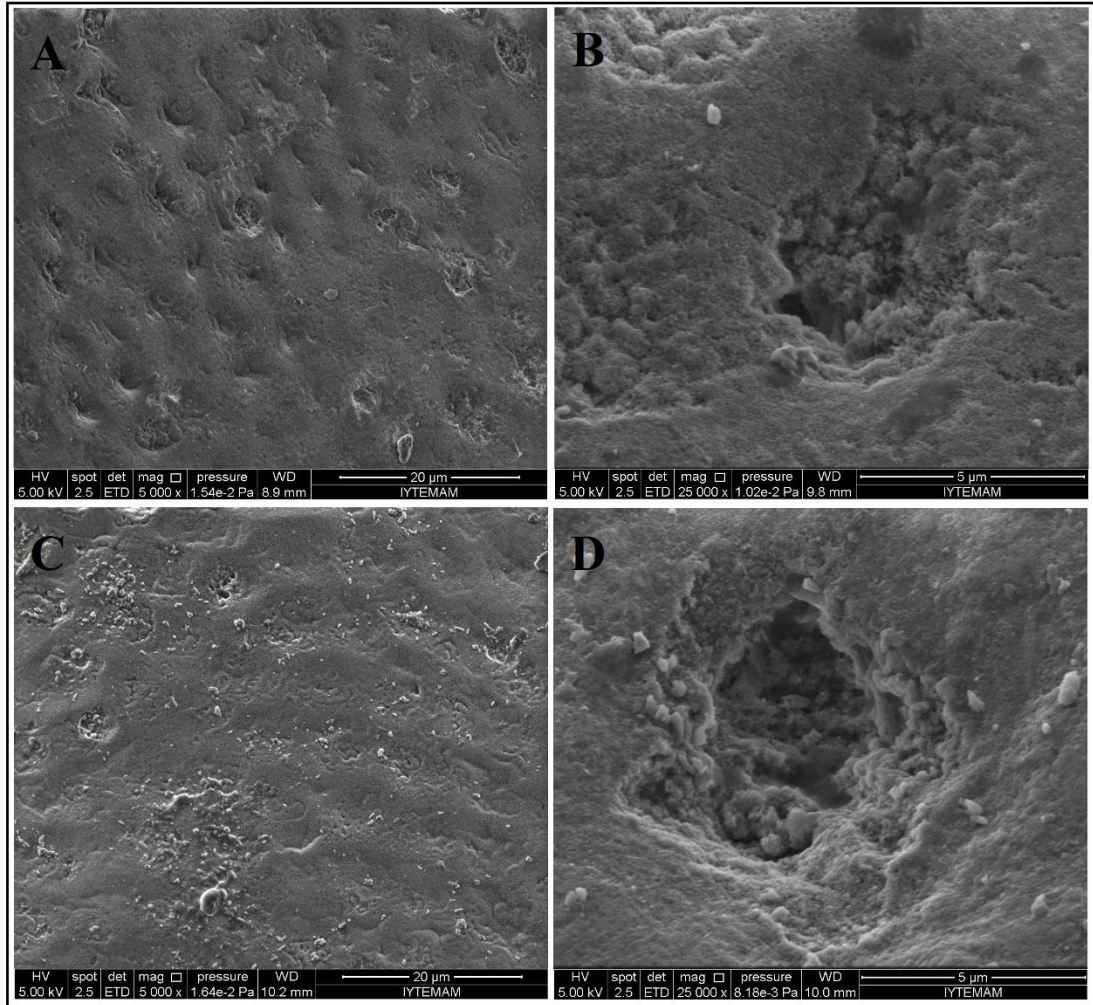
Başlangıç çürüğü oluşturulan mine örneklerinin, tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen SEM görüntüleri Şekil 29-33'da gösterilmektedir.

APF grubu için yapılan değerlendirmeler sonucunda (Şekil 29); 7 günlük tedavi prosedürü sonrası mine yüzeyinin pöröz bir tabaka ile kaplı olduğu ve düzensiz çökelmeler şeklindeki mineral bileşiklerinin varlığı gözlemlendi. Örneklerin 30 günlük incelemelerinde ise, pöröz tabakanın daha homojen ve düzgün bir hal aldığı ve mine çukurcuklarının içerisinde daha büyük ebatta mineral bileşiklerinin varlığı izlendi.



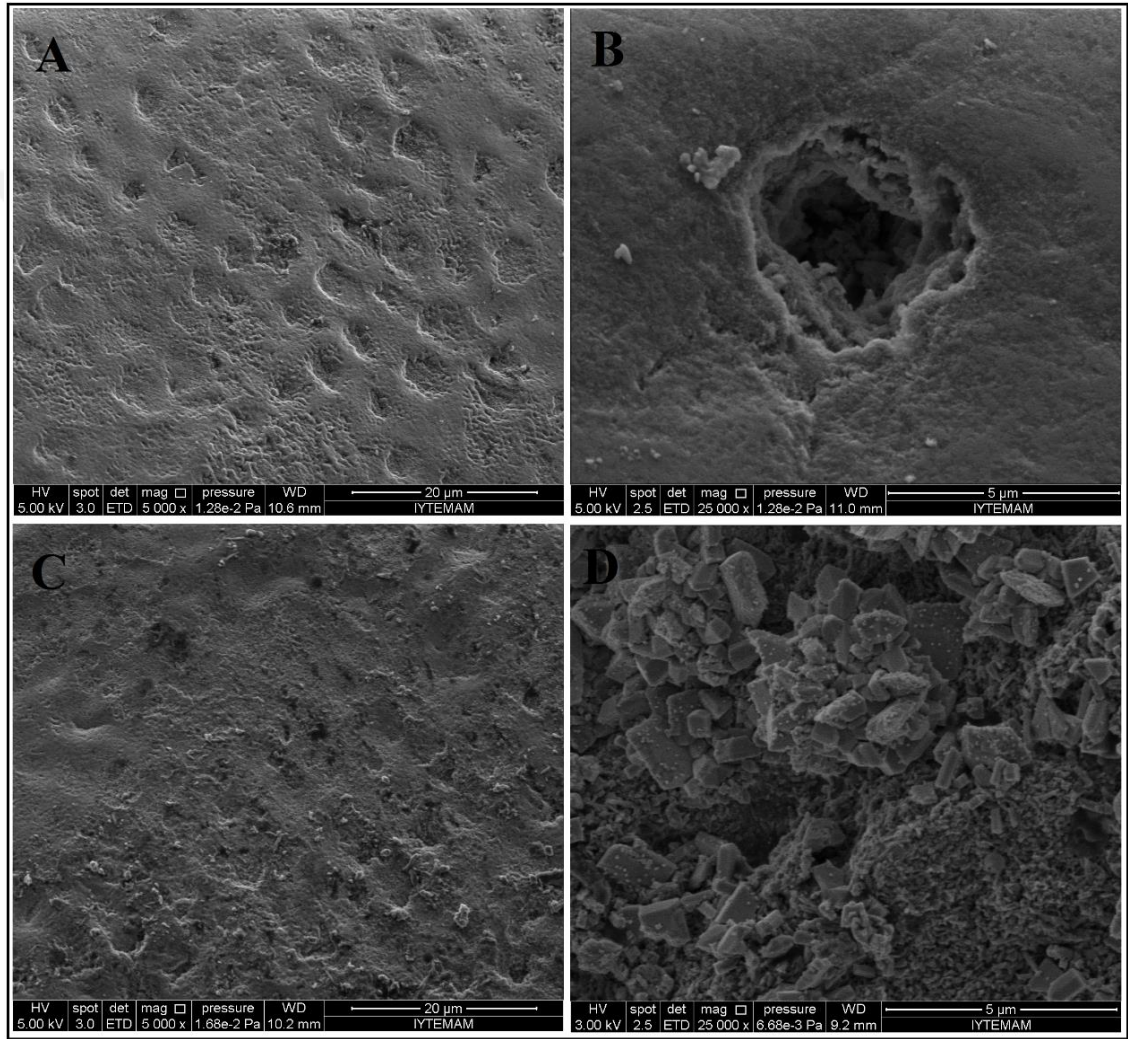
**Şekil 30:** Demineralizasyon işlemi sonrası APF uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü

Curodont grubunda (Şekil 30); 7 günlük tedavi prosedürü sonrası; mine yüzeyinin ve mine çukurcuklarının gevşek ve düzensiz bir tabaka ile kaplı olduğu ve çok az düzeyde mineral çökmesi olduğu gözlemlendi. Örneklerin 30 günlük incelemelerinde ise, yüzeydeki tabakanın mine çukurcuklarını örtecek şekilde daha homojen bir hal aldığı ve daha yoğun bir görünüme sahip olduğu saptandı. 7 günlük görüntüler ile kıyaslandığında, mineral çökmesi izlenimi veren görüntülerin sıklaştığı tespit edildi.



**Şekil 31:** Demineralizasyon işlemi sonrası Curodont uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü

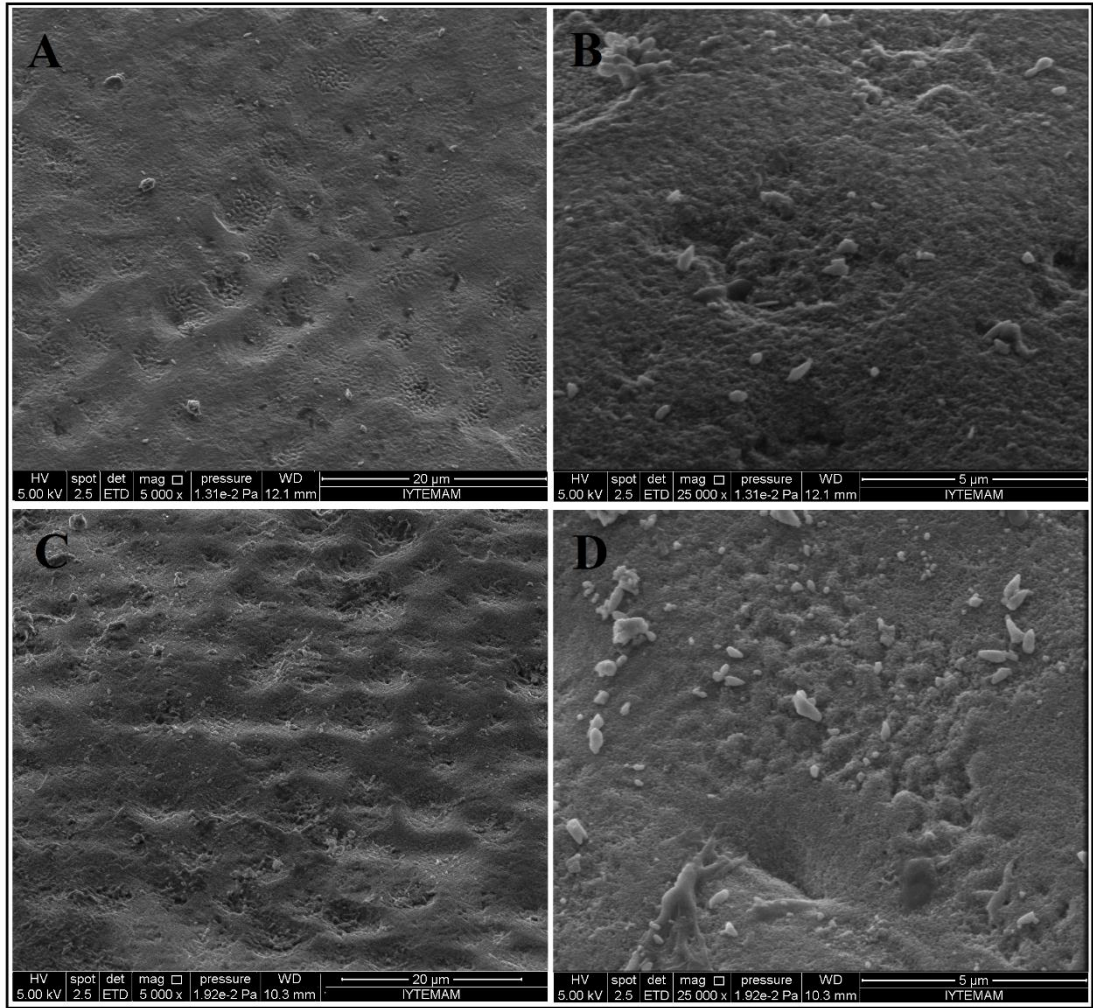
SDF grubunda (Şekil 31); 7 günlük ve 30 günlük tedavi prosedürleri sonrası; mine yüzeyinin ve mine çukurcuklarının homojen olmayan, düzensiz bir yığıntı ile kaplı olduğu gözlemlendi. Çalışmada test edilen diğer materyallerden farklı olarak, mine yüzeyinde yer yer saptanan yoğun gümüş iyonu birikimleri, elde edilen görüntülerin düzensiz şekilli olmasına neden oldu. Şekil 31-D’de gümüş partiküllerinin oluşturduğu depozisyonlar görülmektedir.



**Şekil 32:** Demineralizasyon solüsyonu sonrası SDF uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü

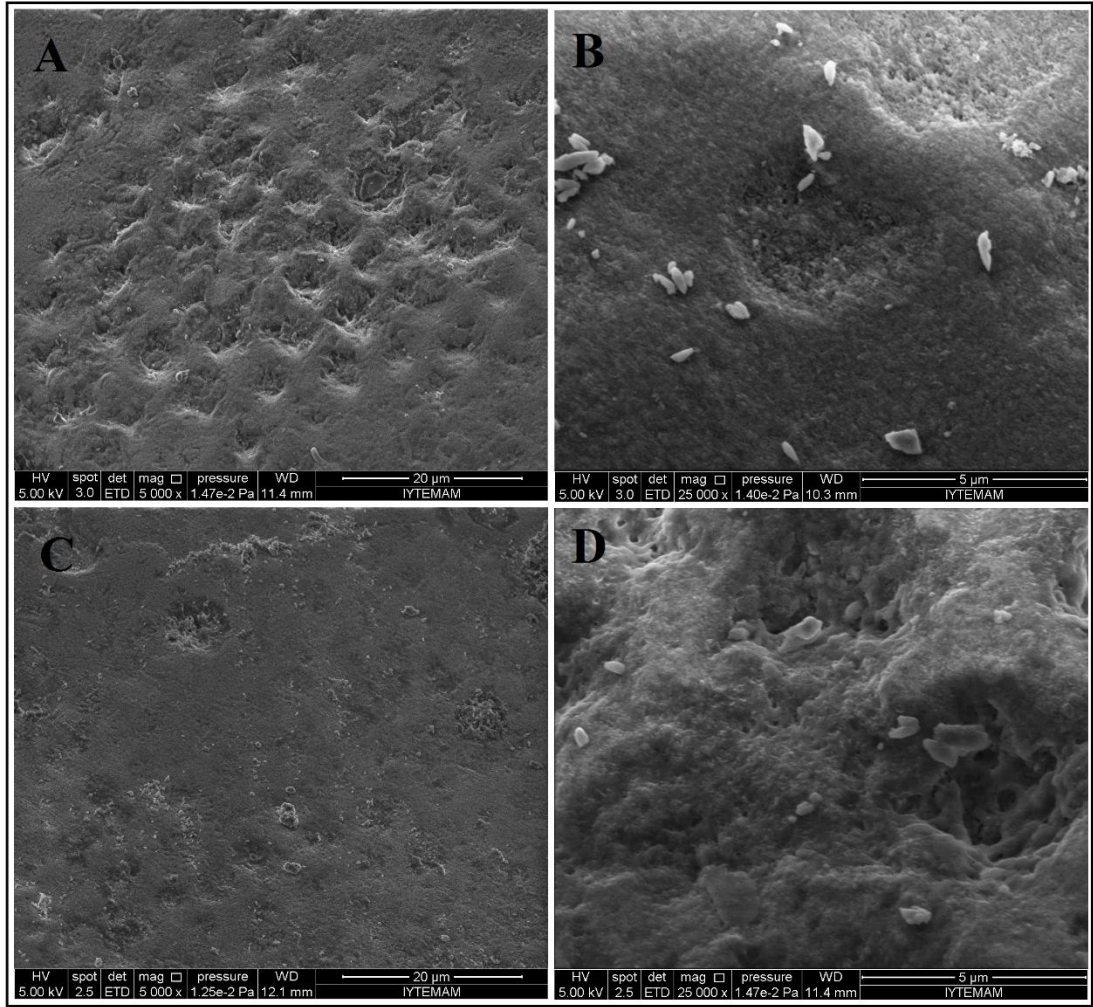


AHF grubunda (Şekil 32); 7 günlük tedavi prosedürü sonrası mine yüzeyinin pöröz bir tabaka ile kaplı olduğu ve yüzeyde iyon bileşiklerinin akümülyasyonu ile küresel depolanmaların varlığı izlendi. Örneklerin 30 günlük incelemelerinde ise, mine yüzeyinde ve mine çukurcuklarının içerisinde daha büyük ebatta mineral bileşiklerinin varlığı izlendi. Tüm gruplar arasında en büyük akümülyasyonlar bu grupta gözlemlendi.



**Şekil 33:** Demineralizasyon işlemi sonrası AHF uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 günlük (C-D) günlük SEM görüntüsü

AHF+CPC grubunda (Şekil 33); 7 günlük tedavi prosedürü sonrası mine yüzeyinin pöröz bir tabaka ile kaplı olduğu ve yüzeyde iyon bileşiklerinin varlığı izlendi. Örneklerin 30 günlük incelemelerinde ise, yüzeydeki pörozitelerin kısmen azaldığı, daha homojen ve düzgün bir hal aldığı ve mine çukurcuklarının içerisinde daha büyük ebatta mineral bileşiklerinin varlığı izlendi



**Şekil 34:** Demineralizasyon işlemi sonrası AHF+CPC uygulanmış örneklerin x5000 ve x25000 büyütmede, 7 günlük (A-B) ve 30 (C-D) günlük SEM görüntüsü

#### 4.1.3. Konfokal lazer taramalı mikroskopi analizine ait bulgular

Çalışmanın bu aşamasında, konfokal lazer taramalı mikroskopi analizlerine ait bulgular; lezyon derinliği, lezyon alanı ve lezyonun floresans değişimi parametreleri açısından değerlendirilmiştir.

#### Lezyon derinliklerine ait veriler

Konfokal taramalı mikroskop analizleri sonucunda demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon derinliği ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 17'de gösterilmiştir.

**Tablo 17:** Grupların demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama lezyon derinliklerine ( $\mu\text{m}$ ) ait veriler

		Tedavi			<i>p</i> değeri
		Demineralizasyon	Prosedürlerinin	ALD	
		Sonrası	Uygulanması	Sonrası	
7 Gün	Kontrol	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St.Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	
		80,70 (17,13)	69,40 (16,12)	11,30 (2,10)	0,000*
	APF	80,00 (7,13)	55,50 (7,23)	24,50 (3,31)	0,000*
	Curodont	84,80 (9,32)	55,80 (11,01)	29,00 (3,30)	0,000*
	SDF	80,00 (9,28)	57,10 (8,43)	22,90 (2,51)	0,000*
	AHF	80,80 (14,65)	53,80 (17,50)	27,00 (3,34)	0,000*
30 Gün	AHF+CPC	79,40 (18,74)	63,00 (11,60)	16,40 (2,01)	0,000*
	Kontrol	82,00 (6,86)	58,60 (7,04)	23,41 (2,41)	0,000*
	APF	84,00 (9,96)	39,10 (14,36)	44,90 (3,28)	0,000*
	Curodont	80,10 (15,31)	34,00 (13,31)	45,10 (1,73)	0,000*
	SDF	80,80 (15,52)	39,30 (16,99)	41,50 (7,26)	0,000*
	AHF	82,00 (12,66)	45,20 (12,49)	36,80 (6,07)	0,000*
	AHF+CPC	81,10 (12,36)	52,30 (13,27)	28,80 (4,96)	0,000*

Eşleştirilmiş örnekler t testi bulgularına göre; gruplar kendi içerisinde değerlendirildiğinde, demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon derinliğine ait değerler arasındaki farkın tüm gruplarda anlamlı olduğu ve tedavi işlemleri sonrasında lezyon derinliklerinde azalma meydana geldiği belirlendi ( $p < 0.05$ ).

Yapılan ölçümler sonucunda demineralizasyon sonrası elde edilen ortalama lezyon derinlikleri ve tedavi prosedürlerinin uygulanmasının ardından (7 ve 30 gün) elde edilen lezyon derinliklerine ait farkların ( $\Delta$ LD) ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 18’de gösterilmiştir.

