



T.C.

SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI ORANLARDA GLİSİRİZİK ASİT EKLENEN  
REMİNERALİZASYON AJANLARININ ANTİBAKTERİYEL  
ETKİNLİKLERİNİN VE REMİNERALİZASYON  
KAPASİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Feride ŞAHİN

UZMANLIK TEZİ

SIVAS

2019



T.C.

SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI ORANLARDA GLİSİRİZİK ASİT EKLENEN  
REMİNERALİZASYON AJANLARININ ANTİBAKTERİYEL  
ETKİNLİKLERİNİN VE REMİNERALİZASYON  
KAPASİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Feride ŞAHİN

UZMANLIK TEZİ


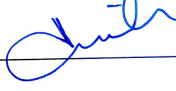

Doç. Dr. Fatih ÖZNURHAN

Danışman Öğretim Üyesi

SIVAS

2019

**“Farklı Oranlarda Glisirik Asit Eklenen Remineralizasyon Ajanlarının Antibakteriyel Etkinliklerinin ve Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi”** adlı **Uzmanlık** Tezi, jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalında **Uzmanlık** tezi olarak kabul edilmiştir.

	AD SOYAD	İMZA
Başkan	Doç. Dr. Fatih ÖZNRHAN	
Üye	Doç. Dr. Arife KAPTAN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Derya CEYHAN	

ONAY

Bu tez çalışması, 29.04.2019 tarihinde Fakülte Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İhsan HUBBEZOĞLU  
Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı



## TEŞEKKÜR

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'nda her zaman bir aile olduğumuzu bize hissettiren, uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda yardımcı olan, desteğini, hoşgörüsünü her zaman yanımda hissettiğim çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Fatih ÖZNURHAN'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca tecrübelerinden yararlandığım, özverili çalışmasını örnek almaya çalıştığım değerli hocam Doç. Dr. Arife KAPTAN'a,

Uzmanlık eğitimime birçok katkıda bulunan akademik disiplini, tecrübe ve bilgileri ile daima yol göstermeye çalışan değerli hocam Doç. Dr. Burak BULDUR'a

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Murat ÜNAL'a

Uzmanlık tezimin mikrobiyolojik araştırmalarının gerçekleştirilmesinde değerli katkılarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Uğur TUTAR ve Doç. Dr. Cem ÇELİK'e, tezimin istatistiksel analizlerinin yapılmasında bana yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Tamer TÜZÜNER ve Dr. Öğr. Üyesi Ziyet ÇINAR'a, tezimin yapım aşamasında kimyasal solüsyonların hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ceylan HEPOKUR'a, SEM analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ali ÖZER ve Öğr. Gör. Halil İbrahim ÇETİNTAŞ'a,

Her türlü yardımları ve destekleri ile her zaman yanımda olan, çok değerli çalışma arkadaşlarım Dt. Tuba CENGİZ, Dt. Cihan HASÇİZMECİ, Dt. Merve CANDAN, Dt. Seniha GÜLER, Dt. İrem İPEK, Dt. Büşra KEŞKÜŞ, Dt. Esra OĞUZ, Dt. İnci SÜLEYMANOĞLU, Dt. Kübra Nur ÇAKAN, Dt. Emine ÜNAL, Dt. Mutlu GÜNEŞ'e, ayrıca tüm asistan arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında yanımda olan, karşılığını asla ödeyemeyeceğim ilgi ve sevgileri ile bana her konuda yardımlarını esirgemeyen ve beni yetiştirerek bugünlere getiren canım aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

# FARKLI ORANLARDA GLİSİRİZİK ASİT EKLENEN REMİNERALİZASYON AJANLARININ ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİKLERİNİN VE REMİNERALİZASYON KAPASİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Dt. Feride ŞAHİN**

**Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı**

**Sivas, 2019**

Bu çalışmanın amacı kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) içeren Tooth Mousse ve içerisine farklı oranlarda glisirizik asit eklenen bu macunun başlangıç çürük lezyonu oluşturulan süt dişi mine yüzeyine uygulanmasının, remineralizasyona olan etkilerini tespit etmek, mine yüzey değişikliklerini saptamak, antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmektir.

Araştırmamızda materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi için, 45 adet mine örneği, Grup 1 (Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat, GC Tooth Mousse), Grup 2 (CPP-ACP + %5 Glisirizik asit) ve Grup 3 (CPP-ACP + %10 Glisirizik asit) olarak 3 gruba ayrıldı. Mine örnekleri 96 sa demineralizasyon solüsyonunda bekletildikten sonra 14 günlük pH döngüsü ile birlikte remineralizasyon ajanları uygulandı. Mine örneklerinin başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH döngüsü sonrası mikrosertlik ve SEM analizleri yapıldı. Antibakteriyel test için 40 adet mine bloğu Streptococcus mutans biyofilmi ile inoküle edildi. Grup 1, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 (kontrol grubu) olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Biyofilm 7 gün süresince günde sekiz kez %10 sü kroza tabi tutuldu. Çalışmada biyofilm büyüme periyodunun ardından, kontrol grubu dışında mine örneklerine antibakteriyel etkinliği değerlendirilen materyaller uygulandı. Materyallerin uygulanması sonrası örnekler 37 °C'de 2 gün inkübe edildi ve bu sürenin sonunda oluşan biyofilmin absorbans değerleri belirlendi. Elde edilen

verilerin istatistiksel analizi SPSS 17.0 programı kullanılarak Shapiro Wilk testi, Tek yönlü ANOVA testi, tekrarlayan örnekler için iki yönlü ANOVA testi ile yapıldı. Sonuçlar,  $p < 0,05$  anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.

Tedavi sonrası mikrosertlik değerleri, demineralizasyon değerlerine göre, tüm gruplarda anlamlı bir artış gösterirken, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Çalışmada test edilen tüm materyal uygulamaları, kontrol grubu ile kıyaslandığında, biyofilm absorbans değerini sayısal olarak düşürse de aralarında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Bu çalışmada Tooth Mousse içerisine eklenen glisirik asidin, başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu engellemediği ve istatistiksel olarak anlamlı olmasa da antibakteriyel etkinliğini artırdığı görüldü.

**Anahtar kelimeler:** CPP-ACP, Glisirik Asit, remineralizasyon, demineralizasyon, mikrosertlik, biyofilm

**ABSTRACT****THE EVALUATION OF ANTIBACTERIAL EFFICACY AND  
REMINERALIZATION CAPACITY OF REMINERALIZATION AGENTS  
WITH GLYCYRRHIZIC ACID AT DIFFERENT RATES****Dt. Feride ŞAHİN****Department of Pediatric Dentistry****Sivas, 2019**

The aim of this study is to determine the effects of Tooth Mousse containing CPP-ACP and a toothpaste containing various amounts of glycyrrhizic acid on the remineralization of primary enamel with initial caries and to assess surface changes on enamel as well as to evaluate their antibacterial effects.

In our study, the evaluation of remineralization capacities of materials; 45 enamel samples were divided into 3 groups as: Group 1 (GC Tooth Mousse with Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate) Group 2 (CPP-ACP + %5 Glycyrrhizic acid) and Group 3 (CPP-ACP + %10 Glycyrrhizic acid). The enamel samples were immersed in a demineralization solution maintained for 96 hours and remineralization agents were applied with pH cycling for 14 days. Surface Microhardness and SEM analyzes were performed at the baseline, after demineralization and after pH cycling. For antibacterial test, 40 enamel blocks were inoculated with *Streptococcus mutans* biofilm. Four groups were formed: Group 1, Group 2, Group 3 and Group 4 (control group). The biofilms were then exposed to 10% sucrose eight times per day for seven days. In this study, after biofilm growth period, the enamel blocks except control group were treated with materials to evaluate antibacterial efficiency. After application of the materials, the samples were incubated for a further 2 days at 37 °C and at the end of this period, the absorbance values of the biofilm formed were determined. The obtained data were analyzed statistically using Shapiro Wilk test, One-way ANOVA test, repeated measurements

of two-way ANOVA with SPSS 17.0 program. The results were evaluated at  $p < 0,05$  significance level.

After the treatment, microhardness values showed a significant increase when compared demineralized groups, while no statistically significant difference was observed between the groups. While all material applications tested in the study decreased the absorbance value of biofilm compared to the control group, no significant difference was observed between them.

In this study, it was observed that glycyrrhizic acid which added to Tooth Mousse did not prevent remineralization of initial caries lesions and although it was not statistically significant, glycyrrhizic acid increased its antibacterial activity.

**Keywords:** CPP-ACP, Glycyrrhizic Acid, remineralization, demineralization, microhardness, biofilm



## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
ŞEKİLLER.....	xiii
TABLolar .....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Mine .....	3
2.1.1. Süt Dişi Minesinin Özellikleri .....	4
2.2. Diş Çürüğü.....	4
2.2.1. Çürük Oluşumunda Etiyolojik Faktörler .....	5
2.2.2. Dental Plak ve Biyofilm .....	7
2.2.3. Diş Çürüğünün Mikrobiyolojisi .....	8
2.2.4. Çürüğün Oluşum Süreci .....	9
2.2.5. Diş Sert Dokularının Demineralizasyon ve Remineralizasyonu .....	10
2.2.6. Erken Çocukluk Çağı Çürüğü (EÇÇ).....	11
2.2.7. Başlangıç Mine Çürüğü.....	13
2.3. Yapay Çürük Oluşturma Yöntemleri .....	13
2.3.1. Asit Tamponların Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli.....	14
2.3.2. Bakteriler Tarafından Üretilen Asitlerin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli .....	14
2.3.3. pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon/Remineralizasyon Modelleri .....	15
2.3.4. Yapay Çene Modelleri.....	15
2.3.5. İn Vivo Hayvan Modelleri.....	15
2.3.6. İnsan Çenesinde İn Situ Çalışmalar .....	16
2.3.7. Çekimi Planlanmış Dişlerde Yapılan Çalışmalar.....	16
2.4. Mine Yüzeyinde Oluşan Demineralizasyon ve Remineralizasyon Analiz Yöntemleri.....	16
2.4.1. Mikrosertlik Testi.....	17

2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) .....	17
2.4.3. Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS) .....	18
2.4.4. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) .....	18
2.4.5. Konfokal Lazer Tarayıcı Mikroskobu (CLSM) .....	19
2.4.6. Polarize Işık Mikroskobu.....	19
2.4.7. Mikroradyografi .....	19
2.4.8. Lazer Floresans Yöntemi.....	19
2.4.9. CarieScan PRO .....	20
2.4.10. Bilgisayarlı Mikrotomografi (Mikro-CT, $\mu$ CT).....	21
2.5. Remineralizasyon Ajanları ve Çürük Önleyici Ajanlar .....	21
2.5.1. Mineral ve İyon Teknolojileri.....	22
2.5.2. Şeker Alkolleri .....	24
2.5.3. Bitkisel Kaynaklı Ajanlar .....	25
2.5.4. Biyoaktif Materyaller ve Nanoteknolojik Ürünler.....	30
2.5.5. Diğer Kalsiyum ve Fosfat Kaynaklı Remineralizasyon Ajanları.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	35
3.1. Gereçler .....	35
3.1.1. Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi Aşamasında Kullanılan Gereçler .....	35
3.1.2. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi Aşamasında Kullanılan Gereçler .....	40
3.2. Yöntem .....	41
3.2.1. Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi.....	41
3.2.2. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi .....	56
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	60
4. BULGULAR .....	61
4.1. Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi.....	61
4.1.1. Mikrosertlik Testi.....	61
4.1.2. Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüleme.....	65
4.2. Materyallerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi .....	71
5. TARTIŞMA .....	72
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	100

7. KAYNAKLAR.....	102
8. ÖZGEÇMİŞ .....	133



## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
<	: Küçük
>	: Büyük
°C	: Santigrat derece
AFM	: Atomic force microscope (Atomik kuvvet mikroskobu)
ark	: Arkadaşları
β-TCP	: Beta trikalsiyum fosfat
CaCl <sub>2</sub>	: Kalsiyum klorür
CaCO <sub>3</sub>	: Kalsiyum karbonat
CaF <sub>2</sub>	: Kalsiyumflorid
Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	: Trikalsiyum fosfat
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	: Florapatit
CHX	: Klorheksidin
CIS	: Cam iyonomer siman
CLSM	: Konfokal lazer tarayıcı mikroskobu
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup>	: Karbonat
CPP-ACFP	: Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum florid fosfat
CPP-ACP	: Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat
DCPD	: Dikalsiyum fosfat dihidrat
DIAGNOdent	: Diyetli lazer floresans
dk	: Dakika
EÇÇ	: Erken çocukluk çağı çürüğü
EDS	: Enerji dağılım spektroskopisi
EPS	: Ekstrasellüler polisakkarit sentezi
F <sup>-</sup>	: Flor
G. chinensis	: Galla chinensis
G. glabra	: Glycyrrhiza glabra
gr	: Gram
G. uralensis	: Glycyrrhiza uralensis
H <sup>+</sup>	: Hidrojen
IgA	: Immunglobulin A
IPS	: İntrasellüler polisakkarit sentezi

KCl	: Potasyum klorür
kob	: Koloni oluşturan birim
KOH	: Potasyum hidroksit
L	: Litre
L. Acidophilus.	: Lactobacillus acidophilus
M	: Molar hacim
$\mu$	: Mikro
mg	: Miligram
Mikro-CT, $\mu$ CT	: Bilgisayarlı mikrotomografi
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
$\mu$ m	: Mikrometre
mM	: Milimolar
NaF	: Sodyum florür
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Sodyum dihidrojen fosfat
nm	: Nanometre
OCT	: Optical Coherence Tomography (Optik Koherens Tomografi)
OH <sup>-</sup>	: Hidroksil
Ort	: Ortalama
p	: Önem düzeyi
pH	: Power of Hydrogen (Asitlik birimi)
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	: Fosfat
ppm	: Parts per million (milyonda bir birim)
psi	: Pound/inçkare (Basınç birimi)
QLF	: Kantitatif ışık etkili floresans
rpm	: Rounds per minute (dakikadaki devir sayısı)
sa	: Saat
SEM	: Scanning electron microscope (Taramalı elektron mikroskobu)
S. mutans	: Streptococcus mutans
sn	: Saniye
SPSS	: Statistical package for social science
SS	: Standart sapma
sTMP	: Sodyum trimetafosfat
TCP	: Trikalsiyum fosfat
VHN	: Vickers hardness number

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 2.1.</b> Diş çürüğü gelişimini etkileyen 4 ana faktör .....	5
<b>Şekil 2.2.</b> Stephan eğrisi .....	10
<b>Şekil 2.3.</b> Başlangıç mine çürüğünde demineralizasyon-remineralizasyon döngüsü	11
<b>Şekil 3.1.</b> Dişlerin hazırlanmasında kullanılan gereçler .....	36
<b>Şekil 3.2.</b> ISOMET Mikrotom kesme cihazı .....	36
<b>Şekil 3.3.</b> Remineralizasyon ajanlarının uygulanmasında kullanılan gereçler .....	37
<b>Şekil 3.4.</b> CarieScan Pro .....	38
<b>Şekil 3.5.</b> Mikrosertlik Test Cihazı .....	39
<b>Şekil 3.6.</b> Taramalı Elektron Mikroskobu .....	39
<b>Şekil 3.7.</b> Etüv .....	40
<b>Şekil 3.8.</b> Mine örneklerinin hazırlanması A) Yumuşak doku artıklarının uzaklaştırılması, B) Kronunun elmas separe ile su soğutması altında kökünden ayrılması, C) Kron pulpasının ekskavatör ile uzaklaştırılması, D) Kronun mezio-distal yönde iki parçaya ayrılması .....	42
<b>Şekil 3.9.</b> Mine örneklerinin akrilik bloklara gömülmesi.....	43
<b>Şekil 3.10.</b> Mine örneklerinin silikon karbid kağıtlar ile zımparalanması .....	44
<b>Şekil 3.11.</b> Örnek üzerinde 4 x 4 mm'lik pencerenin hazırlanması A) 4 x 4 mm'lik etiketin yapıştırılması, B) Etiket dışında kalan diş yüzeyinin aside dirençli tırnak cilası ile boyanması, C) Etiket çıkarıldıktan sonra elde edilen çalışma yüzeyi .....	44
<b>Şekil 3.12.</b> Mikrosertlik analizi.....	45
<b>Şekil 3.13.</b> Mikroskopta izlenen Vickers izi görüntüsü.....	46
<b>Şekil 3.14.</b> Solüsyon pH'nın 4,4'e ayarlanması.....	47
<b>Şekil 3.15.</b> CarieScan Pro ile çürük tespit yöntemi.....	48
<b>Şekil 3.16.</b> Solüsyon pH'nın 7'ye ayarlanması.....	50
<b>Şekil 3.17.</b> Ağız ortamını taklit eden pH döngüsü .....	53
<b>Şekil 3.18.</b> Diş yüzeyine remineralizasyon ajanının uygulanması A) Dişin açıkta kalan yüzeyine CPP-ACP içerikli patın uygulanması, B) Diş yüzeyinin distile su ile yıkanması .....	54
<b>Şekil 3.19.</b> Altın kaplama cihazı .....	55
<b>Şekil 3.20.</b> SEM değerlendirmesi için altınla kaplanan örnekler.....	56

<b>Şekil 3.21.</b> Plakalara yerleştirilen sterilize mine örnekleri .....	57
<b>Şekil 3.22.</b> A) Çalışmada kullanılan Tryptic Soy Broth besiyeri, B) Hazırlanan Tryptic Soy Broth Besiyeri.....	58
<b>Şekil 3.23.</b> %2 ilave glikoz içeren Tryptic Soy Broth besiyerinde bekletilen örnekler .....	59
<b>Şekil 3.24.</b> Kristal viyole boyada bekletilen mine örnekleri.....	60
<b>Şekil 4.1.</b> Her üç grupta başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası elde edilen yüzey mikrosertlik ölçümlerinin dağılımı .....	62
<b>Şekil 4.2.</b> Sağlam mine yüzeyinin farklı büyütme ölçeklerinde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000) .....	66
<b>Şekil 4.3.</b> Demineralizasyon sonrası mine yüzeyinden farklı büyütme ölçeklerinde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000).....	67
<b>Şekil 4.4.</b> Demineralize edilmiş mine yüzeyine CPP-ACP uygulaması sonrası farklı büyütme ölçeklerinde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000).....	68
<b>Şekil 4.5.</b> Demineralize edilmiş mine yüzeyine CPP-ACP + %5 Glisirik asit uygulaması sonrası farklı büyütme ölçeklerinde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000) .....	69
<b>Şekil 4.6.</b> Demineralize edilmiş mine yüzeyine CPP-ACP + %10 Glisirik asit uygulaması sonrası farklı büyütme ölçeklerinde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000) .....	70

**TABLULAR**

<b>Tablo 2.1.</b> İnsanlarda diş çürüğü ile ilişkili olduğu düşünülen bakteri türleri.....	8
<b>Tablo 3.1.</b> CarieScan Pro cihazı değerlendirme kriterleri.....	48
<b>Tablo 3.2.</b> Araştırmada kullanılan materyaller, kimyasal içerikleri ve hazırlanışları	51
<b>Tablo 4.1.</b> Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mine örneklerinin yüzey mikrosertlik ortalama ve standart sapma (SS) değerleri.....	62
<b>Tablo 4.2.</b> Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik değerlerinin gruplar arası karşılaştırması .....	63
<b>Tablo 4.3.</b> Grupların kendi içerisinde ikili karşılaştırılmaları.....	64
<b>Tablo 4.4.</b> Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası biyofilm değerlerine ait veriler .....	71



## 1. GİRİŞ

Günlük beslenmede fermente edilebilir karbonhidratların sıkça tüketimi, biyofilm tabakasında karyojenik bakteri sayısının artışına yol açmaktadır. Karyojenik bakteriler tarafından üretilen ve ortama salınan organik asitlerin diş minesindeki interprizmatik boşluklardan girerek hidroksiapatit kristallerini, kalsiyum ve inorganik fosfat iyonlarını çözmesi ve demineralizasyonu sonucu başlangıç çürük lezyonları meydana gelmektedir (1).

Günümüzde modern diş hekimliğinin önde gelen amacı; çürük riskini en aza indirmek, diş yapılarının mümkün olduğunca korunduğu non-invaziv konservatif yaklaşımları benimsemek ve koruyucu uygulamaları gerçekleştirmek olmuştur. Dolayısıyla çürük görülme sıklığı düşmüş, biçim ve ilerleme hızı bakımından değişikliğe uğramıştır (2).

Başlangıç çürük lezyonlarının olduğu durumlarda, eğer ortamın dengesi remineralizasyon lehine çevrilirse mine dokusundan kaybedilen kalsiyum ve fosfat iyonları tekrar mine yüzeyinde birikerek remineralizasyon sağlanabilir. Bunun gerçekleşebilmesi için, oral ortamın pH seviyesini düşüren etkenlerin elimine edilmesi, bakteriler tarafından ortama salınan asitlerin zaman içinde tükürük tarafından tamponlanması ve böylece pH'ın yükselerek nötr hale gelmesi, plak ve tükürüğün mineden çözünen minerallerin katkısıyla daha doymuş bir hal alması gerekmektedir (3).

Koruyucu diş hekimliği uygulamalarında remineralizasyon sürecini indüklemek amacıyla sütte bulunan koruyucu faktörlere yönelik yapılan çalışmalar sonucunda kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) geliştirilmiştir (4). CPP-ACP dental plaktaki serbest kalsiyum ve fosfatı bağlayarak, demineralizasyonu inhibe eder ve remineralizasyonu artırır (5). Ayrıca plaktaki karyojenik bakterilerin kolonize olmalarını engeller (6).

Piyasada bulunan birçok remineralizasyon materyalinin yanı sıra bitkisel kaynaklı yeni ürünlerin de daha az maliyet, bulunabilirliği, kullanım kolaylığı ve

nispeten güvenli toksisite profili avantajlarının yanında, başlangıç çürük lezyonlarını remineralize etmede kullanılabilecek umut vaat edici ajanlar olduğu bildirilmiştir (7).

Yapılan bu çalışmanın amacı, deneysel olarak CPP-ACP teknolojisi ile geliştirilmiş macun formunda olan Tooth Mousse içerisine farklı oranlarda glisirizik asit eklenen remineralizasyon ajanlarının ve Tooth mousse'un başlangıç çürük lezyonu oluşturulan süt dişi mine yüzeyine uygulanmasının, remineralizasyona etkilerini tespit etmek, mine yüzey değişikliklerini saptamak, antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek ve bu sayede koruyucu diş hekimliğine katkıda bulunmaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mine

Ameloblastlar tarafından üretilen, vücudun en sert yapısı olma özelliğini barındıran mine dokusu, kronun tüm yüzeyini çevreleyen ektoderm kökenli koruyucu bir tabakadır (8). Dentin, pulpa gibi canlı diş dokularının korunmasından sorumlu olmasının dışında renk ve şekilleri ile estetik açıdan da önem taşımaktadır (9). Ameloblastlar, kron tamamen oluşuktan sonra fonksiyonel yeteneklerini kaybederler. Mine dokusu, formasyon sonrası kendini onarma özelliğine sahip olmadığından dolayı, yapısı sadece mineral kaybıyla ya da kazancıyla şekillenmektedir (10).

Mine yüksek elastisite modülüne ve düşük gerilme direncine sahip kristalize yapıda poröz ve kırılğan bir dokudur ancak dentin dokusunun esnekliği kırılma riskini azaltır. Minenin rengi çoğunlukla sarımsı beyaz veya grimsi beyazdır, ancak altında yer alan dentin dokusunun rengine ve minenin kalınlığına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Saydamlığı ise, minenin homojenliği ve kalsifikasyon derecesine bağlıdır (11).

Mine dokusu ağırlıkça %95 inorganik, %1 organik ve %4 su moleküllerinden meydana gelirken, hacim olarak %85'i inorganik, kalan kısım su, protein ve lipitten oluşur. İnorganik yapının büyük bir bölümünü, ana bileşeni kalsiyum ve fosfat kompleksi olan, kristalize ağ yapıdaki hidroksiapatit kristalleri oluşturur. Ortalama olarak 1000 adet hidroksiapatit kristali bir araya gelerek 4-8 µ çapındaki mine prizmalarını meydana getirir (12). Prizmalar arasında kristallerin oluşmadığı por adı verilen içi sıvıyla dolu ufak boşluklar mevcuttur ve bu porlar minenin demineralizasyon ve remineralizasyonunda asit ve iyonların geçişinde rol oynar (13).

Dişler ağız içerisinde yerlerini aldıktan sonra da, belirli bir süre tükürükten iyon geçişi ile mineral çökmesi devam etmektedir. Böylece minenin mineral içeriği zamanla değişim göstermektedir. Bu dönem 'minenin sürme sonrası olgunlaşma süreci' olarak adlandırılır (14). Bu süreç boyunca ortamdaki flor ve diğer iyonlar mine yüzeyine diffüze olur. Apatit yapmayı meydana getiren hidroksil iyonlarının

yerine flor iyonlarının katılmasıyla oluşan florapatitin asit ortamdaki çözünürlüğü hidroksiapatitten daha düşüktür. Ancak apatit yapıyı oluşturan fosfat iyonlarının karbonat iyonları ile yer değiştirmesi sonucu oluşan karbonatlı apatitin çözünürlüğü ise hidroksiapatitten daha yüksektir (13).

### **2.1.1. Süt Dişi Minesinin Özellikleri**

Süt dişi minesini; morfolojik, anatomik ve histolojik açıdan daimi dişlerden bazı farklılıklar göstermektedir. Süt dişlerinde mine dokusu ağırlık olarak %92-93 inorganik, %4 organik ve %3 su moleküllerinden meydana gelir. Oluşum süresi, daimi diş minesinin oluşum süresinin yarısı kadar olduğu için, mine kalınlığı daimi diş minesinin yaklaşık yarısı kadardır. Dolayısıyla süt dişi minesini daimi diş minesine göre daha kırılımandır (15).

Daimi dişlerde daha çok kole bölgesinde ve aproksimal bölgede konumlanan aprizmatik mine tabakası, süt dişlerinde daimi dişlere göre daha geniş bir alan kaplar ve özellikle kole bölgesinde lokalize olurlar. Aprizmatik mine tabakasında bulunan hidroksiapatit kristalleri mine yüzeyine dik konumlanmıştır. Süt dişlerinde; aprizmatik tabakanın daha geniş bir alan kaplaması, inorganik yapının az, organik yapının ve interprizmatik aralıkların daha fazla olması tutuculuğu olumsuz yönde etkileyerek bağlanma kuvvetinin az olmasına sebep olan unsurlardır (16).

### **2.2. Diş Çürüğü**

Diş çürüğü, fermente olabilen karbonhidratların, karyojenik plak bakterileri tarafından metabolize edilmesi sonucu organik asitlerin açığa çıkmasıyla başlar. Diş dokusu ve plak sıvısı arasındaki dengenin bozulması ile devam ederek, ileri aşamalarında dişin inorganik komponentlerinin demineralizasyonunun ve organik yapının enzimatik olarak bozulmasının eşlik ettiği, oluşumunda ve şiddetinde mikrobiyal, genetik, immünolojik, davranışsal ve çevresel faktörlerin rol oynadığı bir süreçtir. Dişin inorganik komponentinin kaybını daha sonra organik matriksin kaybı takip etmektedir (17).

### 2.2.1. Çürük Oluşumunda Etiyolojik Faktörler

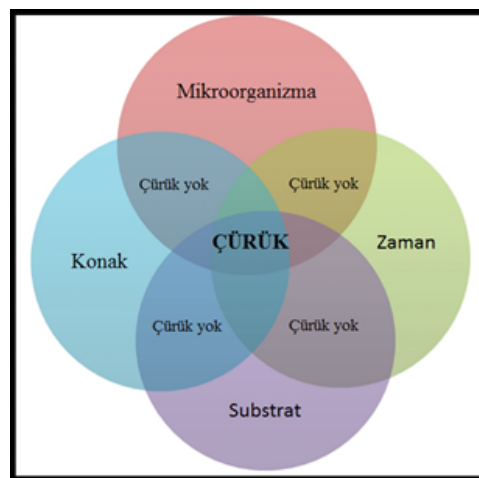
Çürüğün oluşumu ile ilgili olarak birçok teori ortaya konmuştur. Bilinen en eski teori, diş çürüğüne dişin merkezinde yaşadığı varsayılan ‘diş kurdu’nun neden olduğu düşüncesidir. 1700’lerin sonlarına doğru ‘canlı teori’ öne sürülmüştür ve bu teoride defektli dişin içerisinde meydana gelen inflamasyonun diş yüzeyinde lezyon oluşumuna sebep olduğu ileri sürülmüştür (18).