**Tablo 18:** Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon derinliklerinin farklarına ait veriler ( $\Delta$ LD)

Gruplar	$\Delta$ LD	
	7 Gün	30 Gün
	Ortalama (Standart Sapma)	Ortalama (Standart Sapma)
<b>Kontrol</b>	11,30 <sup>A,a</sup> (2,10)	23,41 <sup>B,a</sup> (2,41)
<b>APF</b>	24,50 <sup>A,b</sup> (3,31)	44,90 <sup>B,b</sup> (3,28)
<b>Curodont</b>	29,00 <sup>A,c</sup> (3,30)	45,10 <sup>B,b</sup> (1,73)
<b>SDF</b>	22,90 <sup>A,b</sup> (2,51)	41,50 <sup>B,b,c</sup> (7,56)
<b>AHF</b>	27,00 <sup>A,c</sup> (3,34)	36,80 <sup>B,c</sup> (6,07)
<b>AHF+CPC</b>	16,40 <sup>A,d</sup> (2,41)	28,80 <sup>B,a</sup> (4,96)

\*Büyük harfler tedavi süreleri arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

\*Küçük harfler materyaller arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

Eşleştirilmiş örnekler t testi bulgularına göre; gruplar kendi içerisinde kıyaslandığında, 7 ve 30 günlük tedavi prosedürleri sonrası elde edilen  $\Delta$ LD değerleri; tüm gruplar için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve lezyon derinliklerinde azalma gözlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

7 günlük tedavi periyotları sonrası elde edilen  $\Delta$ LD değerleri gruplar arasında kıyaslandığında, kontrol grubuna göre, tüm gruplarda lezyon derinliklerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Gruplar arasında lezyon derinliğinde en fazla azalma Curodont ve AHF gruplarında gözlenirken, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Lezyon derinliğindeki en düşük azalmanın AHF+CPC grubunda olduğu belirlenmiş ve diğer gruplara kıyasla aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

30 günlük tedavi periyotları sonrası elde edilen  $\Delta$ LD değerleri gruplar arasında kıyaslandığında ise; lezyon derinliklerinde en fazla azalma sırasıyla Curodont, APF, AHF ve SDF gruplarında gözlenmiştir ve sonuçlar kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olarak belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

### ***Lezyon alanlarına ait veriler***

Konfokal taramalı mikroskopi analizleri sonucunda demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon alanlarının ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 19'da gösterilmiştir.

Eşleştirilmiş örneklem t testi bulgularına göre, demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon alanlarına ait veriler arasındaki farkın tüm gruplarda anlamlı olduğu ve lezyon alanlarında azalma meydana geldiği belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 19:** Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama lezyon alanlarına (mm<sup>2</sup>) ait veriler

Gruplar	Demineralizasyon		Tedavi		<i>p</i> değeri	
	Sonrası		Prosedürlerinin Uygulanması Sonrası			Fark (ΔLA)
	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)		
7 Gün	Kontrol	0,0825 (0,024)	0,0660 (0,023)	0,0165 (0,005)	<b>0,000*</b>	
	APF	0,906 (0,029)	0,0519 (0,031)	0,0387 (0,006)	<b>0,000*</b>	
	Curodont	0,0948 (0,018)	0,0546 (0,021)	0,0402 (0,020)	<b>0,000*</b>	
	SDF	0,0968 (0,016)	0,0677 (0,019)	0,0291 (0,012)	<b>0,000*</b>	
	AHF	0,933 (0,043)	0,0592 (0,034)	0,0341 (0,026)	<b>0,000*</b>	
	AHF+CPC	0,0878 (0,016)	0,0553 (0,019)	0,0325 (0,005)	<b>0,000*</b>	
30 Gün	Kontrol	0,0916 (0,012)	0,0611 (0,013)	0,0305 (0,006)	<b>0,000*</b>	
	APF	0,1031 (0,023)	0,0515 (0,027)	0,0516 (0,010)	<b>0,000*</b>	
	Curodont	0,1053 (0,008)	0,0478 (0,015)	0,0575 (0,010)	<b>0,000*</b>	
	SDF	0,1034 (0,024)	0,0511 (0,020)	0,0523 (0,010)	<b>0,000*</b>	
	AHF	0,1030 (0,020)	0,0692 (0,023)	0,0508 (0,012)	<b>0,000*</b>	
	AHF+CPC	0,0974 (0,019)	0,0576 (0,020)	0,0398 (0,010)	<b>0,000*</b>	

Yapılan konfokal lazer taramalı mikroskopi ölçümleri sonucunda demineralizasyon işlemi sonrası elde edilen ortalama lezyon alanları ile tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası (7 ve 30 gün) elde edilen lezyon alanlarına ait farkların ( $\Delta LA$ ) ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 20’de gösterilmiştir.

**Tablo 20:** Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon alanlarının ( $\text{mm}^2$ ) farklarına ( $\Delta LA$ ) ait veriler

Gruplar	$\Delta LA$	
	7 Gün	30 Gün
	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)
<b>Kontrol</b>	0,0165 <sup>A,a</sup> (0,006)	0,0305 <sup>B,a</sup> (0,006)
<b>APF</b>	0,0387 <sup>A,b</sup> (0,007)	0,0516 <sup>B,b,c</sup> (0,010)
<b>Curodont</b>	0,0402 <sup>A,b</sup> (0,020)	0,0575 <sup>B,b</sup> (0,011)
<b>SDF</b>	0,0291 <sup>A,a,b</sup> (0,012)	0,0523 <sup>B,b,c</sup> (0,010)
<b>AHF</b>	0,0338 <sup>A,b</sup> (0,007)	0,0508 <sup>B,b,c</sup> (0,012)
<b>AHF+CPC</b>	0,0325 <sup>A,b</sup> (0,005)	0,0398 <sup>A,a,c</sup> (0,010)

\*Büyük harfler tedavi süreleri arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

\*Küçük harfler materyaller arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

Gruplar kendi içerisinde tedavi süreleri açısından kıyaslandığında; 7 ve 30 günlük tedavi prosedürleri sonrası elde edilen  $\Delta LA$  değerleri arasındaki farklar; tüm gruplar için istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

7 günlük tedavi periyotları sonrası elde edilen  $\Delta LA$  değerleri gruplar arasında kıyaslandığında, kontrol grubuna göre diğer tüm gruplar istatistiksel olarak anlamlı

düzyede azalma gösterirken ( $p < 0.05$ ), materyaller arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

30 günlük tedavi periyotları sonrası elde edilen  $\Delta LA$  değerleri gruplar arasında kıyaslandığında ise, en yüksek artış Curodont > SDF > APF > AHF gruplarında gözlenirken, bu fark kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). AHF+CPC grubunda gözlenen artış ise, kontrol grubuna kıyasla fark göstermemiştir ( $p > 0.05$ ).





### Lezyon floresans değerlerine ait veriler

Konfokal taramalı mikroskopi analizleri sonucunda demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyonlara ait floresans değerleri Tablo 21'de gösterilmiştir.

**Tablo 21:** Demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası ortalama lezyon floresans (LF) değerlerine ait veriler

Gruplar	Demineralizasyon		Tedavi Prosedürlerinin Uygulanması Sonrası		$\Delta$ LF	p değeri
	Sonrası	Sonrası	Sonrası	Sonrası		
	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)		
7 Gün	Kontrol	5093 (983)	3208 (1076)	1884 (327)	<b>0,000*</b>	
	APF	5009 (977)	1924 (746)	3085 (812)	<b>0,007*</b>	
	Curodont	5552 (478)	2781 (752)	2770 (504)	<b>0,008*</b>	
	SDF	5567 (1072)	3654 (1084)	1912 (423)	<b>0,005*</b>	
	AHF	5227 (1529)	3078 (1407)	2148 (521)	<b>0,005*</b>	
	AHF+CPC	5045 (732)	2932 (553)	2113 (481)	<b>0,005*</b>	
30 Gün	Kontrol	4855 (644)	2881 (716)	1974 (360)	<b>0,005*</b>	
	APF	4983 (638)	1038 (644)	3945 (411)	<b>0,007*</b>	
	Curodont	5672 (654)	2735 (878)	3137 (435)	<b>0,005*</b>	
	SDF	5898 (1016)	3799 (1294)	2098 (699)	<b>0,015*</b>	
	AHF	5080 (2738)	1541 (1277)	3539 (835)	<b>0,005*</b>	
	AHF+CPC	4710 (726)	2077 (591)	2632 (728)	<b>0,000*</b>	

Eşleştirilmiş örneklem t testi bulgularına göre, demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyonlara ait

floresans değerleri arasındaki farkın tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve lezyon yoğunluğunda azalma meydana geldiği belirlendi ( $p < 0.05$ ).

Yapılan ölçümler sonucunda demineralizasyon işlemleri sonrası elde edilen ortalama lezyon floresans değerleri ile tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası (7 ve 30 gün) elde edilen lezyon floresans değerlerine ait farkların ( $\Delta LF$ ) ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 22’de gösterilmiştir.

**Tablo 22:** Demineralizasyon işlemleri sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon floresans farklarına ait veriler

Gruplar	$\Delta LF$	
	7 Gün	30 Gün
	Ortalama (St. Sapma)	Ortalama (St. Sapma)
Kontrol	1884 <sup>A,a</sup> (327)	1974 <sup>A,a</sup> (360)
APF	3085 <sup>A,b</sup> (812)	3945 <sup>B,b</sup> (411)
Curodont	2770 <sup>A,b,c</sup> (504)	3137 <sup>A,b,c</sup> (435)
SDF	1912 <sup>A,a</sup> (423)	2098 <sup>A,a</sup> (699)
AHF	2148 <sup>A,a,c</sup> (521)	3539 <sup>B,b</sup> (835)
AHF+CPC	2113 <sup>A,a,c</sup> (481)	2632 <sup>A,a,c</sup> (728)

\*Büyük harfler tedavi süreleri arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

\*Küçük harfler materyaller arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

Eşleştirilmiş örnekler t testi sonuçlarına göre; materyaller kendi içerisinde kıyaslandığında, 7 ve 30 günlük tedavi prosedürleri sonrası elde edilen  $\Delta LF$  değerleri arasındaki farklar; APF ve AHF grupları için istatistiksel olarak anlamlı derecede

farklı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubu, Curodont, SDF ve AHF+CPC grupları için ise bu fark anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

7 günlük tedavi periyotları sonrası elde edilen  $\Delta$ LF değerleri gruplar arasında kıyaslandığında, en yüksek artışın APF ve Curodont gruplarında olduğu belirlenmiştir ve kontrol grubu ile kıyaslandığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

30 günlük tedavi periyotları sonrası elde edilen  $\Delta$ LF değerleri gruplar arasında kıyaslandığında ise, en yüksek artış APF > AHF > Curodont gruplarında gözlenirken, bu fark kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). SDF ve AHF+CPC gruplarında ise fark yoktur ( $p > 0.05$ ).

#### ***4.2. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi Aşamasına Ait Bulgular***

Çalışmanın bu aşamasında farklı remineralizasyon materyallerinin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular;

- Materyallerin biyofilm çürük modeli üzerinde yaşayan bakteri sayısı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular
- Materyallerin dental plak pH'ı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular şeklinde incelenmiştir.

##### ***4.2.1. Materyallerin biyofilm çürük modeli üzerinde yaşayan bakteri sayısı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular***

Çalışmada kullanılan test materyallerinin oluşturulan *S. mutans* biyofilm tabakası üzerine uygulanmalarının ardından biyofilm üzerinde yaşayan canlı bakteri sayılarının ortalama, standart sapma, medyan ve minimum-maksimum değerleri Tablo 23'de gösterilmiştir.

Çalışmada kullanılan tüm test materyallerinin dental plakta yaşayan canlı bakteri sayısı üzerine etkileri incelendiğinde; kontrol grubuna göre, deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Deney grupları kendi aralarında kıyaslandığında ise; dental plakta yaşayan canlı bakteri sayısı üzerine en yüksek antibakteriyel etki SDF grubunda saptanmış ve bu materyalin uygulandığı biyofilm örnekleri üzerinde canlı kalan bakteri tespit edilmemiştir ( $p < 0.05$ ). *S. mutans* biyofilminde canlı bakteri sayısındaki minimum azalma %0,2 CHX uygulanan örneklerde gözlenirken ( $p < 0.05$ ); APF, AHF ve AHF+CPC grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

**Tablo 23:** Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası biyofilm üzerinde yaşayan canlı bakteri sayılarına ait veriler

	Ortalama (St. Sapma)	Medyan	Minimum	Maksimum
<b>Kontrol</b>	3,94 x 10 <sup>8</sup> (3,29 x 10 <sup>7</sup> ) <sup>a</sup>	3,80 x 10 <sup>8</sup>	3,69 x 10 <sup>8</sup>	4,69 x 10 <sup>8</sup>
<b>APF</b>	2,62 x 10 <sup>8</sup> (1,72 x 10 <sup>7</sup> ) <sup>b</sup>	2,58 x 10 <sup>8</sup>	2,47 x 10 <sup>8</sup>	2,87 x 10 <sup>8</sup>
<b>SDF</b>	0 <sup>c</sup>	0	0	0
<b>AHF</b>	2,65 x 10 <sup>8</sup> (2,04 x 10 <sup>7</sup> ) <sup>b</sup>	2,57 x 10 <sup>8</sup>	2,48 x 10 <sup>8</sup>	2,97 x 10 <sup>8</sup>
<b>AHF+CPC</b>	2,48 x 10 <sup>8</sup> (2,42 x 10 <sup>7</sup> ) <sup>b</sup>	2,49 x 10 <sup>8</sup>	2,16 x 10 <sup>8</sup>	2,78 x 10 <sup>8</sup>
<b>CHX</b>	3,21 x 10 <sup>8</sup> (3,01 x 10 <sup>7</sup> ) <sup>d</sup>	3,17 x 10 <sup>8</sup>	2,88 x 10 <sup>8</sup>	3,62 x 10 <sup>8</sup>

\*Harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2.2. Materyallerin dental Plak pH'ı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular

Çalışmada kullanılan test materyallerinin oluşturulan *S. mutans* biyofilm tabakası üzerine uygulanmalarının ardından, plak pH'ındaki değişikliklerin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular Tablo 24'de gösterilmektedir.

Çalışmada kullanılan tüm test materyallerinin, dental plak pH'ı üzerine etkileri incelendiğinde; kontrol grubuna kıyasla, deney gruplarında plak pH'ının istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha yüksek olduğu gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Deney grupları kendi aralarında kıyaslandığında ise; AHF+CPC ve CHX grupları arasında fark olmadığı ( $p > 0.05$ ), diğer tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı seviyede fark olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ). En yüksek plak pH'ının SDF grubunda, en düşük plak pH'ının ise AHF+CPC > CHX gruplarında olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 24:** Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası pH değişimlerine ait veriler

	Ortalama (St. Sapma)	Medyan	Minimum	Maksimum
<b>Kontrol</b>	5,14 (0,29) <sup>a</sup>	5,13	5,11	5,18
<b>APF</b>	5,70 (0,16) <sup>b</sup>	5,76	5,45	5,84
<b>SDF</b>	7,46 (0,19) <sup>c</sup>	7,54	7,17	7,61
<b>AHF</b>	5,56 (0,10) <sup>d</sup>	5,57	5,42	5,67
<b>AHF+CPC</b>	5,40 (0,15) <sup>e</sup>	5,35	5,28	5,63
<b>CHX</b>	5,27 (0,12) <sup>e</sup>	5,29	5,09	5,39

\*Harfler gruplar arasındaki istatistiksel farkları belirtmek amacıyla kullanılmıştır ( $p < 0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Diş çürüğü, diş sert dokularının karyojenik mikroorganizmalar tarafından lokalize yıkımı ile karakterize patolojik bir süreçtir. Birçok gelişmiş ülkede diş çürüğü prevalansı geçmiş yıllara göre azalmış olsa da, günümüzde temel sağlık problemlerinden biri olarak önemini sürdürmektedir.<sup>1,3</sup>

Diş sert dokuları, ağız ortamındaki pH değişim dinamiklerinden sürekli olarak etkilenmektedir. Ağız ortamındaki pH seviyesinin, minenin hidroksiapatit kristalleri için kritik değer sayılan 5,5'in altına düşmesi, mine yapısında bulunan Ca ve P iyonlarının çözünerek yapıdan uzaklaşmasına neden olmakta ve diş sert dokularının demineralizasyonu olarak adlandırılan süreç başlamaktadır.<sup>1,7</sup> Ortam pH'ındaki bu değişiklikler diyet karbonhidratlarının varlığında plak bakterileri tarafından üretilen organik asitlerin yarattığı etkiden kaynaklanmaktadır. Ortam pH seviyesini kritik düzeyde tutan faktörler ortadan kalkmadığında mine yapısında bulunan minerallerin azalması ile birlikte diş çürüğünün tipik karakteristiği olan mine dokusu kaybı ve ilerleyen süreçte de kaviteasyon meydana gelmektedir.<sup>3</sup> Mine dokusundaki bu kayıp, pH tekrar normal seviyeye gelene kadar devam etmektedir. Diğer taraftan ağız ortamının pH seviyesini düşüren etkenler kısa bir süre için etki ettiğinde, pH değerinin tekrar yükselmesi sonucu çözünen iyonlar mine üzerine çöker ve remineralizasyon olarak adlandırılan süreç meydana gelir.<sup>9</sup>

Son yıllarda, diş çürüğünün patolojik sürecinin anlaşılması ve remineralizasyon ve demineralizasyon süreçlerine etki eden faktörlerin belirlenmesi sayesinde koruyucu uygulamalar ön plana çıkmıştır. Demineralizasyon ve remineralizasyon olarak adlandırılan diş sert dokularında mineral dengesinin değişimini yansıtan iki süreç arasındaki denge, oral çevreyi etkileyen birçok faktör nedeniyle bozulabilmektedir.<sup>139</sup> Koruyucu uygulamaların amacı, demineralizasyonu engellemek veya demineralize olan alanları kaviteasyon oluşmadan remineralize ederek diş sert dokularını eski sağlığına kavuşturmadır.<sup>140</sup>

Günümüze kadar, remineralizasyonda en önemli rolü oynayan Ca ve P iyonlarına tükürüğün doyumunu arttırmak suretiyle veya ortamda bulunan bu iyonların diş yüzeyine çökmesinde katalizör rol oynayacak ideal remineralizasyon

ajanını elde edebilmek için pek çok çalışma yapılmıştır. Her ne kadar flor ve alternatif olarak geliştirilen diğer materyaller, remineralizasyon kapasiteleri ve antimikrobiyal etkinlik açısından değerlendirildiğinde kullanılabilir olsa da, hiçbiri istenilen düzeyde başarı gösterememektedir. Bu ihtiyaç ile yeni materyallerin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar sonucunda; daha biyoaktif bir ürün elde etmek amacıyla flor ve silikonun oluşturduğu AHF bileşiği, flor ve gümüşün sinerjik etkisinden yararlanmak amacıyla geliştirilen SDF bileşiği ve biyoaktif bir materyal olma iddiasıyla geliştirilen kendiliğinden birleşen peptitler güncel literatürde yer alan ümit verici materyaller olarak göze çarpmaktadır.<sup>163-170,172-174</sup>

Bahsi geçen materyallerden SDF'nin yapısında bulunan gümüş bileşikleri, gümüş nitratın süt dişlerinde çürük insidansının azaltılması amacıyla kullanılmaya başlanmasıyla diş hekimliği alanında popülerlik kazanmıştır.<sup>159</sup> Daha sonra daimi dişlerde çürük önleyici ajan, kavite dezenfektanı ve hassasiyet giderici olarak kullanım alanı bulmuştur.<sup>159</sup> Gümüş iyonu, asidik koşullarda diş sert dokularının çözünürlüğünü azaltması ve demineralize dokuların remineralizasyonunu sağlaması nedeniyle farklı çalışmalara konu olmuştur. Gümüş ve florun remineralizasyon açısından sinerjik etki gösterdiğini bildiren çalışmaların ışığında, bu pozitif etkileşimi değerlendirmek amacıyla SDF bileşiği geliştirilmiştir. Bu materyali, remineralizasyon kapasitesi ve antimikrobiyal etkinlik açısından değerlendiren çalışmalar göstermiştir ki, SDF, antibakteriyel oluşu, demineralizasyonu önlemesi ve remineralizasyon sağlaması gibi olumlu özellikleri nedeniyle günümüzde çürük önleyici ve remineralizasyon sağlayan materyaller arasında dikkat çekicidir ve hakkında daha fazla sayıda araştırma yapılması gereğini göstermiştir.<sup>160,161</sup>

Literatürde remineralizasyon ajanları arasında son dönemde popüler olan bir diğer malzeme ise AHF'dir. Yapılan az sayıdaki çalışmada, AHF'nin diş sert dokularının demineralizasyona olan direncini arttırdığı, içeriğinde bulunan silikon sayesinde hidroksiapatit formasyonunu uyardığı bildirilmiştir. Ayrıca yapısına ilave edilebilen antibakteriyel ajanlar sayesinde, kendi antibakteriyel özelliklerinin daha da geliştirilebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur.<sup>168-171</sup>

Yeni geliştirilmiş bir diğer materyal olan kendiliğinden birleşen peptitler, diş sert dokuları üzerinde yarattığı remineralizasyona ait olumlu etkiler nedeniyle tavsiye

edilen bir materyaldir. Peptitlerin bu etkisi, mineral kaybının azaltılması ve mineral kazancının artırılması yoluyla gerçekleşmektedir. Materyal; geleneksel remineralizasyon ajanlarından farklı olarak, diş yüzeyinde iyonların çökmesine olanak veren bir iskelet yapı oluşturmaktadır ve oluşan bu iskelet yapı yoluyla mineral depozisyonunu sağlamaktadır. Peptitlerin remineralizasyon etkileri incelendiğinde, tek seferlik bir uygulamadan sonra bile anlamlı derecede remineralizasyon sağlandığı bildirilmiştir.<sup>167</sup> Ümit vaat edici bu malzemeye ait objektif karşılaştırma verilerinin elde edilebilmesi için ilave çalışmalara gereksinim vardır.

Bahsi geçen çeşitli materyal ilaveleri ile zenginleştirilmiş malzemeler, remineralize edici ve antibakteriyel etkileri ile minimal invaziv diş hekimliği açısından umut vaat edici görünmektedir. Bu materyallerle ilgili literatürde kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ayrıca bu materyallerin, mine dokusunda oluşturdukları remineralizasyon etkisi ve antibakteriyel etkinlikleri ile ilgili kıyaslamalı çalışmalar bulunmamaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında; bahsi geçen farklı içeriklere sahip remineralizasyon ajanlarının remineralizasyon kapasitelerinin ve antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde kullanılan materyallerin etkinliklerini değerlendiren demineralizasyon-remineralizasyon çalışmaları; *in-vivo*, *in-situ* veya *in-vitro* şartlarda gerçekleştirilebilmektedir.<sup>125-129,123,147,161</sup> Çeşitli remineralizasyon ajanlarının ve antibakteriyel ajanların etkinliklerini klinik koşullarda değerlendirmek gerçeğe daha yakın sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır. Ancak klinik çalışmalarda, her ne kadar demineralizasyon-remineralizasyon süreçleri doğal şekilde işliyor olsa da, bireylerin diyet alımındaki farklılıklar, tükürük içeriklerindeki farklılıklar ve hasta uyumlarının benzer olmaması nedeniyle çalışmanın standardizasyonunu sağlamak güç olmaktadır. Ayrıca, deney sürecinin sonunda, elde edilen verileri incelenme yöntemleri sınırlı kalabilmektedir. İlave olarak, *in vivo* çürük çalışmaları hem maliyetli hem de zaman alıcıdır. *In vivo* çalışmaların bu dezavantajlarını ortadan kaldıran, ağız ortamını yansıtan ve ortam koşullarını görece standart hale getirerek daha doğru veriler elde edilmesini sağlayan, *in situ* ve *in vitro* modeller geliştirilmiştir.<sup>127-129,134-136,175,176</sup> *In situ* ve *in vitro* çürük



modelleri, klinik çalışmalara ışık tutabilecek verilerin elde edilebildiği ve değişkenlerin araştırmacılar tarafından belirlenerek farklı kıyaslamaların yapılabildiği çalışma yöntemleridir.<sup>175,176</sup> *In situ* çürük modelleri, bir aparey aracılığıyla, ağız ortamının taklit edilebilmesi için geliştirilmiştir ve çürük ve/veya erozyon sürecini gerçeğine yakın bir şekilde yansıtabilmektedir. Bununla birlikte, bu tür çalışmaların en büyük dezavantajı, genellikle denek sayısının belli bir sayının üzerine çıkarılamaması ve çalışma sonuçlarının direkt olarak çalışmaya katılan bireylerin uyumuna bağlı olmasıdır. Çalışmaya katılan bireyler, çalışma protokolünü aksattığı zaman deney sonuçları etkilenmektedir. İlave olarak; etik onay alma aşamasındaki zorluklar ve her taşıyıcıya ait aparey hazırlamanın maliyeti gibi güçlükler nedeniyle yöntemin kullanılması her zaman mümkün olamamaktadır.<sup>127-129</sup> *In vivo ve in situ* çalışmaların bu dezavantajlarının ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilen *in vitro* modellerin en büyük avantajı; çalışmaya bireylerin katılımının gerekli olmaması ve bu nedenle bireylerden kaynaklanan çalışma dizaynını etkileyecek faktörlerin oluşmamasıdır. Böylece standart tedavi prosedürlerinin gerçekleştirilebilmesi ve standart ölçüm yöntemlerinin kullanılabilmesi mümkün olmaktadır.<sup>134-136</sup> Çalışma intraoral şartlarda gerçekleştirilmiyor olsa da, ağız ortamında gelişen çürük lezyonlarını taklit eden standart çürük lezyonları elde edilebilmektedir. Ayrıca; demineralizasyon ve remineralizasyon süreçlerini oluşturmak için kullanılan solüsyonların pH değişimlerinin kolaylıkla takip edilebilmesi, çalışmada değerlendirilen değişkenler arasından tek bir değişkenin sabit tutularak diğerleri arasında kıyaslamaların yapılabilmesi, uygulama basamaklarının kolay ve ucuz olması *in vitro* çalışma dizaynlarının avantajlı yönleri olarak sıralanabilir.<sup>134-136</sup> Bahsi geçen nedenlerle; bu tez çalışmasında, farklı içerikli materyallerin remineralizasyon ve antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilebilmesi amacıyla *in vitro* modeller tercih edilmiştir.

Diş sert dokularının demineralizasyon ve remineralizasyon miktarlarının belirlenmesi için yapılan *in vitro* çalışmalarda morfolojik ve histolojik benzerliklerinden ötürü insan ya da sığır dişleri kullanılabilir.<sup>50,71,91,92,135</sup> Sığır dişlerinin rahat ulaşılabilir ve insan dişlerine göre daha büyük ebatlı olması nedeniyle mine/dentin örneklerinin elde edilebilmesi kolaydır. Bununla birlikte insan ve sığır dişleri arasında bir kısım farklılıklar da bulunmaktadır. Sığır dişi minesini, daha ince

kristallerden oluşmaktadır ve daha yüksek poröziteye sahiptir.<sup>133</sup> Bu tez çalışmasına konu olan materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesine ait tüm aşamalarda; çürüksüz, çatlak ve restorasyon içermeyen, sağlam insan 3. molar dişleri kullanılmıştır. Bununla birlikte, çalışmada kullanılan dişlerin mine yapısındaki mineral içeriklerinin farklılık gösterebileceği düşünülerek çalışma gruplarında bazı düzenlemeler yapılmış ve istatistiksel bulguların güvenilirliğinin artırılması amaçlanmıştır. Bu nedenle mikrosertlik testi safhasında, bir ön çalışma yapılarak demineralizasyon işlemi sonrasında mikrosertlikleri 180-230 Vickers sertlik değerinde olan dişler çalışmaya dahil edilmiş, bu aralıkta olmayan dişler ise çalışma dışı bırakılmıştır. Taramalı elektron mikroskop ve enerji dağılım spektroskopisi analizlerinde ise, dişlerin bukkal yüzeyleri tedavi uygulanarak yapay tükürük içerisinde bekletilen yüzeyler, lingual yüzeyleri ise yalnızca yapay tükürük içerisinde bekletilen yüzeyler olarak belirlenmiş ve tedavi prosedürlerinin elemental içerikler üzerinde yarattığı farklılıklar kıyaslanırken her diş kendi içerisinde değerlendirilmiştir. Çalışmanın bir diğer parametresi olan CLSM analizine ait örneklerde ise, dişlerin bukkal yüzeylerinin mezyal yarısı demineralizasyon alanı, distal yarısı ise tedavi alanı olarak belirlenmiş ve dişlerin kendi içinde kontrolü sağlanmıştır. Materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi safhasında; ihtiyaç duyulan örneklerin insan dişlerinden elde edilebilecek mine kesitlerinden daha büyük olması gerektiğinden ve insan dişlerinden ihtiyaç duyulan büyüklükte yalnızca mine dokusunu içeren kesitlerin elde edilmesinin zorluklarından ötürü, sığır dişleri kullanılmıştır.

*In vitro* koşullarda gerçekleştirilen çalışmalarda, diş yüzeylerinin standardizasyonu önem taşımaktadır. Kullanılan test yöntemlerinin birçoğunda, düz ve pürüzsüz diş yüzeylerinin oluşturulması gerekmektedir. Bu nedenle, ölçümlerin daha sağlıklı yapılabilmesi için örneklerin polisajlanmaları önerilmektedir.<sup>137,139,155</sup> Polisajlama işlemi sırasında prizmatik mine yüzeyini ortadan kaldıracak şekilde yaklaşık 100 µm kalınlığında mine yüzeyi uzaklaştırılmalıdır.<sup>137,139,155</sup> Bu çalışmada; cilalı ve düz bir yüzey oluşturmak amacıyla örnekler, abraziv kağıt diskler kullanılarak eşit sürelerle ve pürüzsüz yüzeyler elde edilene kadar polisaj cihazı aracılığıyla zımparalanmıştır. Zımparalama esnasında zımparalama yönü değiştirilerek bir önceki zımparanın sebep olduğu izler ortadan kaldırılmış, elde

edilen mine yüzeyleri mikroskop altında incelenerek, istenilen pürüzsüz yüzeyin elde edilemediği durumlarda zımparalama işlemi tekrarlanmıştır.

*In vitro* çalışmalarda sonucu etkileyen önemli bir faktör de çekilen dişlerin kullanılana kadar saklandığı/sterilize edildiği solüsyon ve çekim zamanı ile kullanım süresi arasında geçen zamandır.<sup>177-179</sup> Bu tez çalışmasında seçilen tüm dişler, çekimden sonraki 1 aylık sürede kullanılmıştır. Çekilmiş dişlerin saklanma ortamı olarak en çok kullanılan solüsyonlar distile su veya serum fizyolojiktir. Solüsyonlar içerisine, mikroorganizma üremesini engellemek amacıyla timol, formalin, sodyum hipoklorit, glutraldehit, kloramin T gibi antimikrobiyal maddeler de ilave edilebilmektedir.<sup>177-179</sup> Yapılan çalışmalar sonucunda, günlerce timol içeren solüsyonda bekletilmiş dişlerin dahi mikro veya nano sertliğinde herhangi bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir.<sup>179</sup> Bu nedenle çalışmada dişler, üzerindeki doku artıkları el aletleri ve lastik yardımı ile uzaklaştırıldıktan sonra % 0,1'lik timol solüsyonunda bekletilmiştir.

*In vitro* çalışmalarda, materyallerin remineralizasyon etkinliklerinin değerlendirilebilmesi için, başlangıçta gerçeğe yakın yapay çürük lezyonlarının oluşturulması gerekmektedir. Yapay çürük lezyonları mine yüzeyinde doğal çürüğün temel histolojik özelliklerini gösterebilen, özel solüsyonlar veya bakteri kültürleri kullanılarak oluşturulan lezyonlardır. Bunlar arasında en kolay yöntemlerden birisi asit tamponlarının kullanıldığı modellerdir.<sup>133-136</sup> Demineralizasyon yaratılacak örnekler, solüsyonlar içerisinde istenilen derinlikte başlangıç çürük lezyonu oluşturulana kadar bırakılır. Bu tür solüsyonlar kullanılarak oluşturulan modellerde standart derinlikte lezyonlar elde edilebilmektedir.<sup>133-136</sup> Demineralizasyon yaratmak amacıyla kullanılan çeşitli solüsyon seçenekleri bulunmaktadır ve konsantrasyonu, pH'ı ve sıcaklığı gibi özellikleri solüsyonun etkinliğini belirleyen faktörlerdir. Mevcut çalışmada kullanılan demineralizasyon solüsyonu; literatürde birçok çalışmada sıklıkla tercih edilen bir formülasyon olup solüsyon içerisindeki örnekler önerildiği şekilde oda sıcaklığında 7 gün boyunca bekletilerek lezyonlar oluşturulmuştur.<sup>180</sup>

*In vitro* çalışmalarda, demineralizasyon ve remineralizasyon süreçlerinin doğala yakın şekilde gerçekleştirilebilmesi amacıyla, demineralizasyon-

remineralizasyon dengesinde en önemli rollerden birini oynayan tükürük faktörünün de en iyi şekilde çalışmaya yansıtılması gerekmektedir. Bu tür çalışmalarda hem yapay hem de doğal tükürük kullanılabilmeyle birlikte, yapay tükürüğün istenilen miktarda hazırlanabilmesi ve standart bileşiminin olması avantaj sağlamaktadır.<sup>39,47,134,181</sup> Bu nedenle *in vitro* çalışmalarda genellikle, ağız ortamını taklit etmek için yapay tükürük kullanılmaktadır.<sup>93,122,123,134,181</sup> Yapay tükürük, doğal tükürüğün elektrolit bileşimini temel almaktadır. Bununla birlikte, bazı yapısal farklılıklar da görülmektedir. Yapay tükürük; kalsiyumu bağlayan tükürük proteinlerini içermemektedir. Doğal tükürük içerisindeki bazı proteinler Ca-P çökmesini engelleme eğilimindedir. Bu proteinleri içermeyen yapay tükürük ise, Ca-P'nin aşırı miktarda çökmesine neden olmaktadır.<sup>39</sup> Bu nedenle; *in vitro* olarak sağlanan remineralizasyonun, *in vivo* olarak oluşan remineralizasyondan daha yüksek olduğu unutulmamalıdır. Bugüne kadar konu ile ilgili yapılan birçok çalışmada, formülleri benzer olmakla birlikte, çeşitli yapay tükürük solüsyonları kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında, yapay tükürük solüsyonu olarak yine literatürde sıklıkla kullanılan bir formülasyona sahip, Amaechi<sup>180</sup> ve arkadaşlarının kullandığı pH'ı 7,2 olan solüsyonun hazırlanması tercih edilmiştir. Çalışmanın tüm remineralizasyon parametrelerinde, kullanılan diş örnekleri 10 ml'lik yapay tükürük içeren saklama kapları içerisine tek tek yerleştirilmiş ve örnekler belirlenen çalışma süreleri boyunca yapay tükürük içerisinde 37°C etüvde bekletilmiştir. Örneklerin içerisinde bulunduğu yapay tükürük solüsyonu, ortam elemental içeriğinin azalmasını önlemek ve ağız içi koşulları taklit etmek amacıyla her gün yenisi ile değiştirilmiştir.

Başlangıç mine çürüklerinin oluşumunda ilk aşama asit atakları nedeniyle mine dokusunun en dış tabakasından mineral kaybıdır. Minenin mineral kaybı ile birlikte optik yapısında da değişiklikler olduğundan, doku ışığı daha az yansıtır ve bu değişiklikler sonucu beyaz nokta lezyonları görülür.<sup>17-19</sup> Başlangıç mine lezyonlarının tespitinde ve lezyonların demineralizasyon-remineralizasyon seyirlerinin izlenmesinde kullanılan yöntemler sınırlıdır. Mikrosertlik testi, enerji dağılım spektroskopisi, taramalı elektron mikroskop ve CLSM *in-vitro* çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerdir.<sup>82-82,97-100,108-115</sup> Bu nedenle bu tez çalışmasında remineralizasyon etkinlikleri değerlendirilen materyaller bahsi geçen 4 farklı test yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Diş sert dokularına uygulanan tedavi yöntemlerinin başarısının laboratuvar şartlarında birbirleriyle karşılaştırılmasında kullanılan test yöntemlerinin başında mikrosertlik ölçümleri gelmektedir.<sup>82-85</sup> Mikrosertliğin, diş sert dokularının mineral kaybı/kazanımını analiz etmede kullanılan başarılı bir yöntem olduğu bildirilmiştir.<sup>182</sup> Minede mineral kaybının değerlendirilmesi için kullanılan mikrosertlik testinin temel prensibi, demineralize ve remineralize minedeki mineral yüzdesi ile minenin mikrosertliği arasındaki korelasyonun yüksek olması esasına dayanmaktadır.<sup>182</sup> Featherstone ve ark. mikroradyografi ve mikrosertlik tekniklerini kıyasladıkları bir çalışmanın sonucunda, her iki yöntemin de demineralizasyon ve remineralizasyon sonucu oluşan mine profilinin saptanmasında başarılı olduklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar; minenin mikrosertlik değerleri ile çürük lezyonlarındaki mineral oranı arasında anlamlı bir ilişki saptamışlar ve mikrosertlik ölçümünün diş minesinin erken demineralizasyonunu tespit etmek için yeterince duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir.<sup>182</sup> İlave olarak; mikrosertlik testleri pratik olarak uygulanabilir yöntemler olarak kabul edilmektedir.<sup>90-92</sup>

Mikrosertlik ölçüm yönteminde elmas uç, belli bir süre belli bir yük ile örnek üzerine uygulanarak bir iz oluşturulmaktadır. Elmas ucun bıraktığı izin uzunluğu mikroskop ile ölçülmektedir.<sup>90-92</sup> Bu çalışmada mine örneklerinin mikrosertliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan birçok çalışmada olduğu şekilde, Vickers mikrosertlik cihazı, 200 gr yük ağırlığı ile 15 saniye uygulanmıştır. Mikrosertlik testinin uygulanabilmesi, yani cihazın ölçüm ucunun doğru bir iz oluşturabilmesi için, hazırlanan örneklerin yüzeylerinin yere paralel, düzgün ve pürüzsüz olması gerekmektedir.<sup>90-96</sup> Mine yüzeyinin bu şekilde hazırlanması esnasında doku kaybı oluşturulabileceğinden işlem hassasiyet gerektirmektedir. Çalışmamızda, cilalı ve düz bir yüzey oluşturulması ve zımparalama işleminin standart bir şekilde gerçekleştirilebilmesi amacıyla polisaj cihazı kullanılmış ve zımparalama sonrasında artık kalmaması için örnekler detaylı olarak incelenmiştir. İlave olarak; diş örneklerinden yapılan ölçümlerin standardizasyonun sağlanması amacıyla, örnekler standart yükseklik ve iç çaptaki kalıplar içerisindeki akrilik bloklara gömülmüş ve böylece mine yüzeylerinin yere paralel olması sağlanmıştır.

Mikrosertlik ölçümü esnasında diş örneklerinin standart şekilde hazırlanmasının yanında, ölçüm yönteminin de her örnek için aynı derecede doğru uygulanması önem taşımaktadır. Vickers ucunun örnek üzerinde oluşturduğu baklava şeklindeki çentiğin derinliği, mikrosertlik ölçüm cihazındaki direkt aydınlatma yoğunluğu ve aydınlatma açısının değiştirilmesi halinde, farklı şekilde hesaplanabilmektedir. Bu amaçla çalışmamız boyunca aydınlatma yoğunluğu sabit tutulmuştur. Ayrıca, mikroskobun netlik ayarında bir sapma olması durumunda, görüntüde çentiğin derinliği net olarak elde edilememektedir veya yanlış hesaplanabilmektedir. Bu nedenle çalışma esnasında ölçümler yapılırken, çentiğin ortasından en uç köşesine kadar en uygun netlikte ölçüm yapılmasına dikkat edilmiştir. İlave olarak, ıslak mine üzerine gelen ışık, mine dokusunun ışığı yansıtma ve kırma değerlerinde sapmaya neden olabileceğinden, tüm örnekler tam kurutulularak çentik uzunlukları ölçülmüş ve yanlış ölçümler yapılması engellenmiştir. Tüm şartlar uygun olarak yerine getirildiğinde dahi, çentiğinin oluşturduğu baklava şeklindeki görüntü net olarak elde edilemediğinde mikrosertlik değeri kaydedilememiş, ölçüm tekrarlanmıştır ve örnekler üzerindeki tekrarlanan ölçümlerin her birinin farklı noktalarda yapılmasına dikkat edilmiştir.

Çalışmada kullanılan bir diğer yöntem olan taramalı elektron mikroskobu, mine yüzeyinin topografik yapısının ve meydana gelen değişikliklerin detaylıca incelenmesine olanak tanıyan, bu özelliği nedeniyle kullanım avantajları vurgulanan bir test yöntemidir.<sup>97-100</sup> İncelenmek istenen yüzey, x50 büyütmeden x300000 büyütme kadar farklı boyutlarda görüntülenebilmekte ve bu sayede örneklerin ultrastrüktürel yapısı en ince ayrıntısına kadar detaylandırılabilir.<sup>100</sup> Taramalı elektron mikroskobunda; örnekler, düz yüzey veya kesitsel yüzeyler halinde görüntülenebilmektedir. Yöntem uygulanırken; incelenecek olan materyalin türü, uygulanan tedavi prosedürü, görüntülenmek istenen yüzey ve kullanılmak istenen boyuta göre görüntüleme alternatifleri değerlendirilmektedir. Bu tez çalışmasında, mine yüzeylerinde demineralizasyon işlemi sonrası uygulanan tedavi prosedürleri sonucunda oluşan yapısal değişikliklerin ve elemental birikimin değerlendirilmesi amacıyla düz yüzey görüntüleme yöntemi tercih edilmiştir.

Geleneksel SEM incelemesi için örnekler kuru ve iletken olmalıdır.<sup>101-104</sup> Bu nedenle metalik olmayan örneklerin kurutulduktan sonra, vakumlu ortamda ve argon gazı varlığında kaplanmaları gereklidir. Kaplama materyali olarak genellikle altın kullanılmakla birlikte; platin, osmiyum, iridyum, tungsten, krom, grafit gibi metaller de kullanılabilir. Örnekler statik elektrik şarjını önleyecek kadar iletken olsalar dahi, çözümlemeyi arttırmak ve sinyalleri kuvvetlendirmek için kaplanmaları önerilir.<sup>101-104</sup> Bu nedenle mevcut çalışmada, tedavi prosedürleri tamamlanan mine örnekleri, kurutulmaları amacıyla 1 saat 37° etüv içerisinde bekletilmiş ve ardından 10<sup>-4</sup> torr vakum altında altın ile kaplanmıştır. Böylelikle örnek iletkenliğinin artırılması, görüntü kalitesi ve sinyal gücünün daha yüksek olması amaçlanmıştır.

Enerji dağılım spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobuna bağlanmış EDS dedektörü sayesinde herhangi bir materyal yüzeyindeki mevcut elementlerin analizine imkân tanıyan analitik bir ölçüm yöntemidir.<sup>108-111</sup> Yöntemin en büyük avantajı, tarama yapılmak istenen alandaki tüm elemental içeriği saptayabilmesidir. İlave olarak kısa sürede ve kolay uygulanan bir yöntemdir. Yöntemin en önemli dezavantajı; algılayıcı dedektörün önünde kullanılan ve düşük enerjili x ışınlarını emen koruyucu bir pencere nedeniyle hidrojen, helyum ve lityum gibi bazı elementleri saptayamamasıdır.<sup>116</sup> Saptanmasında güçlük yaşanan elementler, çalışmamızda remineralizasyon-demineralizasyon seyri içerisinde incelenmesi gerekli elementler arasında olmadığından bahsi geçen dezavantaj bu çalışma için önem arz etmemektedir.