Miller, birçok değişime uğrayarak günümüze kadar ulaşan, bakterilerin oluşturduğu diş kaynaklı ‘limon tuzu’ benzeri yapıların, diş çürüğü oluşumunda ilk aşama olduğunu ileri sürdüğü ‘kemoparazitik teori’yi yayınlamıştır. Ancak Miller bu teoride, bakterilerin ve oluşturdukları asitlerin kaynağının dental plak olduğunu ortaya koyamamıştır (19).

Günümüzde diş çürüğünün multifaktöriyel bir hastalık olduğu kanıtlanmıştır ve oluşumunda 4 ana faktör rol oynamaktadır.

- 1) Konak (diş)
- 2) Asidojenik potansiyele sahip mikroflora
- 3) Patojenik bakteriler için uygun substrat (karbonhidrat)
- 4) Zaman (Şekil 2.1) (20).

Bu faktörlerden birinin yokluğunda çürük oluşmamaktadır (21).



Şekil 2.1. Diş çürüğü gelişimini etkileyen 4 ana faktör (20).

### **1) Diş (Konakçı) ile İlgili Faktörler**

Dişin ağız içerisindeki konumu, morfolojisi, kompozisyonu ve sürdükten sonra geçen süre çürüğün ilerlemesinde etkili olabilir. Mine çözünürlüğü, hidroksiapatit kristallerinin tipi, boyutu ve birbirlerine olan uzaklığı gibi faktörler, dişin çürüğe karşı direncini etkileyen faktörlerdir. Dişlerin anatomik ve morfolojik yapıları, çapraşıklıklar, azı dişlerinin ara yüzeyleri, derin pit ve fissür yüzeyleri plak retansiyonuna neden olmakta ve çürük gelişiminde önemli rol oynamaktadır. İlk sürdükleri dönemde dişlerin mineralizasyonları tam olarak tamamlanmadığından geçirgenlikleri oldukça fazladır ve çürüğe karşı daha yatkındırlar. Dişin sürmesinden sonraki bir iki yıl içerisinde, hidroksiapatit kristallerinin yapısındaki sodyum ve magnezyum iyonlarının azalması, kalsiyum ve fosfat iyonlarının artmasına bağlı olarak çözünürlükte azalma meydana gelir ve çürüğe karşı direnç artar (20).

### **2) Mikroorganizmalar ile İlgili Faktörler**

Ağız içerisinde farklı ekolojik şartlarda çok sayıda mikroorganizma bulunmaktadır ve mevcut olan bakteriler çürük lezyonunun oluşması ve ilerlemesinde temel elemanlardır (22). Dental plakta bulunan Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Laktobasil gibi bazı bakteri türleri asidojeniktir ve bu bakteriler karbonhidratları fermente ederek asit üretirler. Açığa çıkan laktik asit, asetik asit, propiyonik asit, formik asit gibi asitler dental plaktan poröz minenin içine doğru yayılır ve gittikleri yerde çözünerek hidrojen iyonlarını ortama bırakırlar. Hidrojen iyonları minenin mineral içeriğini kolayca çözerek kalsiyum ve fosfat iyonlarını serbestleştirir ve bu iyonlar diş minesinden ayrılarak dışarıya doğru yayılır. Diş yüzeyindeki mineral kaybı durdurulamazsa çürük lezyonu ilerler ve sonunda kavitasyon meydana gelir (23).

### **3) Diyet ile İlgili Faktörler**

Çürüğe neden olan temel diyet değişkeni, şeker tüketiminin sıklığıdır. Şeker metabolize olduktan sonra, asitin nötralize olması veya tükürükten uzaklaşması yaklaşık olarak 20-40 dk içerisinde gerçekleşmektedir. Çürük riski en çok, şekerin sık aralıklı ve ağızda uzun süre kalacak şekilde tüketildiği durumlarda artar (24).

Besinin yapışkan özellik gösterip göstermemesi, içeriğinde koruyucu faktörlerin bulunup bulunmaması, karbonhidratın tipi ve miktarı, fiziksel ve kimyasal özellikleri gibi faktörler de diş çürükleriyle doğrudan ilişkilidir. Ayrıca, protein ağırlıklı gıda ile beslenen bireylerde tükürükteki üre düzeyi yükselir ve ardından tükürüğün tamponlama kapasitesi artar (25).

#### **4) Zaman ile İlgili Faktörler**

Bireye ait uygun ortam, uygun substrat ve bu substratı fermente edebilen mikroorganizmaların mevcudiyetinde, açığa çıkan asidin diş sert dokusunun yıkımına neden olan olaylar zincirini başlattığı bilinmektedir. Ancak çürüğün meydana gelebilmesi için gerekli tüm bu faktörlerin, bir arada belli bir süre (en az 30 dk) bulunması gerekmektedir. Bu da çürük oluşumunda etkili olan bir diğer faktörün de zaman olduğunu ortaya koymaktadır (26).

Diş çürüğünün oluşumunda ana faktörlerin yanı sıra diş morfolojisi, tükürük oluşum miktarı, bağışıklık sistemi, genetik, davranışsal, çevresel veya sosyo-ekonomik faktörler şeklinde sıralanabilecek çok sayıda yan faktör de yer almaktadır (17, 27).

#### **2.2.2. Dental Plak ve Biyofilm**

Dental plak, yapısından ötürü tükürüğün yıkayıcı ve tamponlayıcı etkisini engellemesi, asidojenik mikroorganizmaları barındırması ve açığa çıkan asidin diş yüzeyini etkilemesine izin vermesi nedeniyle çürük oluşumunda rol oynayan ana faktörlerden biridir (22). Dental plağın asidojenik mikroorganizmaların yanı sıra asidojenik olmayan ve bazik mikroorganizmalardan meydana geldiği, süt, karışık ve daimi dişlenme dönemlerinde yapısının farklılık gösterdiği bildirilmiştir (28).

Biyofilm ise mikroorganizma topluluğunun ağız içindeki yumuşak dokular üzerinde yerleşmesi anlamına gelir ve diş çürüklerinin ve periodontal hastalıkların başlamasında ve ilerlemesinde esas sebep olarak gösterilmektedir (29).

Diş yüzeyinde fırçalama veya profesyonel temizlik ile bakterilerin ve tüm organik materyalin kaldırılmasının hemen ardından tükürükteki proteinlerin ve

glikoproteinlerin çökmesi sonucu pelikül olarak adlandırılan, doğal olarak oluşan birikim meydana gelir. Pelikül içerisinde; prolinden zengin proteinler, histatin, statherin, sistatin, amilaz, lizozim, IgA ve bakteri türevli glikoziltransferaz yer alır. Mine bütünlüğünün korunması ve remineralizasyonu gibi birçok biyolojik yararları olan pelikül, ağız içerisinde yer alan mikroorganizmaların diş yüzeyine tutunmasına da yardımcı olur (22).

Bakterilerin çökmesi ve tükürükteki diğer bakterilerle proteinin yerleşmesi sonucu, plağın hem kitlesi hem de kalınlığı artar. Tüm bunlar plağın iki bileşenden oluştuğunu ortaya koyar; fizyolojik olarak diş yüzeyine çökelen müsin ve çökeltiye patolojik özellik kazandıran mikrobiyal bileşen. Önceden bağlanan bakterilere yeni bakterilerin adezyonu sonucu, plak mikroflorasındaki çeşitlilik artar ve bakteri kolonizasyonu gerçekleşerek biyofilm tabakası oluşmaya başlar. Dental plak olgunlaştıkça, bakteriler dental plak yüzeyinden ayrılarak, diğer dişlerin yüzeyinde kolonizasyona başlarlar (30).

### 2.2.3. Diş Çürüğünün Mikrobiyolojisi

Çürük oluşumuna en çok sebep olduğu düşünülen mikroorganizma grupları oral streptokoklar, laktobasiller ve aktinomiçeslerdir (22). Bakteriler, intrasellüler polisakkarit (IPS) ve ekstrasellüler polisakkarit sentezi (EPS), asidojenite ve asidoürite ile karyojenik özellik kazanırlar (31). İnsanlarda diş çürüğü ile ilişkili olduğu düşünülen bakteri türleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir (22).

**Tablo 2.1.** İnsanlarda diş çürüğü ile ilişkili olduğu düşünülen bakteri türleri (22).

Kuvvetli İlişki	Muhtemel İlişki
Mutans Streptokoklar: Streptococcus mutans Streptococcus sobrinus	Diğer Streptokoklar: Streptococcus mitis
Laktobasiller: Lactobacillus casei Lactobacillus fermentum Lactobacillus plantarum Lactobacillus acidophilus	Aktinomiçes Türü: Actinomyces viscosus Non-mutans Streptokoklar



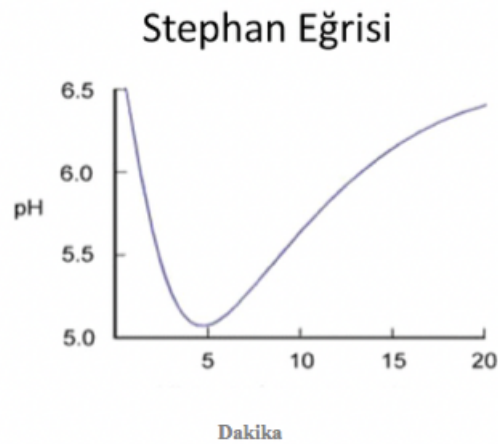
Streptokoklar diş yüzeyine tutunarak koloniler oluşturabilen, çürükle direkt ilişkili bakterilerdendir (32). Streptokoklardan da çürükle en çok ilişkisi bulunan türler *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus sobrinus*'lardır. *S. mutans*'ın çürük oluşumunda temel mikroorganizma olmasının sebebi; EPS ve IPS üretimi, asidojenite ve asidoürite gibi özelliklerine sahip olmasıdır (22).

Laktobasillerin diş yüzeyine afinitesi düşük olduğundan çürüğün başlamasından çok ilerlemesinden sorumludurlar. Laktobasil türlerinden de çürüğün ilerlemesinde en çok etkili olan türler *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei*'lerdir (32).

#### **2.2.4. Çürüğün Oluşum Süreci**

Çürük oluşum süreci, bakterilerin karbonhidratları fermente etmeleri sonucu organik asitlerin oluşumu ve ortamın pH'sının kritik pH olan 5,5'in altına düşmesi ile başlar. Dental plakta bulunan bakterilerin ürettiği asitler plak sıvısı içerisine girerek hidrojen iyon konsantrasyonunun artmasına neden olur. Ardından mine yapısında bulunan diffüzyon kanallarının açılması sonucunda, mine yüzeyinde çözünmeler başlar (20).

Plak pH'sının plak asidojenitesi ve diş çürüğü potansiyelinin incelenmesinde bir parametre olarak kullanılmasına, II. Dünya Savaşı döneminde Robert Stephan öncülük etmiştir. Ağızın %10 ve %50 glikoz solüsyonu ile çalkalanması sonrası, plak pH'sının 6.5'den 5'e düştüğünü ve 40 dk içinde tekrar eski pH'sına yükseldiğini göstermiştir (33). Ortamda karbonhidrat bulunmadığında, çok az miktarda bakteri aktivitesi olur ve diş yüzeyinde pH seviyesi yükselir. Diş yüzeyindeki pH, kritik pH'yı aştığı zaman diş yüzeyi remineralize olmaya başlar. Remineralizasyonun en önemli sebebi tükürükte bulunan kalsiyum ve fosfat iyonlarıdır. Plak pH'sında zaman içinde gözlenen değişimler Stephan eğrisi ile gösterilmiştir (Şekil 2.3) (34).



**Şekil 2.2.** Stephan eğrisi (34).

Minenin çözünebilmesi için, ortam pH'sının ortalama 5,5 olmasının gerektiği kabul edilmektedir. Ancak kritik pH sabit bir değer değildir. Ortamdaki asit tipine, tükürüğün tamponlama kapasitesi ve akış hızına, gıdaların fiziksel ve kimyasal özelliklerine, flor konsantrasyonuna, kalsiyum ve fosfat iyonları mevcudiyetine göre değişebilmektedir (20).

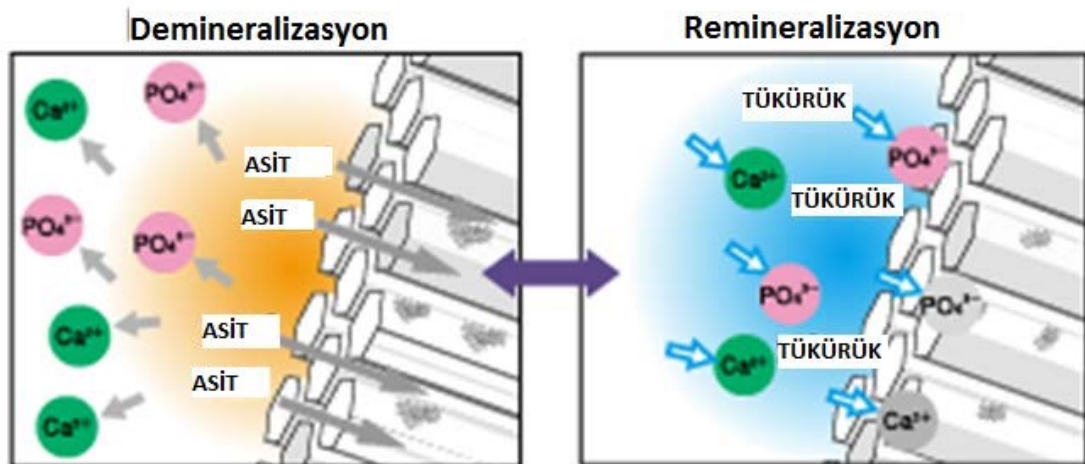
### **2.2.5. Diş Sert Dokularının Demineralizasyon ve Remineralizasyonu**

Ağız ortamının mineral konsantrasyonu ile mine yüzeyindeki mineral miktarı gün içerisinde aktif olarak değişiklik göstermektedir. Bilhassa alınan gıdalara bağlı olarak asit oluşumuyla karakterize tükürük, plak ve diş yüzeyi arasında sürekli bir iyon alışverişi söz konusudur. Bu olaylar demineralizasyon ve remineralizasyon süreçlerini oluşturur. Diş çürükleri, diş dokusu yüzeyi ile biyofilm arasında devamlı süregelen demineralizasyon ve remineralizasyon dengesinin, demineralizasyon lehine değişimi ile gerçekleşen episodik bir hastalıktır (35).

Normal fiziksel koşullar altında tükürük ve ağız sıvıları, diş yapısında bulunan hidroksiapatit ve florapatite göre doymuş durumdadır. Ancak ağız ortamının kritik pH'nın altına düşmesi ve tekrarlayan asit atakları diş yüzeyi ve ağız sıvıları arasındaki doygunluk dengesinin bozulmasına neden olur. Bu durumda hidroksiapatit yapısından mine prizmalarının çözünmesi ile demineralizasyon süreci başlar (36).

Başlangıç mine lezyonunun oluşumunda ikinci aşama ise, mine yüzeyi içerisine asit diffüzyonunun gerçekleşmesidir. Ağız ortamı ne kadar uzun süre kritik pH'da aside maruz kalırsa, hidroksiapatit kristallerinin çözünmesi o kadar fazla olur. Organik asit konsantrasyonu yeterli seviyeye ulaştığında, mine içerisine doğru asit diffüzyonu başlar. Hidroksiapatit kristallerinin demineralizasyondan ilk etkilenen bölgesi prizmalar arası boşluklar olan, interprizmatik aralıklardır. Önce bu bölgeler çözülmeye başlar, ardından prizma kınları çözünür ve minenin porözitesi artar. Demineralizasyon ilerledikçe lezyon minenin yüzeyaltı tabakalarına doğru penetre olur (20). Asit atağı sonrası, tükürük ile tamponlanan pH'nın yükselerek nötr hale gelmesinin ardından, ağız sıvıları diş yüzeyinden çözünen mineraller nedeniyle mineye göre daha doygun duruma geçmiş olur. Ağız sıvılarının minerale doymasıyla, fazla mineral tekrar diş yüzeyine çöker ve bu kez remineralizasyon süreci başlar. Demineralizasyon süresince kaybedilen mineraller, remineralizasyonun başlaması ile hasara uğramış kristaller üzerinde tekrar depolanır (37).

Başlangıç mine çürüğünde demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsü Şekil 2.3'de gösterilmiştir (24).



Şekil 2.3. Başlangıç mine çürüğünde demineralizasyon-remineralizasyon döngüsü (24).

### 2.2.6. Erken Çocukluk Çağı Çürüğü (EÇÇ)

Bebeklerde ve erken yaşlardaki çocuklarda görülen şiddetli diş çürüklerinin

özel bir biçimdir. 1962 yılı itibaren günümüze kadar bu çürükleri tanımlamak amacıyla farklı birçok terim kullanılmıştır. Bu terimler arasında;

- Biberon diş çürüğü
- Biberon sendromu
- Biberon çürükleri
- Emme çürüğü
- Süt biberonu sendromu
- Anne sütü diş çürüğü bulunmaktadır (38).

İlerleyen yıllarda EÇÇ'yi meydana getirmede uzun süreli biberon kullanımının tek faktör olmayabileceği düşünölmeye başlanmış ve daha genel bir terim olan 'Erken Çocukluk Çağı Çürüğü' olarak adlandırılmıştır. EÇÇ; 71 aylık veya daha küçük çocuklarda bir veya daha fazla çürüklü diş (kaviteli veya kavitesiz lezyonlar), kayıp diş (çürüğe bağlı) veya dolgulu diş yüzeyi bulunması olarak tanımlanır

dmft skoruna bakıldığında;

- 3 yaş için  $\geq 4$ ,
- 4 yaş için  $\geq 5$ ,
- 5 yaş için  $\geq 6$

olduğunda ya da 3 yaş altı bir çocukta herhangi bir düz yüzey çürüğü belirtisi bulunması ile 'Şiddetli Erken Çocukluk Çağı Çürüğü' teşhisi konmaktadır (39).

Bebeklerde dişler sürmeden önce ağız ortamında S. mutans geçici olarak bulunmakta ya da hiç bulunmamaktadır. Çünkü bu bakterilerin kolonize olabilmesi için ortamda diş yüzeyi gibi sert yapıların bulunması gerekmektedir. Bebekler için S. mutans bulaşmasında en önemli rezervuar anneleri veya ilk bakıcılarıdır. S. mutans'ın temel bulaşma mekanizması annenin ağızında mevcut olan tedavi edilmemiş çürük dişler sebebiyle enfekte olmuş tükürüğün, bebeğe dikey geçişidir. Enfeksiyon araçları ise; beslenme kaşığı, dudaktan öpme ya da annenin bebeğin emziğini temizleme amacıyla kendi ağızına götürmesi gibi durumlardır. Ağızında yüksek seviyelerde S. mutans bulunan annelerin çocuklarının S. mutans bulaşması

konusunda yüksek risk grubunda yer aldığı bildirilmiştir (40).

Süt dişleri sürdükleri andan itibaren EÇÇ'den etkilenmeye başlarlar. İlk önce süt üst keser dişler, ardından demineralizasyonun devam etmesiyle, süt azlarının vestibül ve okluzal yüzeyleri de etkilenmektedir. Dilin koruyucu etkisinden dolayı alt süt kesiciler genellikle bu durumdan etkilenmezler. EÇÇ, beyaz nokta lezyonları şeklinde gingival kenardan başlayarak demineralizasyonun ilerlemesi halinde sarı, kahverengi veya siyah renkte bir kaviteye dönüşmektedir (41).

### 2.2.7. Başlangıç Mine Çürüğü

Diş çürüğü gelişiminin ilk aşaması olarak nitelendirilen başlangıç çürük lezyonları, mine dokusuyla sınırlı, sağlıklı mine yüzeyinden daha poröz yapıda olan, kaviteyeksiz demineralize yüzeyler olarak tanımlanır. Bu lezyonlar daha çok kole bölgesinde, pit ve fissürler gibi çürüğe yatkın bölgelerde ve dişlerin düz yüzeylerinde izlenmektedir (42).

Başlangıç mine çürüğünün beyaz görüntüsü optik bir olguya dayanır. Minede mineral kaybı meydana geldiğinde porözite artar ve kaybolan mineralin yerini su molekülleri alır. Bu durum sağlam ve demineralize mine tabakaları arasındaki kırılma indeksinin değişmesine yol açar. Mine yapısı bozulmadığında normalde dentinden geri yansıyan ışık fotonu minede çürük lezyonu söz konusu olduğunda geri yansıtılmadan önce daha az mesafe kat eder ve lezyon içerisinde fotonların büyük bir çoğunluğu dentine ulaşmadan saçılır. Bu büyük orandaki saçılma lezyonun beyaz görünmesine sebep olur ve bu görüntü sebebiyle bu lezyonlar “beyaz nokta (white-spot)” olarak tanımlanmaktadır. Lezyon kurutulduğunda ise su hava ile yer değiştirir ve ortalama kırılma indeksi daha da azalarak lezyonun daha da beyaz görünmesine neden olur (43).

### 2.3. Yapay Çürük Oluşturma Yöntemleri

Çürük gelişiminin nedenlerini ortaya koymayı hedefleyen pek çok çalışmada; in vitro, in vivo ve in situ yöntemler kalitatif ve kantitatif olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin kullanımıyla; plak oluşumu, başlangıç mine çürüğü, dentin çürüğü,

kavite oluşumu ve çürüğü durdurma gibi çürük patogenezinin farklı aşamalarının tek tek incelenme imkanı elde edilmiştir (44).

### **2.3.1. Asit Tamponların Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli**

En kolay yapay çürük oluşturma yöntemidir. İstenilen derinlikte başlangıç çürük lezyonu meydana gelene kadar, örnekler demineralizasyon solüsyonları içerisine bırakılır. Oluşturulan bu tür lezyonlar, doğal çürük lezyonları ile benzer özellikler göstermektedir. Mine yüzeyinde pencereler hazırlanarak örnekler tampon solüsyonlarında istenilen süre kadar bekletilmektedirler. Bu süreç günler hatta aylar sürebilir (45).

Solüsyonlar hazırlanırken önemli olan içerdikleri kalsiyum, fosfat ve flor miktarlarının bilinmesi ve pH derecesinin dikkatli bir şekilde ayarlanmasıdır. Tampon solüsyonlarında; laktik asit, asetik asit veya her ikisi birden kullanılabilir. Ancak hidroklorik asit ve sitrik asit mine içerisine, zayıf organik asitlerin penetre olabildiği gibi yeterince penetre olamadığından ve sadece yüzeyde madde kaybına neden olan bir demineralizasyon sağladıklarından bu yöntemde kullanılamazlar (46).

Solüsyonun pH derecesi, çürük meydana getirmek için gerekli olan pH değerinin altında olmalıdır, yaygın olarak kullanılan solüsyonların pH'sı 4,5-5.0 arasında değişim göstermektedir. Standart bir demineralizasyon sağlanması, solüsyonların pH değişimlerinin kolaylıkla izlenebilmesi, uygulama aşamalarının kolay olması ve oluşturulan lezyonların derinliğinin kontrol edilebiliyor oluşu önemli avantajları arasında yer alır (47).

### **2.3.2. Bakteriler Tarafından Üretilen Asitlerin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon Modeli**

Kimyasal yöntemde olduğu gibi mine yüzeyinde pencereler hazırlanır. Örnekler, fermantasyon sonucu organik asit üretebilen mutans streptokoklar gibi bakterilerin yer aldığı kaplar içerisine yerleştirilerek, aside maruz bırakılırlar. İnkübasyon öncesi ısıl değişim işlemi de yapılabilir. Ortamdaki kalsiyum,

fosfat ve flor iyon düzeylerinin kontrol altında tutulamaması ve pH değerinin kontrolsüz şekilde düşüşü bu yöntemin dezavantajlarıdır (48).

### **2.3.3. pH Siklus Modelinin Kullanıldığı İn Vitro Demineralizasyon/Remineralizasyon Modelleri**

Bu tarz çürük oluşturma modelinde; demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarının art arda kullanılması ile ağız ortamında meydana gelen değişikliklerin bir örneği elde edilebilmektedir. Demineralizasyon solüsyonlarında genellikle 4,1-4,5 gibi düşük pH derecesine sahip; asetik asit, kalsiyum ve fosfat içeren asit tamponları kullanılmaktadır. Remineralizasyon solüsyonları içerisinde yer alan kalsiyum ve fosfat iyonları ise doğal tükürüğün içerdiği seviyede tutulmaktadır. Solüsyonlar içerisine daldırılan örnekler, çalışmanın amaçları ve planlaması doğrultusunda belirli bir süre boyunca burada tutulurlar, belli zamanlarda solüsyonlar yenilenir ve farklı iki solüsyon arasında tespit edilen aralıklar ile daldırma işlemi tekrarlanarak lezyonların oluşmasına izin verilir (49).

### **2.3.4. Yapay Çene Modelleri**

Laboratuvar koşullarında ağız ortamının taklit edilmesini sağlayan modellerdir. Bu modellerde; diş yüzeyi, bakteriler, tükürük ve fermante edilecek besin ürünleri birarada bir mekanizmanın içerisinde bulunur. Ancak bu sistemde in situ ve in vivo modeller kadar iyi sonuçlar elde edilemediği, bu nedenle bu sistem üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir (50).

### **2.3.5. İn Vivo Hayvan Modelleri**

Sıklıkla denek olarak kobay fareler tercih edilmektedir. Ancak hayvan çalışmalarının pahalı ve zaman alıcı olmasının yanı sıra deney öncesi, çalışmada kullanılacak materyallerin hayvan sağlığı açısından zararsız olduğu kanıtlanmış olmalıdır. Bu deneklerle çalışmanın bir diğer zorluğu ise; kobay fare dişlerinin boyutlarının restorasyon açısından küçük olmalarıdır. Ayrıca tükürük özelliklerinin insan tükürük özelliklerinden çok farklı olması nedeniyle elde edilen sonuçlar tam olarak gerçeği yansıtmayabilir (51).

### **2.3.6. İnsan Çenesinde İn Situ Çalışmalar**

Bu tip çürük modelleme çalışmalarında, in vitro olarak hazırlanan mine veya dentin dokusu kesitleri, genellikle özel kurgulanmış bir aparey aracılığıyla gönüllü taşıyıcıların ağız ortamına yerleştirilip, belirli bir süre takip edilir.

Etik onay alınması aşamasındaki zorluklar, gönüllü birey bulma güçlükleri, gönüllülerin çalışma dizaynına uyum sağlamasındaki eksiklikler, her taşıyıcıya ait aparey hazırlamanın maliyeti gibi güçlükler nedeniyle yöntemin kullanılması her zaman mümkün olamamaktadır (52).

### **2.3.7. Çekimi Planlanmış Dişlerde Yapılan Çalışmalar**

Doğal demineralizasyon ve remineralizasyon döngülerini en doğru biçimde yansıtan çalışma dizaynlarıdır. Dişlerin, tükürüğün ve plağın mevcut olduğu doğal ortamda tutulmaları ve beslenme kontrolünün de sağlanabilmesi nedeni ile sonuçları en güvenilir olan yöntemdir (53).

## **2.4. Mine Yüzeyinde Oluşan Demineralizasyon ve Remineralizasyon Analiz Yöntemleri**

Günümüzde, çürük lezyonlarının teşhis ve tanısına yönelik birçok yöntem klinisyenlerce kullanılmaktadır. Geleneksel yöntemler içerisinde; görsel/dokusal muayene ve radyografik inceleme yöntemleri yer almaktadır. Dijital radyografi, diyetli lazer floresans, fiber optik transillüminasyon gibi yöntemler geleneksel yöntemlere alternatif, ileri tekniklerdir ve çürük lezyonlarının tanısında klinisyenlere yardımcı olmaktadır (54).

Geleneksel ve yeni geliştirilen yöntemler ile çürük lezyonlarının teşhisinde ilerleme sağlanmış olsa da, başlangıç mine lezyonlarının tanısında ve lezyonların demineralizasyon ve remineralizasyon döngülerinin izlenmesinde kullanılan yöntemler sınırlı bir güvenilirliğe sahiptir. Mikrosertlik testi, taramalı elektron mikroskobu ve konfokal lazer tarayıcı mikroskobu bu amaçla in vitro çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerdir (55).



### 2.4.1. Mikrosertlik Testi

Sertlik, materyallerin plastik deformasyon karşısında gösterdiği direnç kabiliyetidir. Materyale bilinen miktarda bir yük uygulanması ile sertlik ölçümü gerçekleştirilir. Deformasyonu yalnızca kuvvetin uygulandığı materyalde sınırlı tutmak adına, baticı uç olarak elmas gibi sert materyaller tercih edilir. Diş hekimliğinde kullanılan restoratif materyallerin mekanik özelliklerinin incelenmesinde, diş sert dokularına uygulanan tedavi yöntemlerinin laboratuvar şartlarında birbirleriyle kıyaslanmasında ve mineral içeriğini analiz etmede kullanılan test yöntemlerinin başında yüzey sertliği ölçümleri gelmektedir (56).

Bu yöntemde ışık mikroskobu altında, test edilecek örnek üzerine elmas uç yardımıyla, belirli bir süre için belirli bir yük uygulanarak bir iz oluşturulur ve bu izlerin derinlikleri değerlendirilir. Ölçülen sertlik değerleri ‘ $\mu\text{m}$ ’ cinsinden belirlenir ve tekrarlanabilir ölçümlere olanak verir (57).

Diş hekimliğinde en çok tercih edilen iki çeşit mikrosertlik ölçme dizaynı vardır. Aygıtların iz oluşturmaya yarayan uçlarının şekillerinin farklı olması, bu yöntemler arasındaki farkı yaratır. Knoop yönteminde tabanı eşkenar dörtgen şeklinde elmas piramit baticı uç kullanılırken, Vickers analizinde  $136^\circ$  tepe açılı, tabanı kare olan elmas piramit baticı uç kullanılır. Aynı yük kullanılarak yapılan sertlik ölçümlerinde Knoop ucu, Vickers ile karşılaştırıldığında daha derin izler bırakmaktadır (58).

Mikrosertlik test yöntemleri uygulanırken özellikle yükün darbesiz uygulanmasına, örnek yüzeyinin parlak ve düzgün olmasına, elmas ucun darbeden ve çarpmadan korunmasına dikkat edilmelidir (59).

### 2.4.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu, Manfred von Ardenne tarafından 1930’lu yıllarda geliştirilmiştir. Çalışma prensibi olarak numuneleri üç boyutlu inceleme olanağı sağlayan, bir elektron mikroskobu çeşididir. Ayırım gücü, odak derinliği, görüntü ve analizi birleştirme özelliğinin gelişmiş olması, taramalı elektron

mikroskobunu, araştırma ve incelemelerde geniş ölçüde kullanılan bir cihaz haline getirmiştir. Mikro işlemci ve bilgisayarların mikroskopa beraber kullanılmaları cihaza kullanım kolaylığı özelliği kazandırmış ve diğer yöntemlerle çok uzun sürebilecek ayrıntılı veri toplama ve toplanan veri üzerinde yapılan istatistiksel değerlendirmelerin otomatik olarak, çok kısa zamanda tamamlanabilmesini sağlamaktadır (60).

SEM'de görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numuneye ait atomlar arasında oluşan etkileşimin, uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra, bir katot ışınları tüpünün ekrana aktarılmasıyla elde edilir. Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller, dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir (61).

#### **2.4.3. Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS)**

EDS, incelenen örneğin element analizi veya kimyasal özelliği için kullanılan analitik bir yöntemdir. EDS, elementin atomik yapısının analizi için SEM ile birlikte kullanılan bir dizi tekniktir. Bu sistemle SEM ile yapısal analiz yapılırken, EDS ile de element analizi yapılabilir. Çalışma prensibi, dış kaynaklardan gelen elektronlar ile materyalin atomları çarpıştığında X ışını fotonları şeklinde enerji yayılması biçimindedir (62).

#### **2.4.4. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)**

Atomik kuvvet mikroskobu 1980'lerde geliştirilmiş olup, yüksek çözünürlüğe sahip olan taramalı yüzey mikroskoplarının bir türüdür. Mine ve dentin dokusunda demineralizasyonun görüntülenmesinde, başlangıç aşamasındaki yüzey değişikliklerinin kantitatif olarak değerlendirilmesinde kullanılabilir. Çalışma prensibi; örnek yüzeyi 40-60 nm çapındaki sivri bir uç yardımıyla taranırken, AFM uç ile yüzey arasındaki etkileşimi kaydeder. Bu sayede AFM ile atomik boyutlara kadar sivriltilmiş iğne ucu yardımıyla, örnek yüzeyinin yüksek çözünürlükte, üç boyutlu görüntülenmesi sağlanmış olur (58).

#### **2.4.5. Konfokal Lazer Tarayıcı Mikroskobu (CLSM)**

CLSM'de görüntü, belirli odak düzlemlerinden gelen monokromatik lazer ışığından elde edilir. Işığın yansıması ve saçılması göz önüne alınarak mineral değişiklikleri hakkında bilgi temin edilir. Mine yüzeyinin demineralize olmuş bölgesinde mevcut olan porözitelere floresans boya infiltre edilerek ölçüm yapılmaktadır. CLSM yüksek çözünürlüğe sahiptir ve genellikle kalitatif bilgi sağlarken, erozyondaki mineral kaybı hakkında kantitatif bilgi de vermektedir (58).

#### **2.4.6. Polarize Işık Mikroskobu**

Polarize ışık demetinin farklı hızları olan ışınlarının kırılma indekslerindeki farklılık esas alınarak çalışır. Minenin organik kısımları, demineralizasyon nedeniyle oluşan poröz yüzeyler pozitif kırılma gösterirken, sağlam yüzeyler negatif kırılma göstermektedir. Bu yöntemle lezyon derinliği ve çürük tabakanın boyutu ölçülebilir olmasına rağmen lezyonun mineral yoğunluğuna dair bilgi elde edilemez (63).

#### **2.4.7. Mikroradyografi**

Bir mine bloğuna X ışınlarının gönderildiği, penetre olan X ışınını kaydetmek için bir plaka veya foton sayacının yer aldığı yöntemdir. Üç farklı mikroradyografi çeşidi vardır. Bunlar; transversal mikroradyografi, longitudinal mikroradyografi ve dalga boyuna bağlı olmayan mikroradyografidir (63).

#### **2.4.8. Lazer Floresans Yöntemi**

Yüksek enerjili ışığın absorpsiyonuna tepki olarak moleküllerin hareketiyle ışığın yayılmasına floresans denilmektedir. Otofloresans, ilave madde olmaksızın herhangi bir ışık saçan doğal floresans özelliğidir. Demineralizasyon, ışığın saçılmasına neden olduğu ve daha az absorpsiyon gösterdiği için otofloresansın kaybolmasına neden olur. Dolayısıyla daha düşük floresans gözlemlenmektedir. Bu sebeple de, çürük diş dokusu, normal diş dokusundan daha karanlık olarak gözlenmektedir (64).

Lazer floresans, 655 nm dalga boyuna sahip diyot lazerden gelen ışığın

yayılmasına ve yayılan floresansın kaydedilmesine dayanan bir çürük tespit yöntemidir ve başlıca 2 gruba ayrılır (65).

- 1) Diyotlu lazer floresans (DIAGNOdent)
- 2) Kantitatif ışık etkili floresans (QLF)

### **1) Diyotlu Lazer Floresans (DIAGNOdent)**

En yaygın kullanılan lazer floresans cihazı DIAGNOdent, ışık kaynağı diyot lazer olan, çürüklerin tespit edilmesini ve kantitatif sonuçlar vermesini sağlayan, taşınabilir bir cihazdır (66). DIAGNOdent, floresans ışığa yanıt verdiği için, ışığın yayılmasına neden olan kalkulus, plak ve debrisler yanlış pozitif değerlerin elde edilmesine neden olabileceğinden, ölçümlerden önce diş yüzeylerinin temizlenmesi ve diş yüzeyinin kuru olması gerekmektedir (67).

Aproksimal yüzeylerde daha rahat ölçüm yapılabilmesi için aynı firma tarafından DIAGNOdent Pen piyasaya sürülmüştür (66).

### **2) Kantitatif Işık Etkili Floresans (QLF)**

Lazer floresans yöntemlerinden, lazer yerine ışık kullanılan tekniktir. Diş çürükleri, dental plak, diş taşı, bakteri aktivitesi, renklenme ve diş beyazlatması ile ilgili in vivo ve in vitro olarak kantitatif değerlendirme yapılabilen bir tür teşhis cihazıdır (68).

#### **2.4.9. CarieScan PRO**

CarieScan PRO, alternatif akım direnci spektroskopisi yöntemiyle lezyonun minedeki derinliğini ölçen bir aygıttır. Portatif ve şarj edilebilirdir, sensörleri tek kullanımlıktır. Radyasyon riski içermeyen X ışınlarına alternatif olabilecek şekilde güvenilirdir. İncelenen bölgeye gönderilen küçük bir elektrik akımı dişin mineral densitesini ölçerek dişin demineralizasyon/remineralizasyon durumunu ortaya koyabilir. Hasta üzerinde ağrı ve hassasiyete sebep olmaz ve ilgili alanda kısa sürede ölçüm gerçekleştirilir. Tel kıllardan oluşan sensör ucu dişin birden fazla alanından

okuma elde dilmesini sağlar. Ölçüm yapılan alana yavaşça temas ettirilir ve renklerle desteklenen numerik rakamlar ekranda izlenir. Çürük teşhisi yapabilmek için dudak klibinin elektrik akımının tamamlanması amacıyla ağıza yerleştirilmesi gerekir. Hastanın anlayamayacağı düşük voltajlı bir akım dişe gönderilir ve sensörün cevabı görüntülenir. Renk kodları ise hekime çürük lezyonunun derinliğini değerlendirme olanağı verir (69).

#### 2.4.10. Bilgisayarlı Mikrotomografi (Mikro-CT, $\mu$ CT)

Mikro-CT, 1982 yılında geliştirilen, mikro odaklı X ışını kaynağı olan, 9 X ışınlı tomografi sistemidir. Mikro-CT örneğe zarar vermeden tarama yaparak iki ve üç boyutlu yüksek çözünürlükte dijital görüntü alabilmeyi sağlamaktadır. Tarama görüntüleri kalitatif ya da kantitatif ölçüm ve analizlerde kullanılabilir. Diş hekimliğinde mine kalınlığı ve diş boyutunun ölçülmesi ve kök kanal morfolojisinin incelenmesi gibi özellikle sert dokuların in vitro incelenmesinde kullanılabilir (70).

### 2.5. Remineralizasyon Ajanları ve Çürük Önleyici Ajanlar

#### ✚ Mineral ve iyon teknolojileri

- o Flor iyonu
- o Gümüş iyonu

#### ✚ Şeker alkolleri

- o Ksilitol
- o İzomalt
- o Sorbitol

#### ✚ Bitkisel kaynaklı ajanlar

- o Meyan kökü (Glycyrrhiza Glabra)
- o Üzüm çekirdeği ekstresi (polifenoller)
- o Galla chinensis (G. chinensis)
- o Teobromin
- o Kitosan

#### 🚦 Biyoaktif materyaller ve nanoteknolojik ürünler

- o NovaMin (Kalsiyum sodyum fosfosilikat biyoaktif cam)
- o Nano hidroksiapatit
- o Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP)
- o Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum florid fosfat (CPP-ACFP)
- o Trikalsiyum fosfat (TCP)
- o Kendiliğinden birleşen peptidler

#### 🚦 Diğer kalsiyum ve fosfat kaynaklı remineralizasyon ajanları

- o Dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD)
- o Kalsiyum karbonat ( $\text{CaCO}_3$ )
- o Sodyum trimetafosfat (sTMP) (71).

### 2.5.1. Mineral ve İyon Teknolojileri

#### 2.5.1.1. Flor İyonu

Doğada hali hazırda mevcut olan birçok elementin, mine yapısına nüfus ederek dokunun organik ve inorganik yapısını etkilediği aşıkardır. Kalsiyum tuzlarının yapısına dahil olan bazı eser elementler, bu yapının asitlere karşı daha dirençli hale gelmesine neden olur ve flor iyonu, bu elementlerin başında gelmektedir (72).

Diş çürüklerini önlemek amacıyla en çok kullanılan materyal olan flor, birçok mekanizma ile demineralizasyonu azaltıcı ve remineralizasyonu artırıcı etkiye sahiptir. Pelikül ve plak formasyonunun oluşumunun önlenmesi, plak mikroorganizmalarının asit üretiminin inhibisyonu, doğal minedeki hidroksiapatit yapısından çürüğe karşı daha dirençli bir yapı olan florohidroksiapatit oluşumunun sağlanması, kalsiyum ve fosfat iyonlarının diş yüzeyine çökmesinin hızlandırılması ve bakterisit özellikleri florun çürük önleyici ve remineralize edici etkisini ortaya koymaktadır (73).

Mine yüzeyi flora maruz kaldığında ortamda, florapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ) veya

kalsiyumflorid ( $\text{CaF}_2$ ) oluşmaktadır. Eğer flor konsantrasyonu 50 ppm'den azsa  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$  meydana gelirken, 100 ppm'in üzerinde ise  $\text{CaF}_2$  oluşmaktadır. Topikal flor uygulamalarında veya NaF içeren diş macunlarının kullanımından sonra  $\text{CaF}_2$  yapısının oluştuğu görülür.  $\text{CaF}_2$  ortamdaki pH düştüğü anda, flor salınımı yaparak bir çeşit rezervuar görevi üstlenir.  $\text{CaF}_2$ ;  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ 'den daha az çözünen bir yapıya sahiptir ve asit ataklarına karşı minenin korunmasında yardımcı olur (74).

Florun çürük önleyici etkisinin birçok çalışmayla kanıtlanmasından sonra, remineralizasyon etkisini ortaya koymak için tek başına florun kullanıldığı veya flor ile kombine kullanılan ürünlerle ilgili detaylı birçok çalışma yapılmıştır. Alsaffar ve ark.'ı (75), flor içerikli fissür örtücülerin konvansiyonel fissür örtücülere kıyasla komşu dokular üzerinde, demineralizasyonu engellemede daha etkili olduklarını bildirmişlerdir.

Nalbantgil ve ark.'ı (76), NaF içerikli flor verniklerin ortodontik braketler çevresinde neden oldukları etkileri değerlendirdikleri araştırmalarında, verniklerin hem demineralizasyondan korunmada hem de remineralizasyonu sağlamada oldukça etkili materyaller olduklarını bildirmişlerdir.

Küçük yaş grubu çocuklarda yüksek oranda flor içeren macunların kullanımı, hafif derecede florozis tablosu meydana getirebilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar florun çürük önleyici etkisinden faydalanmanın yanı sıra florozis riskini de azaltmak için yeni terapötik ajanlar üzerinde çalışmalar yapmaktadırlar (77).

### 2.5.1.2. Gümüş İyonu

Gümüş bileşiklerinden biri olan gümüş nitratın diş hekimliği alanında kullanılmaya başlanması, süt dişlerinde çürük insidansının azaltılmasını gerçekleştirmek amacıyla ortaya çıkmıştır. Ardından daimi dişlerde çürük oluşumu ve hassasiyeti önleyici ajan olarak ve kavite dezenfektanı olarak kullanım alanı bulmuştur (78). Gümüş iyonunun düşük pH değerlerinde diş sert dokularının çözünürlüğünü azalttığı ve demineralizasyona uğramış yüzeylerin remineralizasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (79).

Diş hekimliğinde, gümüş diamin florür; %10'luk, %12'lik, %30'luk ve %38'lik gibi farklı konsantrasyonlarda kullanılmaktadır. Özellikle %38'lik konsantrasyonda olan, küçük ve kooperasyonu zayıf çocuk hastalarda çürüğün ilerlemesinin durdurulmasında kullanılmaktadır. Diş çürüklerinin önlenmesinde hızlı, basit ve non-invaziv bir yöntemdir. Ancak uygulama sonrasında diş yüzeylerinde siyah renkleşmeye neden olabilmektedir. Düşük maliyet ve uygulama kolaylığı gibi avantajlarının mevcut olmasının dışında özellikle çocuk hastalar tarafından sevilmeyen metalik bir tada sahiptir (80).

### **2.5.2. Şeker Alkolleri**

Ksilitol, sorbitol ve izomalt; şeker, sakız, oral hijyen ürünleri ve farmasötik ürünler de dahil olmak üzere çok çeşitli ürünlerde diş çürüklerinin azaltılması amacıyla şekerin yerini alması için kullanılmıştır. En büyük dezavantajları, fazla miktarda tüketildiklerinde, ozmotik ishale neden olma eğilimleridir (81).

#### **2.5.2.1. Ksilitol**

Ksilitol; selüloz içeren maddelerden elde edilen, oral mikroorganizmalar tarafından metabolize edilemeyen 5 karbonlu bir şeker alkolüdür (82).

Ksilitolün çürük önleyici etkisi; hem patolojik bakteriler tarafından fermente edilememesine hem de antibakteriyel özelliklerine dayandırılmaktadır. Ksilitollü ürünler kullanan bireylerde tükürük akış hızının arttığı, tükürük akış hızının artmasına bağlı olarak tükürüğün tamponlama kapasitesinin arttığı ve oral çevrenin pH değerinin yükseldiği bilinmektedir. Ksilitolün yapısında bulunan hidroksil iyonları tükürük sıvısında bulunan kalsiyum ve fosfat ile bağlanmakta ve böylece tükürük içerisinde ve ağız ortamında kalsiyum seviyesinin belirli bir düzeyde kalmasını sağlamaktadır. Remineralizasyon, kalsiyum ve fosfat açısından zengin tükürük akışının artmasından kaynaklanmaktadır. Ksilitolün bakteriler tarafından fermente edilememesi asit oluşturan mikroorganizmaların asit üretiminin baskılanmasını sağlamakta ve böylece oral çevrenin pH değerinin düşmesi önlenmektedir (81). Ayrıca ksilitol ekstrasellüler polisakkarit miktarını azaltmakta ve böylece asidojenik bakterilerin diş yüzeyine yapışmasına engel olmaktadır (32).



Söderling ve ark.'nın (83) yaptıkları bir çalışmada, ksilitollü sakız çiğneyen annelerin, çocuklarının oral florası incelendiğinde, mutans streptokok kolonizasyonunda ve 5 yıllık takip periyodunun sonunda, çürük prevelansında anlamlı derecede azalma olduğu görülmüştür. Çalışmanın sonuçları; ksilitolün bakteriyel transfer ve kolonizasyonu inhibe ettiğini göstermiştir.

### **2.5.2.2. İzomalt**

Patojenik bakteriler tarafından metabolize edilemez, bu nedenle antibakteriyel ve non-asidojeniktir. Ayrıca kalsiyum ve fosfatı bağladığı için remineralizasyonu artırır (71).

Takatsuka ve ark.'nın (84), izomalt içerikli diş macunu ve gargaralar ile yaptıkları çalışmada, izomaltın remineralizasyon üzerine asıl etkisini, flor ile kombine olarak kullanılmasıyla meydana getirdiği sonucunu bildirmişlerdir.

### **2.5.2.3. Sorbitol**

Sorbitol birçok bakteri tarafından metabolize edilemez. Ancak, mutans streptokokları tarafından fermente edilebilmesine rağmen; sükröz, glikoz ve fruktoz gibi diyet şekerleri ile kıyaslandığında üretilen asit oranı anlamlı olarak daha azdır, bu nedenle non-karyojenik şeker olarak tanımlanmaktadır (85).

Splieth ve ark.'nın (86), ksilitol ve sorbitol içerikli pastil kullanan bireylerin plak asidojenitesinde oluşan değişiklikleri inceledikleri çalışmalarında, ksilitol içerikli pastil kullanan bireylerin sorbitol içerikli pastil kullanan bireylere oranla plak pH'sında anlamlı derecede azalma olduğunu bildirmişlerdir.

### **2.5.3. Bitkisel Kaynaklı Ajanlar**

Doğru ve dengeli beslenme genel sağlığın korunmasının yanı sıra dişler ve diş etleri olmak üzere ağız sağlığının korunması ve geliştirilmesi için de önem teşkil etmektedir. Bazı besin gruplarının diyetten çıkarılması (genellikle B, C vitaminleri ve protein eksikliği) ilk olarak ağız içinde belirti ve bulgularını göstermektedir.

Eski tarihlerden bu yana sağlığın korunması ve hastalıklara karşı oluşturulan savaşta, bitkilerden elde edilen medikal besinler kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan incelemeler bitki özleri ve bunlardan elde edilen ürünlerin koruyucu ve tedavi edici özellikleri üzerine tekrar yoğunlaşmıştır. Birçok sebze ve meyve içeriklerinin sağlığı desteklediği ve bazı hastalıkların oluşma riskini azalttığı bilinmektedir. Bunun bir sonucu olarak bitkisel kaynaklı antimikrobiyal bileşiklerin, dental plak ve ağız hastalıklarının tedavisinde, yaygın olarak kullanılan kimyasallara alternatif olarak kullanılabileceği de düşünölmüştür (87).

### 2.5.3.1. Meyan Kökü (Glycyrrhiza Glabra)

Meyan kökü, iyileştirici özelliğinden dolayı 3 bin yıldan beri tıpta tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Çinliler M.Ö. 2800, Yunanlılar ise M.Ö. 400 yıllarından bu yana meyan kökünü yaygın olarak kullanmaktadırlar. Meyan kökü, anavatanı Akdeniz ölkeleri, Türkiye, Ukrayna, Rusya ve Türkistan olan sulak ve nemli yerlerde yetişen, baklagiller familyasından çok yıllık otsu bir bitkidir. Botanik adı Glycyrrhiza glabra veya Glycyrrhiza uralensis olmakla beraber birçok ölkede tıbbında likoris olarak bilinir ve latince karşılığı tatlı kök anlamına gelmektedir (88).

Glycyrrhiza cinsinin dünya üzerinde 12 türü mevcuttur. Tıp ve endüstriyel alanda en çok kullanılan tür Glycyrrhiza glabra'dır. Glycyrrhiza adı eski yunanca glikoz ve kök anlamındaki rhizadan gelmektedir, Glycyrrhiza glabra türünün de en önemli özelliği gövdesinin tatlı oluşudur. Meyan kökü tatlandırıcılığı şekerden daha yavaş başlar ve uzun sürer. Aspartam, sakkarin ve siklamatlar gibi yapay tatlandırıcıların aksine, sülfür molekölü içermez ve ısıtıldığında tatlılığını korur (89).

Meyan kökü bitkisinde bulunan en aktif bileşenler sırasıyla glisirizin (glisirizik asit) ve glabridindir (90). Glisirizik asit, günümüzde kullanılmakta olan birden fazla ilacın içeriğini oluşturmaktadır. Bağışıklık sistemi üzerine ve bronşit, boğaz ağrıları, böbrek ve karaciğer hastalıkları ile ölsere etkilidir (91).

G. glabra'nın çeşitli kısımlarının metanollü ekstresi birçok çeşit bakteri türüne karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. G. glabra'nın sudaki ve eterdeki ekstralarının 5 bakteri türü olan Escherichia coli, Bacillus subtilis, Enterobacter

aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus'a karşı etkili aktivite gösterdiği çalışmalarda gösterilmiştir (92).

Meyan kökünün Çin'de yetişen türü olan, G. uralensis'in köklerindeki glisirizol A'nın, çok düşük dozlarda olsa bile (1 ve 2 µg/mL), S. mutans'a karşı potansiyel antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (93). Glisirizik asidin, karyojenik bakteri olan S. mutansların glikoziltransferaz aktivitesine müdahale ederek biyofilm oluşumu için gerekli olan çözünmeyen glukanların sentezini inhibe ettiği bildirilmiştir (94).

Meyan kökü ve biyoaktif bileşenlerinin oral kandidiyazis, tekrarlayan aftöz ülserasyon, çürük ve periodontitis gibi yaygın ağız ve diş hastalıklarının tedavisinde son derece etkili olduğu bildirilmiştir (95). Tatlı tadı nedeniyle salyayı uyarır ve diş çürüklerine karşı koruma sağlar (96). Biyoaktif bileşenlerinin etkileri nedeniyle meyan kökünün, gingivitis ve periodontitis gibi periodontal hastalıklarda potansiyel terapötik etkilere sahip bir fitokimyasal kaynak olarak rol oynadığı bildirilmiştir. Meyan kökünün, periodontal hastalıklarda yer alan konakçı inflamatuvar cevabı etkilemenin yanı sıra, periodontopatojenleri (başta Porphyromonas gingivalis) doğrudan inhibe ettiği gösterilmiştir (97).

Yapılan bir çalışmada glabridinin, periodontitisli hastalarda osteoblastları uyarak kemik oluşumuna teşvik ettiği bildirilmiştir (98). Başka bir çalışmada 2 hafta boyunca deglycerinized meyan kökü ekstresi içeren gargara kullanımının, aftöz ülserlerin neden olduğu ağrıyı hafiflettiği ve ülserlerin iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür (99).

Peters ve ark.'ı (100), meyan kökü özü içeren lollipop kullanarak bir pilot çalışma yürütmüş ve yüksek çürük riskli okul öncesi çocuklarda, günde iki kez kullanıldığında, S. mutans'ın hem tükürükteki sayısını hem de nispi yüzdesini önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir.

Almaz ve ark.'nın (101), 5-11 yaşları arasında yüksek çürük riski taşıyan 108 çocuğun bulunduğu çalışmasında, hastalara meyan kökü özü içeren lollipoplar

kullanılmış ve çocuklarda anlamlı düzeyde S. mutans sayısında azalma olduğu bildirilmiştir.

### **2.5.3.2. Üzüm Çekirdeği Ekstresi (Polifenoller)**

Üzüm çekirdeği ekstresi, üzüm çekirdeklerinin kurutulup saflaştırılmasıyla elde edilen ve aynı zamanda antioksidan, antimikrobiyal, antitümör ve antienflamatuar etkileri mevcut olan, polifenolik bir bileşiktir (102). Üzüm çekirdeği ekstresinin, farelerin mandibuler kondillerinde kemik oluşumunu ve demineralize dentinin sertliğini artırdığı, kök çürüklerinin oluşumunu azalttığı, ayrıca kompozitin dentine bağlanmasını ve dentinin elastikiyet modülünü artırdığı, mutansların glukan sentezini inhibe ettiği ve böylece S. mutans'ların diş yüzeyine tutunmasını ve akümülyasyonunu engellendiği ve çürük oluşumu inhibisyonunu gerçekleştirdiği görülmüştür (103).

Jawale ve ark.'ı (104), üzüm çekirdeği ekstresi, CPP-ACP ve kalsiyum gliserofosfatın demineralize dişler üzerindeki etkinliğini polarize ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirdikleri çalışmalarında, üzüm çekirdeği ekstresinin, diğer gruplara kıyasla, tedavi edilen lezyonların yüzey tabakasında anlamlı derecede kalın bir mineral çökeltme bandı ortaya çıkardığını bildirmişlerdir.

### **2.5.3.3. Galla Chinensis (G. Chinensis)**

Galla Chinensis, son dönemde antikaryojenik etkinliği üzerinde çalışmalar yapılan, yaygın olarak kullanılan, geleneksel, doğal bir Çin bitkisidir (105).

Chu ve ark.'ı (106), G. Chinensis'in kimyasal içeriğinin başlangıç çürükleri üzerine etkilerini değerlendirdiklerinde, G. Chinensisin minede oluşan demineralizasyonu inhibe ettiğini ve minenin remineralizasyonunu artırdığını bildirmişlerdir.