Enerji dağılım spektroskopisi iki aşamalı bir ölçüm yöntemidir. İlk aşama örneklerin yüzeyindeki elemental içeriğin kalitatif olarak saptanmasıdır. İkinci aşama ise, kalitatif olarak saptanan içeriğin kantitatif olarak hesabının yapılmasıdır.<sup>116</sup> Elemental içeriğin türünün saptanması, elementlerin enerji seviyelerine bağlı olarak EDS spektrumunda bir yerinin olması esasına dayanır. Elemental içeriğin saptanması esnasında, her iyon, cihazın elementleri tespit ettiği spektrum skalasında kendine ait olan aralıkta bir pik görüntüsü yaratır.<sup>116</sup> Yaygın olarak kullanılan SEM/EDS cihazlarında bu saptama işlemi otomatik olarak gerçekleşmektedir. Bununla birlikte, bazı elementlerin enerji seviyeleri birbirlerine yakın olduğundan aynı yerde farklı elementer içeriklerin ortaya çıkması olağandır. Bu, incelenen örneklerin

kompozisyonu bilinmediği takdirde önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır.<sup>116</sup> Fakat bilinen içerikteki örneklerin incelenmesinde beklenmeyen elementler ayrılarak bu dezavantaj ortadan kaldırılmaktadır. Bu çalışmada, diş örneklerinin ihtiva edebileceği elementler bilindiğinden, yanlış element algılanması gibi bir sorunla karşılaşılmamıştır.

Yüzeiden iyon analizi yapan çalışmalarda kullanılan kalitatif ölçüm tabiri, cihazın örnek yüzeyindeki elemental içeriği adlandırması olarak da ifade edilebilmektedir.<sup>116,183-186</sup> Kalitatif analize ek olarak EDS, asıl olarak örneklerdeki mevcut elementlerin konsantrasyonlarını ölçmek amacıyla kullanılmaktadır ve kantitatif analize olanak sağlamaktadır.<sup>116,183-186</sup> Doğru bir kantitatif analiz yapabilmek amacıyla, dikkat edilmesi gereken birçok önemli nokta bulunmaktadır. Bu aşamada en önemli nokta, tüm örnekler için ve tüm ölçümler esnasında standart bir yöntem oluşturulabilmesidir.<sup>116</sup> Öncelikle incelenmek istenen tüm örnekler mutlaka düz olmalıdır. Örneklerde gözlenen düzensizlikler, oluşan X ışınlarının dağılım ve saçılımlarını etkilemekte ve alınan pik değerlerinin farklı olmasına neden olabilmektedir. İkinci olarak; örneklerin incelenmesi esnasında analiz parametreleri (hızlandırma voltajı, analiz zamanı, çalışma uzaklığı, çalışılan alanın büyüklüğü) her örnek için aynı olmalıdır.<sup>116</sup> Bu tez çalışmasında doğru bir kantitatif analiz yapmak ve gerçeğe en yakın verilerin elde edilebilmesi amacıyla, standardizasyona önem verilmiştir. Düz ve pürüzsüz yüzeyler oluşturabilmek amacıyla diş örnekleri zımparalanarak düzensizlikler giderilmiştir. Stereomikroskop altında incelenen örneklerden, yeterli düzeyde pürüzsüz görülmeyen örnekler için zımparalama işlemi tekrarlanmıştır. İnsandan insana ve diştten dişe görülen morfolojik ve ultrastrüktürel farklılıklardan ötürü tedavi prosedürü uygulanarak yapay tükürükte bekletilen kesitler (tedavi) ile yalnızca yapay tükürükte bekletilen kesitler (kontrol), aynı dişin bukkal ve lingual yüzeylerinden elde edilerek analizler bu doğrultuda gerçekleştirilmiş böylece örnek bazında iyon miktarlarında oluşan değişikliklerin dişe ait farklardan etkilenmesinin önüne geçilmiştir. Ayrıca örneklerin incelenmesi esnasında atom numarası düşük olan (O, Ca, P) elementlerle çalışıldığından, spektrum oluştururken bekleme zamanı olabildiğince uzun tutulmalıdır.<sup>116</sup> Böylece hem elementlerin gerçek dağılımı hem de konsantrasyonları doğru olarak



saptanabilir. Bu çalışmada, her bir örnek için analiz zamanı 90 saniye olarak belirlenmiş ve her bir örnekten 3 defa ölçüm yapılarak analizler doğrulanmıştır.

Çalışmanın test parametreleri arasında yer alan bir diğer yöntem olan CLSM, çeşitli floresan özellikli boyalar kullanılarak işaretleme yapan bir elektron mikroskopi tekniğidir.<sup>113-115</sup> Konfokal lazer tarama mikroskop; x, y, z yönlerinde tabakalar halinde tarama yapmaktadır ve elde edilen görüntüler, bilgisayar ortamında üç boyutlu hale getirilebilmekte ve kaydedilebilmektedir.<sup>117-120</sup> CLSM ile diş doğal seviyesinde neme sahipken çalışmak mümkündür ve örneklerin hassas kesim cihazları ile ince kesitler halinde hazırlanması ve kurutulması gibi uygulamaların olmaması hata oluşumunu engeller. CLSM'nin bir diğer avantajı, örnek yüzeylerindeki düzensizliklerin göz ardı edilebilmesidir. Saçılan, yansıyan ve odaklanılan alan dışından gelen floresans ışık elimine edilebildiğinden yalnızca istenilen alanın görüntüsü net olarak elde edilebilmektedir.<sup>120</sup>

Diş sert dokularının demineralizasyon-remineralizasyon süreçlerinin değerlendirilebilmesi amacıyla kullanılan birçok test yöntemi bulunmakla birlikte, yöntemlerin birçoğu lezyon derinliği ve mineral yoğunluğu verilerini verememektedir. CLSM'nin en büyük avantajı, oluşturulan yapay çürük lezyonunun derinlik ve mineral yoğunluğunu ölçmek amacıyla kullanılabilir oluşudur.<sup>187-191</sup> Konu ile ilgili yapılan *in vitro* çalışmalarda, CLSM'nin mikroradyografi ile örtüşen sonuçlar gösterdiği dolayısıyla demineralizasyon/remineralizasyon çalışmalarında kullanılabilir olduğu bildirilmiştir.<sup>187,188</sup> CLSM kullanılarak yapılan çalışmalarda elde edilen diş kesitleri, floresan bir boya uygulaması ile renklendirilmekte ve elde edilen görüntüler üzerinden oluşan lezyon derinliği, yoğunluğu gibi parametreler hesaplanabilmektedir.<sup>187-191</sup> Bu amaçla en çok kullanılan boya Rodamin-B boyasıdır.<sup>187-191</sup> Rodamin-B sağlam mine dokusu içerisine penetre olamamakta, bununla birlikte, demineralizasyon işlemi ile oluşturulan dokuya kolaylıkla nüfuz edebilmektedir. Böylece mine dokusunda kaybedilen minerallerin oluşturduğu boşluklara boyanın penetrasyonu sağlanarak mineral yoğunluğuna ait bilgiler elde edilebilmektedir. İlave olarak bu yöntem ile lezyon derinliğine ait verilerin elde edilebiliyor olması materyallerin remineralizasyon etkinliklerini belirlemeyi sağlamaktadır.<sup>187-191</sup>

Bahsedilen avantajları ve literatürde bu yöntem kullanılarak gerçekleştirilen kısıtlı sayıda çalışma olması nedeniyle bu tez çalışmasında, uygulanan tedavi prosedürlerinin demineralize mine dokusu üzerinde oluşturduğu değişiklikleri saptayabilmek amacıyla CLSM kullanılarak lezyon derinliği, lezyon alanı ve lezyon yoğunluğu parametreleri değerlendirilmiştir. Her bir dişin mezyal ve distal yarılardan alınan görüntüler sayesinde dişlerin farklılıklarından kaynaklanabilecek hatalı sonuçların ortaya çıkması engellenmiştir.

CLSM görüntülemesi sonrası, görüntülerin analizinin doğru bir şekilde yapılması en az görüntüleme yöntemi kadar önem arz etmektedir. Bu çalışmada, sonuçların doğruluğunu arttırmak ve hatalı ölçümlerden sakınmak amacıyla, alınan görüntüler bir dijital resim analiz programına aktarılmış ve ölçümler bu bilgisayar programı aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Kullanılan analiz programı, histoloji, mikrobiyoloji gibi tıp bilimlerinde sıklıkla kullanılan bir araç olup, CLSM çalışmalarında da tercih edilmektedir. Programın önemli özelliklerinden biri tekrarlayan ölçümleri kaydedebilmesi ve ölçümlerin Microsoft Excel programına otomatik olarak aktarımının yapılabilmesidir. Çalışmada, her örnek için yapılan ölçümler 3 kere tekrar edilmiş ve bu ölçümlerin ortalamaları alınarak kaydedilmiştir.

Diş çürüğünü önleme ya da kontrol altına alma yönündeki girişimler; başlangıç çürük lezyonlarında meydana gelen yapı kaybının çeşitli ajanlar ile geri döndürülmesinin yanı sıra oral bakterilerin oluşturduğu biyofilm aktivitelerini modifiye etmek ile de ilişkilidir. Diş çürüğüne neden olan mikroorganizmalar ve bunlar üzerine etki eden antibakteriyel ajanlar ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır.<sup>192-198</sup> Bu çalışmalarda biyofilm içerisinde yaşayan canlı bakteri sayısı, biyofilm yapısı, plak bakterilerinin diş sert dokularına adezyonu ve immün yanıtları gibi spesifik bir çok özellikleri incelenmiştir.<sup>192-198</sup> Plakta yaşayan canlı mikroorganizma sayısı, dental biyofilmin karyojenitesi ile yakın ilişkili olduğundan, bu tez çalışmasında farklı içeriklerdeki antibakteriyel ajanların; oluşturulan *S. mutans* biyofilmi üzerine etkileri, tedavi prosedürleri sonrası canlı kalan mikroorganizma sayısı açısından değerlendirilmiştir.

Dental biyofilm ağız ortamında yüzlerce çeşit mikroorganizmayı ihtiva etmektedir. Biyofilm gelişim aşamalarındaki birçok değişkene rağmen, *in vitro*

koşullarda oluşturulan biyofilmin ağız ortamında oluşan biyofilm ile benzerlik gösterdiği bildirilmektedir.<sup>45,48,55</sup> *In vitro* koşullarda tek bir bakteri cinsiyle biyofilm oluşturulabildiği gibi (monobiyofilm) birçok bakterinin bir arada bulunduğu biyofilm sistemleri üzerinde de çalışılabilmektedir.<sup>45,48,55</sup> Bu çalışmalar değerlendirildiğinde, *in vitro* koşullarda tek bir cins bakteri ile oluşturulan dental biyofilm ile birçok mikroorganizmayla oluşturulan biyofilm arasında benzer yapısal özelliklerin mevcut olduğu görülmektedir.<sup>45,48,55</sup> Dental biyofilm içerisinde en yoğun olarak yer alan, en yüksek karyojeniteye sahip olan ve başlangıç çürük lezyonlarının oluşumunda primer olarak etki sahibi mikroorganizma *S. mutans*'tır.<sup>45,48</sup> Bu nedenle bu tez çalışmasında, farklı içeriklere sahip antibakteriyel ajanların etkinlikleri *S. mutans* ile oluşturulan monobiyofilm üzerinde değerlendirilmiştir.

Biyofilm oluşumunun ilk evresi bakterilerin bir yüzeye tutunmaları ile başlamaktadır. Birçok *in vitro* çalışmada, bakterilerin tutunarak biyofilm oluşturması amacıyla farklı yüzeyler kullanılmıştır. Bu yüzeyler; çekilmiş dişler, hidroksiapatit diskler, cam çubuklar, polisitiren yüzeyler veya akrilik diskler olabilmektedir. Yapılan araştırmalar, farklı yüzeylerde oluşturulan *S. mutans* biyofilmlerinin birbirleriyle canlılık açısından benzerlik gösterdiğini bildirmektedir.<sup>55</sup> Bununla birlikte, insan veya sığır dişleri kullanılarak, ağız ortamıyla benzer özellikler gösteren bir adezyon mekanizması oluşturulması tavsiye edilmektedir. Bu tez çalışmasının ajanların antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasında insan dişi minesine en benzer özellikleri gösteren sığır dişleri kullanılmış ve ayrıca yalnızca mine dokusunu içeren diş kesitleri elde edilerek dokusal farklılıkların sonuçları etkilemesinden kaçınılmıştır.

Oral bakterilerin dental biyofilm oluşturabilmesi için yapışma önemli bir ekolojik faktördür. Mikroorganizmaların adezyonu ve kolonizasyonunda tükürük bileşenlerine ve pelikül tabakasının formasyonuna ihtiyaç vardır.<sup>42-44</sup> Pelikül tabakasının bileşenleri oral mikroorganizmaların adezyonu için reseptör görevi görürler.<sup>42-44</sup> Ağız ortamında bulunan mikroorganizmalar fimbriyalarıyla diş yüzeyine ve/veya adezinleriyle yüzeydeki peliküle tutunurlar.<sup>44,45</sup> Bu çalışmada, mine örnekleri üzerinde biyofilm oluşturması aşamasına geçilmeden önce, örnekler yapay tükürük içerisine yerleştirilerek karıştırılmış ve pelikül tabakasının oluşumuna izin verilmiştir.

Literatürde, remineralizasyon sağlayan dental materyallerin antibakteriyel etkilerinin incelendiği çalışma sayısı sınırlıdır. Bu sınırlı sayıdaki çalışmada antibakteriyel etkinlikler asidifiye jel sistemi, agar difüzyon testleri, bakteri kültür metodu gibi yöntemlerle gerçekleştirilmiştir.<sup>45,48,55,161,162,199-202</sup> Bu yöntemler, birbirlerine göre üstünlüklerine ve test edilecek materyallerden beklenen özelliklere göre seçilmektedir. Yöntemlerin çeşitliliği, materyallerin antibakteriyel etkinlikleri ve araştırma sonuçlarının karşılaştırılması konusunda kesin bir fikrin oluşmasını güçleştirmektedir. Diş hekimliği ile ilgili çalışmalarda bu amaçla en sık kullanılan belirleme yöntemi, hem kolay uygulanabilir bir yöntem olması hem de ucuz olması sebebiyle agar difüzyon testidir.<sup>199-202</sup> Bu yöntem ile bakteri üremesi veya bakteriyel aktivitenin azalması rahatlıkla belirlenebilmektedir. Buna karşın, bu yöntemin en büyük dezavantajının bakterisid ve bakteriyostatik etkilerin ayırt edilememesi ve testin materyallerin uygulanmasının ardından ortamdaki canlı bakteri sayısı hakkında bir bilgi verememesidir.<sup>199-204</sup> Bu nedenle dental plakta yaşayan canlı mikroorganizma sayısının tespit edilebilmesi amacıyla bu tez çalışmasında bakteri kültür metodunun kullanılması tercih edilmiştir.

Antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi amacıyla kullanılan metotlardan biri olan bakteri kültür metodu, üzerine herhangi bir antibakteriyel ajan uygulanan biyofilm kümesinden elde edilen dilüsyonların ekiminin yapılması ve oluşan kolonilere göre yaşayan bakteri sayısının belirlenmesi şeklinde gerçekleştirilmektedir.<sup>45,48,55,203,204</sup> Yöntem, agar difüzyon testine göre tekniğe hassas bir yöntemdir ve biyofilm aşamasından koloni sayımına kadar geçen tüm aşamalarda mutlak bir dikkat ve tecrübe gerektirmektedir. Bununla birlikte, bu yöntemin en büyük avantajı, plaktan elde edilen mikroorganizmaların sayılarak canlı bakteri miktarını net olarak vermesidir.<sup>203,204</sup> Bu nedenle bu tez çalışmasında farklı içeriklerdeki antibakteriyel ajanlarının *S.mutans* monobiyofilminde antibakteriyel etkilerinin incelenmesi ve değerlendirilmesi “bakteri kültür metodu” ile gerçekleştirilmiştir.

Dental plağın asidojenik potansiyeli, plak içerisinde yer alan mikroorganizmaların kompozisyonu ve metabolik aktiviteleri ile yakından ilişkilidir. Plak içerisinde asidojenik ve asidürik bakterilerin miktarının fazla olması veya intrasellüler ve ekstrasellüler polisakkarit oluşturma yeteneği olan bakterilerin

mevcudiyeti, plağın asidojenik potansiyelini yükseltir.<sup>39-41</sup> Ayrıca, plakta intrasellüler veya ekstrasellüler polisakkaritlerin mevcudiyeti, asitlerin etkisinin uzun süre devam etmesine neden olmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında, tedavi amacıyla uygulanan ajanların yalnızca biyofilm içerisinde yaşayan *S. mutans* 'ların canlılığı üzerine etkisi değil, plak pH'ı üzerine etkisi de değerlendirilmiştir. Bu amaçla, diş örnekleri üzerinde oluşturulan dental biyofilmin bekletildiği ortamın pH seviyesi, plak oluşumuna izin verilen 7 gün süresince günde 2 kere kaydedilmiştir. Mine örneklerinin içerisinde bekletildiği ortam, günde iki kere yenisi ile değiştirilmiş olmasına rağmen, zamanla biyofilm içerisindeki *S. mutans* sayısında meydana gelen artış nedeniyle ortam pH'ının çürük oluşumu için kritik olan pH değerinin çok altına düştüğü görülmüştür. Bu süreç içerisinde başlangıçta 7,4 olan ortam pH'ının 24 saat sonunda 5,7'ye, 48 saat sonunda 5,2'ye, 72 saat sonunda 4,8'e ve 4. günün sonunda 4,6'ya kadar düştüğü belirlenmiştir. Takip eden günlerde (5., 6. ve 7.) yapılan ölçümlerde ortam pH'ının 4,6'da sabit kaldığı görülmüş ve 7. günün sonunda bu sabit kalan pH seviyesine bağlı olarak yeterince karyojenik bir biyofilm tabakası elde edildiği kabul edilerek bu aşamadan sonra antibakteriyel materyallerin uygulanmasına başlanmıştır.

Çalışmada kullanılan farklı remineralizasyon materyallerine ait etkilerin Vickers mikrosertlik testi ile incelenmesi sonucu elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; tüm gruplar için, tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası sertlik değerlerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, deney materyallerinin, mine dokusunun mikrosertliği üzerine etkileri, 7 ve 30 günlük tedavi süreleri açısından ve birbirleri ile kıyaslandığında, gruplar arasında farklılıklar olduğu saptanmıştır. Literatür incelendiğinde, çalışmada kullanılan test materyallerinin diş sert dokularının mikrosertlik değerleri üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği benzer bir çalışma olmadığı görülmektedir. Bu tez çalışmasından elde edilen mikrosertlik analizlerine göre; 30 günlük tedavi periyodunun sonunda Curodont materyalinin istatistiksel olarak APF ve AHF grupları ile benzer sonuçlar ortaya koyduğu ve sayısal olarak en yüksek mikrosertlik değişiminin bu grup ile elde edildiği belirlenmiştir. Curodont materyalinin esasını oluşturan biyouyumlu P<sub>11-4</sub> peptiti ile ilgili yapılan çalışmalarda, peptitlerin hidroksiapatitin yeniden oluşumu için başlangıç çürük lezyonunun derinliklerine

kadar nüfuz ettiği ve yeni kristaller için 3 boyutlu bir iskelet görevi gördüğü belirtilmiştir.<sup>167,172</sup> Oluşan bu iskelet yapının, tükürükten kaynaklanan Ca ve P aracılığı ile dokudaki mineral miktarını arttıracığı iddia edilmiştir. P<sub>11-4</sub> gibi biyomimetik peptitlerin kullanımı ve bu peptitlerin lezyon içerisine difüzyonu ile beraber oluşan mineral birikimi diş sert dokularının 'doğal' onarımı olarak adlandırılmaktadır.<sup>167,172-174</sup> P<sub>11-4</sub>, ortam pH'ı 7.4'ten düşük olduğunda düşük viskoziteli izotropik sıvı halden, elastomerik jel hale geçer. Materyale kendiliğinden birleşen peptitler isminin verilmesinin nedeni bu reaksiyondur ve bu reaksiyon sonrası peptitlerin, başlangıç mineral depozisyonunu (çekirdeklenme) ve sonraki kristal büyüme yönlendirmek amacıyla başarılı olacağı iddia edilmektedir.<sup>172-174</sup> Literatürde, yeni geliştirilen bir materyal olması nedeniyle Curodont materyali ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.<sup>167,172,-174</sup> Var olan bu çalışmalar yalnızca materyalin kendi remineralizasyon kapasitesini değerlendirmiştir ve farklı remineralizasyon materyalleri ile kıyaslandığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Materyalin başlangıç çürük lezyonları üzerine etkisinin değerlendirildiği *in vivo* bir çalışmanın sonuçlarına göre, tek sefer uygulamanın ardından 4. ve 8. gün yapılan değerlendirmelerde başlangıç lezyon genişliğine göre tedavi sonrasında anlamlı bir fark oluşmadığı, bununla birlikte 30. gün yapılan değerlendirmelerde lezyon genişliklerinin azaldığı saptanmıştır.<sup>167</sup> Peptitlerin remineralizasyon etkilerinin floresans bazlı çürük teşhis cihazları ve SEM ile incelendiği *in vitro* bir çalışmada ise, materyalin kısa dönemdeki remineralizasyon etkisinin sınırlı olduğu, bununla birlikte değerlendirme sürecinin uzaması ile etkinliğinin arttığı kanıtlanmıştır.<sup>173</sup> Her iki çalışmanın da limitasyonu olarak; uzun dönemli, farklı remineralizasyon ajanları ile karşılaştırmalı araştırmaların planlanmasının gerekliliği vurgulanmıştır. Bahsi geçen sonuçlar ile bu tez çalışmasından elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, 1 haftalık tedavi periyodunun sonunda materyalin remineralizasyon etkisinin kısıtlı olduğu; bununla birlikte, daha uzun süreli tedavi sürelerinde etkinliğinin arttığı görülmektedir. Peptitlerin diş sert dokuları üzerine düşük pH değerine sahip F preparatları (örneğin APF ve AHF) gibi çözücü etkisi bulunmamaktadır. Düşük pH değerine sahip F solüsyonları, mine dokusu üzerinde başlangıç erozyonu oluşturmakta ve bu dokudan kaybedilen iyonlar ile solüsyonlar içerisindeki iyonların oluşturduğu bileşikler

başlangıçta hızlı bir çökelmeye neden olmaktadır.<sup>93,169</sup> Curodont materyali için ise, başlangıçta oluşan iskelet yapının içerisine çökecek tükürük komponentlerinin formasyonu için zamana ihtiyaç vardır. Bu tez çalışmasının verileri dahilinde Curodont ile sağlanan sayısal olarak en yüksek mikrosertlik değerlerinin 30 günlük tedavi sonucunda elde edilmesinin bahsi geçen mekanizmalardan ileri geldiği düşünülmektedir.