### **2.5.3.4. Teobromin**

Teofilin ve kafein gibi metilksantin ailesinin bir üyesi olan teobromin, genç kakao ve çay yapraklarından elde edilen bir çeşit alkaloidtir ve özellikle bitter

çikolatanın içerisinde bol miktarda bulunur (107).

Teobromin yapısal olarak kafeine çok benzer. Ancak, demineralizasyona etkisi kafeinden farklıdır. Kafein mine dokusundaki kristallerin yapısını küçülterek çözünürlüğünü artırırken, teobrominin ise kristalleri büyütür ve çözünürlüğü azalttığı bildirilmiştir (108).

Syafira ve ark.'ı (109), çekilmiş dişler üzerinde yaptıkları çalışmada, farklı oranlarda (100 mg/L, 500 mg/L, 1000 mg/L) teobromin kullanarak, yüzeylerin değişen mikrosertliklerini karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda teobrominin kullanılan bütün konsantrasyonlarında minenin sertliğini artırdığını, en iyi sonucun 1000 mg/L teobrominden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Böylece teobrominin çürük oluşumunu önlemede etkili olduğunu bildirmişlerdir.

#### **2.5.3.5. Kitosan**

Kitosan, artropodların kabuğunda doğal olarak bulunan bir kitin N-deasetilasyon ürünüdür (110).

Kitosan; memeli ve mikroorganizma hücrelerine bağlanabilmekte, bağ dokusunda rejeneratif etki gösterebilmekte, osteoblastların proliferasyonunu hızlandırabilmekte ve bağışıklık sistemini aktive edebilmektedir (111). Kitosan ve türevlerinin biyolojik özelliklerinden en önemlisi sahip oldukları antimikrobiyal aktivitedir. Kitosanın antimikrobiyal aktivitesi pH derecesine bağlıdır. Kitosan düşük pH değerlerinde kuvvetli antimikrobiyal aktivite gösterdiğinden pH değerinin yükselmesiyle inhibitör aktivitesi zayıflamaktadır (112).

Diş çürüğü profilaksisi yaklaşımının temelinde *S. mutans*'ın hidroksiapatite bağlanmasının ve diş yüzeyine kolonizasyonunun inhibisyonu yatmaktadır. Dolayısıyla *S. mutans*'ın hidroksiapatite bağlanmasını engelleyen faktörler, bu enfeksiyöz hastalığın profilaksisi için ilgi uyandırmaktadır. Kitosan, *S. mutans* ve diğer streptokokların adezyonunu azaltmaktadır (113).

## 2.5.4. Biyoaktif Materyaller ve Nanoteknolojik Ürünler

### 2.5.4.1. Novamin (Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat, Biyoaktif Cam)

1960'lı yılların sonlarından bu yana kemik rejenerasyonunda kullanılan biyoaktif camlar, amorf silikat bileşiklerinden oluşan biyomateryallerdir. Biyoaktif cam tozları üretici firma olan NovaMin Teknolojileri, Florida, ABD adıyla tanınmaktadır (114).

Biyoaktif camlar, diş hekimliğinde kemik rejenerasyonunu, dentin hassasiyetinin giderilmesi, vital tedaviler, diş sert dokularının remineralizasyonu, antibakteriyel tedaviler gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Biyouyumludurlar, aynı zamanda dokulara kimyasal bağlanma eğilimindedirler (115).

Biyoaktif camlar tükürük ile temas ettiğinde, remineralizasyon için kullanılabilir olan sodyum, kalsiyum ve fosfat iyonlarının salınımı gerçekleşmekte ve bunun sonucunda minenin kompozisyonunu oluşturan hidroksiapatite benzer hidroksikarbonapatit oluşmaktadır (116).

Prabhakar ve Arali (117), biyoaktif cam ile sodyum florürün başlangıç çürük lezyonları üzerine etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, biyoaktif camların florlu bileşiklere alternatif bir remineralizasyon ajanı olarak kullanılabileceğini ve biyoaktif camların S. mutans'lar üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

### 2.5.4.2. Nano hidroksiapatit

İnsan kemiklerinin %60'ının, diş minesinin ise %97'sinin hidroksiapatitten oluşması nedeniyle hidroksiapatit, insan vücudundaki kemik ve dişlerin öncül içeriklerinden biridir (118). Doğal yollardan ya da sentetik olarak elde edilmektedir. Kayalarda ve deniz mercanında bulunan hidroksiapatit, zehirli olmayan ve insan kemiğiyle büyük ölçüde uyumlu olan, ortopedik, dental ve maksillofasiyal uygulamalarda kemik büyümesini ve osseointegrasyonu destekleyen, bir biyoseramik maddedir. Sentetik olarak üretilenler ise, hidroksiapatit partiküllerinden oluşan diş minesiyile benzer kimyasal özellikler gösteren materyaller olması, remineralizasyon

çalışmalarında yer almalarına neden olmuştur (119).

Nano hidroksiapatit partikülleri diş yüzeyine yüksek afinite gösterir ve mine yüzeyinden kolaylıkla emilir. Nano hidroksiapatitler diş hekimliğinde, dentin hassasiyeti tedavilerinde desensitize edici ajan olarak, başlangıç çürüklerinde beyaz nokta lezyonlarının remineralizasyonunda ve dental erozyonun önlenmesi ve remineralizasyonu amacıyla kullanılmaktadır (120).

#### **2.5.4.3. Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)**

Kazein; süt, yoğurt, çikolata gibi besinlerin içerisinde yer alan, 30-300 nm çapında ve formu partikül şeklinde olan, inek sütündeki proteinlerin de yaklaşık %80'ini oluşturan bir çeşit proteindir (4). Kazein fosfopeptit (CPP) ise, kazeinden elde edilen ve kalsiyum fosfatı stabilize ederek amorf kalsiyum fosfat (ACP) biçiminde taşıyabilen, bunun sonucunda kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) nano kompleksini meydana getiren peptitlerdir (121, 122). Sütün kendisinin çürük önleyici etkisinden faydalanmak için çok yüksek miktarlarda tüketilmesi gerekmektedir, bu nedenle araştırmacılar sütün içerisindeki koruyucu faktörlere yönelik çalışmalara başlamış ve CPP-ACP geliştirilmiştir (4).

CPP-ACP remineralizasyon ajanı olarak ilk olarak 1998'de tanıtılmıştır (6). Sütteki koruyucu faktör olan CPP seçici çökelme yöntemi ile kazeinin tripsin enzimi ile parçalanmasıyla elde edilir (123). CPP-ACP ağırlıkça %18 kalsiyum, %30 fosfat iyonundan meydana gelmektedir. Doğal halde yüksek oranda kalsiyum ve fosfor içerirken, daha az oranda magnezyum ve sitrat ihtiva etmektedir (124).

CPP-ACP'nin antikaryojenik mekanizması, bakteriyel kolonizasyonu önlemek, plak içerisindeki kalsiyum ve fosfat seviyesini artırarak minenin demineralizasyonunu azaltıp, remineralizasyonunu artırmak şeklindedir (125, 126). CPP-ACP preparatları; gastrit, reflü veya diğer hastalıklardan kaynaklanan dental erozyonu azaltmak, ortodontik tedavi gören hastalarda dekalsifikasyonu azaltmak, beyaz nokta lezyonlarının varlığında mineyi tamir etmek, bleaching öncesinde veya sonrasında, floroziste ve hassas dişlerde de kullanılabilir özelliktedir (127).

CPP-ACP günümüzde Recaldent (Recaldent Pty Ltd., Melbourne, Australia) ticari ismi altında pazarlanmaktadır. Topikal kullanıma uygun topikal jeller (Tooth Mousse; GC Corp., Japan), şekerless sakızlar (Recaldent, GC Corp., Japan ve Trident White; Cadbury Adams USA, Parsippany, New Jersey, USA) ve naneli drajeler (Recaldent Mints; Cadbury Japan altd., USA) bulunmaktadır (128).

Yapılan bir in vitro çalışma, süt dişlerinde görülen EÇÇ lezyonlarının remineralizasyonunda CPP-ACP'nin etkinliğini değerlendirmiştir. Bu çalışmada erken mine lezyonları oluşturulan mine örnekleri rastgele üç gruba ayrılmıştır. Gruplara distile su, CPP-ACP krem ve 500 ppm'lik NaF uygulanmıştır ve ardından mine yüzey sertliği ölçülmüştür. Sonuç olarak CPP-ACP'nin süt dişlerinde EÇÇ'nin remineralizasyonunda NaF'den daha etkili olduğu bildirilmiştir (129).

CPP-ACP'nin flora göre bir avantajı yüksek doza bağı olarak florozise neden olmamasıdır. CPP-ACP kullanımı flora olan ihtiyacı azaltacağından florozis riskini de düşürebilir (130).

Diğer bir çalışma, çikolata içine karıştırılan sodyum kazeinatın karyojeniteyi azalttığını göstermektedir. Ancak, gerekli olan kazeinat miktarının (%16,6), besinlerin ve diş macunlarının içine karıştırıldığında tadının kullanılamayacak kadar kötü olmasından dolayı, ürünü ağız içinde kullanılamaz hale getirdiğini belirtmektedir (122).

Mazzaoui ve ark.'ı (131), CPP-ACP'nin cam iyonmer simanlara ilave edilmesiyle simanın sıkışma ve bağlanma kuvvetinin arttığını bildirmişlerdir.

#### **2.5.4.4. Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Florid Fosfat (CPP-ACPF)**

Kazein fosfopeptidler, kalsiyum ve fosfat iyonlarının yanı sıra flor iyonlarını da bağlayarak çözünebilir kalsiyum florid fosfat makromolekülleri halinde stabilize ederler (132). CPP-ACP içeren ürünlere ilave edilen flor, plaktaki kalsiyum ve fosfat iyonlarıyla birlikte flor iyonu düzeyini de artırarak diş sert dokularının remineralizasyonuna katkıda bulunur. CPP, yüksek konsantrasyonlardaki kalsiyum, fosfat ve flor iyonlarını 4,5-7 arasındaki tüm pH değerlerinde stabilize



edebilmektedir. CPP-ACPF'nin remineralizasyon etkisinin; 5,5'in altındaki pH değerlerinde CPP-ACP'den daha fazla olduğu bildirilmiştir (133).

Mine örneklerinin asitli bir içecek içerisinde bekletilerek yüzeyinde oluşan erozyona CPP-ACP ve 900 ppm F ilave edilmiş CPP-ACP'nin etkinliği incelenmiştir. Mikrosertlik testleri sonucunda; mikrosertlik değerlerinin CPP-ACP grubunda %46, CPP-ACPF grubunda %64, kontrol grubunda ise %2 arttığı gözlenmiştir. Çalışmanın sonucu olarak, CPP-ACP'nin florla birlikte kullanımının remineralizasyonu olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir (134).

#### **2.5.4.5. Trikalsiyum Fosfat (TCP)**

Kimyasal formülü  $Ca_3(PO_4)_2$  olan trikalsiyum fosfat, alfa trikalsiyum fosfat ( $\alpha$ -TCP) ve beta trikalsiyum fosfat ( $\beta$ -TCP) olarak iki formda bulunur.  $\beta$ -TCP'nin çözünürlüğü,  $\alpha$ -TCP'den daha az olup ağız ortamına istenilen iyonize kalsiyumu sağlayamaz, bu sebeple daha çok alfa formu tercih edilir (135, 136).

Tavassoli-Hojjati ve ark.'nın (136), farklı miktarlarda beta trikalsiyum fosfat eklenmiş olan fissür örtücüleri araştırdıkları çalışmalarında, fissür örtücülere TCP eklenmesinin fissür örtücünün mekanik özelliklerini değiştirmedini, fakat remineralizasyonu arttırıcı etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir.

TCP'nin en büyük avantajı ortamda stabil olması ve diş macunlarına ilave edildiğinde florun aktivitesini bozmamasıdır (124).

#### **2.5.4.6. Kendiliğinden Birleşen Peptitler**

Anyonik peptitlerin, diş sert dokuları üzerinde oluşturduğu pozitif etkiler sebebiyle, remineralizasyon çalışmalarında kullanılabilir nitelikte olduğu varsayılmaktadır. Peptitlerin bu etkisi, mineral kaybının azaltılması ve kazancının arttırılması yoluyla gerçekleşmektedir. Bu peptitler diş yüzeyinde iyonların çökmesine olanak veren bir iskelet yapı meydana getirmektedirler ve ortaya çıkan bu iskelet yapı yoluyla mineral depozisyonu sağlanmaktadır. Peptitlerin remineralizasyon etkilerinin incelendiği in vivo çalışmanın sonuçlarına göre, tek seferlik bir uygulamadan sonra bile anlamlı derecede remineralizasyon

sağlanabilmektedir (137).

## **2.5.5. Diğer Kalsiyum ve Fosfat Kaynaklı Remineralizasyon Ajanları**

### **2.5.5.1. Dikalsiyum Fosfat Dihidrat (DCPD)**

DCPD, ortamda flor mevcudiyetinde apatit kristallerinin florapatite dönüşmesinde öncül madde rolü oynamaktadır (138).

Sullivan ve ark.'nın (139), DCPD içeren diş macunlarını değerlendirdikleri çalışmalarının sonucunda, DCPD'nin fırçalamadan 12-18 sa sonrasında kadar kalsiyum iyon salınımı yaptığını ve plak sıvısında da kalsiyum ve fosfat iyon seviyesini arttırdığını bildirmişlerdir.

### **2.5.5.2. Kalsiyum Karbonat (CaCO<sub>3</sub>)**

1850'lerde ilk olarak, diş macunlarının yapısına abraziv bir ajan olarak eklenen CaCO<sub>3</sub>, macunların içerisinde sodyum monoflorofosfatla birlikte kullanılmaktadır. Plak asidojenitesinde etkisi kısıtlıdır. Çünkü CaCO<sub>3</sub> alkali pH'a sahiptir ve nötral pH'da çözünürlüğü oldukça azdır. Fakat küçük partiküller, CaCO<sub>3</sub> içeren diş macunu ile fırçalamadan saatler sonra bile dental plakta depolanmaktadır. CaCO<sub>3</sub>, plak asidojenitesinin nötralizasyonunu sağladığı için, florun etkisini potansiyalize eder (140).

### **2.5.5.3. Sodyum Trimetafosfat (sTMP)**

sTMP içerisindeki sodyum ve fosfat iyonları, flor içerikli macunların etkinliklerini artırmak için en çok tercih edilen iyonlardır (141).

Danelon ve ark.'ı (142) sTMP ilaveli düşük flor içerikli diş macunları ile yüksek flor içerikli diş macunlarının etkilerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, düşük flor içerikli macunların, yüksek flor içerikliler kadar etkili olduğunu bildirmişlerdir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'nın 11.07.2017 tarih ve 2017-07/07 sayılı etik kurul onayı ile yürütüldü.

Topikal olarak mine yüzeyine uygulanan, farklı oranlarda glisirizik asit içeren remineralizasyon ajanlarının (i) remineralizasyon kapasitelerini ve (ii) antibakteriyel etkinliklerini karşılaştırmalı olarak incelemek amacıyla in vitro koşullarda gerçekleştirilen çalışmamız, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı, Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları ile Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Nanoteknoloji Merkezi'nde yapıldı.

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi Aşamasında Kullanılan Gereçler

###### A) Dişlerin Hazırlanmasında Kullanılan Gereçler (Şekil 3.1)

- ◇ Piyasemen (Kavo Smartmatic S10S, Almanya)
- ◇ Mikromotor (Micro Mega, Fransa)
- ◇ Elmas separe (Sunshine Almanya)
- ◇ Cila diskleri (İnce-2382F, süperince-2382SF, Sof-Lex Extra Thin, 3M)
- ◇ Polisaj fırçası (Varpa, Desirrex, Çin)
- ◇ Isomet kesit cihazı (Isomet Saw, Buechler Ltd, Evanston IL, ABD)
- ◇ Elmas kesit alma bıçağı (Atm, Almanya)
- ◇ 600, 800, 1200 gridlik su zımparası (Atlas, Türkiye)
- ◇ Akrilik (Panacryl, İngiltere)
- ◇ Silikon kalıplar (Bonasil, İngiltere)



**Şekil 3.1.** Dişlerin hazırlanmasında kullanılan gereçler



**Şekil 3.2.** ISOMET Mikrotom kesme cihazı

**B) Yüzey Alanını Belirlemede Kullanılan Gereçler**

- ◇ Cetvel
- ◇ Yapışkan kağıt
- ◇ Kalem
- ◇ Bistüri ucu
- ◇ Tırnak cilası (Revlon, ABD)

### C) Remineralizasyon Ajanlarının Uygulanmasında Kullanılan Gereçler

- ◇ CPP-ACP içerikli pat (GC Tooth Mousse, Recaldent, Tokyo, Japonya)
- ◇ Glisirizik Asit (Sigma, İtalya)
- ◇ Pamuk uçlu aplikatör (Roco, Çin) (Şekil 3.3)



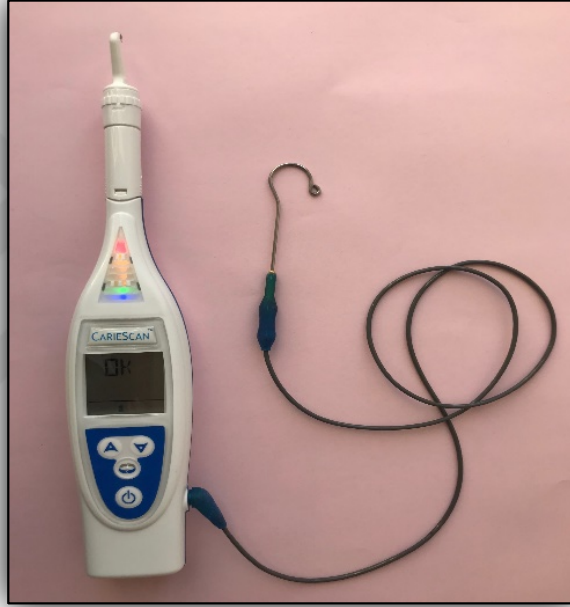
Şekil 3.3. Remineralizasyon ajanlarının uygulanmasında kullanılan gereçler

### D) Dişlerin Bekletileceği Solüsyonların Hazırlanmasında Kullanılan Gereçler

- ◇ Kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ )
- ◇ Sodyum dihidrojen fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )
- ◇ Asetik asit
- ◇ Potasyum hidroksit (KOH)
- ◇ Potasyum klorür (KCl)
- ◇ %0,1'lik timol solüsyonu
- ◇ Deiyonize su
- ◇ pH metre (Mettler Toledo, Ohio, ABD)
- ◇ Cam şişe (1 litrelik)
- ◇ Plastik numune kaplar

**E) Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi Aşamasında Kullanılan Cihazlar**

- ◇ CarieScan Pro (Dundee, İskoçya) (Şekil 3.4)
- ◇ Mikrosertlik Test Cihazı (Mitutoyo Micro Hardness Tester HM-210/220 Series 810, Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) (Şekil 3.5)
- ◇ Taramalı Elektron Mikroskobu (Tescan MIRA3 XMU Brno, Çek Cumhuriyeti) (Şekil 3.6)
- ◇ Etüv (Termal, Türkiye) (Şekil 3.7)



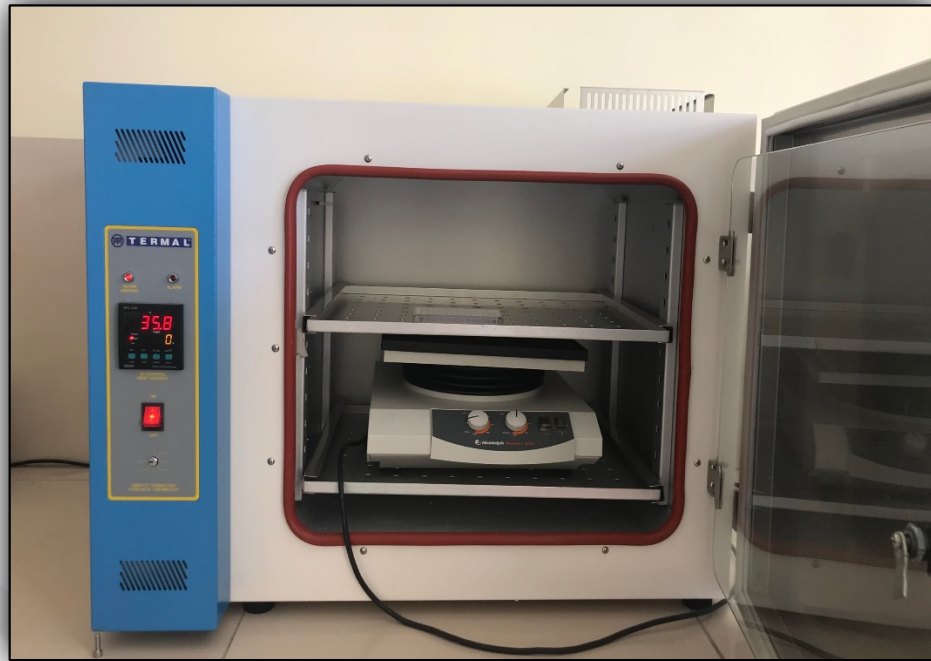
**Şekil 3.4.** CarieScan Pro



Şekil 3.5. Mikrosertlik Test Cihazı



Şekil 3.6. Taramalı Elektron Mikroskobu



**Şekil 3.7.** Etüv

### **3.1.2. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi Aşamasında Kullanılan Gereçler**

#### **A) Dişlerin Hazırlanmasında Kullanılan Gereçler**

- ◇ Piyasemen (Kavo Smartmatic S10S, Almanya)
- ◇ Mikromotor (Micro Mega, Fransa)
- ◇ Elmas separe (Sunshine Almanya)
- ◇ Isomet kesit cihazı (Isomet Saw, Buechler Ltd, Evanston IL, ABD)
- ◇ Elmas kesit alma bıçağı (Atm, Almanya)
- ◇ Cila diskleri (İnce-2382F, süperince-2382SF, Sof- Lex Extra Thin, 3M)
- ◇ Polisaj fırçası (Varpa, Desirrex, Çin)
- ◇ 600, 800, 1200 gridlik su zımparası (Atlas, Türkiye)
- ◇ Tryptic Soy Broth Besiyeri (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya)
- ◇ Mikroorganizma (ATCC 25175)



## B) Antibakteriyel Ajanların Uygulanmasında Kullanılan Gereçler

- ◇ CPP-ACP içerikli pat (GC Tooth Mousse, Recaldent)
- ◇ Glisirizik Asit (Sigma, İtalya)
- ◇ Pamuk uçlu aplikatör (Roco, Çin)
- ◇ Deiyonize su

## C) Antibakteriyel Etkinliklerin Değerlendirilmesi Aşamasında Kullanılan Cihazlar

- ◇ Etüv

### 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

##### 3.2.1.1. Diş Örnek Sayısının Belirlenmesi

Bu çalışmada  $\alpha=0.05$ ,  $\beta=0.20$ ,  $(1-\beta)=0.80$  olarak alındığında her bir gruba 15 örnek alınmasına karar verildi ve testin gücü  $p=0.80344$  bulundu.

##### 3.2.1.2. Dişlerin Toplanması

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği kliniğine başvuran, süt azı dişlerinde fizyolojik kök rezorbsiyonu nedeni ile çekim endikasyonu konulan, 10-11 yaş arası hastalardan toplam 75 adet çürüksüz diş toplandı.

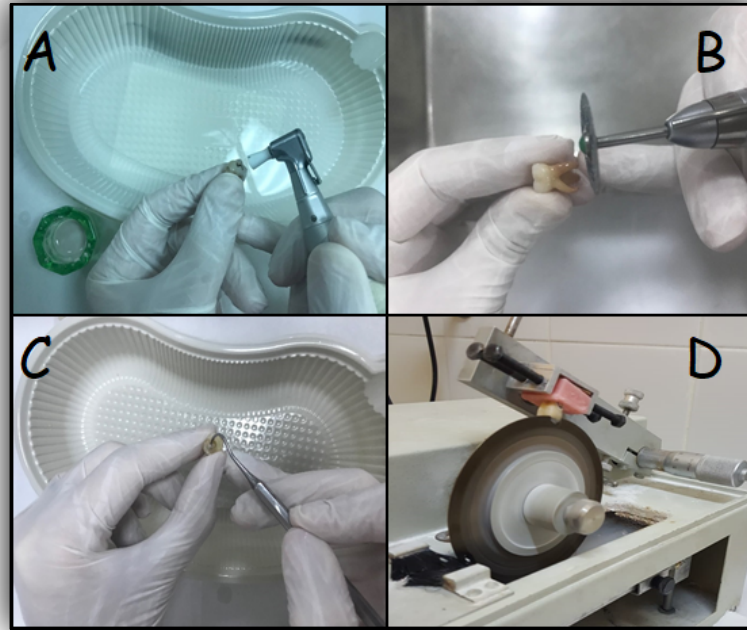
Çalışmaya çürüklü, white spot lezyonlu, çatlak, hipoplazisi olan, lekeli olan, mine defekli olan ve herhangi bir restorasyonu bulunan dişler dahil edilmedi. Dişler deney zamanına kadar oda ısısında %0,1 timol kristali içeren deiyonize su içerisinde saklandı ve 3 ay içerisinde kullanıldı.

### 3.2.1.3. Mine Örneklerinin Hazırlanması

Timol içerisinde çıkarılıp distile su ile yıkanan dişlerin üzerindeki yumuşak doku artıkları bir kretuar yardımıyla uzaklaştırıldı ve dişlerin üzerindeki artıklar mikromotor ve fırça kullanılarak temizlendi. Dişlerin vestibül ve lingual/palatinal mine yüzeyleri daha sonra su soğutması altında cila diskleri kullanılarak düz bir zemin elde edildi. Bu şekilde minenin en dış tabakası cilalanarak hem düz hem de kontamine olmamış bir yüzey elde edildi.

Dişlerin kronları, mine-sement sınırından, piyasemen ucuna takılan elmas separe ile su soğutması altında köklerinden ayrıldı ve kron pulpası ekskavatör yardımı ile uzaklaştırıldı.

23 adet diş, Isomet su soğutmalı mikrotom cihazıyla çift taraflı kesen elmas ince bıçak kullanılarak mezio-distal yönde 2 parçaya bölünerek, her dişten toplam 2 adet mine örneği elde edildi (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8.** Mine örneklerinin hazırlanması A) Yumuşak doku artıklarının uzaklaştırılması, B) Kronunun elmas separe ile su soğutması altında kökünden ayrılması, C) Kron pulpasının ekskavatör ile uzaklaştırılması, D) Kronun mezio-distal yönde iki parçaya ayrılması

Elde edilen 46 adet mine örneğinden 1 tanesi çalışmadan çıkarıldı. Hazırlanan toplam 45 adet sağlam mine örneği silikon kalıplar yardımıyla akrilik (Panacryl, İngiltere) bloklar içerisine, yüzeyleri tabana paralel olacak şekilde gömüldü ve akrilik blokların alt yüzeyleri numaralandırıldı (Şekil 3.9).



**Şekil 3.9.** Mine örneklerinin akrilik bloklara gömülmesi

Mine örnekleri, deney sırasında kapalı kaplarda oda sıcaklığında (20-22 °C), dehidrate olup kurumaması ve yapılacak çalışmanın sonuçlarında oluşabilecek sapmaları önlemek amacıyla deiyonize su içerisinde bekletildi.

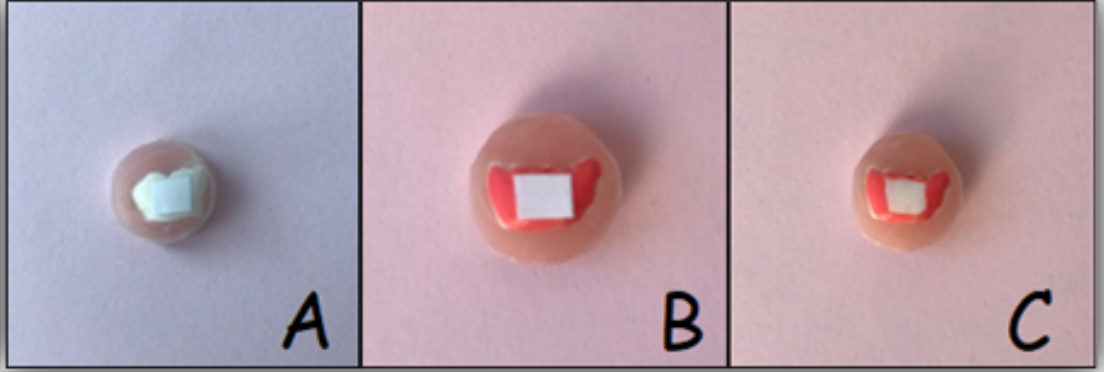
#### **3.2.1.4. Çalışma Gruplarının Oluşturulması**

Mine örnekleri su altında 600, 800, 1200 gritlik silikon karbid kağıtlar ile düz ve pürüzsüz bir yüzey elde edilecek şekilde zımparalandı. Zımparalama esnasında zımparalama yönü değiştirilerek bir önceki zımparanın sebep olduğu izler ortadan kaldırıldı ve eşit miktarda cilalama yapıldı. Zımparalama ve cilalama işlemleri sonucunda her örnekte düz bir yüzey elde edildi ve pürüzsüz yüzeyin elde edilemediği durumlarda zımparalama işlemi tekrarlandı. Cilalama sonrasında örnekler deiyonize su ile yıkanıp kurutuldu (Şekil 3.10).



**Şekil 3.10.** Mine örneklerinin silikon karbid kağıtlar ile zımparalanması

Bu işlemin ardından örneklerin orta kısımlarına 4 x 4 mm'lik pencereler hazırlamak amacıyla etiketler yapıştırıldı. Etiket dışında kalan doğal diş yüzeyleri aside dirençli tırnak cilası ile boyandı (Şekil 3.11).



**Şekil 3.11.** Örnek üzerinde 4 x 4 mm'lik pencerenin hazırlanması A) 4 x 4 mm'lik etiketin yapıştırılması, B) Etiket dışında kalan diş yüzeyinin aside dirençli tırnak cilası ile boyanması, C) Etiket çıkarıldıktan sonra elde edilen çalışma yüzeyi

Aside dirençli tırnak cilası ile boyanan 45 adet mine örneği kendi aralarında her grupta 15'er mine örneği olacak şekilde randomize bir şekilde 3 gruba ayrılmıştır;

**Grup 1:** CPP-ACP (GC Tooth Mousse)

**Grup 2:** CPP-ACP + %5 Glisirizik asit

**Grup 3:** CPP-ACP + %10 Glisirizik asit

### 3.2.1.5. Başlangıç Mikrosertlik Ölçümlerinin Yapılması

Etiketler çıkarıldıktan sonra örnek yüzeylerinde sırasıyla mikrosertlik ölçümüne başlandı. Mikrosertlik analizi; Vickers ucu bulunan, mikrosertlik analiz cihazı ile gerçekleştirildi. Mikrosertlik ölçüm cihazı üzerindeki tablaya alt ve üst yüzeyi birbirine paralel hazırlanan diş kesit örnekleri, yukarıya bakacak şekilde yerleştirildi (Şekil 3.12).

Kenar bölgelerde ölçümler dört farklı noktadan gerçekleştirildi. Vickers elmas ucunun oluşturduğu çentiğin diagonal uzunluğu cihazın üzerinde yer alan mikroskoptaki ölçüm sistemi aracılığıyla saptandı. Vickers sertlik değeri, aygıt üzerinde bulunan hesaplama cihazı ile otomatik olarak hesaplandı. Ölçümler 15 sn boyunca 200 gr kuvvet uygulaması ile yapıldı.



**Şekil 3.12.** Mikrosertlik analizi



**Şekil 3.13.** Mikroskopta izlenen Vickers izi görüntüsü

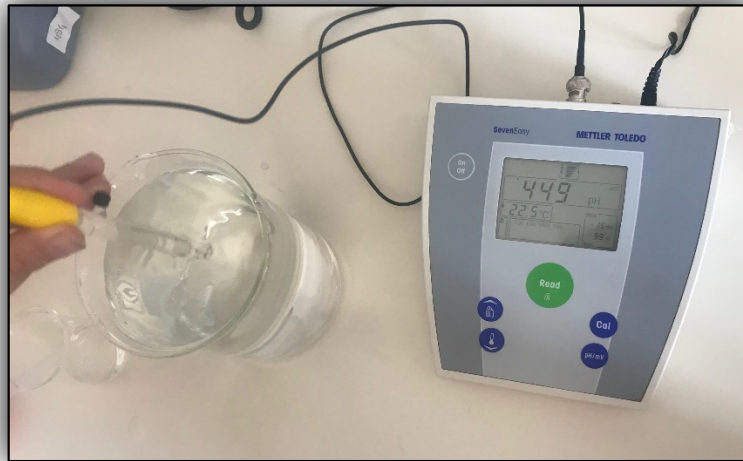
Mikrosertlik ölçümlerinde bölgesel farklılıkların ortadan kaldırılabilmesi için ölçüm yapılan bölgelerden 100'er  $\mu\text{m}$  uzaklaşarak 4 ayrı ölçüm yapıldı. Bu ölçümlerin ortalaması o örneğin mikrosertlik değeri olarak kaydedildi (Şekil 3.13).

### **3.2.1.6. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması ve Yapay Çürük Lezyonlarının Oluşturulması**

Yapay çürük oluşturmak amacıyla kullanılacak olan demineralizasyon solüsyonu Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Bölümü Laboratuvarı'nda hazırlandı.

Demineralizasyon solüsyonu;

- ◆ 2,2 mM  $\text{CaCl}_2$  (Kalsiyum Klorür)
- ◆ 2,2 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Sodyum Dihidrojen Fosfat)
- ◆ 0,05 M asetik asit içeriklidir ve
- ◆ 1,0 M KOH (Potasyum Hidroksit) ile pH 4,4'e ayarlandı (Şekil 3.14).

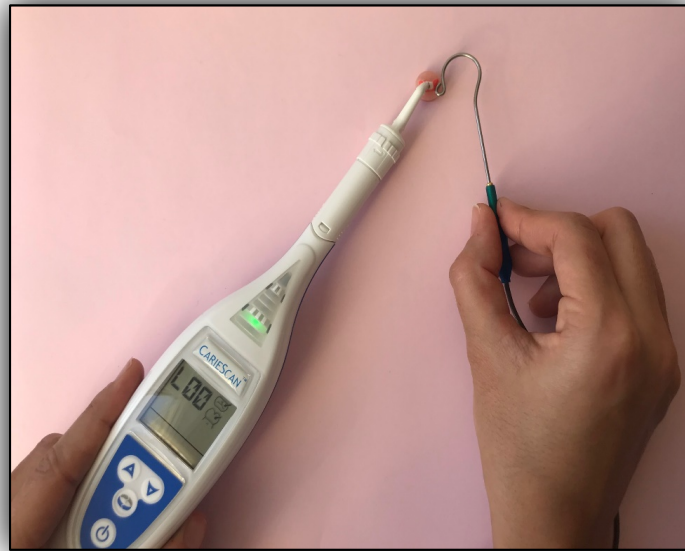


**Şekil 3.14.** Solüsyon pH'ının 4,4'e ayarlanması

Örnekler yapay çürük lezyonu oluşturmak amacıyla 4 gün boyunca 37 °C'de demineralizasyon solüsyonunda, etüv içerisinde bekletildi. Her bir örnek 10 ml demineralizasyon solüsyonu içeren kapaklı numune kapları içinde bekletilip, solüsyonlar 48 sa sonunda tazelendi.

Diş yüzeylerinde yeterli demineralizasyon yüzeyleri oluşup oluşmadığını ölçmek için CarieScan Pro cihazı ile ölçüm yapıldı. Demineralizasyon solüsyonundan çıkartılan örnekler distile su ile yıkanıp, kurutma kağıtları yardımıyla kurutuldu. Elektrik iletimini sağlamak için örnekler 5 sn su ile yıkanıp, 3 sn orta dereceli hava ile kurutuldu. Örneklerin ölçümü yapılırken elektrik iletimini sağlamak için eldivensiz çalışıldı. Cihazın tel kıllarından oluşan ucu diş yüzeyinde oluşturulan pencerenin merkezine, dudak bağlantısı ise dişin mine-sement sınırına yerleştirildi ve ölçüm yapıldı (Şekil 3.15).

Elde edilen değerler Jablonski-Momeni ve Klein'in (143) da çalışmalarında kullandıkları skala ile değerlendirildi. Bu skala Tablo 3.1'de gösterilmektedir.



**Şekil 3.15.** CarieScan Pro ile çürük tespit yöntemi

**Tablo 3.1.** CarieScan Pro cihazı değerlendirme kriterleri (143).

<b>Sağlam diş</b>	<b>0</b>
<b>Başlangıç mine çürüğü</b>	<b>1- 50</b>
<b>İlerlemiş mine çürüğü</b>	<b>51-90</b>
<b>Mine yüzeyinden dentine uzanan çürük</b>	<b>91-99</b>
<b>Dentin çürüğü</b>	<b>100</b>

Bu skalaya göre; değer aralığı 1-50 arasında olan ölçümler, başlangıç mine çürüğüne karşılık gelmektedir. Bu değer aralığındaki tüm dişler çalışmaya dahil edilirken, bu değer aralıklarında bulunmayan 2 diş örneği çalışmadan çıkartıldı ve aynı aşamalar yerine getirilerek bu örneklerin yerine yenileri konuldu.



### 3.2.1.7. Demineralizasyon Sonrası Mikrosertlik Ölçümleri

Mikrosertlik cihazı (Mitutoyo Micro Hardness Tester HM-210/220 Series 810, Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) tablasına yerleştirilen örnek yüzeylerinden, tekrar 4 farklı noktadan olmak üzere mikrosertlik değeri ölçümü yapıldı. Mikrosertlik ölçümleri sırasında, hatalı sonuca neden olmaması için başlangıç mikrosertlik ölçümü yapılan 4 noktadan tekrar ölçüm yapılmamasına dikkat edildi.

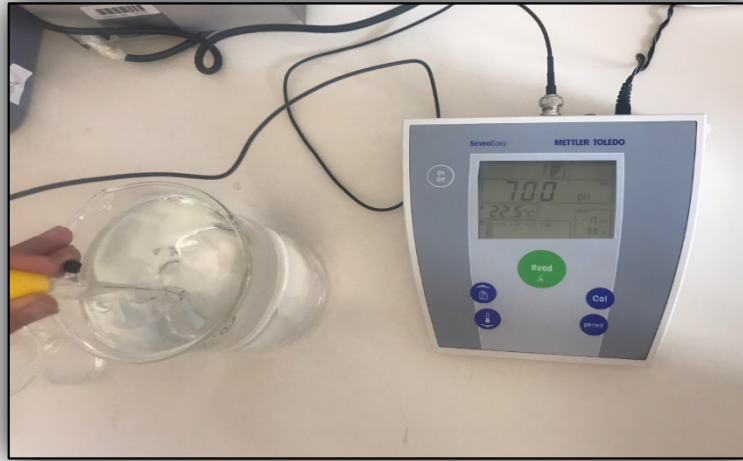
Mikrosertlik ölçümlerinde bölgesel farklılıkların ortadan kaldırılabilmesi için ölçüm yapılan bölgelerden 100'er µm uzaklaşarak 4 ayrı ölçüm yapılarak, bu ölçümlerin ortalaması o örneğin mikrosertlik değeri olarak kaydedildi. Ölçümler başlangıç ölçümünde olduğu gibi 15 sn boyunca 200 gr kuvvet uygulaması ile gerçekleştirildi.

### 3.2.1.8. Remineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

Remineralizasyon solüsyonu Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Bölümü Laboratuvarı'nda hazırlandı.

Remineralizasyon solüsyonu;

- ◆ 1,5 mM CaCl<sub>2</sub>
- ◆ 0,9 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>
- ◆ 150 mM KCl
- ◆ 1 M KOH ile pH 7,0'ye ayarlandı (Şekil 3.16).



**Şekil 3.16.** Solüsyon pH'ının 7'ye ayarlanması

### 3.2.1.9. Araştırmada Kullanılan Remineralizasyon Ajanları

Araştırmamızda, örneklerde oluşturulan yapay çürük lezyonlarının remineralizasyonu amacıyla 3 farklı grup oluşturuldu.

**Grup 1:** [CPP-ACP (Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat)] GC Tooth Mousse

**Grup 2:** [CPP-ACP (Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat)] + %5 Glisirik asit

**Grup 3:** [CPP-ACP (Kazein Fosfopeptit Amorf Kalsiyum Fosfat)] + %10 Glisirik asit

Tablo 3.2'de, araştırmada kullanılan materyaller, kimyasal içerikleri ve hazırlanışları anlatılmaktadır.

**Tablo 3.2.** Araştırmada kullanılan materyaller, kimyasal içerikleri ve hazırlanışları

<b>rn Adı</b>	<b>Kimyasal İçerik</b>	<b>Hazırlanışı</b>
<b>Grup 1 (CPP-ACP)</b>	%10 Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat, su, gliserol, sorbitol, silikondioksit, CMC-Na, titanyumdioksit, ksilitol, fosforik asit, propil hidroksibenzoat, fosforikasit, inkooksit, sodyum sakarin, etil hidroksibenzoat, magnezyum oksit, btil hidroksi benzoat	
<b>Grup 2 (CPP-ACP + %5 Glisirizik asit)</b>	%10 Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat, su, gliserol, sorbitol, silikondioksit, CMC-Na, titanyumdioksit, ksilitol, fosforik asit, propil hidroksibenzoat, fosforikasit, inkooksit, sodyum sakarin, etil hidroksibenzoat, magnezyum oksit, btil hidroksi benzoat, %5 Glisirizik asit	Hassas terazide 1 gram glisirizik asit ile 19 gram CPP-ACP ölçülüp bir araya getirildi.
<b>Grup 3 (CPP-ACP + %10 Glisirizik asit)</b>	%10 Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat, su, gliserol, sorbitol, silikondioksit, CMC-Na, titanyumdioksit, ksilitol, fosforik asit, propil hidroksibenzoat, fosforikasit, inkooksit, sodyum sakarin, etil hidroksibenzoat, magnezyum oksit, btil hidroksi benzoat, %10 Glisirizik asit	Hassas terazide 1 gram glisirizik asit ile 9 gram CPP-ACP ölçülüp bir araya getirildi.

### 3.2.1.10. Ağız Ortamını Taklit Eden pH Döngüsü ve Tedavi Edici Ajanların Uygulanması

Yapay çürük lezyonu oluşturulduktan sonra örnekler ağızdaki dinamik ortamı taklit etmesi amacıyla pH döngüsü uygulandı. Demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonları için ayrı kaplar kullanıldı ve solüsyonların tazelenmesi sırasında kaplar yıkanıp, kurulandı. Kullanılan solüsyonların pH değerleri düzenli olarak pH ölçer striplerle kontrol edildi. Örnekler 14 gün süresince, vücut ısısını taklit edebilmek amacıyla, 37 °C etüv içerisinde tutuldu. Örnekler deiyonize suda yıkanıp, kurulandıktan sonra, çalışma gruplarına göre remineralizasyon ajanları uygulandı (Şekil 3.18):

#### **Grup 1 (CPP-ACP):**

Dişlerin açıkta kalan yüzeylerine CPP-ACP içeren diş macunu pamuk uçlu bir aplikatör yardımıyla topikal olarak uygulandı, 1 dk bekletildi ve distile su ile yıkandı.

#### **Grup 2 (CPP-ACP + %5 Glisirizik asit):**

Dişlerin açıkta kalan yüzeylerine CPP-ACP + %5 Glisirizik asit içeren diş macunu pamuk uçlu bir aplikatör yardımıyla topikal olarak uygulandı, 1 dk bekletildi ve distile su ile yıkandı.

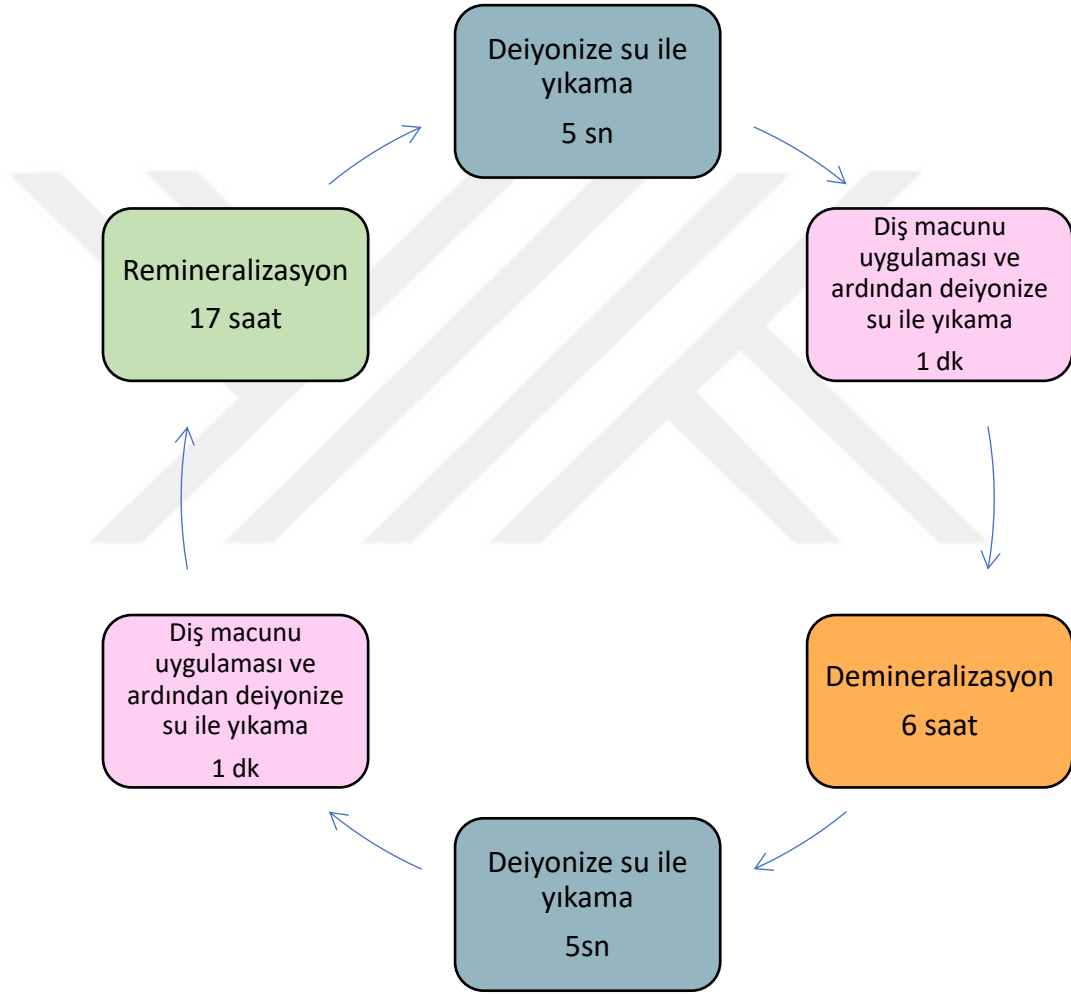
#### **Grup 3 (CPP-ACP + %10 Glisirizik asit):**

Dişlerin açıkta kalan yüzeylerine CPP-ACP + %10 Glisirizik asit içeren diş macunu pamuk uçlu bir aplikatör yardımıyla topikal olarak uygulandı, 1 dk bekletildi ve distile su ile yıkandı.

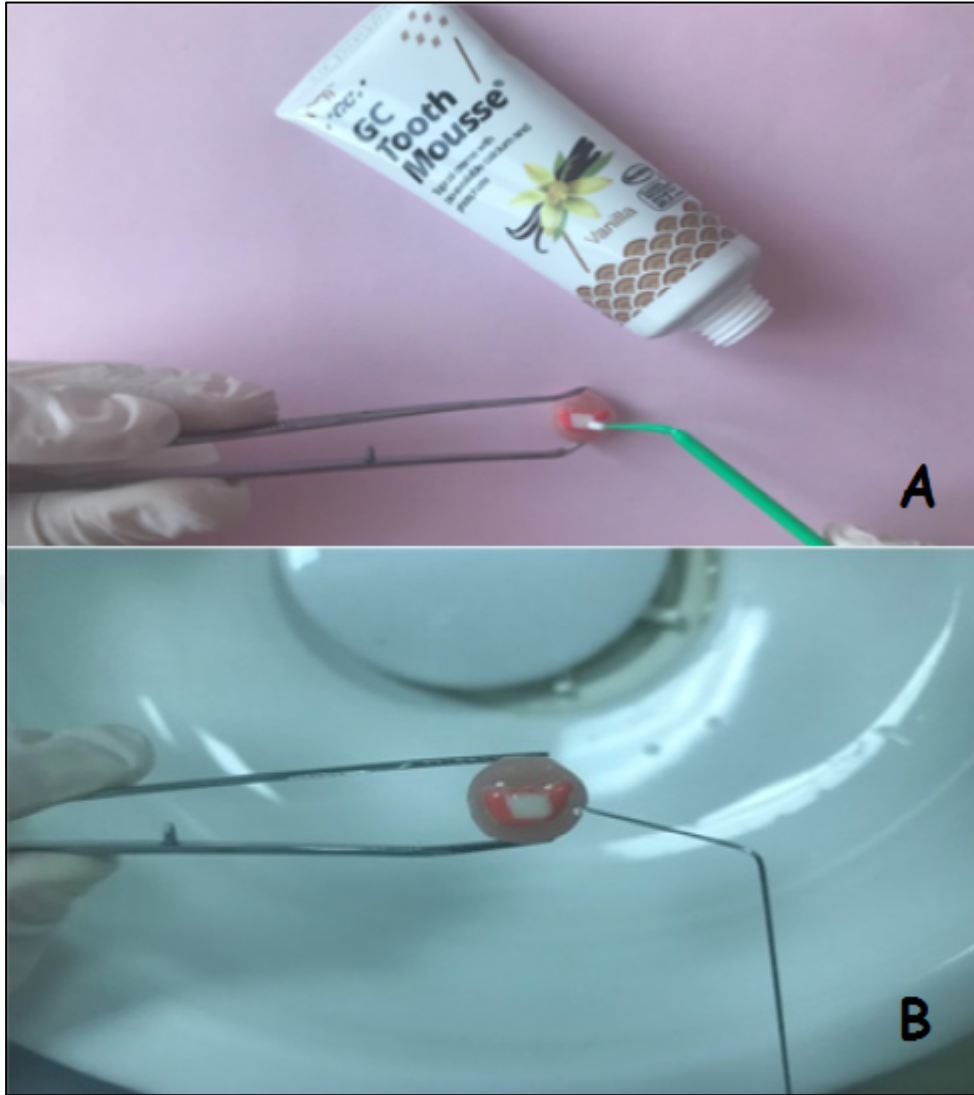
Ardından tekrar deiyonize suyla yıkanan örnekler demineralizasyon solüsyonunda 37 °C'de 6 sa bekletildi. Demineralizasyondan sonra örnekler deiyonize su ile yıkandı ve tekrar 1 dk boyunca hazırlanan macunlar uygulandı. Tekrar deiyonize su ile yıkama sonrası örnekler 17 sa remineralizasyon solüsyonunda bekletildi. Geriye kalan 1 sa ise örnek yüzeylerine macunların

uygulanmasına harcandı. Bu döngü toplamda 14 gün sürdü. Hem remineralizasyon solüsyonu hem demineralizasyon solüsyonu 2 günde bir yenilendi.

pH döngüsünün şeması Şekil 3.17'de gösterilmektedir.



Şekil 3.17. Ağız ortamını taklit eden pH döngüsü



**Şekil 3.18.** Diş yüzeyine remineralizasyon ajanının uygulanması A) Dişin açıkta kalan yüzeyine CPP-ACP içerikli patın uygulanması, B) Diş yüzeyinin distile su ile yıkanması

### 3.2.1.11. Uygulama Sonrası Yüzey Mikrosertlik Ölçümü

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.

### 3.2.1.12. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Yüzey Değişikliklerinin İncelenmesi

Çalışmamızda Taramalı Elektron Mikroskobu ile yüzey analizi ölçümleri Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı.

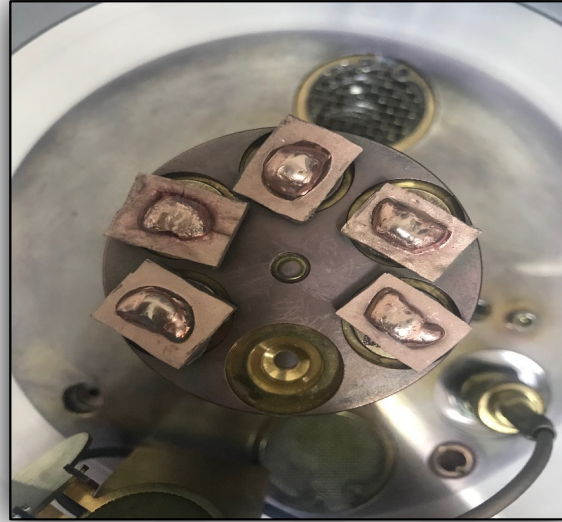
Çalışmanın bu aşamasında bir adet sağlam mine yüzeyi, bir adet demineralize edilen örnek ve her grup için tek diş olacak şekilde toplam üç adet remineralize edilen örnek kullanıldı.

Sağlam mine yapısı, yapay çürük lezyonunun yapısı ve tedavi sonrasında oluşan değişikliklerin belirlenebilmesi amacıyla SEM ile görüntü analizi yapılacak örnekler, çift taraflı karbon bant yardımıyla tutuculara yerleştirildikten sonra, kaplama cihazı (Quorum Q150R ES, Quorum Technologies, UK) (Şekil 3.19) içerisinde altın ile kaplandı.



Şekil 3.19. Altın kaplama cihazı

Kaplama işleminin ardından, örnekler, alüminyum tablalar aracılığıyla cihaza yerleştirildi ve x2000, x5000 büyütmelemlerde SEM görüntüleri elde edildi (Şekil 3.20).



**Şekil 3.20.** SEM değerlendirmesi için altınla kaplanan örnekler

### **3.2.2. Materyallerin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi**

#### **3.2.2.1. Mine Örneklerinin Hazırlanması**

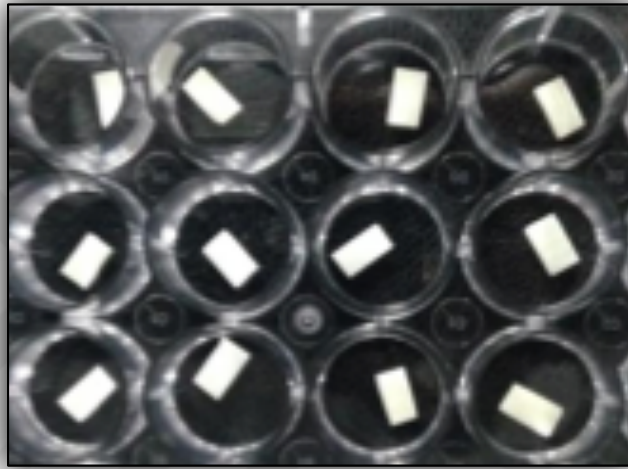
Çalışmada kullanılan materyallerin antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek amacıyla her grupta 10 adet örnek olacak şekilde toplam 40 adet süt azı dişleri kullanıldı. Dişler çalışma zamanına kadar oda ısısında %0,1 timol kristali içeren deiyonize su içerisinde saklandı ve 3 ay içerisinde kullanıldı. Dişler yumuşak doku artıkları ve eklentilerden arındırılarak flor içermeyen pomza ve fırça ile temizlendi. Süt azı dişlerinin kron kısımları köklerinden ayrıldı.