Çalışmadan elde edilen veriler ışığında; APF uygulaması yapılarak yapay tükürük içerisinde bekletilen örneklerin, 7 günlük sonuçlar açısından AHF grubu ile 30 günlük tedavi sonuçları açısından ise AHF ve Curodont grupları ile istatistiksel olarak benzer ve yüksek sonuçlar verdiği görülmektedir. APF, özellikle pedodonti alanında, koruyucu diş hekimliği kapsamında, diş çürüklerinin önlenmesi, durdurulması veya geri çevrilmesi amacıyla geniş bir kullanım alanı bulan ve hakkında en geniş çaplı çalışmaların yapıldığı topikal çürük önleyici ajanlardan biridir.<sup>93,205-212</sup> Literatürdeki APF solüsyonu kullanılarak yapılan mikrosertlik çalışmaları değerlendirildiğinde, çalışmamız ile benzer şekilde, APF'nin demineralize diş dokularının remineralizasyonunda başarılı bir materyal olduğu ve APF ile elde edilen yüksek mikrosertlik değerlerinin materyalin asidik yapısından kaynaklandığı ortak bir görüş olarak bildirilmektedir.<sup>93,210-212</sup> Materyal, düşük pH'ı nedeniyle uygulamanın ardından minenin yüzey tabakasından eroziv bir kayıp oluşmasına neden olmakta ve bu eroziv dokudan kaybedilen Ca ile APF'den kaynaklı F'un oluşturduğu kalsiyum florür (CaF<sub>2</sub>) bileşiği, mine dokusunun sertliğinin artmasına neden olmaktadır.<sup>93</sup>

Mevcut tez çalışmasında, remineralizasyon kapasiteleri değerlendirilen materyallerden, yüksek miktarda mikrosertlik artışına yol açan bir diğer materyal AHF'dir. Literatür gözden geçirildiğinde, AHF'nin kullanıldığı ve mine dokusu üzerinde oluşturulan başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyon miktarının mikrosertlik testi aracılığıyla değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Mine dokusunun asit direnci üzerine AHF'nin etkisinin mikroradyografi ile değerlendirildiği bir çalışmada; materyalin APF ve NaF solüsyonlarına kıyasla daha başarılı olduğu belirtilmiştir.<sup>169</sup> Yazarlar çalışmada kullanılan bir diğer değerlendirme yöntemi olan SEM'den elde edilen bulguları da dikkate aldıklarında; aradaki farkın uygulamalar sonrasında yüzeye bağlanan florun

bağlanma şeklindeki farklılıktan kaynaklandığını iddia etmişlerdir.<sup>169</sup> Buna göre; APF ve NaF uygulaması ile elde edilen gevşek bağlı F demineralizasyonun önlenmesine direkt olarak etki etmeyerek yapıdan kolayca uzaklaşmakta, kalan az miktardaki F ise sıkı bağlı F ve fluoroapatit oluşumuna katılmaktadır. Oysa AHF uygulaması sonrası oluşan sıkı bağlı florun büyük kısmı yapıda kalarak daha fazla fluoroapatit oluşumunu indüklemektedir. Ayrıca, AHF'nin içerisinde yer alan silikonun, solüsyonun düşük pH'ı nedeniyle oluşan başlangıç demineralizasyonu sonrası yapıdan salınan Ca ve P ile bileşik oluşturarak, hızlı bir şekilde silika-Ca-P şeklinde çökmeye neden olduğu ve silikonun fluoroapatit oluşumunu hızlandırıcı, katalizör bir etkisi olduğu da bilinmektedir.<sup>168</sup> Bu tez çalışmasında AHF uygulaması sonrası elde edilen yüksek mikrosertlik değerlerinin, bahsedilen mekanizmalardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Diş sert dokularının remineralizasyonu amacı ile kullanılan materyallerin antibakteriyel etkinliğinin de bulunması diş çürüklerinin önlenmesi ve geri döndürülmesinde istenen bir özelliktir. Bu amaçla remineralizasyon ajanlarının içerisine çeşitli antibakteriyel ajanlar ilave edilebilmektedir. Bu bağlamda en önemli nokta ilave edilen antibakteriyel ajanların, materyallerin tek başına gösterdikleri remineralizasyon etkinliklerinin azalmasına yol açmamalarıdır. Setilpiridinyum klorür, piridinyum gruplarında pozitif yük taşıyan bir dördü amonyum bileşiğidir. Bileşiğin antibakteriyel özelliği, bakteri hücrelerindeki negatif yüklü proteinler üzerine etki ederek hücre membranının elektriksel dengesini bozmasından kaynaklanmaktadır.<sup>169</sup> Setilpiridinyum klorür, etkili antibakteriyel özelliği sayesinde tek başına veya çeşitli malzemeler içerisine ilave edilerek geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Materyalin bu etkisinden faydalanmak amacıyla AHF içerisine ilave edilerek yeni oluşan solüsyonun antibakteriyel etkisinin değerlendirildiği *in vitro* bir çalışmada, AHF+CPC solüsyonunun, tek başına AHF'nin gösterdiği antibakteriyel etkiden daha fazla etkili olduğu bulunmuştur.<sup>171</sup> Bununla birlikte, materyalin AHF içerisine ilavesinin remineralizasyon etkinliği açısından nasıl bir etki yaptığı henüz bilinmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada setilpiridinyum klorür ilavesiyle zenginleştirilmiş AHF solüsyonunun remineralizasyon etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. AHF+CPC solüsyonunun remineralizasyon üzerine etkisi mikrosertlik açısından değerlendirildiğinde, AHF'nin mikrosertlikte tek başına oluşturduğu



olumlu kazanımın setilpiridinyum ilavesi ile negatif yönde etkilendiği fakat bununla birlikte istatistiksel olarak değerlendirildiğinde iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Materyalin etkisindeki göreceli azalmanın, AHF solüsyonuna ilave edilen setilpiridinyum klorürün solüsyonun pH derecesini yükseltmesinden ve bu ilavenin etkisiyle AHF solüsyonunun yoğunluğunun azalmasıyla remineralizasyon için gerekli olan silikon ve F iyonlarının nispi azalışından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

SDF literatürde yüksek antibakteriyel özelliği ile bilinen bir materyaldir.<sup>55,159,161,162</sup> Bununla birlikte diş sert dokularının remineralizasyonu amacıyla kullanıldığında remineralizasyon etkinliğinin antibakteriyel etkisi kadar dikkat çekici olmadığı görülmektedir.<sup>55,213</sup> Çalışmada, SDF'nin mine dokusunun mikrosertliğinde oluşturduğu değişimler değerlendirildiğinde, materyalin kullanımı ile minenin sertliğinin arttığı, bu artışın hem 7 hem 30 günlük tedavi süreleri için AHF ve AHF+CPC grupları ile benzer olduğu, fakat kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir. SDF ile ilgili yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde, materyalin diş sert dokularının mikrosertliği üzerine etkilerini inceleyen çok az sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Chu ve arkadaşları<sup>55</sup>; SDF ve %5 NaF solüsyonun remineralizasyon etkisini, dentin dokusuna ulaşmış hızlı ilerleyen çürüğe sahip çocukların üst kesici dişlerinde değerlendirmişlerdir. Çalışmada yılda bir defa SDF veya 3 ayda bir %5 NaF uygulanan süt kesici dişler, düşme zamanları geldiğinde çekilmiş ve mikrosertlik değerlendirmesi amacıyla hazırlanmıştır. Lezyonun ortasından başlanarak 25 mikrometre aralıklarla pulpaya doğru ilerleyecek şekilde Knoop sertlik testi gerçekleştirilmiş ve çalışmanın sonucunda SDF ile tedavi edilen dişlerde çoğunlukla çürüğün durgun hale geldiği ve bu dişlerde daha yüksek mikrosertlik değerlerinin elde edildiği gözlenmiştir. Bununla birlikte iki materyal arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu çalışmanın *in vivo* şartlarda gerçekleştirilmiş olması nedeniyle çok kısıtlı sayıda örnek sayısına sahip olması, SDF'nin remineralizasyon etkisi için yorum yapmayı güçleştirmektedir. Delbem ve arkadaşları ise, mine dokusunun demineralizasyona direncini belirlemek amacıyla SDF ve %2,26 F içeren bir verniği kullandıkları çalışmalarında, materyallerin uygulandığı diş örneklerini pH siklus işlemine maruz bırakmışlardır.<sup>213</sup> Bir hafta pH

siklus işlemine maruz bırakılan örnekler, bu periyodun sonunda yüzey sertliği analizleri ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda SDF uygulanan örneklerden, kontrol grubuna (yapay tükürük) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek mikrosertlik değerleri elde edilmiş olmasına rağmen, F verniği ile kıyaslandığında düşük mikrosertlik değerleri bulunmuştur. Bu tez çalışmasında SDF'nin, demineralize mine dokusu üzerine etkisi mikrosertlik testi açısından değerlendirildiğinde, materyalin mikrosertlik artışına yol açtığı ancak bu etkinin kısıtlı olduğu görülmektedir ve bu bulgu yukarıda bahsi geçen çalışmalar ile uyumludur.

Diş sert dokularının yüzeyine uygulanan farklı işlemlerin ve bu yüzeylere uygulanan materyallerin, dokuların mineral içeriğini ve yapısını değiştirebildiği bilinmektedir. Minenin inorganik yapısının temel taşı hidroksiapatit kristalidir ve bu yapıyı oluşturan elementler arasında yer alan Ca ve P'un miktarında, yapıyı oluşturan diğer elementlere oranla meydana gelen değişiklikler kristal yapının büyüklüğünü, geçirgenliğini ve çözünürlüğünü önemli oranda etkilemektedir.<sup>116,170,180</sup> Sağlam minedeki Ca ve P ağırlık yüzdelerinin ve Ca/P oranının demineralize diş dokusuna oranla daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu nedenle diş sert dokularının remineralizasyonunu konu alan çalışmalarda genellikle Ca, P elementleri ve Ca/P oranı değerlendirilmektedir.<sup>116,170,180</sup> Bu çalışmalarda, Ca ve P elementlerine ilave olarak, minenin çözünürlüğünü değiştirerek ve kristallerin şeklini ve boyutunu biçimlendirerek çürük insidansının azalmasında önemli bir role sahip olan F iyonundaki değişimler de sıklıkla değerlendirilmektedir.<sup>116,170</sup> Bu nedenle çalışma, başlangıç çürük lezyonu oluşturularak farklı tedavi prosedürlerinin uygulandığı mine örneklerinin bütün elemental içerikleri saptanmış olmasına rağmen Ca, P, F içerikleri ile Ca/P oranlarına ait veriler üzerinde durulmuştur.

Enerji dağılım spektroskopisi; mineral içeriğini ve yapısını saptamak amacıyla kullanılan, uygulaması zor, pahalı bir teşhis yöntemidir ve remineralizasyon-demineralizasyon seyrinin incelenmesi amacı ile kullanılmaktadır.<sup>116</sup> Literatür incelendiğinde, bu çalışmada kullanılan ajanların diş sert dokuları üzerinde oluşturdukları değişiklikleri EDS yöntemi ile değerlendiren az sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Bu çalışmada kullanılan materyallerin birbirleri ile kıyaslandığı herhangi bir çalışma ise bulunmamaktadır. EDS yöntemini

kullanarak AHF solüsyonunun demineralize süt dişi mine dokusu üzerine etkilerini inceledikleri *in vitro* çalışmanın sonucunda Hosoya ve arkadaşları<sup>170</sup>, AHF uygulanarak 1 hafta yapay tükürük içerisinde bekletilen örneklerin Ca/P oranlarının ve F içeriklerinin, başlangıç değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma ile uyumlu olarak mevcut tez çalışmasından elde edilen veriler, AHF uygulanan mine örneklerinin hem 7 gün hem de 30 günlük tedavi süreleri için, kontrol grubuna kıyasla yüksek derecede Ca, P, F iyonu ve Ca/P oranı içerdiğini göstermektedir. Ayrıca, 30 günlük tedavi periyodu sonrasında mine dokusundaki F miktarı açısından en yüksek değerler AHF grubu ile elde edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan bir diğer ajan olan SDF'nin, 7 günlük biyofilm oluşumuna izin verilerek başlangıç çürük lezyonu oluşturulan mine örnekleri üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmanın sonucunda, materyalin uygulandığı örneklerde, bu çalışmanın EDS bulguları ile benzer şekilde kontrol grubuna kıyasla daha yüksek Ca içeriği saptanmış ve SDF'nin demineralizasyonun inhibisyonunda başarılı bir materyal olduğu bildirilmiştir.<sup>55</sup> Remineralizasyon etkinliğinin EDS yöntemi ile değerlendirildiği bu kısıtlı sayıdaki çalışmaların dışında, materyallerin mine dokusu yüzeyine geçirdiği iyon miktarlarını değerlendirmek amacıyla farklı çalışma dizaynları da bulunmaktadır. Suzuki ve ark.<sup>214</sup>, demineralize mine dokusu üzerine uygulanan SDF, sodyum florür ve stannöz florürü mine dokusuna geçen F yoğunluğu açısından kıyaslamışlar ve çalışmanın sonucunda, yüzeyde kalan F konsantrasyonunun SDF grubunda en yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Delbem ve ark.<sup>213</sup> ise tersine, hidroklorik asitte çözdükleri mine dokusu incelemelerinde, SDF uygulamasının %2,26 içerikli F verniği uygulamasına kıyasla başarısız olduğunu ve SDF uygulaması sonrası yüzeyde biriken florun kolaylıkla uzaklaştığını iddia etmişlerdir. Bu tez çalışmasında SDF uygulanan gruplardan elde edilen F içeriği ile ilgili veriler değerlendirildiğinde, yukarıda bahsi geçen çalışmalar ile benzer şekilde değişken sonuçlar elde edilmiş, 7 günlük tedavi süresi sonunda mine dokusundaki F içeriğinin arttığı saptanırken, 30 gün sonunda azaldığı bulunmuştur. Bu iki zaman dilimi arasındaki farkın, SDF uygulaması sonrası diş yüzeyinde kalan florun zamanla diş dokusundan uzaklaşmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. İlave olarak, materyalin uygulanmasından sonra diş yüzeyinde oluşan yoğun gümüş birikiminin mine dokusundaki saptanabilen

F içeriğini göreceli olarak düşürebileceği düşünülmektedir. Çalışmada kullanılan bir diğer ajan olan APF jelin oluşturduğu iyon değişikliklerinin EDS yöntemi ile değerlendirildiği bir çalışma bulunmamakla beraber materyalin iyon miktarları açısından yarattığı değişikliklerin değerlendirildiği farklı çalışmalar mevcuttur. Örneğin, Calvo ve ark.<sup>210</sup> APF jelin etkinliğini *in situ* şartlarda değerlendirdikleri çalışmalarında; APF uygulaması sonrası, potasyum hidroksit ve hidroklorik asit incelemeleri ile mine örneklerini değerlendirmişler ve çalışmanın sonucunda hiçbir tedavi uygulanmayan gruba kıyasla anlamlı seviyede yüksek miktarda CaF<sub>2</sub> ve fluoroapatit oluşumu gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Aynı şekilde Delbem ve ark.<sup>211</sup>; APF ile NaF'ü, mine dokusuna geçen F oranı açısından hidroklorik asit yöntemi ile karşılaştırdıkları çalışmalarının sonucunda, APF'nin mine dokusuna daha fazla F elementi geçişine neden olduğunu ancak 1 ve 4 dakikalık uygulama süreleri açısından bir fark olmadığını göstermişlerdir. Lee ve arkadaşları<sup>93</sup>; APF jel, F verniği ve NaF+iyontoforezis jeli uyguladıkları çalışmalarının sonucu olarak; APF jeli, diş dokusu üzerindeki F iyon miktarı açısından en başarılı materyal olarak belirtmişlerdir. Materyalin gösterdiği bu etkiyi, sahip olduğu düşük pH nedeniyle, uygulamanın ardından minenin yüzey tabakasından kaybedilen Ca iyonları ile APF kaynaklı florun oluşturduğu kalsiyum florür (CaF<sub>2</sub>) bileşiği ile ilişkilendirmişlerdir. Bu tez çalışmasından APF uygulaması sonrası elde edilen bulgular, bahsi geçen çalışmalar ile uyumlu olarak materyalin diğer tüm remineralizasyon ajanları gibi tedavi uygulanan yüzeylerde kontrol yüzeylerine oranla Ca artışına neden olduğunu ve Ca/P oranının yükselmesini sağladığını göstermektedir. Yine bu çalışmalar ile benzer şekilde, tüm zaman periyotları için, APF uygulaması, diş dokusuna geçen F miktarını anlamlı seviyede yükseltmiş ve demineralizasyonun inhibisyonu açısından başarılı bir materyal olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmada test edilen Curodont materyali hariç diğer tüm materyaller F içermektedir. Florun remineralizasyonu hızlandırıcı bir etkisi bulunduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, çalışmada kullanılan F içerikli solüsyonlar veya Curodont materyali ile tedavi edilen mine örnekleri arasında F içeriği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması, uygulanan F içerikli materyallerden diş dokusuna geçen F miktarının kısıtlı olduğunu düşündürmektedir. Bu durum, materyallerin uygulanması sonrası örneklerin yapay tükürükte bekleme süreleri

içerisinde dişin yapısından florun uzaklaşıyor olması ile açıklanabilir. İlave olarak, materyaller arasında tüm elemental içerikler açısından fark oluşmamasının, tedavi prosedürleri sonrası mine içeriğindeki elementlerin dağılımlarının değişmesinden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışma sonucunda, SEM-EDS analizi ile moleküler düzeyde ağırlık analizi yapmanın teknik anlamda çok hassas bir yöntem olması nedeniyle remineralizasyon çalışmalarında kesin yargılara varmanın güç olduğu düşünülmüştür.

Bu tez çalışmasında kullanılan farklı remineralizasyon ajanlarının mine dokusunda oluşturduğu değişiklikler taramalı elektron mikroskop kullanılarak morfolojik açıdan da değerlendirilmiştir. Taramalı elektron mikroskop ile elde edilen görüntüler genel olarak değerlendirildiğinde, tüm materyaller için 7 günlük tedavi prosedürü sonrası mine yüzeyinin daha düzensiz, pöröz bir tabaka ile kaplı olduğu; 30 günlük tedavi sürelerinin sonunda ise düzensiz çökelmelerin daha homojen ve düzgün bir hal aldığı ve mine çukurcuklarının içerisinde daha büyük ebatta mineral bileşiklerinin varlığı izlenmiştir. Bununla birlikte, bu incelemelerde materyallerin içeriği, etki mekanizması ve tedavi etkinliği gibi kriterler ile ilişkili olabilecek farklı yüzey özelliklerinin ortaya çıktığı görülmüştür. Çalışmamızda elde edilen SEM görüntülerinde mine yüzeyinde en yoğun mineral bileşiklerinin varlığı AHF uygulanan örneklerde tespit edilmiştir. Bu bulgu Hosoya ve arkadaşlarının demineralize süt dişleri ile buldukları bulgular ile benzerlik göstermektedir.<sup>17</sup> Araştırmacılar, AHF uygulaması sonrası yoğun bileşik birikiminin materyalin içerdiği F ve silikonun katalizör etkisinden kaynaklı olabileceğini bildirmişlerdir. SEM görüntülemesi sonuçlarına göre, AHF içerisine setilpiridinyum ilavesi mineral bileşiklerinin çökmesini azaltmıştır, yüzeyde daha az bileşik varlığı saptanmıştır. Bu bulgu çalışmamızda elde edilen mikrosertlik ve CLSM bulgularını tamamlar ve destekler niteliktedir. Çalışmamızın SEM görüntülemelerinden elde edilen en çarpıcı bulgu, SDF uygulanan gruplarda gözlenen gümüş depozisyonlarıdır. Materyalin uygulandığı mine örnekleri incelendiğinde, mine yüzeylerinin yer yer gümüş ile kaplı olduğu, bazı alanlarda gümüş içeriğinin tüm yüzeyi kapladığı ve alttaki mine dokusunun seçilemediği görülmüştür. SDF grubu ile elde edilen bu bulgu, günümüze kadar yapılan birçok çalışmada da gösterilmiştir.<sup>55,213,214</sup>

Remineralizasyon ajanlarının mine dokusunda oluşturduğu değişiklikleri değerlendirmek amacıyla bu tez çalışmasında kullanılan diğer bir yöntem olan CLSM analizi, diş dokularının remineralizasyon seyrinin lezyon derinliği, lezyon alanı ve yoğunluğu açısından değerlendirilebilmesine olanak sağlayan önemli bir test yöntemidir.<sup>87,89,90,120</sup> Bununla beraber, mine dokusu için örnek hazırlama ve elde edilen görüntülerin değerlendirme aşamalarının tekniğe hassas olması, cihazın pahalı ve ulaşımı zor olması nedenleriyle remineralizasyon/demineralizasyon çalışmalarında yöntemin kullanımı kısıtlıdır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, bu tez çalışmasına konu olan materyaller içerisinde CLSM kullanılarak etkinliği değerlendirilen tek materyal APF'dir. Kim ve ark.,<sup>215</sup> CLSM kullandıkları çalışmalarının sonucunda APF jelin diş sert dokularının remineralizasyonunda ve başlangıç çürük lezyonlarının derinliğinin azaltılmasında başarılı olduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, APF ile elde edilen remineralizasyonun, materyalin asidik yapısı nedeniyle diş sert dokuları ile daha iyi bir etkileşim göstermesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Lee ve arkadaşları;<sup>93</sup> APF, %5 NaF ve %5 F vernik uygulamasının demineralize mine dokusu üzerine etkilerini inceledikleri *in situ* çalışmanın sonucunda, APF'nin hem kontrol grubu hem de %5 NaF grubuna göre, mevcut lezyon alanını daralttığını ve % 5 F vernik uygulaması ile benzer bir sonuç ortaya koyduğunu belirtmişlerdir. APF'nin remineralizasyon etkinliğinin CLSM ile değerlendirildiği yukarıda bahsi geçen iki çalışma, bu tez çalışmasından elde edilen bulguları destekler niteliktedir. Ancak bu çalışmalardan birinde yalnızca lezyon derinliği, diğerinde ise yalnızca lezyon alanı analizleri yapılmıştır. Bu tez çalışmasında ise remineralizasyon ajanlarının etkinlikleri; lezyon derinliği (*i*), lezyon alanı (*ii*) ve lezyonlara ait floresans değerleri (*iii*) açısından incelenmiştir. Mevcut çalışmada, APF materyali için, demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası elde edilen lezyon derinliği, lezyon alanı ve lezyonlara ait floresans değerleri arasındaki farkların kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve tedavi işlemleri sonrasında her üç parametre için de tedavinin gerçekleştiğini işaret eden bir azalmanın meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca, lezyonun floresans değişimi açısından en başarılı grup APF grubudur ve Curodont ve AHF ile de benzer sonuçlar göstermektedir. Bu çalışmada, lezyon floresans değişimi analizleri, mine dokusunun tedavi amacı ile kullanılan

materyallerden ve tükürükten absorbe ettiği iyon miktarının saptanması amacıyla uygulanmıştır. Doku içerisine nüfuz eden iyon miktarı arttıkça, floresans değişimi de artmaktadır. APF ile elde edilen lezyon floresans değerlerindeki azalma (değişimdeki artış); materyalin lezyon içerisine difüze olarak bu alana hem tükürükten hem de materyalin kendisinden kaynaklı iyon geçişinin yüksek olduğunun ve sonuçta remineralizasyon sağlandığının göstergesidir. Çalışmada kullanılan diğer materyaller ile ilgili CLSM ile yapılmış herhangi bir çalışma olmamakla birlikte, materyallerin lezyon derinliği ve floresans yoğunluğu üzerine etkileri hakkında yorum yapmaya yardımcı olabilecek farklı çalışmalar mevcuttur. Örneğin, AHF solüsyonunun minenin farklı katmanlarındaki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, materyalin uygulandığı mine dokusu yüzeyden pulpa dokusuna doğru farklı ölçüm noktalarında mikrosertlik testi ile incelenmiş ve çalışmanın sonucunda, AHF uygulamasının Ca, F içeriği ve Ca/P oranı açısından mine dokusunun üst yüzeyine kıyasla derin dokularda daha fazla artışa yol açtığı belirtilmiştir.<sup>170</sup> Çalışmanın sonuçları, bu tez çalışmasından AHF materyali için elde edilen verileri destekler niteliktedir. AHF ile elde edilen yüksek floresans değişimi, Hosoya ve arkadaşlarının çalışmalarında belirttiği şekilde materyalin minenin alt tabakalarına da etki edebildiğinin göstergesidir. AHF'nin tersine SDF materyali, lezyon floresans değişimi açısından değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile belirgin bir fark göstermemiştir. Benzer şekilde Delbem ve arkadaşları, SDF ve %2.26 flor içeren vernik uygulaması sonrası pH siklus işlemine maruz bırakılan örnekleri kesitsel sertlik analizleri ile değerlendirmişler ve bu çalışmanın sonucunda; SDF uygulanan örneklerin, yüzeyden derinlere gidildikçe kontrol grubu ve flor verniği uygulanan gruplara göre daha başarısız sonuçlar verdiği bildirmişlerdir.<sup>213</sup> Yazarlar bu bulguyu, materyalden kaynaklanan florun mine dokusunun sadece yüzeyine yerleşmesinden ve kolayca uzaklaşmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Yazarlara göre, materyalin yapısından salınan flor, yüzey altı lezyona penetre olamamaktadır.

Bu tez çalışmasından elde edilen CLSM analizleri test edilen her 3 parametre açısından değerlendirildiğinde, 7 ve 30 günlük tedavi periyodunun sonunda Curodont materyali başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunda oldukça başarılı bulunmuştur. Bugüne kadar Curodont ile ilgili yapılmış kısıtlı sayıda çalışma olmakla beraber bu çalışmaların sonuçları ve üretici firmanın; materyalin lezyon

içerisine difüzyon kabiliyetinin yüksek olduğuna dair iddiası ile bu tez çalışmasının bulguları birbirini destekler niteliktedir.

Çalışmanın bir diğer parametresi olan materyallerin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular doğrultusunda, çalışmada kullanılan ajanların, oluşturulan *S. mutans* biyofilmi üzerine uygulanmalarının ardından, biyofilm üzerinde canlı kalan bakteri sayılarının gruplar arasında farklılık gösterdiği bulunmuştur. Her ne kadar çalışmada test edilen tüm materyalleri birbirleri ile kıyaslayan herhangi bir çalışma bulunmasa da, farklı test yöntemleri ile ve farklı antibakteriyel ajanlar ile kıyaslayan bazı çalışmalar mevcuttur. Chu ve arkadaşları; demineralize dentin diskleri yüzeyinde 7 gün boyunca oluşturulan *S. mutans* ve *A. Naeslundii* biyofilmine SDF'nin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarının sonucunda, uygulamadan 1 hafta sonra dental biyofilm içerisinde her iki türden de canlı bakteri saptanamadığını bildirmişlerdir.<sup>55</sup> Bununla birlikte kontrol grubunda yüksek sayıda mikroorganizma varlığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, yapılan pH değerlendirmesi sonucunda, SDF uygulanan grupların pH seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar, SEM ve EDS incelemeleri sonrası diş mine dokusu üzerinde yoğun gümüş birikimleri saptamışlar ve SDF'nin saptanan bu güçlü antibakteriyel özelliğini gümüş iyonu ile ilişkilendirmişlerdir. Mei ve ark.<sup>216</sup>, dentin dokusunda *S. mutans* ve *L. acidophilus* bakterileri kullanarak oluşturdukları biyofilm tabakası üzerinde SDF'nin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmanın sonucunda; tedavi gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha az sayıda canlı bakteri saptamışlardır. Aynı çalışmada biyofilm ortamının pH değerlendirmeleri ise kontrol grubunda 4-4.5, SDF grubunda ise 6-6.5 olarak ölçülmüştür. Mei ve ark.<sup>217</sup> konu ile ilgili bir başka çalışmalarında, dentin dokusunda, *S. Mutans*, *S. Sobrinus*, *L. acidophilus*, *A. Naeslundii* mikroorganizmaları ile çoklu bir biyofilm oluşturarak SDF'nin etkinliğini değerlendirmişler ve tedavi grubunu kontrol grubuna kıyasla antibakteriyel açıdan daha etkili bulmuşlardır. Araştırmacılar ayrıca taramalı elektron mikroskop ve CLSM bulgularının da sonuçları doğrular nitelikte olduğunu iddia etmişlerdir. Bahsi geçen çalışmalar ile bu tez çalışmasından SDF'nin antibakteriyel etkinliği açısından elde edilen veriler uyum göstermektedir. Mevcut çalışmada kontrol grubuna kıyasla etkinliği değerlendirilen tüm materyallerin, daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur. Deney



grupları kendi aralarında kıyaslandığında ise; en yüksek antibakteriyel etkinin SDF grubunda olduğu görülmüş ve bu materyalin uygulandığı biyofilm örnekleri üzerinde canlı kalan bakteri tespit edilememiştir. Ayrıca, çalışmadan elde edilen pH bulguları değerlendirildiğinde; plakta yaşayan bakteri sayıları ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Kullanılan tüm test materyallerinin dental plak pH'ı üzerine etkileri incelendiğinde; deney gruplarında plak pH'ının daha yüksek olduğu belirlenerek en yüksek plak pH'ı SDF grubunda tespit edilmiştir. SDF yüksek konsantrasyonda gümüş (253,870 ppm) ve flor (44,800 ppm) içermektedir.<sup>166</sup> SDF'nin antibakteriyel özelliği yapısında bulunan flor ve gümüş iyonlarının sinerjik etkisinden kaynaklanmakla birlikte; esas olarak yüksek gümüş konsantrasyonuna bağlıdır.<sup>166,216,217</sup> Gümüş; biyolojik mikroorganizmalar üzerine hücre membranı, hücre metabolizması ve çoğalması üzerine etkilidir. Yapılan çalışmalarda gümüşün DNA ve proteinlerin sülfidril grupları ile ilişkiye girdiği, hidrojen bağlarına etki ettiği, solunum işlemini inhibe ettiği, DNA sarmalını çözdüğü, hücre duvar sentezini olumsuz etkilediği ve hücre bölünmesine etki ettiği bildirilmektedir.<sup>166</sup> Ayrıca gümüş, glukan sentezinden sorumlu olan glikoziltransferaz enziminin inhibisyonu yoluyla hücre polisakkaritlerinin sentezini inhibe etmektedir. Glukan, mikroorganizmaların birbirine ve dış yüzeyine adaptasyonunda esas rolü oynamaktadır. Yapı içerisinde bulunan flor ise; bakterinin hücre bileşenlerine bağlanabilmekte ve enolaz ve adenosintrifosfataz gibi bakteriyel enzimleri olumsuz yönde etkileyebilmektedir. İkincil etki olarak da, asidojenik oral bakterilerin karbonhidrat metabolizmasının inhibisyonunda etkili olmaktadır.<sup>166</sup>

Çalışmada antibakteriyel etkinlikleri değerlendiren diğer flor içerikli materyallerin sonuçları değerlendirildiğinde, plakta yaşayan canlı bakteri sayısı açısından, bütün materyallerin kontrol grubuna göre daha başarılı olduğu, SDF grubuna kıyasla ise yeterli antibakteriyel etkiyi gösteremedikleri belirlenmiştir. Bu bulgu literatürde yayınlanan önceki çalışmalar ile de benzerlik göstermektedir. SDF, AHF, AHF+CPC solüsyonlarının antibakteriyel etkinliklerinin 2 mm kalınlıkta hidroksiapatit peletler üzerinde oluşturulan *S. mutans* biyofilmi üzerinde denendiği bir çalışmanın sonucunda, en etkili materyalin SDF olduğu, AHF'nin etkinliğinin ise sınırlı olduğu bildirilmiştir.<sup>171</sup> Bununla birlikte AHF içerisine setilpiridinyum ilavesinin materyalin antibakteriyel etkisini anlamlı seviyede yükselttiği

vurgulanmıştır. Araştırmacılar bu çalışmalarında, bakteriler hidroksiapatit peletler üzerine ekilmeden hemen önce kullandıkları antibakteriyel materyalleri uygulamış ve plak birikimine yalnızca 12 saat müsaade etmişlerdir. Bu tez çalışmasında, bahsi geçen çalışmadan farklı olarak AHF ve AHF+CPC grupları arasında antibakteriyel etki açısından fark bulunmamasının, çalışmamızda 7 günlük süreçte oluşturulan olgun biyofilm içerisine, materyallerin yeterince nüfuz edememesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Shah ve ark.;<sup>218</sup> APF, SDF ve %2,26 flor vernik kullanarak materyallerin etkinliklerini *in vivo* olarak değerlendirdikleri çalışmada, antibakteriyel ajanların uygulanmasının ardından 72 saat, 6 ay, 12 ay ve 18 ay sonra plak skoru ve tükürükte yaşayan *S. mutans* sayısına ait verileri kıyaslamışlardır. Bu çalışmanın sonucunda, APF'nin flor vernik ile benzer antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu, SDF'nin ise her iki materyale göre çok daha başarılı bulunduğu bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında, remineralizasyon etkinliği gösteren materyallerin haricinde oral bakteriler üzerine antibakteriyel etkinliği kanıtlanmış bir solüsyon olan CHX de kullanılmıştır. Klorheksidinin geniş bir antibakteriyel etkisi vardır. *MS*'lerin CHX'e hassas oldukları ve plak oluşumunun önlenmesi ve asit üretiminin engellenmesi amacıyla başarılı bir preparat oluşunu gösteren çalışmalar mevcuttur.<sup>218-220</sup> Bununla birlikte kullanılan mikroorganizmaların türü, oluşturulan biyofilmin yapısı, kullanılan CHX solüsyonun türü, kompozisyonu, yoğunluğu ve uygulama zamanı sonuçları etkileyen önemli faktörlerdir. Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre; %0,2 CHX solüsyonu, kullanılan diğer ajanlara göre daha düşük antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Benzer şekilde, Pratten ve ark.<sup>219</sup>, oluşturdukları dental biyofilm üzerine %0,2'lik CHX solüsyonunu 5 dakika süre ile uygulamışlar ve bakteri canlılığındaki azalmanın yetersiz olduğunu bulmuşlardır. 60 dakikalık uygulama yapılan grupta ise bakteri canlılığındaki azalmanın dikkat çekici olduğunu vurgulamışlardır. Klorheksidinin etkinliğinin CLSM yöntemi ile değerlendirildiği *in situ* bir çalışmada da, 6, 24 ve 48 saatlik dental biyofilm üzerine uygulanan materyalin etkinliği değerlendirilmiş ve çalışma sonucunda, 6 saatlik genç plakta bakteri canlılığının en az olduğu ve plak olgunlaştıkça canlılık değerlerinin arttığı bildirilmiştir.<sup>220</sup> Vitkov ve arkadaşları, 24 saatlik dental biyofilme 1 ve 5 dakika süreyle % 0.1'lik klorheksidin uyguladıkları çalışmalarında; % 0.1'lik klorheksidinin oral biyofilm üzerinde yetersiz etkiye sahip olduğu sonucuna varmışlardır.<sup>221</sup> Bu tez

alışmasından elde edilen bulgular ve yukarıda bahsi geçen çalışmaların sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, düşük konsantrasyonda, tek bir kere ve kısa süreli CHX uygulamasının olgun biyofilm üzerine kısıtlı bir etkisi olduğu görülmektedir.



## 6. SONUÇ

Bu tez çalışmasından elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde şu sonuçlar elde edilmiştir;

- \* Çalışmada kullanılan tüm materyallerin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağladığı araştırmada kullanılan her üç test yöntemi ile tespit edilmiştir ve ajanların başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunda başarı ile kullanılabilceği düşünülmektedir.
- \* Bu çalışmada remineralizasyon etkinliği değerlendirilen tüm materyaller tek sefer uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar neticesinde tek sefer ajan uygulamasının dahi demineralize mine dokusunun remineralizasyonunda etkili olduğunu göstermektedir.
- \* Kullanılan tüm remineralizasyon ajanlarının uygulanmalarının ardından yapay tükürükte bekletme süreleri ile remineralizasyon oranları arasında ilişki olduğu görülmüş ve yapay tükürükte bekletilme süresi uzadıkça remineralizasyonda da bir artış olduğu gözlenmiştir.
- \* Çalışmada kullanılan tüm ajanlar, uygulandıkları alanlarda Ca içeriği ve Ca/P oranının yükselmesini sağlamalarına karşın, materyaller arasında Ca, P, F içerikleri ve Ca/P oranı açısından fark gözlenmemesi, SEM-EDS analizi ile moleküler düzeyde ağırlık analizi yapmanın teknik anlamda hassas bir yöntem olduğunu ve remineralizasyon çalışmalarında bu yöntem ile kesin yargılara varmanın güç olduğunu düşündürmüştür.
- \* Çalışmada, enerji dağılım spektroskopisi ile elde edilen veriler açısından materyaller arasında bir fark gözlenmese de, mikrosertlik testi ve konfokal lazer taramalı mikroskop testleri ile elde edilen veriler arasında bir uyum olduğu ve APF, AHF ve Curodont materyallerinin yüksek remineralizasyon kabiliyetine sahip olduğu görülmektedir. Farklı mekanizmalar ile çalışan bu materyaller ile elde edilen yüksek remineralizasyon etkisi, demineralize diş dokularının tedavisinde alternatif ve farklı etki mekanizmaları ile başarılı sonuçlar alınabildiğini göstermektedir.

- \* Materyallerin etkinliklerinin konfokal lazer taramalı mikroskop ile değerlendirilmesi sonucu lezyon derinliği ve lezyon alanlarına ait veriler açısından, SDF'nin remineralizasyon etkinliğinin yüksek olduğu fakat lezyonun floresans değişimi açısından materyalin bu başarıyı yakalayamadığı belirlenmiştir. SDF uygulaması sonrası doku içerisine iyon geçişinin homojen bir dağılım göstermemesi nedeniyle tamir olan dokunun nispeten poröz bir karakterde olduğu gözlenmiştir.
- \* Çalışmada kullanılan materyaller, antibakteriyel etki açısından değerlendirildiğinde, tüm ajanların, oluşturulan *S. mutans* biyofilmi üzerine uygulanmalarının ardından, biyofilm üzerinde canlı kalan bakteri sayısında azalma olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, tüm materyaller arasında en yüksek antibakteriyel etkinin SDF grubunda olduğu görülmüş ve bu materyalin uygulandığı biyofilm örnekleri üzerinde canlı kalan bakteri saptanmamıştır. Elde edilen bu sonuç SDF'nin olgun biyofilm içerisine nüfuz edebilen, etkili bir antibakteriyel materyal olduğunun göstergesidir ve bu durum materyalin çürük önleyici ajan olarak kullanımının faydalı olacağını düşündürmektedir.
- \* Çalışmada antibakteriyel etkinlikleri değerlendiren diğer flor içerikli materyallerin plakta yaşayan canlı bakteri sayısı açısından SDF grubuna kıyasla düşük antibakteriyel etki göstermesi, florun tek başına antibakteriyel etkisinin gümüş iyonu ile birlikte kullanıldığında elde edilen etkiye kıyasla kısıtlı olduğunu göstermektedir.
- \* Dental plak pH'nın plakta yaşayan karyojenik mikroorganizmaların sayısı ile orantılı olduğu, biyofilm içerisinde yaşayan canlı mikroorganizma sayısı düştükçe, dental plak pH'nın arttığı ve çürük oluşum riskinin azaldığı bilinmektedir. Çalışmada kullanılan tüm test materyallerinin dental plak pH'ı üzerine etkileri incelendiğinde; plakta yaşayan canlı mikroorganizma sayıları ile uyumlu olarak deney gruplarında plak pH'nın daha yüksek olduğu belirlenerek en yüksek plak pH'ı SDF grubunda tespit edilmiştir. Bu bulgu ve dental plak pH'ı ile çürük oluşumu arasındaki bilinen ilişki, remineralizasyon ajanlarının aynı zamanda antibakteriyel etkinliğe sahip olmasına yönelik beklentinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Günümüze kadar, ideal remineralizasyon ajanını elde edebilmek için pek çok çalışma yapılmış olmasına karşın, daha iyi bir materyal için arayışların süreceği kuşkusuzdur. Bu çalışmadan elde edilen veriler dikkate alındığında, APF, AHF ve Curodont materyallerinin yüksek remineralizasyon etkinliğine sahip olduğu, SDF materyalinin ise yüksek antibakteriyel etkinlik gösterdiği görülmüştür. SDF yüksek antibakteriyel özelliği ile dikkat çekmektedir ve diş sert dokuları üzerinde oluşturduğu yoğun renklenmelere karşın, diş çürüğünün önlenmesinde kuvvetli bir ajan olduğu ve özellikle diş hekimliği hizmetlerine kısıtlı erişimi olan hasta gruplarında kullanılabilirliğinin olduğu düşünülmektedir. AHF'nin hazır bir preparat halinde satışa sunulmamış olması, Curodont materyalinin ise yüksek maliyeti klinisyenlerin bu solüsyonlara erişebilirliğini kısıtlamaktadır. APF uzun yıllardır diş çürüklerinin önlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan, ucuz, kolay ulaşılabilen ve etkinliği kanıtlanmış bir remineralizasyon ajanıdır ve çalışmamızdan elde edilen sonuçlar da bu materyalin kullanımını destekler niteliktedir.

# FARKLI İÇERİKLERDEKİ REMİNERALİZASYON AJANLARININ REMİNERALİZASYON KAPASİTELERİNİN VE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

## ÖZET

### Amaç:

Bu çalışmanın amacı, farklı remineralizasyon ajanlarının remineralizasyon kapasitelerinin ve antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesidir.