40 adet diş Isomet su soğutmalı mikrotom cihazıyla çift taraflı kesen elmas ince bıçak kullanılarak mezio-distal yönde 2 parçaya bölündü. Elde edilen örneklerden, 4 x 4 x 1 mm boyutlarında mine blokları oluşturmak için mezial, distal, okluzal ve gingival kısımlarından elmas separe ile uzaklaştırıldı. Çalışmaya dahil edilen mine blokları 600, 800, 1200 gritlik abraziv kağıt diskler kullanılarak zımparalandı.



### 3.2.2.2. Kazanılmış Pelikül Tabakasının Oluşturulması

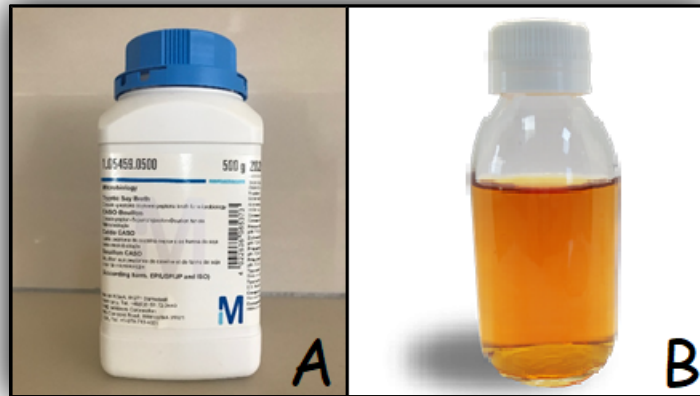
Hazırlanan mine örnekleri, pakatlendikten sonra 121 °C de 15 psi basınçta 20 dk otoklavda sterilize edildi. Örnekler, kazanılmış pelikül tabakasının oluşturabilmesi amacıyla daha önce otoklavda sterilize edilmiş olan yapay tükürük solüsyonu içerisine yerleştirildi ve 30 dk boyunca bir karıştırıcı içerisinde (37 °C, 60 rpm) bırakıldı. Ardından 96 hücreli plakalara yerleştirildi (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. Plakalara yerleştirilen sterilize mine örnekleri

### 3.2.2.3. Hazırlanan Mine Örnekleri Üzerinde Biyofilm Oluşturulması

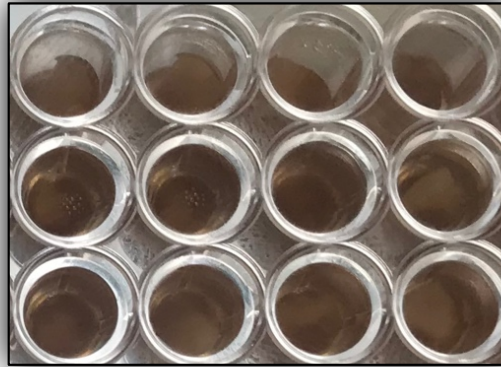
Tryptic Soy Broth besiyeri (Şekil 3.22), 30,0 g/L olacak şekilde 200 ml. distile su içinde eritildikten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dk sterilize edildi. Otoklav sonrası hazırlanan besiyeri, 25 °C'de berrak ve sarımsı kahve renkte, pH'ı  $7,3 \pm 0,2$ 'di.



**Şekil 3.22.** A) Çalışmada kullanılan Tryptic Soy Broth besiyeri, B) Hazırlanan Tryptic Soy Broth Besiyeri

Çalışmada kullanılan liyofilize bakteriler, (*S. mutans*, ATCC 25175) %2 ilave glikoz içeren 1 ml Tryptic Soy Broth besiyerinden inoküle edilip, %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37 °C'de 24-72 sa inkübe edildi. İnkübasyon periyodunun ardından, bakteri inokülasyonu yoğunluğu 0,5 Mcfarland eşeline göre  $1 \times 10^8$  kob/ml olarak hazırlandı. Kültürden 2 ml alınarak, sterilize edilen mine örnekleri üzerine ekildi ve %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37 °C'de 2 hafta bekletilerek mine yüzeyleri üzerinde biyofilm oluşturulması amaçlandı.

2 hafta 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 sükröz içeren besiyerine bir dk süre ile yerleştirildi ve 1 dk sonra %2 glikoz içeren Tryptic Soy Broth besiyerine geri alındı (Şekil 3.23). Gün içerisinde, ilk ve son sükröz uygulamasının ardından besiyeri, toplamda 2 kere yenisiyle değiştirildi. Bu işleme 7 gün süresince devam edildi.



**Şekil 3.23.** %2 ilave glikoz içeren Tryptic Soy Broth besiyerinde bekletilen örnekler

#### **3.2.2.4. Tedavi Prosedürlerinin Uygulanması**

Mine örnekleri üzerinde biyofilm oluşumu amacıyla gerçekleştirilen 3 haftalık periyodun ardından, antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilecek olan 3 farklı materyal ve hiçbir tedavi prosedürünün uygulanmadığı kontrol grubu olmak üzere, her grupta 10 adet mine örneği olacak şekilde randomize olarak 4 gruba ayrıldı:

**Grup 1:** CPP-ACP (GC Tooth Mousse)

**Grup 2:** CPP-ACP + %5 Glisirizik asit

**Grup 3:** CPP-ACP + %10 Glisirizik asit

**Grup 4:** Kontrol Grubu (Herhangi bir tedavi uygulanmayan negatif kontrol grubu)

Materyallerin pamuk uçlu bir aplikatör aracılığıyla 1 dk boyunca topikal olarak uygulanmasının ardından, artık kalmaması amacıyla örnekler 1 dk boyunca deiyonize su ile yıkandı. Uygulamanın ardından; mine örnekleri, materyallerin dental plak üzerine olan etkinliklerinin gözlenebilmesi için 2 gün boyunca 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübe edildi.

#### **3.2.2.5. Ajanların Oluşan Biyofilm Tabakasına İnhibisyonunun Değerlendirilmesi**

Mine yüzeyinde oluşturulmuş biyofilm üzerine uygulanan farklı ajanların antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek amacıyla öncelikle, kuyucuklar

içerisinde yer alan mine örnekleri 300 µl. kristal viyole boya ile boyandı. Kristal viyole mine örnekleri üzerinde 15 dk bekletildi (Şekil 3.24). Ardından üç kez distile suyla dilüe edildikten sonra, biyofilme tutunan boyayı serbest hale getirerek absorbans değerini etkilememesi amacıyla, oda sıcaklığında %95'lik 200 ml. etanolde bekletildi. Etanolde bekletilen örnekler sonrasında kurumaya bırakıldı.



**Şekil 3.24.** Kristal viyole boyada bekletilen mine örnekleri

Bu süre sonunda; mine yüzeyi üzerinde oluşan biyofilmin absorbans değerleri, 550 nm dalga boyunda olan plaka okuyucu ile belirlendi ve kaydedildi. Absorbans değeri ne kadar düşük olursa, kristal viyoleyi absorbe etmesi o kadar az olmakta, bu da ölçülen biyofilm değerinin düşük olmasına sebep olmaktadır.

### 3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızdan elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS 17.0 programı aracılığı ile gerçekleştirildi. Antibakteriyel ve mikrosertlik test sonuçlarının normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Tüm parametreler normal dağılıma uygun olduğundan; antibakteriyel test için Tek yönlü ANOVA testi ve mikrosertlik analizleri için tekrarlayan örnekler için iki yönlü varyans analizi (tekrarlayan örnekler için iki yönlü ANOVA) testi kullanıldı. Tüm değerlendirmelerde  $p < 0,05$  düzeyi anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmadan elde edilen bulgular;

1. Farklı materyallerin remineralizasyon kapasitelerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular
  - Mikrosertlik testi
  - Taramalı elektron mikroskop görüntüleme
2. Farklı remineralizasyon materyallerinin antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilmesi aşamasına ait bulgular, başlıkları altında değerlendirildi.

### 4.1. Materyallerin Remineralizasyon Kapasitelerinin Değerlendirilmesi

#### 4.1.1. Mikrosertlik Testi

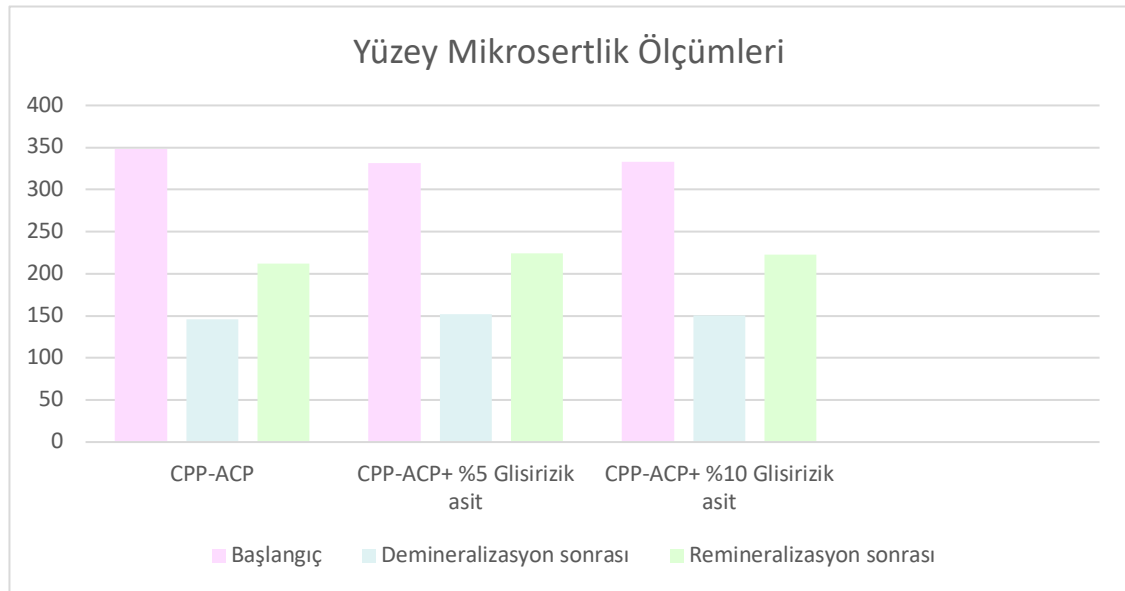
Yüzey mikrosertlik ölçümleri; araştırmanın başlangıcında, demineralizasyon işlemi sonrası ve tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası olmak üzere 3 aşamada tekrarlanmıştır. Çalışmada kullanılan her bir diş örneğinden, 4 farklı ölçüm yapılarak 45 mine örneğinden yapılan 180 ölçüm 3 aşamada tekrarlanarak toplam 540 yüzey mikrosertlik ölçümü yapılmıştır. Her bir mine örneğinden yapılan 4 adet ölçüm değerlerinin ortalaması, o örneğin mikrosertliği olarak Vickers (VHN) cinsinden kaydedilmiştir.

Yüzey mikrosertlik ölçümlerinin gruplara göre karşılaştırmaları Tablo 4.1’de ve dağılımı Şekil 4.1’de gösterilmektedir.

**Tablo 4.1.** Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mine örneklerinin yüzey mikrosertlik ortalama ve standart sapma (SS) değerleri

Gruplar	Mikrosertlik (VHN)	n	Ort.+ SS	$\Delta$ VHN (Ort.+ SS)	Sonuç
Grup 1 (CPP-ACP)	Başlangıç	15	348,25+22,95	65,62+47,23	F=166,59 P=0,001*
	Demineralizasyon	15	146,27+42,23		
	Remineralizasyon	15	211,89+38,29		
Grup 2 (CPP-ACP+ %5 Glisirizik asit)	Başlangıç	15	331,32+26,03	72,31+56,23	F=111,40 P=0,001*
	Demineralizasyon	15	151,94+40,11		
	Remineralizasyon	15	224,26+31,06		
Grup 3 (CPP-ACP+ %10 Glisirizik asit)	Başlangıç	15	333,30+24,02	71,80+25,24	F=198,71 P=0,001*
	Demineralizasyon	15	150,58+29,24		
	Remineralizasyon	15	222,39+17,43		

\*P<0,05



**Şekil 4.1.** Her üç grupta başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası elde edilen yüzey mikrosertlik ölçümlerinin dağılımı

Tüm gruplar için, tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası yüzey mikrosertlik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana geldiği tespit edildi ( $P=0,001$ ). Üç grubun da birbirleriyle benzer sonuçlar ortaya koyduğu, ancak sayısal olarak en yüksek mikrosertlik değişiminin (*Grup 1*  $\Delta VHN: 65,62$ , *Grup 2*  $\Delta VHN: 72,31$ , *Grup 3*  $\Delta VHN: 71,80$ ) Grup 2 ve 3'de gerçekleştiği, fakat 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı veriler sonucunda tespit edildi.

**Tablo 4.2.** Başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik değerlerinin gruplar arası karşılaştırması

		<b>Kareler Toplamı</b>	<b>sd</b>	<b>Ortalama Kare</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>Başlangıç</b>	Gruplar Arası	2570,67	2	1285,33	2,165	,127
	Gruplar İçi	24940,29	42	593,81		
	Toplam	27510,96	44			
<b>Demineralizasyon</b>	Gruplar Arası	263,44	2	131,72	,093	,911
	Gruplar İçi	59464,23	42	1415,81		
	Toplam	59727,67	44			
<b>Remineralizasyon</b>	Gruplar Arası	1333,05	2	666,52	,731	,487
	Gruplar İçi	38294,55	42	911,77		
	Toplam	39627,61	44			

\* $P>0,05$

sd: Serbestlik derecesi

Mine örneklerinin yüzey mikrosertlik başlangıç ölçümlerinde, tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlendi ( $p=0,127$ ). Yüzey mikrosertlik ölçümlerinde demineralizasyon sonrası ( $p = 0,911$ ) ve remineralizasyon sonrası, tüm gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi ( $p = 0,487$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.3.** Grupların kendi içerisinde ikili karşılaştırılmaları

(I) faktör 1	(J) faktör 1	Ortalama Farkı	Standart Hata	p
Başlangıç	Demineralizasyon	188,02(*)	6,46	,000
	Remineralizasyon	118,11(*)	5,75	,000
Demineralizasyon	Başlangıç	-188,02(*)	6,46	,000
	Remineralizasyon	-69,91(*)	6,68	,000
Remineralizasyon	Başlangıç	-118,11(*)	5,75	,000
	Demineralizasyon	69,91(*)	6,68	,000

Grupların kendi içerisinde ikili karşılaştırılmaları Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

CPP-ACP grubunda; başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası olmak üzere elde edilen mikrosertlik ölçümleri üçlü olarak karşılaştırıldığında, farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,001$ ). Değerler ikişerli karşılaştırıldığında, başlangıç ile demineralizasyon, başlangıç ile remineralizasyon ve demineralizasyon ile remineralizasyon arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,001$ ).

Başlangıç mikrosertlik ortalamaları demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0,001$ ), demineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamaları remineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0,001$ ).

CCP-ACP + %5 Glisirizik asit grubunda, başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası olmak üzere elde edilen mikrosertlik ölçümleri üçlü olarak karşılaştırıldığında, farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,001$ ). Değerler ikişerli karşılaştırıldığında, başlangıç ile demineralizasyon, başlangıç ile remineralizasyon ve demineralizasyon ile remineralizasyon arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,001$ ).



Başlangıç mikrosertlik ortalamaları demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olup ( $p<0,001$ ), demineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamaları remineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0,001$ ).

CCP-ACP + %10 Glisirik asit grubunda, başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası olmak üzere elde edilen mikrosertlik ölçümleri üçlü olarak karşılaştırıldığında, farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,001$ ). Değerler ikişerli karşılaştırıldığında, başlangıç ile demineralizasyon, başlangıç ile remineralizasyon ve demineralizasyon ile remineralizasyon arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0,001$ ).

Başlangıç mikrosertlik ortalamaları demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olup ( $p<0,001$ ), demineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamaları remineralizasyon sonrası mikrosertlik ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ( $p<0,001$ ).

#### 4.1.2. Taramalı Elektron Mikroskop Görüntüleme

Mine yüzey karakterlerini değerlendirmek için her gruptan bir örnek alınarak SEM taraması yapıldı. SEM taraması ile  $\times 2000$  ve  $\times 5000$  büyütmelemlerde görüntüler elde edildi.

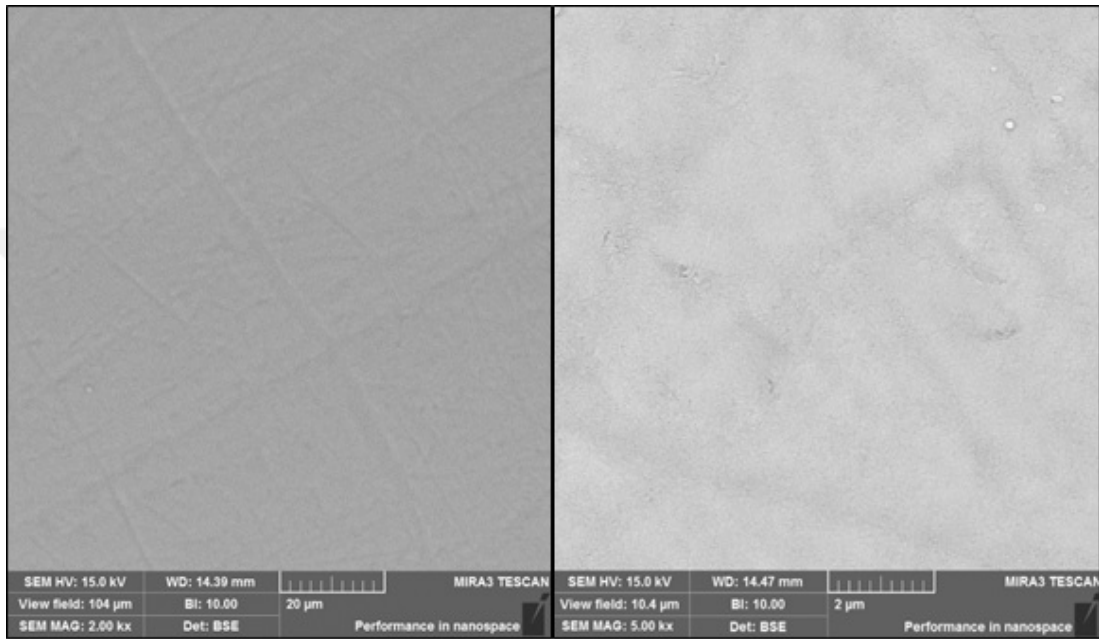
Örneklerin SEM taramasıyla elde edilen görüntüleri aşağıdaki şekilde kategorize edilerek Şekil 4.2- 4.6'da gösterilmektedir.

- Sağlam mine yüzeyi
- Yapay çürük oluşturulan mine yüzeyi
- Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası mine yüzeyi

Yapılan SEM değerlendirmesinde; sağlam mine yüzeyi, yapay çürük lezyonu oluşturulan mine yüzeyi ve uygulanan farklı tedavi ajanlarının remineralizasyon

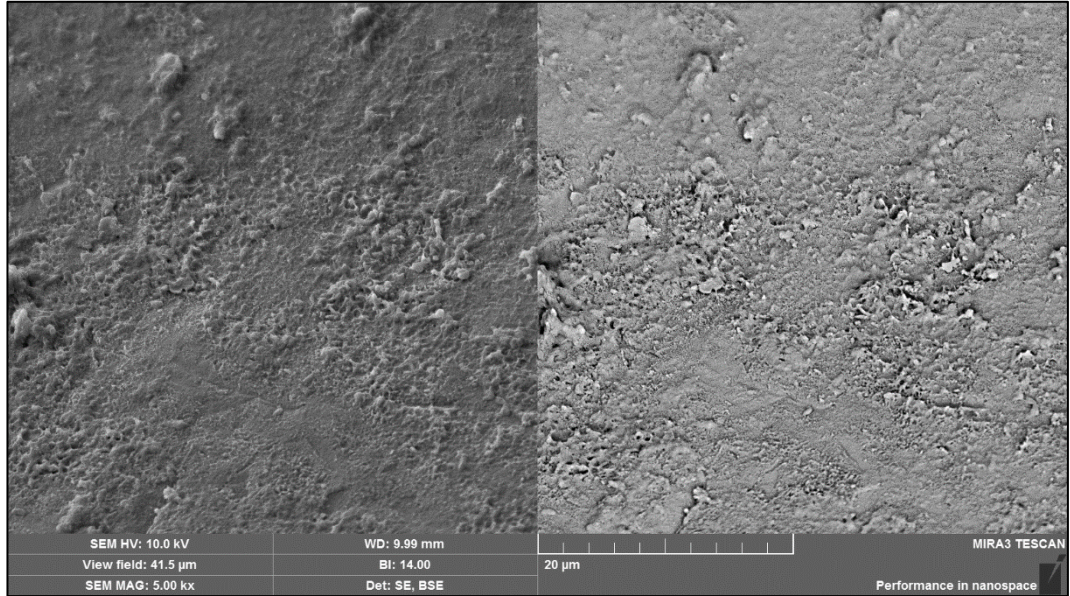
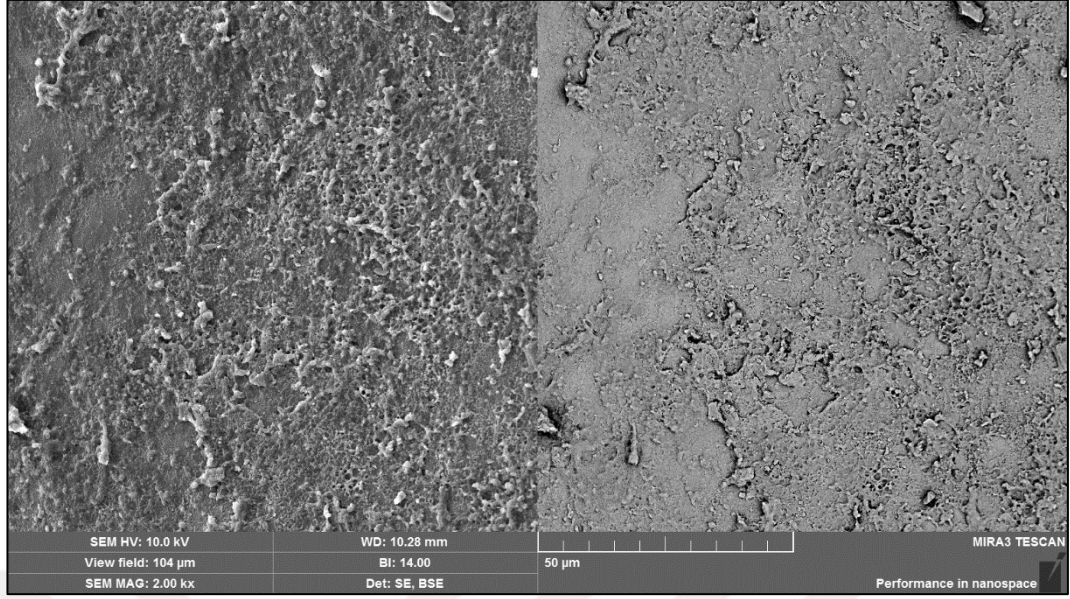
süreci sonrasında mine yüzeyinde farklı morfolojik değişikliklere neden olduğu görüldü.

Sağlam mine yüzeyinden alınan SEM görüntülerinde yüzeyin pürüzsüz olduğu; mine prizmalarının düzenli yerleşimi nedeni ile homojen bir görünüme sahip olduğu izlendi (Şekil 4.2).



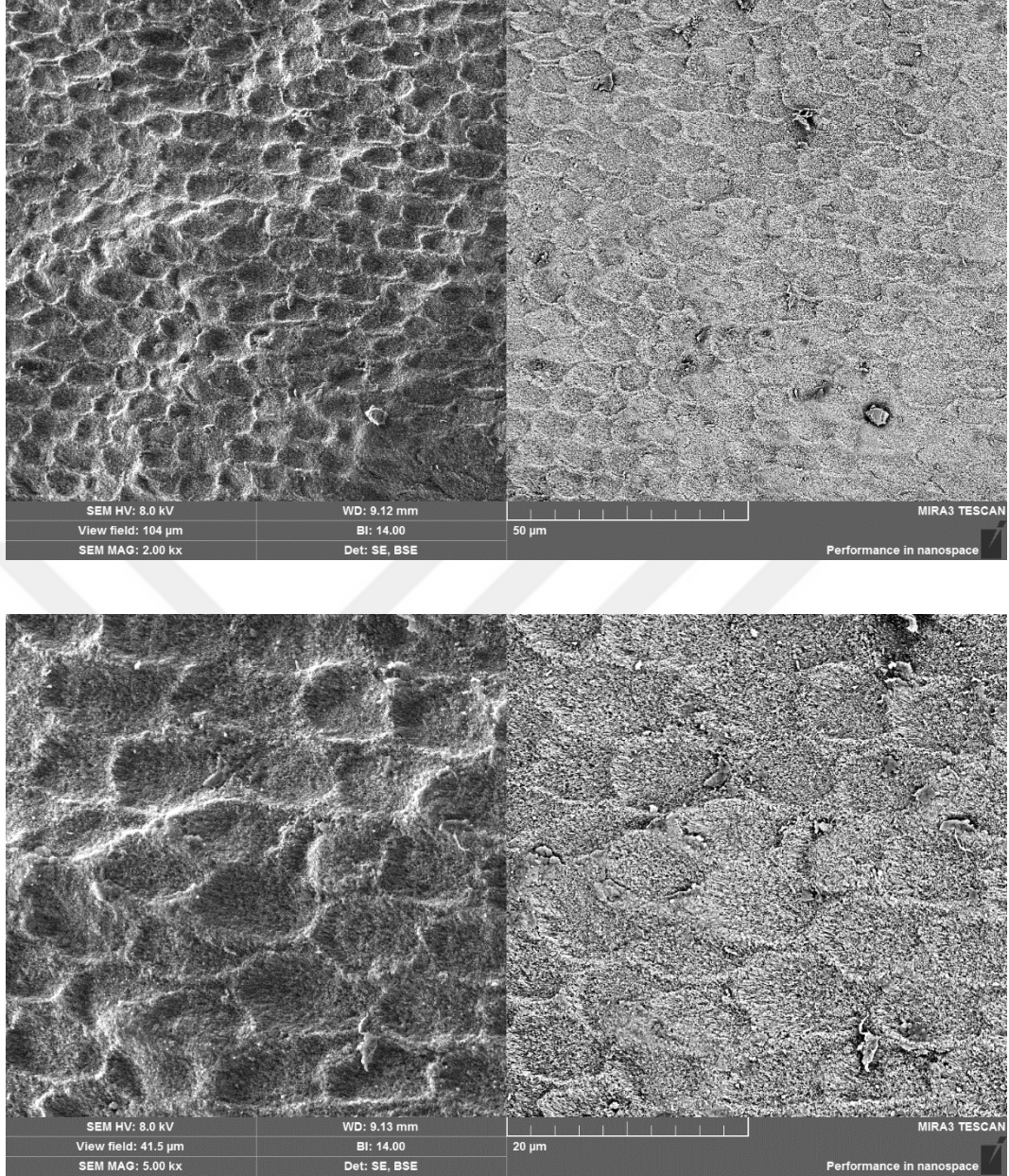
**Şekil 4.2.** Sağlam mine yüzeyinin farklı büyütme oranlarında elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000)

Yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeyinin SEM incelemesinde, mine yüzey devamlılığının bozulduğu, yüzeydeki inorganik yapının kaybı sonucu bol girintili çıkıntılı alanlar oluştuğu ve demineralizasyon sonucu mine porlarının açığa çıktığı tespit edildi. Mine yüzeyinde asit atakları sonucunda prizmalara ait kristallerin çözünerek küçük kaviteasyonların oluştuğu gözlemlendi (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Demineralizasyon sonrası mine yüzeyinden farklı büyütme oranlarında elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000)

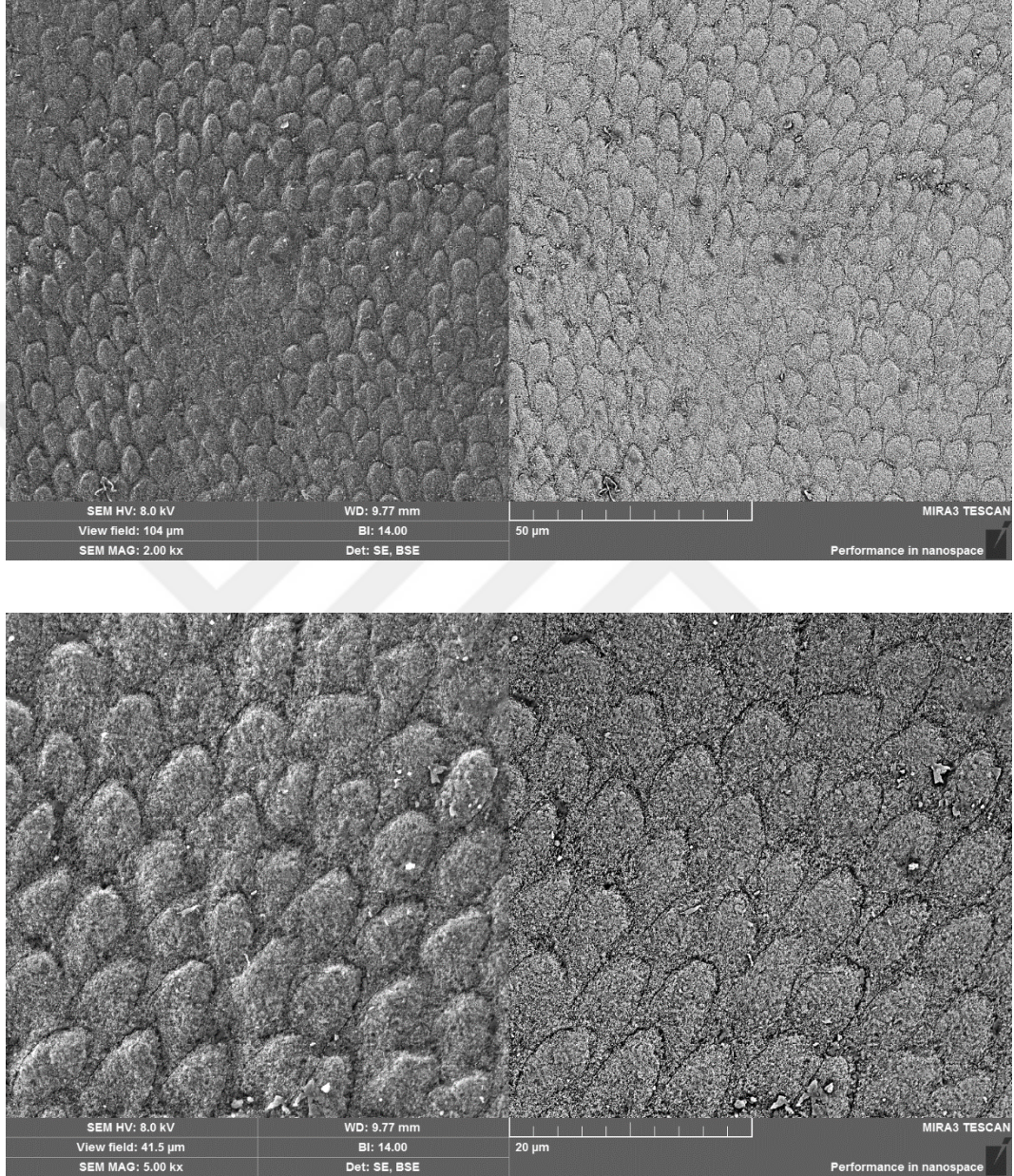
Yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeylerine CPP-ACP uygulanması sonrası, demineralizasyon sonucu oluşan interprizmatik boşlukların ve çözülmüş durumda olan yaygın prizma alanlarının büyük oranda dolduğu görüldü. Herhangi bir işlem uygulanmamış mine yüzeyine ait görüntülerle karşılaştırıldığında interprizmatik boşlukların biraz derinleştiği, yüzeyin belli kısımlarında prizma kristallerine ait küçük mikroporözitelerin mevcut olduğu görüldü (Şekil 4.4).