### Gereç ve Yöntem:

Çalışmada yeni çekilmiş 460 insan molar dişi ve 48 sığır kesici dişi kullanıldı. Materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi amacıyla 460 molar dişin mine dokusu üzerinde başlangıç çürük lezyonu oluşturuldu. Dişler bir kontrol (deiyonize su) ve 5 tedavi grubuna [Asidüle fosfat florür (APF), Curodont Repair (CR), Gümüş diamine florür (SDF), Amonyum heksafluorosilikat (AHF), Amonyum heksafluorosilikat + Setilpiridinyum klorit (AHF+CPC)], bu gruplar da iki farklı tedavi süresini içeren (7 ve 30 gün) iki alt gruba ayrıldı. Demineralizasyon ve 7/30 günlük tedavi prosedürlerinin ardından mine dokusunun mikrosertlik değerleri dijital bir mikrosertlik test cihazı ile ölçüldü (n=240). Mine dokusunun elemental analizi SEM-EDS aracılığıyla gerçekleştirildi (n=100). Konfokal lazer mikroskop aracılığıyla; lezyon derinliği ve alanı ile lezyon floresans değişimine ait değerler elde edildi (n=120). Antibakteriyel test için, 48 mine bloğu *Streptokokkus mutans* biyofilmi ile inoküle edildi. Biyofilm 7 gün süresince günde sekiz kez %10 sukroza tabi tutuldu. Biyofilm büyüme periyodunun ardından, mine örnekleri çalışmada antibakteriyel etkinliği değerlendirilen materyallerden biri ile tedavi edildi: distile su, SDF; APF; AHF; AHF+CPC, %0,2 klorheksidin glukonat (CHX). Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası örnekler 37°C'de 2 gün daha inkübe edildi ve bu sürenin sonunda plakta yaşayan canlı mikroorganizma sayısı hesaplandı. Veriler istatistiksel olarak analiz edildi ( $\alpha=0.05$ ). Tedavi sonrası mikrosertlik değerleri, demineralizasyon sonrası ölçümler ile kıyaslandığında tüm gruplar için istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). 30 günün sonunda elde edilen mikrosertlik değişimleri şu şekilde sıralandı: CR > APF > AHF > AHF+CPC > SDF > Control. 30 günlük tedavi periyodunun

sonunda mine dokusunun kalsiyum içeriği ve kalsiyum/fosfat oranı demneralizasyon sonrası ölçümlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). En yüksek lezyon derinliği değişimi CR, APF, AHF, SDF gruplarında gözlenirken ( $p<0.05$ ), en yüksek lezyon floresans değişimi APF, AHF ve CR gruplarında gözlendi ( $p<0.05$ ). Çalışmada test edilen tüm materyal uygulamaları biyofilmde yaşayan canlı bakteri sayısını anlamlı seviyede düşürdü ( $p<0.05$ ). Test edilen materyaller arasında SDF en yüksek antibakteriyel etkinliği gösterirken ( $p<0.05$ ), AHF, APF, ve AHF+CPC grupları arasında fark bulunmadı ( $p>0.05$ ).

#### **Sonuç:**

Çalışmada kullanılan tüm remineralizasyon ajanları, bir defa uygulama ve yapay tükürük içerisinde bekletme periyodunun ardından yapay çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağlamıştır. APF, AHF ve CR grupları en yüksek remineralizasyon etkinliği gösterirken, en yüksek antibakteriyel etkinlik SDF ile elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Diş çürüğü, flor, kendiliğinden birleşen peptitler, konfokal lazer taramalı mikroskop, oral biyofilm, remineralizasyon, mikrosertlik



# EVALUATION OF THE REMINERALIZATION CAPACITY AND ANTIMICROBIAL EFFECTIVENESS OF DIFFERENT REMINERALIZATION AGENTS

## SUMMARY

### **Aim:**

The aim of this study was to evaluate the remineralization potentials and antibacterial effectiveness of different agents.

### **Materials and Methods:**

In the study, newly extracted 460 human molar teeth and 48 bovine teeth were used. For evaluation of the remineralization capacities of the materials, artificial caries lesions were created on 460 human molars. The teeth were divided into a control (deionized water) and five experimental groups [Acidulated phosphate fluoride (APF), Curodont Repair (CR), Silver diamine fluoride (SDF), Ammonium hexafluorosilicate (SiF), Ammonium hexafluorosilicate + Cetylpyridinium chloride (AHF+CPC),] that subdivided according to two different treatment periods (7 and 30 days). After demineralization and 7/30 days remineralization procedures microhardness of enamel surfaces was measured using a digital microhardness tester (n=240). Elemental analysis of enamel were investigated using SEM-EDS (n=100). Finally, the depth of the lesions, area of the lesions and total lesion fluorescence were calculated by confocal laser scanning microscopy (n=120). For antibacterial test, 48 enamel slabs were inoculated with *Streptococcus mutans* biofilm. The biofilms were then exposed to 10% sucrose eight times per day for seven days. After biofilm growth period, the enamel slabs were treated with one of the following substances: 1) distilled water; 2) SDF; 3) APF; 4) AHF; 5) AHF+CPC; or 6) 0.2% chlorhexidine (CHX). After the treatment procedures, the samples were incubated at 37°C for two days, and the numbers of viable microorganisms in the biofilms were counted. The data were statistically analyzed ( $\alpha=0.05$ ).

### **Results:**

The post-treatment surface microhardness of all materials was significantly increased compared with the demineralization procedures ( $p<0.05$ ). By 30 days

remineralization,  $\Delta$ SMH were ranked as follows: CR > APF > SiF > SiF+CPC > SDF > Control. The calcium content and Ca/P ratio for all treatment groups were significantly higher after 30 days compared to demineralization ( $p < 0.05$ ). The highest lesion depth changes were observed in CR, APF, SiF, SDF groups ( $p < 0.05$ ), while the highest fluorescence changes were observed in APF, SiF and CR groups with confocal images ( $p < 0.05$ ). The number of live bacteria was significantly reduced with the use of all antibacterial agents ( $p < 0.05$ ). Among the tested materials, the SDF group exhibited the highest antibacterial activity ( $p < 0.05$ ). There were no significant differences among the AHF, APF, and AHF+CPC groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:**

All agents used in the study provide remineralization of incipient carious lesions after one time application and in artificial saliva immersion. APF, SiF and CR groups presented the highest remineralization tendency. SDF is a highly antibacterial agent against the cariogenic *Streptococcus mutans* biofilm; the other antibacterial materials used in the study were found to be less effective than SDF.

**Keywords:** confocal laser scanning microscopy, dental caries, fluoride, oral biofilm, fluoride, microhardness, remineralization, self-assembling peptides

## 9.KAYNAKLAR

1. Lundeen TF, Roberson TM. Cariology: the lesion, etiology, prevention, and control. The Art and Science of Operative Dentistry. 3rd edition. Mosby, Missouri, 1995:60-128.
2. McDonald RE. Avery DR. Dentistry for children and adolescent Mosby-Year Book, Inc Courier Westford Inc, USA, 2014.
3. Goswami M, Saha S, Chaitra TR. Latest developments in non-fluoridated remineralizing technologies. J Indian Soc Pedod Prev Dent 2012;30:2-6.
4. Gökalp S, Doğan BG, Tekçiçek M, Berberoğlu A, Ünlüer Ş. Beş, On İki ve On Beş Yaş Çocukların Ağız Diş Sağlığı Profili, Türkiye-2004. Hacettepe Diş Hek Fak Derg 2007;31:3-10.
5. Bravo M, Montero J, Bravo JJ, Baca P, Llodra JC. Sealant and fluoride varnish in caries: a randomized trial. J Dent Res 2005;84:1138–1143.
6. Carlstroem D. Polarization microscopy of dental enamel with reference to incipient carious lesions. Adv Oral Biol 1964;42:255-296.
7. Featherstone JDB. Remineralization, the natural caries repair process—The need for new approaches. Adv Dent Res 2009;21:4-7.
8. Moi GP, Tenuta LM, Cury JA. Anticaries potential of a fluoride mouthrinse evaluated *in vitro* by validated protocols. Braz Dent J 2008;19:91-96.
9. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc 2000;131:887–899.
10. Arends J, Christoffersen J. The nature of early caries lesions in enamel. J Dent Res 1986;1:2-11.
11. Jones RS, Darling CL, Featherstone JD, Fried D. Remineralization of *in vitro* dental caries assessed with polarization-sensitive optical coherence tomography. J Biomed Opt 2006;1:14-16.
12. Cengiz T. Endodonti. Barış yayınları fakülteler kitapevi. İzmir, 1996.
13. Sturdevant JR. Clinical significance of dental anatomy, histology, physiology, and occlusion. In Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ editors. Art and science of operative dentistry. 5th ed. St Louis: Mosby Elsevier. 2006; 17-64.
14. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. J Dent Educ 2001;9: 896-905.
15. Robinson C, Kirkham J, Brookes SJ, Shore RC. Chemistry of mature enamel. In Robinson C, Kirkham J, Shore RC editors. Dental enamel formation to destruction. 1st ed. Florida: CRC Pres. 1995;167-87.
16. Piesco NP, Simmelink J: Oral Development and Histology. 2002;3:153-171.
17. Fejerskov O, Thylstrup A. Different concepts of dental caries and their implications. In: Textbook of clinical cariology. 2nd ed. Thylstrup A, Fejerskov O, editors. Copenhagen: Munksgaard, 1994:259- 283.
18. Zero DT. In situ caries models. Adv Dent Res 1995;3:214-230.
19. Murdoch-Kinch CA, McLean ME. Minimally invasive dentistry. J Am Dent Assoc 2003;134:87-95.
20. Per Axelson. Diagnosis and risk detection of dental caries. Dent Clin North Am 1999;43:635-64.

21. Sharma G, Puranik MP, K R S. Approaches to arresting dental caries: An update. *J Clin Diagn Res* 2015;9:ZE08-11.
22. Zero DT. Dental caries process. *Dent Clin North Am* 1999;43:635-64.
23. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005;33:248-55.
24. Radford JR, Ballantyne HM, Nugent ZJ, Robertson M, Longbottom C, Pitts NB, Beighton D, Brailsford SR. Does social deprivation in 1, 2, 3 and 4-year-old Scottish infants influence the frequency isolation of caries-associated microorganisms? *J Dent* 2001;29:325-32.
25. Navia JM. Carbohydrates and dental health. *Am J Clin Nutr* 1994;59:719-727.
26. Jegier M, Smalc A, Jegier A. Selected dental concerns in sports medicine. *Med Sport* 2005;9:53-59.
27. Newbrun E. Dental research: problems, progress, and prognosis. *J Dent Res* 1989;68:1377-8.
28. Bayırlı GS, Şirin Ş. Konservatif Diş Tedavisi. Dünya Tıp Kitapevi Ltd. Şti. İstanbul, 1982.
29. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007;369:51-59.
30. Harris JC, Coley-Smith A. An overview of dental care for the young patient: 2. Early diagnosis. *Dental Update* 1998:116-123.
31. Kotsanos N, Darling AI. Influence of post-eruptive age of enamel on its susceptibility to artificial caries. *Caries Res* 1991;25:241-250.
32. White DJ, Nancollas GH. Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention. *J Dent Res* 1990;69:634-636.
33. Bal F, Dural EÖ. Tükürük akışındaki farmakolojik azalmaların tat alma duyarlılığına etkisinin PTC ile incelenmesi. *İÜ Diş Hek Fak* 1995;25:131-133.
34. Blomfield J, Rush AR, Allars HM, Brown JM. Parotid gland function in children with cystic fibrosis and child control subjects. *Pediatr Res* 1976;10:574-578.
35. van Houte J. Role of microorganisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994;73:672-681.
36. Bayraktar G, Kazancıoğlu R, Bozfakioğlu S, Ecde T, Yıldız A, Ark E. Stimulated salivary flow rate in chronic hemodialysis patients. *Nephron* 2002;91:210-214.
37. Mandel ID. The functions of saliva. *J Dent Res* 1987;66:623-627.
38. Tenovuo J. Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997;25:82-86.
39. Edgar WM, Higham SM. Role of saliva in caries models. *Adv Dent Res* 1995;9:235-238.
40. Mandel ID, Wotman S. The salivary secretions in health and disease. *Oral Sci Rev* 1976;8:25-47.
41. Leone CW, Oppenheim FG. Physical and chemical aspects of saliva as indicators of risk for dental caries in human. *J Dent Educ* 2001;65:1054-1064.

42. Schupbach P, Oppenheim FG, Lendenmann U, Lamkin MS, Yao Y, Guggenheim B. Electron-microscopic demonstration of proline-rich proteins, statherin, and histatins in acquired enamel pellicles in vitro. *Eur J Oral Sci* 2001;109:60-68.
43. Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci* 2005;113:2-13.
44. Koo H, Falsetta ML, Klein MI. The exopolysaccharide matrix: a virulence determinant of cariogenic biofilm. *J Dent Res* 2013;92:1065-1073.
45. Ccahuana-Vásquez RA, Cury JA. *S. mutans* biofilm model to evaluate antimicrobial substances and enamel demineralization. *Braz Oral Res* 2010;24:135-141.
46. Roberson TM, Heyman HO, Swift EJ. Introduction to art and science of operative dentistry. 5th ed. St.Louis, Mosby Co, 2011:67-134.
47. García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc* 2008;139(Suppl):25S-34S.
48. Smiech-Slomkowska G, Jablonska-Zrobek J. The effect of oral health education on dental plaque development and the level of caries-related *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. *Eur J Orthod* 2007;29:157-160.
49. De la Rosa M, Zacarias Guerra J, Johnston DA, Radike AW. Plaque growth and removal with daily toothbrushing. *J Periodontol* 1979;50:661-664.
50. Nyvad B, Kilian M. Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces *in vivo*. *Scand J Dent Res* 1987;95:369-380.
51. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986;50:353-380.
52. Hardie JM, Whiley RA. Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Soc Appl Bacterial Symp Ser* 1997;26:1S-11S.
53. Yoshida A, Kuramitsu HK. Multiple *Streptococcus mutans* genes are involved in biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:6283-6291.
54. Nakano K, Nomura R, Matsumoto M, Ooshima T. Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases from molecular mechanisms to clinical cases: cell surface structures of novel serotype k *Streptococcus mutans* strains and their correlation to virulence. *J Pharmacol Sci* 2010;113:103-109.
55. Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Man Lo EC. Effect of silver diamine fluoride on dentin carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *Int J Paediatr Dent* 2012;22:2-10.
56. Martinez AR, Abranches J, Kajfasz JK, Lemos JA. Characterization of the *Streptococcus sobrinus* acid-stress response by interspecies microarrays and proteomics. *Mol Oral Microbiol* 2010;25:331-342.
57. Tenuta LMA, Cury JA. Fluoride: its role in dentistry. *Braz Oral Res* 2010;24(Spec Iss1):9-17.
58. Arthur RA, Cury AA, Graner RO, Rosalen PL, Vale GC, Paes Leme AF, Cury JA, Tabchoury CP. Genotypic and phenotypic analysis of *S. mutans*

- isolated from dental biofilms formed in-vivo under high cariogenic conditions. *Braz Dent J* 2011;22:267-274.
59. Houte JV. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994;73:672-681.
  60. da Silva Bastos VA, Freitas-Fernandes LB, Fidalgo TK, Martins C, Mattos CT, de Souza IP, Maia LC. Mother-to-child transmission of *Streptococcus mutans*: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 2015;43:181-191.
  61. Zhang S. Dental caries and vaccination strategy against the major cariogenic pathogen, *Streptococcus mutans*. *Curr Pharm Biotechnol* 2013;14:960-966.
  62. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:499-515.
  63. Arthur RA, Tabchoury CP, Mattos-Graner Rde O, Del Bel Cury AA, Paes Leme AF, Vale GC, Cury JA. Genotypic diversity of *S. mutans* in dental biofilm formed in situ under sugar stress exposure. *Braz Dent J* 2007;18:185- 191.
  64. Matsui R, Cvitkovitch D. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol* 2010;5:403-417.
  65. Hillman JD, Yaphe BI, and Johson KP. Colonization of the human oral cavity by a strain of *Streptococcus mutans*. *J Dent Res* 1985;64:1272-1274.
  66. Facklam R. What happened to the Streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 2002;5: 613-630.
  67. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002;40:1001-1009.
  68. Martinez AR, Abranches J, Kajfasz JK, Lemos JA. Characterization of the *Streptococcus sobrinus* acid-stress response by interspecies microarrays and proteomics. *Mol Oral Microbiol* 2010;25:331-342.
  69. Anderson P, Elliott JC, Bose U, Jones SJ. A comparison of the mineral content of enamel and dentine in human premolars and enamel pearls measured by X ray microtomography. *Arch Oral Biol* 1996;3:281-290.
  70. ten Cate JM. In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res* 1994;2:125-133.
  71. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;1:109-114.
  72. Featherstone JD, Rodgers BE. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 1981;5:377-385.
  73. Zero DT. Recaldent<sup>TM</sup>- Evidence for clinical activity. *Adv Dent Res* 2009;21:30-34.
  74. Vogel GL, Zhang Z, Chow LC, Schumacher GE. Changes in lactate and other ions in plaque and saliva after a fluoride rinse and subsequent sucrose administration. *Caries Res* 2002;36:44-52
  75. Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free

- chewing gum containing casein phosphopeptide- amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 2004;38:551-556.
76. Featherstone JDB, Glana R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro demineralization and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res* 1990;69:620-5
  77. Silverstone LM. Remineralization phenomena. *Caries Res* 1977;(Suppl 1):59-84.
  78. Al-Khateeb SN, Tarazi SJ, Al Maaitah EF, Al-Batayneh OB, Abu Alhaija ES. Does acid etching enhance remineralisation of arrested white spot lesions? *Eur Arch Paediatr Dent* 2014;15:413-419.
  79. Angmar-Mansson B, ten Bosch JJ. Quantitative light-induced fluorescence (QLF): a method for assessment of incipient caries lesions. *Dentomaxillofac Radiol* 2001;6:298-307.
  80. Dumitrescu AL, Ionescu N. Study on the normal and pathologic structures of the hard dental tissues using the scanning electron microscope. *Rom J Morphol Embryol* 1996;42:123-130.
  81. Gonzalez EH, Yap AU, Hsu SC. Demineralization inhibition of direct tooth colored restorative materials. *Oper Dent* 2004;5:578-585.
  82. Lussi A, Imwinkelried S, Pitts N, Longbottom C, Reich E. Performance and reproducibility of a laser fluorescence system for detection of occlusal caries in vitro. *Caries Res* 1999;33:261-266.
  83. Mc Comb D, Tam L. Diagnosis of occlusal caries: Part 1. Conventional methods. *J Can Dent Assoc* 2001;67:454-457.
  84. ten Bosch JJ, van der Mei HC, Borsboom PC. Optical monitor of in vitro caries. A comparison with chemical and microradiographic determination of mineral loss in early lesions. *Caries Res* 1984;6:540-547.
  85. Young DA. New caries detection technologies and modern caries management: merging the strategies. *Gen Dent* 2002;4:320-331.
  86. Chu CH, Lo EC. Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent* 2008;36:387-391.
  87. Gonzalez-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, et al. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlational study. *Caries Res* 1998;32:385-92.
  88. Davison CL, Hoekstra IJ, Arends J. Microhardness of sound, decalcified and etched enamel related to calcium content. *Caries Res* 1974;8:135-144.
  89. Banerjee A, Sherriff M, Kidd EAM, Watson TF. A confocal microscopy study relating the autofluorescence of carious dentine to its microhardness. *Br Dent J* 1999;187:206-210.
  90. Sonju CAB, Ogaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J, Sonju T. Caries development in fluoridated and non-fluoridated deciduous and permanent enamel *in situ* examined by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Adv Dent Res* 1997;11:442-447.
  91. Chen CC, Huang ST. The effects of lasers and fluoride on the acid resistance of decalcified human enamel. *Photomed Laser Surg* 2009;27:447-452.

92. Kargul B, Ozcan M, Peker S, Nakamoto T, Simmons WB, Falster AU: Evaluation of human enamel surfaces treated with theobromine: a pilot study. *Oral Health Prev Dent* 2012;10:275–282.
93. Lee YE, Baek HJ, Choi YH, Jeong SH, Park YD, and Song KB. Comparison of remineralization effect of three topical fluoride regimens on enamel initial carious lesions. *J Dent* 2010;38:166-171.
94. Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Sadr A, Yamashita K, Tagami J. CO<sub>2</sub> laser improves 45S5 bioglass interaction with dentin. *J Dent Res* 2011;90:246–50.
95. Bakry AS, Takahashi H, Otsuki M, Tagami J. The durability of phosphoric acid promoted bioglass–dentin interaction layer. *Dent Mat* 2013;29:357–64.
96. Zaimoğlu L, Dalat D, şaklar F. Işınlama süresinin görünür ışınla sertleşenkompozit dolguların sertlikleri üzerine etkisi. *AÜ Dişhek Fak Der* 1989;16:147-153.
97. O'Brien WJ. *Dental Materials and their Selection*. Quintessence Publishing Co, Inc, Chicago, 2002.
98. Craig RG. *Direct esthetic restorative materials, "Restorative dental materials"*, Mosby-Year Book Inc, St Louis, 10th Ed, 1997.
99. Sonugelen M, Artunç C, Güngör MA. Farklı yöntemlerle polimerize edilen estetik restoratif materyallerde aşınma ve sertliğin incelenmesi. *Ege Diş Hek Fak Derg* 2002;21:1-10.
100. Dabanoğlu A, Yücel T. Farklı polimerizasyon tekniklerinin yüzey sertliği üzerine etkileri. *Araştırmalar İÜ* 2003;84-88.
101. Taşveren S. İki farklı restoratif materyalin yüzey sertliklerinin karşılaştırılması. *CÜ Diş Hek Fak Derg* 2005;8:94-97.
102. O'Brien. *Polymeric restorative materials: composites and sealants* In *Dental Materials and Their Selection*, Ed. By EM Solaro, Second Edition, Quintessence Publishing Co. Inc. Illinois, 2005.
103. Craig RG (1997) *Direct esthetic restorative materials, "Restorative dental materials"*, Mosby-Year Book Inc, St Louis, 10th Ed.
104. Ateş G. Beş farklı dual-cure yapıştırıcı rezin simanın değişik kompozit ve porselenkalınlıkları altında polimerizasyon etkinliğinin karşılaştırılması, Doktora Tezi, H Ü Sağ Bil Protez Prog, Ankara, 2002.
105. Nakata K, Nikaido T, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Relationship between fluorescence loss of QLF and depth of demineralization in an enamel erosion model. *Dent Mater J* 2009;28:523-529.
106. Arnold WH, Cerman M, Neuhaus K, Gaengler P. Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Arch Oral Biol* 2003;48:467-473.
107. Sakoolnamarka R, Burrow MF, Kubo S, Tyas MJ. Morphological study of demineralized dentine after caries removal using two different methods. *Aust Dent J* 2002;2:116-122.
108. Agematsu H, Sawada T, Watanabe H, Yanagisawa T, Ide Y. Immunoscanning electron microscope characterization of large tubules in human deciduous dentin. *Anat Rec* 1997;248:339-345.



109. Babay N. SEM study on the effect of two different demineralization methods with saturated tetracycline hydrochloride on diseased root surfaces. *J Contemp Dent Pract* 2001;15:25-35.
110. Breschi L, Gobbi P, Chersoni S, Mazzotti G, Prati C. Effects of different acid and sodium hypochlorite treatments on dentin collagen: a FEISEM analysis. *Am J Dent* 2003;16:77-81.
111. Babay N. SEM study on the effect of two different demineralization methods with saturated tetracycline hydrochloride on diseased root surfaces. *J Contemp Dent Pract* 2001;15:25-35.
112. Breschi L, Gobbi P, Falconi M, Mazzotti G, Prati C, Perdigao J. Ultramorphology of self-etching adhesives on ground enamel: a high resolution SEM study. *Am J Dent* 2003;16:57-62.
113. Hayat MA. Principles and techniques of scanning electron microscopy. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1974.
114. Goldstein J, Newbury DE, Joy DC, Lyman CE, Echlin P, Lifshin E, Sawyer L, Michael JR. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis. 3rd. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2005:297- 355.
115. Brundle CR, Evans CA, Wilson S. Encyclopedia of materials characterization: surfaces, interfaces and thin films. Butterworth-Heinemann, USA, 1992:120-33
116. Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE, Scougall-Vilchis RJ, Centeno-Pedraza C. Structural changes on human dental enamel treated with Er:YAG, CO<sub>2</sub> Lasers and remineralizing solution: EDS Analysis. *Oral Health Care* 2012;5;11-16.
117. Bharatan S, Desroches KS. Transmission Electron Microscopy characterization of lattice damage, <http://www.info.newcastle.edu.au>. Erişim Tarihi: 12.05.2015.
118. Hearle JW, Sparrow JT, Cross PM. The use of the scanning electron microscopy. Oxford, Pergamon Press, 1972.
119. Holt DB, Muir MD, Grapt PR. Quantitative scanning electron microscopy. London, Academic Press, 1990.
120. González-Cabeaz C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM., Stookey GK. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. *Caries Res* 1998;32:385-392.
121. Erickson RL, Glasspoole EA. Model investigations of caries inhibition by fluoride-releasing dental materials. *Adv Dent Res* 1995;3:315-323.
122. Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM, Winston AE. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent* 1999;Spec No(10):13-16.
123. O'Reilly MM, Featherstone JD. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;1:33-40.
124. Bowen WH. Interpretation and use of microbiological findings in dental caries. *Oral Microbiol Immunol* 1986;1:82-86.
125. Tanzer JM. Xylitol chewing gum and dental caries. *Int Dent J* 1995;Suppl 1:65-76.
126. Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res* 1995;3:214-230.

127. Dijkman GE, Arends J. Secondary caries in situ around fluoride-releasing light curing composites: a quantitative model investigation on four materials with a fluoride content between 0 and 26 vol%. *Caries Res* 1992;5:351-357.
128. Borggreven JM, Lammers PC, Hoeks T, Zwanenburg B, Driessens FC. In vitro remineralization of caries lesions treated with surface-active phosphates. *Caries Res* 1991;1:34-38.
129. de Long R, Douglas WH. An artificial oral environment for testing dental materials. *IEEE Trans Biomed Eng* 1991;4:339-345.
130. Staninec M, Giles WS, Saiku JM, Hattori M. Caries penetration and cement thickness of three luting agents. *Int J Prosthodont* 1988;3:259-263.
131. Featherstone JD. Fluoride, remineralization and root caries. *Am J Dent* 1994;5:271-274.
132. Featherstone JD, Rodgers BE. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 1981;5:377-385.
133. Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res* 1981;1:109-114.
134. Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent* 2001;29:371-376.
135. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth in vitro. *Arch Oral Biol* 1998;43:619-628.
136. White DJ. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. *Caries Res* 1987;21:228-42.
137. Featherstone JDB. Remineralization, the natural caries repair process—The need for new approaches. *Adv Dent Res* 2009;21:4-7.
138. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000;131:887-899.
139. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010;89:1187-1197.
140. Longbottom C, Ekstrand K, Zero D, Kambara M. Novel preventive treatment options. *Monogr Oral Sci* 2009;21:156-163.
141. Moi GP, Tenuta LM, Cury JA. Anticaries potential of a fluoride mouthrinse evaluated *in vitro* by validated protocols. *Braz Dent J* 2008;19:91-96.
142. Groeneveld A, Van Eck AA, Backer Dirks O. Fluoride in caries prevention: is the effect pre- or post-eruptive? *J Dent Res* 1990;69:751-755.
143. Nalbantgil D, Oztoprak MO, Cakan DG, Bozkurt K, Arun T. Prevention of demineralization around orthodontic brackets using two different fluoride varnishes. *Eur J Dent* 2013;7:41-47
144. Chu CH, Edward CM. Microhardness of dentine in primary teeth after topical fluoride applications. *J Dent* 2008;36:387-391
145. Calvo AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, da Silva WJ, Cury JA. Effect of acidulated phosphate fluoride gel application time on

- enamel demineralization of deciduous and permanent teeth. *Caries Res* 2012;46:31-37.
146. Alsaffar A, Tantbirojn D, Versluis A, Beiraghi S. Protective effect of pit and fissure sealants on demineralization of adjacent enamel. *Pediatr Dent* 2011;33:491-495.
147. Ceyhan T, Günay V, Çapoğlu A, Sayrak H, Karaca Ç. Production and characterization of a glass-ceramic biomaterial and in vitro and in vivo evaluation of its biological effects. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2007;41:307-313.
148. Hassanein OE, El-Brollosy TA. An investigation about the remineralization potential of bio-active glass on artificially carious enamel and dentin using Raman spectroscopy. *Egypt J Solids* 2006;29:69-80.
149. Forsback AP, Areva S, Salonen JI. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in-vitro. *Acta Odont Scand* 2004;62:14-20.
150. Burwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. *Adv Dent Res* 2009;21:35-39.
151. Diamanti I, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Vougiouklakis G. In vitro evaluation of fluoride and calcium sodium phosphosilicate toothpastes, on root dentine caries lesions. *J Dent* 2011;39:619-628.
152. Ramashetty Prabhakar A, Arali V. Comparison of the remineralizing effects of sodium fluoride and bioactive glass using bioerodible gel systems. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2009;3:117-121.
153. Onuma K, Yamagishi K, Oyane A: Nucleation and growth of hydroxyapatite nanocrystals for nondestructive repair of early caries lesions. *J Cryst Growth* 2005;282:199–207.
154. Lee JJ, Lee YK, Choi BJ, Lee JH, Choi HJ, Son HK, Hwang JW, Kim SO. Physical properties of resin-reinforced glass ionomer cement modified with micro and nano-hydroxyapatite. *J Nanosci Nanotechnol* 2010;10:5270-5276.
155. Huang Sb, Gao SS, Yu HY, Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater* 2009;4:55-59.
156. Çelik EU, Yazkan B, Katırcı G. Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisi. *Atatürk Üniv Dis Hek Fak Derg* 2011;1:48-56.
157. Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res* 2003;82:206–211.
158. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent* 2007;35:695-698.
159. Peng JJ, Botelho MG, Matinlinna JP. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. *J Dent*. 2012;40:531-541
160. Zhi QH, Lo EC, Kwok AC. An in vitro study of silver and fluoride ions on remineralization of demineralized enamel and dentine. *Aust Dent J* 2013;58:50-56.

161. Cheng L, Zhang K, Weir MD, Liu H, Zhou X, Hockin H. Effects of antibacterial primers with quaternary ammonium and nano-silver on *S mutans* impregnated in human dentin blocks. *Dent Mater* 2013;29:462–472.
162. Zhang K, Li F, Imazato S, Cheng L, Liu H. Dual antibacterial agents of nano-silver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2013;101:929-938
163. Nishino M, Yoshida S, Sobue S et al. Effect of topically applied ammonical silver fluoride on dental caries in children. *J Osaka Univ Dent Sch* 1969;9:149-155.
164. Moritani Y, Doi M, Yao K et al. Clinical evaluation of silver diamine fluoride (Saforide) in controlling caries of deciduous teeth. *Rinsho Shika* 1970;266:48-53.
165. Sato R, Sailo Y. Clinical application of silver ammonia fluoride (Saforide) to children. *The Nippon Dental Review* 1970;332:66-67.
166. Chu CH, Lo EC. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. *Oral Health Prev Dent* 2008 6:315-21.
167. Brunton PA, Davies RP, Burke JL, Smith A, Aggeli A, Brookes SJ, Kirkham J. Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides - a clinical safety trial. *Br Dent J* 2013;215:E6.
168. Hosoya Y, Watanabe E, Tadokoro K, Inoue T, Miyazaki M, Tay FR: Effects of ammonium hexafluorosilicate application on demineralized enamel and dentin of primary teeth. *J Oral Sci* 2012;54:267-272.
169. Kawasaki A, Suge T, Ishikawa K, Ozaki K, Matsuo T, Ebisu S: Ammonium hexafluorosilicate increased acid resistance of bovine enamel and dentin. *J Mater Sci Mater Med* 2005;16:461-466.
170. Suge T, Kawasaki A, Ishikawa K, Matsuo T, Ebisu S: Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion. *Dent Mater* 2008;24:192-198.
171. Shibata S, Suge T, Kimura T, Ishikawa K, Matsuo T: Antibacterial activity of ammonium hexafluorosilicate solution with antimicrobial agents for the prevention of dentin caries. *Am J Dent* 2012;25:31-34.
172. Takahashi F, Kurokawa H, Shibasaki S, Kawamoto R, Murayama R, Miyazaki M. Ultrasonic assessment of the effects of self-assembling peptide scaffolds on preventing enamel demineralization. *Acta Odontol Scand* 2015;9:1-6.
173. Kirkham J, Firth A, Vernals D et al: Self-assembling peptide scaffolds promote enamel remineralization. *J Dent Res* 2007;86:426–430.
174. Jablonski-Momeni A, Heinzl-Gutenbrunner M. Efficacy of the self-assembling peptide P<sub>11-4</sub> in constructing a remineralization scaffold on artificially-induced enamel lesions on smooth surfaces. *J Orofac Orthop* 2014;75:175-190.
175. Meyer-Lueckel H, Wierichs RJ, Gninka B, Heldmann P, Dörfer CE, Paris S. The effect of various model parameters on enamel caries lesions in a dose-response model in situ. *J Dent* 2015;S0300-5712(15):28-22.
176. ten Cate JM. Models and role models. *Caries Res* 2015;49(Suppl 1):3-10.

- 177.Zeczowski M, Tenuta LM, Ambrosano GM, Aguiar FH, Lima DA. Effect of different storage conditions on the physical properties of bleached enamel: An in vitro vs. in situ study. *J Dent* 2015; S0300-5712(15)00143-8.
- 178.Schaffer S, Oesterle LJ, Newman SM. Storage media effect on bond strength of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2009;136:83-86.
- 179.Aydın B, Pamir T, Baltacı A, Orman MN, Turk T. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *Eur J Dent* 2015;9:262-266.
- 180.Amaechi BT, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai PK, Ccahuana Vasquez RA, Sadeghpour A, Nakamoto T. Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res* 2013;47:399-405.
- 181.Montasser MA, El-Wassefy NA, Taha M. In vitro study of the potential protection of sound enamel against demineralization. *Prog Orthod* 2015;16:12.
- 182.Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res* 1983;17:385-91.
- 183.De Menezes Oliveira MA, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FC, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microsc Res Tech* 2010;73:572-577.
- 184.de Sant'Anna GR, dos Santos EA, Soares LE, do Espírito Santo AM, Martin AA, Duarte DA, Pacheco-Soares C, Brugnera A Jr. Dental enamel irradiated with infrared diode laser and photo-absorbing cream: part 2-- EDX study. *Photomed Laser Surg* 2009;27:771-782.
- 185.Austin RS, Stenhagen KS, Hove LH, Dunne S, Moazzez R, Bartlett DW, Tveit AB. A qualitative and quantitative investigation into the effect of fluoride formulations on enamel erosion and erosion-abrasion in vitro. *J Dent* 2011;39:648-655.
- 186.Wyroba E, Suski S, Miller K, Bartosiewicz R. Biomedical and agricultural applications of energy dispersive X-ray spectroscopy in electron microscopy. *Cell Mol Biol Lett* 2015;20:488-509.
- 187.González-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, Stookey GK. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlational study. *Caries Res* 1998;32:385-92.
- 188.Ogaard B, Duschner H, Ruben J, Arends J. Microradiography and confocal laser scanning microscopy applied to enamel lesions formed in vivo with and without fluoride varnish treatment. *Eur J Oral Sci* 1996;104:378-83.
- 189.Milly H, Festy F, Andiappan M, Watson TF, Thompson I, Banerjee A. Surface pre-conditioning with bioactive glass air-abrasion can enhance enamel white spot lesion remineralization. *Dent Mater* 2015;31:522-33.
- 190.Liu HC, Yu SJ, Hu DY. Remineralization of artificial root caries by fluoride dentifrice of different fluoride concentration in vitro. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2010;19:653-7.
- 191.Xie Q, Bedran-Russo AK, Wu CD. In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent* 2008;36:900-906.

192. Pinto CF, Berger SB, Cavalli V, Da Cruz SE, Gonçalves RB, Ambrosano GM, Giannini M. In situ antimicrobial activity and inhibition of secondary caries of self-etching adhesives containing an antibacterial agent and/or fluoride. *Am J Dent* 2015;28:167-173.
193. Takeshita EM, Danelon M, Castro LP, Sasaki KT, Delbem AC. Effectiveness of a toothpaste with low fluoride content combined with trimetaphosphate on dental biofilm and enamel demineralization in situ. *Caries Res* 2015;49:394-400.
194. Souza-Gabriel AE, Turssi CP, Colucci V, Tenuta LM, Serra MC, Corona SA. In situ study of the anticariogenic potential of fluoride varnish combined with CO<sub>2</sub> laser on enamel. *Arch Oral Biol* 2015;60:804-10.
195. Zhang M, He LB, Exterkate RA, Cheng L, Li JY, Ten Cate JM, Crielaard W, Deng DM. Biofilm layers affect the treatment outcomes of NaF and Nano-hydroxyapatite. *J Dent Res* 2015;94:602-7.
196. Brambilla E, Ionescu A, Cazzaniga G, Edefonti V, Gagliani M. The influence of antibacterial toothpastes on in vitro *Streptococcus mutans* biofilm formation: a continuous culture study. *Am J Dent* 2014;27:160-6.
197. Sun FC, Engelman EE, McGuire JA, Kosmoski G, Carratello L, Ricci-Nittel D, Zhang JZ, Schemehorn BR, Gambogi RJ. Impact of an anticaries mouthrinse on in vitro remineralization and microbial control. *Int J Dent* 2014;2014:982071.
198. Pinto CF, Berger SB, Cavalli V, Da Cruz SE, Gonçalves RB, Ambrosano GM, Giannini M. In situ antimicrobial activity and inhibition of secondary caries of self-etching adhesives containing an antibacterial agent and/or fluoride. *Am J Dent*. 2015;28:167-173.
199. Giammanco GM, Cumbo EM, Luciani A, Gallina G, Mammina C, Pizzo G. In vitro evaluation of the antibacterial activity of cured dentin/enamel adhesive incorporating the antimicrobial agent MDPB. *New Microbiol* 2009;32:385-390.
200. Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. In vitro antibacterial activity of adhesive systems on *Streptococcus mutans*. *J Adhes Dent* 2009;11:95-9.
201. Decker EM, Maier G, Axmann D, Brex M, von Ohle C. Effect of xylitol/chlorhexidine versus xylitol or chlorhexidine as single rinses on initial biofilm formation of cariogenic streptococci. *Quintessence Int* 2008;39:17-22.
202. Saito K, Hayakawa T, Kawabata R, Meguro D, Kasai K. Antibacterial activity and shear bond strength of 4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride/methyl methacrylate-tri-n-butyl borane resin containing an antibacterial agent. *Angle Orthod* 2007;77:532-536.
203. Brambilla E, Ionescu A, Cazzaniga G, Edefonti V, Gagliani M. The influence of antibacterial toothpastes on in vitro *Streptococcus mutans* biofilm formation: a continuous culture study. *Am J Dent* 2014;27:160-166.
204. Hallett KB, O'Rourke PK. Baseline dental plaque activity, mutans streptococci culture, and future caries experience in children. *Pediatr Dent* 2013;3552:523-8.

205. Agrawal N, Shashikiran ND, Singla S, Ravi KS, Kulkarni VK. Effect of remineralizing agents on surface microhardness of primary and permanent teeth after erosion. *J Dent Child (Chic)* 2015;81:117-121.
206. Jain N, Gupta A, Shrivastava V, Mahajan S, Mishra R, Sharma A. Integrating techniques to re-establish dentogingival esthetics. *Int J Esthet Dent* 2014;9:526-535.
207. Sathe N, Chakradhar Raju RV, Chandrasekhar V. Effect of three different remineralizing agents on enamel caries formation--an in vitro study. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 2014;12:16-20.
208. Agrawal N, Shashikiran ND, Singla S, Ravi KS, Kulkarni VK. Atomic force microscopic comparison of remineralization with casein-phosphopeptide amorphous calcium phosphate paste, acidulated phosphate fluoride gel and iron supplement in primary and permanent teeth: An in-vitro study. *Contemp Clin Dent* 2014;5:75-80.
209. Ana PA, Tabchoury CP, Cury JA, Zezell DM. Effect of Er,Cr:YSGG laser and professional fluoride application on enamel demineralization and on fluoride retention. *Caries Res* 2012;46:441-451.
210. Calvo AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Silva WJ, Cury JA. Effect of acidulated phosphate fluoride gel application time on enamel demineralization of deciduous and permanent teeth. *Caries Res* 2012;46:31-37.
211. Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. *Am J Dent* 2002;15:169-172.
212. Delbem ACB, Tiano GC, Alves KMRP, Cunha RF. Anticariogenic potential of acidulate solutions with low fluoride concentration. *J Appl Oral Sci* 2006;14:233-237.
213. Delbem AC, Bergamaschi M, Sasaki KT, Cunha RF. Effect of fluoridated varnish and silver diamine fluoride solution on enamel demineralization: pH-cycling study. *J Appl Oral Sci*. 2006;14:88-92.
214. Suzuki T, Nishida M, Sobue S, Moriwaki Y. Effects of diammine silver fluoride on tooth enamel. *J Osaka Univ Dent Sch* 1974;14:61-72.
215. Kim HE, Kwon HK, Kim BI. Application of fluoride iontophoresis to improve remineralization. *J Oral Rehabil* 2009;36:770-775.
216. Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Lo EC. Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *Int J Paediatr Dent* 2012;22:2-10.
217. Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo EC, Samaranayake LP. Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multispecies cariogenic biofilm on caries. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2012;12:4-9.
218. Shah S, Bhaskar V, Venkataraghavan K, Choudhary P, Ganesh M, Trivedi K. Efficacy of silver diamine fluoride as an antibacterial as well as antiplaque agent compared to fluoride varnish and acidulated phosphate fluoride gel: an in vivo study. *Indian J Dent Res* 2013;24:575-81.
219. Pratten J, Barnett P, Wilson M. Composition and susceptibility to chlorhexidine of multispecies biofilms of oral bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:3515-3519.

220. Zaura-Arite E, van Marle J, ten Cate JM. Confocal microscopy study of undisturbed and chlorhexidine-treated dental biofilm. *J Dent Res* 2001;80:1436-1440.
221. Vitkov L, Hermann A, Krautgartner WD, Herrmann M, Fuchs K, Klappacher M, Hannig M. Chlorhexidine-induced ultrastructural alterations in oral biofilm. *Microsc Res Tech* 2005;68:85-89.





## 9. ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında İzmir’de doğdu. İlkokul eğitimini Narlıdere İlkokulu’nda, ortaokul eğitimini Mustafa Şık İlköğretim Okulu’nda, lise eğitimini ise İzmir Atatürk Lisesi’nde tamamladı. 2001 yılında başladığı Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden 2007 yılında mezun oldu. 2007-2012 yılları arasında özel bir muayanehanede diş hekimi olarak çalıştı. 2012 yılında girdiği Diş Hekimliğinde Uzmanlık Sınavı ile İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Ana Bilim Dalı’nda uzmanlık eğitimine başladı. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizce ve Almanca’dır.