**Şekil 4.4.** Demineralize edilmiş mine yüzeyine CPP-ACP uygulaması sonrası farklı büyütmelerde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000)

Yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeylerine CPP-ACP + %5 Glisirik asit uygulanması sonrası, demineralizasyon sonucu oluşan interprizmatik boşlukların ve çözülmüş durumda olan yaygın prizma alanlarının büyük oranda dolduğu görüldü. Herhangi bir işleme maruz bırakılmamış mine yüzeyine ait görüntülerle karşılaştırıldığında interprizmatik boşlukların biraz derinleştiği, yüzeyin belli

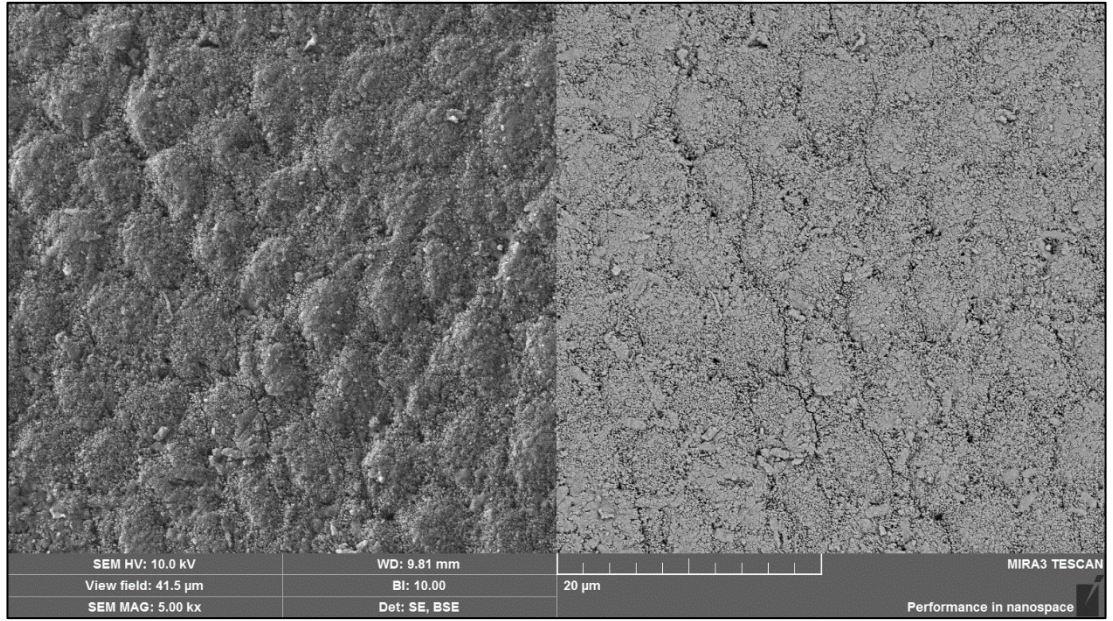
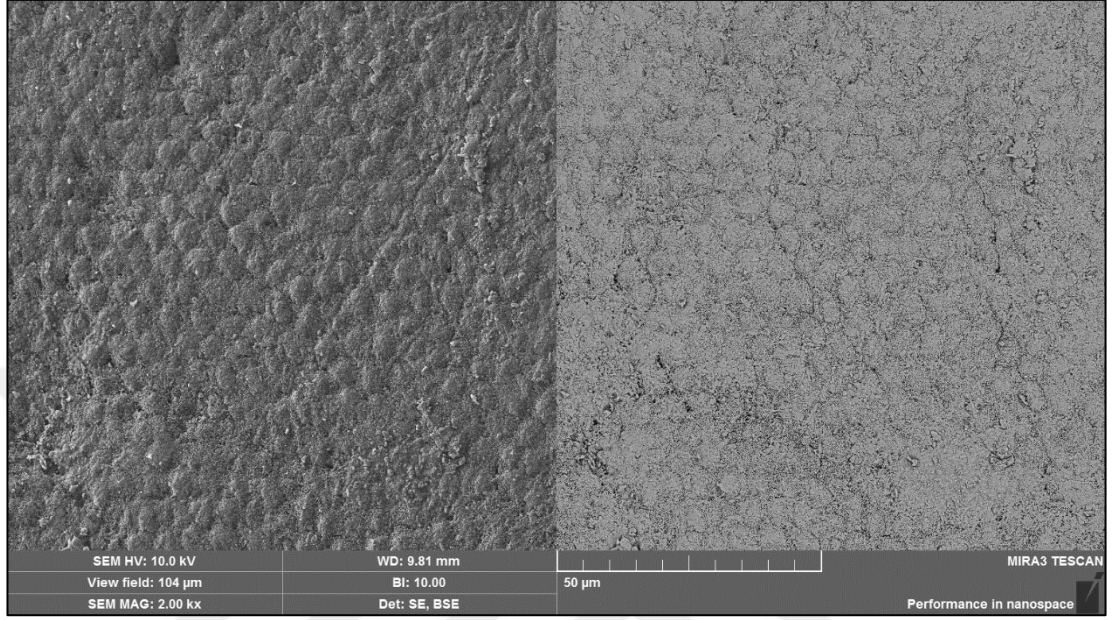
kısımlarında prizma kristallerine ait küçük mikroporözitelerin mevcut olduğu görüldü (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5.** Demineralize edilmiş mine yüzeyine CPP-ACP + %5 Glisirizik asit uygulaması sonrası farklı büyütmelelerde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000)

Demineralize edilmiş mine yüzeylerine CPP-ACP + %10 Glisirizik asit uygulanması sonrası, demineralizasyon sonucu oluşan interprizmatik boşlukların ve çözülmüş durumda olan yaygın prizma alanlarının azaldığı görüldü. Herhangi bir

işleme maruz bırakılmamış mine yüzeyine ait görüntülerle karşılaştırıldığında interprizmatik boşlukların biraz derinleştiği, yüzeyin belli kısımlarında prizma kristallerine ait küçük mikroporözitelerin mevcut olduğu görüldü (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6.** Demineralize edilmiş mine yüzeyine CPP-ACP + %10 Glisirik asit uygulaması sonrası farklı büyütmelelerde elde edilen SEM görüntüleri (x2000, x5000)

#### 4.2. Materyallerinin Antibakteriyel Etkinliklerinin Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan test materyallerinin, oluşturulan *S. mutans* biyofilm tabakası üzerine uygulanmalarının ardından, elde edilen biyofilm değerlerinin ortalama, standart sapma ve p değerleri Tablo 4.4’de gösterilmektedir.

**Tablo 4.4.** Tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası biyofilm değerlerine ait veriler

Gruplar	n	Ort. ± SS	Sonuç
<b>Grup 1</b> (CPP-ACP)	10	1,293±0,33	F=0,74 p=0,531
<b>Grup 2</b> (CPP-ACP+ %5 Glisirizik asit)	10	1,262±0,26	
<b>Grup 3</b> (CPP-ACP+ %10 Glisirizik asit)	10	1,292±0,15	
<b>Grup 4</b> (KONTROL)	10	1,428±0,30	

\*P>0,05

Tek yönlü ANOVA test sonucuna göre gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (p=0,531; p>0,05).

Ancak, grupların ortalama absorbans değerleri ile çalışma gruplarının yüzde cinsinden inhibisyonu her bir grup için kontrol grubuyla karşılaştırılarak  $\frac{\text{Kontrol-Uygulama}}{\text{Kontrol}} \times 100$  formülüne göre hesaplandı.

Formül uygulandığında kontrol grubuna göre; Grup 1’de (CPP-ACP) %9,45; Grup 2’de (CPP-ACP + %5 Glisirizik asit) %11,62; Grup 3’de (CPP-ACP + %10 Glisirizik asit) ise %9,52 oranında bakteri absorbansının azaldığı, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu.

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, diş çürüğü prevalansı önceki yıllara göre azalmış olsa da, temel sağlık problemlerinden biri olmaya devam etmektedir.

Diş çürüğü, diş sert dokularını meydana getiren inorganik kalsiyum, fosfat iyonları ile organik matriks arasındaki elektrostatik bağlantının, H<sup>+</sup> iyonları tarafından fizikokimyasal düzeyde bozulmasının ardından, dokuda submikroskopik, mikroskopik ve bunu takiben makroskopik madde kaybı ve kavite gelişimi ile sonuçlanan bir dizi olaylar bütünüdür (144, 145).

Diş sert dokuları ile tükürük arasında devamlı bir iyon alışverişi gerçekleşmektedir. Ortam pH'sının kritik pH'nın altına düşmesiyle, diş dokularında bulunan kalsiyum ve fosfat iyonları diştten uzaklaşır ve demineralizasyon meydana gelir. Ortam pH'sı yükselip alkali seviyeye geldiğinde ise çözünerek tükürüğe geçen iyonlar, tekrar diş sert dokuları üzerine çökelerek tuz komplekslerini oluştururlar ve remineralizasyon olarak adlandırılan süreç başlar. Bu olaylar oral ortamda denge içerisinde gerçekleşmekte iken, dengenin demineralizasyon yönünde bozulmasıyla diş sert dokularında yıkım gerçekleşir ve başlangıç çürük lezyonları oluşmaya başlar (146, 147).

Diş hekimliği uygulamalarında; ağrı, hassasiyet gibi semptomlarla seyreden, kavitasyon oluşmuş dişlere uygulanan invaziv tedavi işlemlerinin zaman alıcı olması, süt dişlerinin yapısal olarak restoratif materyallerin tutuculuğunu azaltması ve buna bağlı olarak tedavilerin kısa ömürlü olması, aynı zamanda da küçük yaştaki çocukların tedaviye uyum göstermemesi, anksiyete ve huzursuzluklarının yüksek seviyede olması tedavi şansını oldukça düşüren etkenler olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla, koruyucu diş hekimliği uygulamaları ile başlangıç çürük lezyonlarının invaziv olmayan yöntemlerle tedavi edilmesi ve oral sağlığın idamesi oldukça önemlidir (148-151).

Bunun yanı sıra, ilerleyen yıllar içerisinde adeziv restoratif materyallerde gözlenen gelişmeler, diş çürüğünün yapısı ve remineralizasyon sürecinin



anlaşılmasıyla beraber uzun yıllar boyunca uygulanan Black'in koruma için genişletme prensibinin yerini varolan yapıyı koruma prensibi almıştır (17). Bu prensiple paralel olarak, demineralizasyon ve remineralizasyon dengesinin demineralizasyon lehine bozulmasıyla çürük oluşabilecekken, remineralizasyonu destekleyen materyaller bu dengenin tekrar sağlanmasına ve diş dokularının korunmasına yardımcı olmaktadır (152, 153).

Koruyucu uygulamaların hedefi, demineralizasyonu önlemek veya demineralize olan bölgeleri kavitasyon oluşmadan remineralize ederek diş sert dokularını eski sağlığına kavuşturmadır (154).

Başlangıç çürük lezyonları üzerine uygulanan remineralizasyon ajanlarının etkinliği, *in vivo*, *in situ* ve *in vitro* koşullarda yapılan birçok çalışma ile değerlendirilmiştir (155-168). Çeşitli remineralizasyon ve antibakteriyel ajanların etkinliklerini klinik koşullar altında değerlendirmek, ortamda bakteriyel fermantasyon ürünleri, plak mevcudiyeti, tükürüğün tamponlama kapasitesi ve doğal remineralizasyon mekanizmasının bulunması nedeniyle gerçeğe en yakın bulgular elde edilmesini sağlamaktadır (169). Ağız içerisine yerleştirilen apareylerin kullanıldığı *in situ* araştırmalar için de aynı avantajlar geçerli olmaktadır (170). Ancak klinik çalışmalarda, demineralizasyon ve remineralizasyon süreçleri doğal şekilde gerçekleşiyor olsa da hasta uyumu ve iş birliği gerektirmesi, hastaların diyet farklılıkları, tükürük içeriklerindeki farklılıklar nedeniyle çalışmanın standardizasyonunun sağlanması güçtür. Ayrıca klinik uygulamalar etik onayı alınmasının zor olması dışında, deney sürecinin sonunda elde edilen verilerin incelenme yöntemleri sınırlı, maliyeti yüksek, uygulaması zaman alıcıdır (171).

Bütün bunlara ek olarak, *in vivo* ve *in situ* çalışmalarda ağız ortamında bulunan termal, kimyasal ve mekanik pek çok faktör bulunmaktadır ve bu faktörlerin birbirleriyle etkileşimleri söz konusudur. Bu nedenle de başarısızlığa zemin hazırlayan asıl sebebin ayırt edilebilmesi ve bireysel değişkenlerin kontrol altına alınabilmesi oldukça zor olmaktadır (172).

*In vivo* ve *in situ* çalışmaların bu dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilen *in vitro* modellerin; çalışmaya bireylerin katılımının gerekli olmaması,

bundan dolayı etik izin alma problemlerinin yaşanmaması ve bireylerden kaynaklanan çalışma dizaynını etkileyecek faktörlerin oluşmaması, deney ortamının sürekli kontrol altında olması, daha az örneklem sayısına ihtiyaç duyulması, çalışmada değerlendirilen değişkenler arasından tek bir değişkenin sabit tutularak diğerleri arasında kıyaslamaların yapılabilmesi ve hızlı değerlendirme olanağı sağlayabilmeleri en büyük avantajları arasında gösterilebilir (173).

Belirtilen nedenlerden dolayı tez çalışmamızda, farklı içerikli materyallerin remineralizasyon ve antibakteriyel etkinliklerinin değerlendirilebilmesi amacıyla in vitro modeller tercih edilmiştir.

Remineralizasyon ajanlarının etkinliklerinin karşılaştırıldığı in vitro çalışmalarda, ajanın uygulandığı yüzey, çalışmanın doğru sonuç verebilmesi açısından oldukça önemlidir. İn vitro çalışmalarda insan ya da hayvan dişleri kullanılmakta olup, hayvanlardan da domuz, sığır, at, köpek, primat dişleri kullanılabilmekte, ancak insan dişlerinin morfolojik ve histolojik yapısına benzer olduğu için genellikle sığır dişleri tercih edilmektedir (174).

Sığır dişleri, insan dişlerine göre daha fazla porözite ve yapısal defekt içerdiğinden dolayı mineraller hızlı bir şekilde diffüze olurken, daha hızlı demineralize olup erozyona uğradığı bilimsel olarak kanıtlanmış, uzun süren çalışmalarda yapılarında bozunmalar olduğu görülmüştür (175). Amaechi ve ark.'ı (176) çalışmalarında, insan süt ve daimi dişlerini ve sığır dişlerini portakal suyu içinde bir süre beklettikten sonra, en fazla mineral kaybının ve lezyon derinliğinin sığır dişinde olduğunu bildirmişlerdir. Field ve ark.'ı (177) insan, sığır ve koyun mine yüzeylerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, hepsinin farklı yüzey karakteristiğine sahip olduğunu ve koyun minesinin (185 µm) insan ve sığır minesinden çok daha sert, sığır minesinin (132 µm) ise insan minesine (151 µm) göre daha yumuşak yapıda olduğunu bildirmişlerdir.

Bütün bu nedenlerden dolayı çalışmamızda, Nozari ve ark. (178); Serdar-Eymirli ve ark. (179); Salman ve ark.'nın (180) çalışmalarında olduğu gibi, fizyolojik kök rezorpsiyonu nedeni ile çekim endikasyonu konulan, 10-11 yaş

arasındaki çocuklardan elde edilen çürüksüz, dolgu yapılmamış, mineralizasyon bozukluğu olmayan, mine yüzeyinde kırık ya da çatlak bulunmayan süt azı dişleri kullanılması tercih edilmiştir.

İn vitro çalışmalarda sonucu etkileyen bir diğer faktör de çekilen dişlerin kullanılacağı zamana kadar bekletildiği solüsyon ve çekim zamanı ile kullanım zamanı arasında geçen süredir (181). Dişlerin bu süre içerisinde dehidrate olup çalışma sonuçlarını etkilememesi amacıyla çeşitli solüsyonlar içinde bekletilmesi önerilmektedir. Bu amaçla kullanılan solüsyonların başında distile su ve serum fizyolojik gelmektedir. Ancak, solüsyon içerisinde mikroorganizma üremesini önlemek amacıyla timol, sodyum hipoklorit, kloramin, formaldehit gibi bazı maddeler solüsyona ilave edilebilmektedir (182, 183).

Shellis ve ark.'nın (184) yaptığı çalışma sonucunda, solüsyon içine timol eklenmesi sonrası, dişler uzun süre solüsyon içinde bekletilse dahi mikrosertliklerinde herhangi bir değişim gözlenmediği bildirilmiştir.

Bu nedenle bu tez çalışması için seçtiğimiz tüm dişler, Kargül ve ark. (59), Vyavhare ve ark. (167), Punathil ve ark.'nın (185) çalışmalarında olduğu gibi, çalışma zamanına kadar, %0,1'lik timol içeren deiyonize su içerisinde saklanmış ve çekimden sonraki 3 ay içerisinde kullanılmıştır.

Alsayed ve ark. (186), Pinto de Souza ve ark.'ı (187) çalışmalarında kullanmak üzere, mikrotom cihazı ile dişin bukkal veya lingual yüzeylerinden belirli boyutlarda keserek mine blokları elde etmişler ve bu yüzeyler üzerinde çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir.

Ancak, bizim çalışmamızda tercih ettiğimiz dişler süt dişleri olduğu için ve çalışma yüzeyi çok geniş ve yeterli olmadığı için mine örneklerini, Mehta ve ark. (188), Savaş ve ark.'nın (189) da çalışmalarında uyguladığı şekilde, su soğutması altında Isomet mikrotom cihazı kullanarak, mezio-distal yönde 2 parçaya ayırdıktan sonra, her dişten toplam 2 adet mine örneği elde edilmiş ve bu örnekler analizlerde kullanılmak üzere akrilik bloklara gömülmüştür.

İn vitro koşullarda gerçekleştirilen çalışmalarda, diş yüzeylerinin standardizasyonunu sağlamak önemlidir. Kullanılan test yöntemlerinin birçoğunda sağlıklı sonuçlar elde edilebilmesi için, düz, pürüzsüz, yere paralel diş yüzeylerinin oluşturulmuş olması gerekmektedir (190). Bu sebeple, mine yüzeyindeki floridan zengin en dış tabaka uzaklaştırıldığı zaman, altındaki yüzey daha hızlı demineralize olacaktır (173). Zımparalama işlemi sonrası oluşturulan düz ve pürüzsüz mine yüzeyleri üzerinde çalışan araştırmacılar, anatomik mine yüzeyi üzerinde standart lezyon oluşturmanın zor olduğunu, aynı zamanda düz yüzeylerde lezyon oluşturmanın daha tekrarlanabilir olduğunu belirtmişlerdir (62). Zero ve ark.'ı (191) ile Nakajima (192) araştırmalarında, örnekler üzerinde cilalı bir yüzey oluşturmak amacıyla sırasıyla 400, 800 ve 1500 gritlik silikon karbid kağıtlar kullanmışlardır. Lippert ve ark.'ı (193), araştırmalarında sırasıyla 1200, 2400 ve 4000 gritlik silikon karbid kağıtları kullanırken, Ceci ve ark.'ı (194) ise, 200, 400 ve 600 gritlik silikon karbid kağıtları kullanmıştır. Biz de çalışmamızda; sağlıklı sonuçlara ulaşmak amacıyla, düz ve pürüzsüz bir yüzey oluşturmak için, örnek yüzeylerinde eşit sürelerde sırasıyla 600, 800, 1200 gritlik silikon karbid kağıtlar yardımıyla zımparalama işlemi gerçekleştirdik. Zımparalama esnasında zımparalama yönü değiştirilerek bir önceki zımparanın sebep olduğu izler ortadan kaldırılmış, istenilen pürüzsüz yüzeyin elde edilemediği durumlarda zımparalama işlemi tekrarlanmıştır.

İn vitro remineralizasyon çalışmalarında, mine örneklerinin çalışma sınırlarını belirlemek amacıyla, aside dirençli tırnak cilası kullanılarak mine yüzeyinde belirli boyutlarda pencereler oluşturulur (15). Arnold ve ark. (195), Lata ve ark. (196), Savaş ve ark. (197), Chokshi ve ark.'ı (6) farklı materyallerin remineralizasyon kapasitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında, 3 x 3 mm boyutlarında, Puangpanboot ve ark. (198) ve Stoleriu ve ark.'ı (199) ise 4 x 4 mm boyutlarında pencereler hazırlayarak çalışma ve kontrol yüzeyleri oluşturmuşlardır. Çalışmamızda süt dişleri üzerinde uygulama ve görüş alanının artışı sağlayabilmek için 4 x 4 mm'lik pencereler oluşturduktan sonra, pencerenin dışında kalan yüzeyler aside dirençli tırnak cilası ile kapatılmıştır.

İn vitro çalışmalarda, materyallerin remineralizasyon etkinliklerinin değerlendirilebilmesi için, öncelikle doğal çürük yapısına en yakın yapay çürük

lezyonlarının oluşturulması gerekmektedir (47, 200, 201). Yapay çürük lezyonlarının tek bir değişken özelliğine sahip olması, verilerin üzerinde çalışılabilecek kalitede olması, az sayıda örneğe ihtiyaç duyulması, test edilebilir ve tekrarlanabilir olmaları önemli avantajları arasında yer alır. Bu sebeplerden dolayı in vitro çalışmalarda yüksek düzeyde bilimsel kontrol sağlanır (3, 173). Temelde kimyasal yöntemler ve özel bakteri sistemlerinin kullanıldığı bakteriyel yöntemler ile dişler üzerinde yapay çürük lezyonu oluşturulmaktadır. (202). İn vitro bakteriyel yöntemler genellikle antimikrobiyal ajanların çürük oluşum ve gelişim süreci üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla kullanılırken, kimyasal yöntemler ise çürük önleyici materyallerin demineralizasyon ve remineralizasyon üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla kullanılırlar (44). Bu yöntemler arasındaki temel farklılıklar; demineralizasyon solüsyonunun doygunluk derecesi ve kimyasal kompozisyonlarının farklı olmasından ileri gelir (203). Aynı zamanda, farklı sürelerdeki uygulamalar ile farklı tipte yapay çürük lezyonları oluşturulabilmektedir. Örneğin yüksek pH ve kısa uygulama süreleri ile yüzeyi yumuşatılmış yani erozyon benzeri mine lezyonları oluşturulurken, daha düşük pH ve uzun uygulama süreleri kullanıldığında ise yüzey tabakasının daha az etkilendiği doğal olarak oluşan başlangıç mine lezyonlarına benzer yapıda yüzey altı mine lezyonları oluşturulabilmektedir. Bu yöntemle yüzey tabakasının çözünmeden korunması, yüzeyde depolanan kalsiyum, fosfat ve likit fazdaki flor iyonlarının ortamdaki uzaklaşmasını engellemektedir. Bu da uygulanan ajanların demineralizasyon ve remineralizasyon üzerine etkilerinin daha doğru bir şekilde değerlendirilebilmesine olanak sağlamaktadır (173).

Yapay çürük oluşturma yöntemleri içerisinde en kolay hazırlanan ve uygulanan yöntemlerin başında asit tamponların kullanıldığı modeller gelmektedir. Bu amaçla kullanılan, pH'ları 4,4 ile 5 arasında değişen solüsyon ya da jeller, laktat veya asetat ile tamponlanarak apatit ile doyurulmakta ve 16 sa ile 28 gün arasında değişen sürelerde uygulanarak yapay çürük lezyonları oluşturulmaktadır (201). Süt dişlerinde remineralizasyonun değerlendirildiği çalışmalarda genellikle 96 sa süren yöntemler kullanılmaktadır (204).

Araştırmalarda hangi yöntemin tercih edileceği, istenilen lezyonun nasıl olması gerektiğiyle yakından ilgilidir. Çalışmamızda eroziv olmayan, doğal

başlangıç mine lezyonuna benzemekle birlikte remineralizasyonu da etkili şekilde görmemizi sağlayacağını düşündüğümüz ten Cate ve ark.'ı (62) ile Itthagarun ve ark.'nın (205) önerdikleri 2,2 mM CaCl<sub>2</sub>, 2,2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM asetik asit içeren pH'ı 4,4 olan bir demineralizasyon solüsyonu kullanılmıştır. Benzer çalışmalarda olduğu gibi örnekler bu solüsyonda 37 °C'de 4 gün boyunca etüv içerisinde bekletilmiştir (179, 206-208).

Diş yüzeylerinde gerçekleşen mineralizasyon oluşumunu in vitro olarak inceleyen çalışmalarda, örnekler Kani ve ark. (209), Mueller ve ark. (210), Meyer-Lueckel ve Paris (211), Zhi ve ark.'nın (79) çalışmalarında da olduğu gibi sadece demineralizasyon ya da remineralizasyon solüsyonunda bekletildiği gibi, Itthagarun ve ark. (212) ile Rana ve ark.'nın (213) çalışmalarındaki gibi pH döngüsü kullanılan çalışmalar da bulunmaktadır. pH döngüsü modeli klinik araştırmaların güvenli bir şekilde tasarlanmaları için yeterli nicel verilerin üretilmesini kolaylaştırmaktadır (173). Bu sebeple çalışmamızda, örnekler başlangıç çürük lezyonlarını oluşturduktan sonra, ağızdaki dinamik ortamı taklit etmek amacıyla pH döngüsüne tabi tutulmuştur. pH döngüsü oral sahadaki asit ataklarını temsil eden demineralize edici ajanlardan (2,2 mM CaCl<sub>2</sub>, 2,2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM asetik asit, pH:4,4) ve tükürüğün remineralize edici etkisini temsil eden remineralize edici ajanlardan (1,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0,9 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 150 mM KCl, pH:7,0) oluşmaktadır. Ağız ortamını taklit eden in vitro modellerde demineralizasyon solüsyonunun, pH'sının 4,1-5 arasında olması demineralizasyonun net sonuçlarını görebilmek açısından önem taşırken, remineralizasyon solüsyonunun tükürüğün tamponlama özelliklerini taklit etmesi açısından pH'sının 6,8-7,0 arasında olması gerektiği vurgulanmaktadır (15). Bu nedenle çalışmamızda, Itthagarun ve ark.'nın (205) da çalışmalarında uyguladığı biçimde, demineralizasyon solüsyonunun pH'ı 4,4, remineralizasyon solüsyonunun pH'ı 7,0 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Literatürde pH siklusunda kullanılan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarının, gün içerisinde ve toplamda uygulanma süreleri büyük oranda çeşitlilik göstermektedir. Bu döngünün devam ettirilme süreleri 5, 7, 10, 14, 20, 21 ve 28 gün gibi geniş bir skalada uygulanmaktadır (214-221). İn vitro çalışmalar, yapay çürük lezyonları üzerine uygulanan remineralizasyon ajanlarının uygulanma

sürelerinin 5-7 gün gibi kısa süreler olmasının, ajanların minede oluşturdukları remineralizasyon değişikliklerinin gözlemlenmesi için yeterli olmadığını vurgulamaktadır (222, 223). Bu sebeple sıklıkla 7-14 gün arasında olan siklusların kullanıldığı görülmektedir (173). Biz de çalışmamızda Ten Cate ve ark.'nın (224) çalışmalarında uyguladıkları gibi, ağız ortamını daha iyi taklit edebilmek amacıyla pH siklusu boyunca örnekleri her gün art arda 17 sa remineralizasyon ve 6 sa demineralizasyon solüsyonuna tabi tutarak, vücut ısısını temsil edecek şekilde 37 °C'de etüvde beklettik. Remineralizasyon ve demineralizasyon solüsyonlarından çıkartılan örnekler distile su ile yıkanıp, solüsyonlar uzaklaştırıldıktan sonra 14 gün boyunca diş macunlarının günde iki kez kullanımını taklit etmesi amacıyla her gün günde iki defa olacak şekilde 1 dk boyunca remineralizasyon materyalleri uygulanmıştır.

Hornby ve ark.'ı (225), Itthagaran ve ark.'ı (205), Najibfard ve ark.'ı (226) çalışmalarında diş macunlarını distile suyla karıştırdıktan sonra bir çözelti elde ederek, örnekleri belirli bir süre bu çözeltilerde bekletmiş ve remineralizasyon etkilerini bu şekilde değerlendirmişlerdir. Patil ve ark.'nın (227) CPP-ACP ve trikalsiyum fosfatın remineralizasyon etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında, Kinsun'un (228) farklı diş macunlarının remineralizasyon etkinliğini değerlendirdiği çalışmasında ve Keskin'in (229) CPP-ACP, emdogain ve florlu diş macununun remineralizasyon etkinliğini değerlendirdiği çalışmasında, macun formundaki materyalleri aplikatör yardımıyla uygulamışlardır. Yapılan bu çalışmada, normal şartlarda olmasını beklediğimiz fırçalama şeklini ve sıklığını olabildiğince taklit etmek adına materyaller günde iki kez olacak şekilde aplikatörler yardımıyla örnek yüzeylerine uygulanmıştır.

Yapılan çalışmalarda, remineralizasyon ve demineralizasyon solüsyonları belli aralıklarda yenilenerek solüsyon içeriklerinin azalması önlenmiştir (187, 230, 231). Yapılan bu çalışmada da solüsyon içeriklerinin azalmaması için solüsyonlar 2 günde bir yenilenmiştir.

Koruyucu diş hekimliği çalışmaları kapsamında flor uygulamaları en çok tercih edilen yöntem olmuştur (232, 233). Ortamda flor varlığında, minede bulunan

apatit yapıdaki hidroksil, flor ile yer değiştirerek florapatit yapısı oluşur. Oluşan bu florapatit yapı asitlere karşı daha dirençli olması nedeniyle çürük gelişimini engellemede oldukça etkilidir (234). Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan flor içerikli ürünler; sistemik olarak ya da jeller, vernikler, macunlar, gargaralar gibi lokal olarak uygulanabilmektedir (235).

Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde florlu diş macunlarının düzenli kullanımı ile diş çürüklerinin azalması arasında bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir (236). Ancak, flor gerekli günlük dozun üzerinde alındığı takdirde, alınan dozun miktarına göre vücutta çeşitli sistemik etkilere neden olur. Bunlardan en çok gözlenen etkisi kronik toksisitesi sonucu ortaya çıkan dental florozistir (237). Florun tek seferde ve yüksek dozda alımı ile akut toksisite tablosuyla da karşılaşmak mümkündür. Akut flor toksisitesi; florun fazla miktarda alınması ile karın ağrısı, kusma, hipersalivasyon, diyare, hipokalsemi ve kas spazmlarıyla karakterize olan, şiddetli vakalarda solunum felci ve kardiyak arreste yol açarak ölüme dahi sonuçlanabilmektedir (238). Dolayısıyla, florun toksik etkilerinin bulunması, kullanım miktarını ve alanlarını kısıtlamaktadır (239). Ayrıca flor ve alternatif olarak geliştirilen diğer materyaller, remineralizasyon kapasiteleri ve antimikrobiyal etkinlikleri açısından değerlendirildiğinde kullanılabilir olsa da, hiçbiri istenilen düzeyde başarı gösterememektedir. Tüm bu olumsuzluklarla birlikte florun kullanımı ile ilgili son yıllarda giderek artan tartışmalar ve ortaya çıkan ihtiyaç en az flor kadar etkili farklı remineralizasyon ajanlarının geliştirilmesine yönelik çalışmaların artmasına neden olmuştur (137, 240).

Beslenme ve çürük ilişkisi üzerine yapılan çalışmalar özellikle son yıllarda diyetle alınan gıdaların çürük yapıcı etkileri kadar çürüğü önleyici etkileri üzerine de yoğunlaşmıştır. Çürük karşıtı gıda gruplarının başında süt ve süt ürünleri gelmektedir. Yapılan in vivo, in situ ve in vitro çalışmalarda bu gıdaların çürük önleyici etkisinin yapılarındaki kazeine bağlı olarak bulunan kalsiyum ve fosfat iyonlarından kaynaklandığı belirtilmiştir (126, 241, 242). Kazeinin yapısında bulunan fosfopeptidler, nötral ve alkali ortamda kalsiyum ve fosfatı bağlayarak diş yüzeyinde stabilize etme yeteneğine sahiptir, buna karşılık asidik ortamda kalsiyum ve fosfat salarak minenin çözünürlüğünü azaltırlar (121, 243). CPP-ACP'nin



kalsiyum ve fosfat iyonlarını diş yüzeyinde stabilize ederek remineralizasyona neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (244, 245).

Haghgou ve ark.'ı (246) 26 adet çürüksüz 3. molar dişleri 8 dk boyunca kolada beklettikten sonra yüzeyde oluşturdukları demineralize alanlara, CPP-ACP uygulanması sonrası remineralizasyon etkinliğini değerlendirdikleri in vitro çalışmalarının sonucunda, CPP-ACP'nin eroziv lezyonlar üzerinde remineralize edici etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Ardu ve ark.'ı (247) ortodontik tedavi sonrası braketlerin çevresinde oluşan beyaz nokta lezyonlarının tedavisinde mikro abrazyon yöntemiyle CPP-ACP kullanımının diş yüzeylerinde remineralizasyon sağladığını bildirmişlerdir. Wang ve ark.'ı (248) 2018'de yayınladıkları çalışmalarında sabit ortodontik tedavi sonrası CPP-ACP ve flor içerikli ajanların kullanımı sonrası demineralize mine yüzeyine etkilerini değerlendirmişlerdir. Toplamda 3 gruptan oluşan çalışmada; kontrol grubu günde iki kez florlu diş macunu, diğer grup günde iki kez florlu diş macununa ek olarak 20 ml %0,01 sodyum flor içeren ağız çalkalama suyu ve bir diğer grup da günde iki kez fırçalama sonrası CPP-ACP içerikli macunları 6 ay boyunca kullanmışlardır. Çalışmanın sonucunda; mine demineralizasyonunun neden olduğu üç gruptaki beyaz nokta lezyonlarının da farklı derecelerde gerilediğini, en yüksek başarımın CPP-ACP grubunda olduğunu bildirmişlerdir.

Mendes ve ark.'nın (249) Brezilya'da devlet okullarına kayıtlı 5-13 yaşları arasındaki çocukların ön grup dişlerinde gözlenen beyaz nokta lezyonlarının remineralizasyonunda CPP-ACP'nin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında; plasebo, flor jel, CPP-ACP ve CPP-ACP ile kombine flor olmak üzere toplam 4 grup oluşturulmuştur. Mine yüzeyi, uygulamadan önce, ikinci uygulamadan önce ve uygulama sonrası 1. ve 3. aylarda DIAGNOdent pen ile ölçüldükten sonra; CPP-ACP ile flor kombinasyonunun en iyi etkiyi gösterdiği, CPP-ACP kullanımının, beyaz nokta lezyonlarının remineralizasyonu için iyi bir alternatif olduğunu bildirmişlerdir.

Rai ve ark.'nın (242) yaptıkları çalışmada, hem süt hem de daimi dişlerden elde ettikleri örnek yüzeylerinin yarısına belirli sürelerde, içerisine %0,2 CPP-ACP

ilave edilen asitli içeceklerin uygulandığı deney grubu ve sadece içeceğin kendisinin yer aldığı içerisine CPP-ACP ilave edilmemiş olan kontrol grubu oluşturulmuştur. Çalışmanın sonucunda CPP-ACP içerikli ajan uygulanmayan tüm süt ve daimi dişlerde erozyon daha fazla gözlenirken, CPP-ACP uygulanan gruplardan da süt dişlerindeki remineralizasyon daimi dişlerde gözlenenden daha fazla bulunmuştur.

Zhao ve ark.'nın (250) CPP-ACP modifiye cam iyonomer simanın (CIS) etkilenmiş dentin üzerindeki remineralizasyon etkisini araştırdıkları çalışmalarında, konvansiyonel CIS, CPP-ACP modifiye CIS ve rezin modifiye CIS kullanılan 3 grup oluşturulmuştur. Örnekler 28 gün boyunca pH siklusuna tabi tutulduktan sonra, elde edilen bilgisayarlı mikrotomografi taraması sonrası, CPP-ACP'nin CIS'e dahil edilmesinin çürükle etkilenmiş dentin yüzeyine adezyonunu olumsuz yönde etkilemediği gösterilmiştir. Ayrıca, CPP-ACP ile modifiye edilmiş CIS'in, dentin remineralizasyonunu artırmada geleneksel CIS'den daha üstün olduğunu belirtilmiştir.

Güçlü ve ark.'nın (251), yaşları 8-15 arasında değişen 21 çocuğun dahil edildiği çalışmalarında; 101 adet beyaz nokta lezyonunun tedavisini gerçekleştirmek için rastgele 4 grup oluşturulmuştur. İlk gruba bir ay boyunca her hafta olmak koşuluyla flor vernik (FV), ikinci gruba günde iki kez olacak şekilde CPP-ACP uygulaması, üçüncü gruba ilk ay her hafta flor vernik ve günde iki kez CPP-ACP (CPP-ACP-FV) uygulaması yapılmış, dördüncü gruba ise hiçbir uygulama (kontrol) yapılmamıştır. On iki hafta sonunda yapılan görsel değerlendirme ve lazer floresans ölçümleri sonrası; kontrol ve flor gruplarında görsel bir değişiklik gözlenmezken, CPP-ACP ve CPP-ACP-FV gruplarında lezyonlar büyük ölçüde gerilemiştir. Görsel ve lazer floresans değerlendirmeleri, tedaviler tarafından sağlanan remineralizasyon derecesinin kontrol  $\cong$  FV < CPP-ACP  $\cong$  CPP-ACP-FV şeklinde olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın sonucunda; CPP-ACP'ın standart ağız hijyenine ilave olarak uygulanması, beyaz nokta lezyonlarının görüntüsünü ve remineralizasyonunu önemli ölçüde iyileştirmiş, standart ya da CPP-ACP ile geliştirilmiş oral hijyen rejimlerine ilave olarak flor verniğin kullanılmasında ise hiçbir avantaj gözlenmemiştir.

Pithon ve ark.'ı (252) in vitro olarak braketler etrafında oluşan başlangıç çürük lezyonlarına CPP-ACP içeren vernik uygulamasının etkisini değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmalarında, lezyon derinliklerini Optik Koherens Tomografi ile incelemiştir. Bu çalışmanın sonucunda CPP-ACP içerikli verniklerin başlangıç çürük lezyonları üzerinde, diş fırçalama veya gargara kullanımından bağımsız olarak flor verniklerden daha etkili sonuçlar sergilediğini bildirmişlerdir.

Ayrıca son zamanlarda, piyasada bulunan birçok remineralizasyon materyalinin yanı sıra bitkisel kaynaklı yeni ürünlerin de başlangıç çürük lezyonlarını remineralize etmede kullanılabilecek umut vaat edici ajanlar olduğu bildirilmiştir (7, 253-256). Bitkilerden elde edilen, tedavi edici özelliği olan besinler, eski tarihlerden bu yana sağlığın korunması ve hastalıklarla savaşta kullanılmaktadır. Birçok sebze ve meyve içeriklerinin sağlığı desteklediği ve bazı hastalıkların oluşma riskini azalttığı bilinmektedir. Ayrıca daha az maliyet, bulunabilirlik kolaylığı ve nispeten güvenli toksisite profili gibi avantajlar da sunarlar. Son yıllarda yapılan araştırmalar bitkilerin ve bunlardan elde edilen ürünlerin koruyucu ve tedavi edici özellikleri üzerine tekrar yoğunlaşmıştır (257, 258).

Genellikle meyan kökü olarak bilinen Glycyrrhiza glabra da bu bitkilerden biridir ve yapılan son çalışmalar meyan kökü ve aktif bileşenlerinin antibakteriyel ve antienflamatuar özelliklere sahip olduğunu ve diş çürüğü de dahil olmak üzere ağız hastalıklarında potansiyel yararları olduğunu göstermektedir (93, 259, 260). Yapılan az sayıdaki çalışmalarda, meyan kökü bileşenlerinin S. mutansların glikoziltransferaz aktivitesini doza bağlı olarak inhibe ettiği, dental plak oluşumunu azalttığı ve S. mutans, Streptococcus sobrinus, Porphyromonas gingivalis ve Porphyromonas Intermedia türlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (94, 261, 262).

Literatürde meyan kökü ile yapılan çok fazla sayıda çalışma bulunmamaktadır.

Peters ve ark.'nın (100) yaptığı, yüksek çürük riskli çocuklarda meyan kökü özü içeren lollipopların günde iki kez toplamda 3 haftalık kullanımı sonucu; S. mutans sayısında ve nispi yüzdesinde anlamlı derecede azalma olduğu tespit

edilmiştir. Bizim çalışmamız in vitro bir çalışma olduğu için bu şekilde hazırlanmış bir lollipop kullanmak yerine, meyan kökü ana maddesi olan glisirik asit içeren macunlar hazırlandıktan sonra mine yüzeylerine bu macunlar uygulanmıştır.

İn vitro çalışmalarda remineralizasyon etkinlikleri değerlendirilen materyallerin, diş yüzeyinde oluşturdukları mineral kaybı ya da kazancını tespit etme temeline dayanan, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası etkinliklerinin kantitatif olarak ölçülebilmesi ve objektif değerler elde edilebilmesi için geçmişten günümüze birçok yöntem geliştirilmiştir. Ancak bunlar içerisinde; mikrosertlik testi, taramalı elektron mikroskop yöntemi, enerji dağılım spektroskopisi ve konfokal lazer tarayıcı mikroskop yöntemleri in vitro çalışmalarda en sık kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir (67, 263-267).

Çalışmalarda hangi test yönteminin tercih edileceği konusunda karar verilirken dikkat edilmesi gereken noktalar; yöntemin hassaslık, güvenilirlik ve belirleyiciliğinin yüksek olması, maliyetinin uygun, uygulanabilirliğinin kolay olması ve uygulama sırasında diş yüzeylerinde yıkıcı etkilere neden olmaması gibi özellikleri barındırmasıdır (63).

İn vitro koşullarda yürütülen çalışmamızda kullandığımız test yöntemlerinin bu temel özelliklere mümkün olduğunca sahip olmasına dikkat edilmiştir. Bu amaçla remineralizasyon etkinlikleri değerlendirilen materyaller, mikrosertlik testi ve taramalı elektron mikroskop yöntemleri ile değerlendirilmiştir.

Diş sert dokularına uygulanan tedavi yöntemlerinin başarısının laboratuvar şartlarında birbirleriyle karşılaştırılmasında kullanılan test yöntemlerinin başında mikrosertlik ölçümleri gelmektedir (56, 67, 268). Mikrosertlik yönteminin güvenilir olması dışında, deney süreci boyunca ölçümlerin tekrarlanabilmesi, hızlı ve kolay veri elde edilebilmesi gibi önemli avantajları vardır (223, 269, 270).

Mikrosertlik testi kullanılmasıyla mine demineralizasyonu ve remineralizasyonunun erken safhalarını incelemek mümkündür. 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. Ayrıca bu teknikte aynı örnekte tedavi öncesi ve sonrası sertlik ölçümü yapılabildiği için deneysel hata oranı azalır (57).

Diş hekimliğinde daha çok tercih edilen mikrosertlik ölçme yöntemleri Knoop ve Vickers olmak üzere ikiye ayrılır. Aralarındaki fark test edilen materyallerin üzerinde oluşturdukları izlerin farklı oluşundan ileri gelir. Ayrıca Vickers ucu ile oluşturulan iz düşümünün Knoop iz düşümünden daha küçük olmasından ötürü araştırmacıların, Knoop ölçümlerinin güvenilirliğini şüpheli bulmasından, Vickers'ın daha hassas ölçümler yapmasından dolayı çalışmamızda Vickers sertlik yöntemi tercih edilmiştir (271). Çalışmamızda da diğer çalışmalar referans alınarak mikrosertlik analizlerinde 200 gr yük ağırlığı ile 15 sn boyunca mine yüzeyine uygulama yapılmıştır (59, 272, 273).

Mikrosertlik değerleri, diştten dişe değişiklik gösterebileceği gibi aynı dişin değişik bölgelerinde de farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle, minenin mikrosertlik değerinin tek bir ölçümle saptanamayacağı, minenin farklı bölgelerinden de ölçümler yapılması gerektiği belirtilmiştir (274). Tez çalışmamızda mine örneklerinin birbirinden 100'er µm uzaklıktaki 4 farklı alanından ölçümler yaptıktan sonra, bu 4 ölçümün ortalama değerini hesaplayarak tek bir değer elde ettik.

Yanlış ölçüm ihtimalini ortadan kaldırmak için, çentiğin meydana getirdiği şeklin uygun olmadığına karar verilen örnekler zımpara ve cilalama esnasında yanlış kuvvet uygulamaya bağlı eğim hatalarından kaynaklı olabileceği düşünülerek tekrar zımpara ve cilalama işlemleri gerçekleştirilerek cihazda net ölçüm yapabilmek için düz bir zemin oluşturuldu.

Çalışmada kullanılan farklı içeriklerdeki remineralizasyon ajanlarına ait etkilerin Vickers mikrosertlik testi ile incelenmesi sonucu elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; tüm gruplar için, tedavi prosedürlerinin uygulanması sonrası yüzey mikrosertlik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Üç grubun da birbirleriyle benzer sonuçlar ortaya koyduğu, ancak sayısal olarak en yüksek mikrosertlik değişiminin *Grup 2 ΔVHN: 72,31* > *Grup 3*

$\Delta VHN: 71,80 >$  Grup 1  $\Delta VHN: 65,62$  şeklinde gerçekleştiği, fakat 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı veriler sonucunda tespit edildi.

Literatür incelendiğinde, çalışmada kullanılan test materyallerinin diş sert dokularının mikrosertlik değerleri üzerine etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği benzer bir çalışma olmadığı görülmektedir. Literatürde CPP-ACP ile çok sayıda çalışma yer alırken, remineralizasyon amaçlı kullanımda yeni geliştirilen bir materyal olması nedeniyle glisirizik asit içerikli materyallerle ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Ye ve ark.'nın (275) 2018 yılında yayınladıkları çalışmalarında, çekilmiş premolar dişlerin intraoral bir apareyin 4 farklı rezervuar bölgesine yerleştirilmesini takiben, gönüllülerden oluşan bireylerin apareyi kullanmaya başladıktan 2 sa sonra, 150 ml kolayı 5 dk boyunca gargara metodu ile çalkalamaları istenmiştir. Bu döngü 7 gün boyunca günde 4 kez olacak şekilde tekrarlandıktan sonra, bir yarısına CPP-ACP'nin diğer yarısına da deiyonize suyun 3 dk boyunca uygulandığı grupların yüzey mikrosertliği ve mikroyapısı uygulama öncesi ve sonrası değerlendirilmiştir. CPP-ACP grubunda ve kontrol grubunda yüzey mikrosertliği sırasıyla  $198.8 \pm 23.2$  ve  $152.4 \pm 42.1$  VHN olarak tespit edilmiştir ( $P = 0,040$ ). Erozyon sonrası mikrosertlik ve yüzey mikroyapısı CPP-ACP grubundaki örneklerde kontrol grubundakilere göre önemli ölçüde daha az değişiklik göstermiştir. Bu in situ deney protokolüne dayanarak, kısa süre tüketilen asitli içeceklerin, minenin yüzey sertliği üzerinde önemli etkiler yaratacağı, CPP-ACP uygulamasının minenin erozyon direncini artırabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Benzer şekilde Yu ve ark.'ı (276) da eroziv mine üzerinde CPP-ACP'nin etkinliğini ve ön/arka bölgedeki minenin erozyona maruziyeti sonrasındaki farklılıklarını değerlendirdikleri çalışmalarında; gönüllülerden oluşan bir gruba ön ve arka bölgede, yüzeylerine 4 adet çekilmiş dişin yerleştirildiği apareyler kullanılmıştır. CPP-ACP ve deiyonize suyun kullanıldığı deney ve kontrol grubu, 7 gün boyunca günde 4 kez olacak şekilde 5 dk süreyle kolayla maruz bırakılmıştır. Erozyon sonrası yapılan SEM analizi ve mikrosertlik ölçümlerinde, mikrosertliğin deiyonize su grubunda daha çok azaldığı ve ön bölgede konumlanmış olan mine

örneklerinin sertliğinin arka bölgede konumlanmış olanlara kıyasla daha fazla azaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen SEM görüntülerinde de; her iki grup arasında benzer aşındırma şekilleri gözlenirse de, kontrol grubundan alınan örnekler CPP-ACP grubundakilere kıyasla, özellikle interprizmatik kısımlarda nispeten daha fazla demineralizasyon sahaları ve arka bölge yerleşimli örneklerde daha pürüzsüz yüzeyler gözlenmiştir. Bu durumun da asitli içeceklerin tüketimi sonrası arka bölgede ön bölgeye kıyasla daha hızlı bir pH geri kazanımı olabilmesinden kaynaklanabileceğini düşünmüşlerdir.

Bayram ve ark.'ı (277) 2017'de yayınladıkları çalışmalarında, mine yüzeyinde mezial ve distal olmak üzere interproksimal stripping sonrası CPP-ACP uygulamasının etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Yaş ortalamaları 15.8 olan ve 15 katılımcının yer aldığı çalışmada, ortodontik tedavi planı gereği çekimi düşünülen 1. premolar dişlere çekimden önce stripping uygulaması yapılmış ve 5 grup oluşturulmuştur. 1. Gruptaki dişler stripping uygulaması yapılmadan; 2. Gruptaki dişler stripping uygulaması yapıldıktan hemen sonra; 3. Gruptaki dişler stripping sonrası 3 ay boyunca oral koşullara maruz kaldıktan sonra; 4. ve 5. Gruptaki diş yüzeylerine ise stripping uygulaması sonrası sırasıyla CPP-ACP ve flor vernik 3 ay boyunca uygulanmış ve ardından dişler çekilmiştir. Vickers mikrosertlik ve SEM analizleri sonrası karşılaştırmalar yapılmıştır. Mikrosertlik için sayısal olarak en yüksek değer Grup 1, en düşük değer Grup 2 de bulunurken; 3, 4 ve 5. gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. SEM incelemesinde ise Grup 1'de yüzey pürüzlülüğü en fazla gözlenirken, diğer gruplar sağlam mine yüzeyine yakın pürüzlülük göstermiştir.

Esfahani ve ark.'nın (278), %5 sodyum florür, CPP-ACP ve 1450 ppm Flor+hidroksiapatit+ksilitol içerikli ajanların etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında mine örnekleri 4 gün boyunca demineralizasyon solüsyonuna tabi tutulduktan sonra örneklerin mikrosertlikleri ölçülmüştür. Minenin mikrosertliğini en çok arttıran ajanın CPP-ACP olduğu ve tüm ajanların etkilerini gösterebilmeleri için uzun dönem kullanılmaları gerektiği belirtilmiştir.

Balakrishnan ve ark.'ı (279) CPP-ACP, %0,21 NaF-trikalsiyum fosfat ve kalsiyum sodyum fosfosilikat içerikli remineralizasyon ajanlarının uygulanmasıyla gerçekleştirdikleri in vitro çalışmalarında, örnekleri mikro-CT ve Vickers mikrosertlik test cihazıyla değerlendirmişlerdir. 15 günlük ve 30 günlük uygulama sonrası tüm örneklerde mikrosertlik değerlerinde anlamlı artış olduğu, ancak CPP-ACP'nin diğer iki ajandan daha iyi remineralize edici potansiyel özellik gösterdiği belirtilmiştir.

Zhang ve ark. (280) 2011 yılında yayınladıkları çalışmalarında; CPP-ACP'nin remineralizasyon potansiyelini negatif (deiyonize su) ve pozitif kontrol (500 ppm NaF) grubu ile karşılaştırmış; yüzey mikrosertlik değerlerinin istatistiksel olarak farklı olduğunu ve en yüksek değerin CPP-ACP'ye ait olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmalar ile uyumlu olarak, yaptığımız çalışmamızda, ilk grup olarak kullanmış olduğumuz CPP-ACP içerikli Tooth Mousse materyalinin yüzey mikrosertlik testi kullanılarak yapılan değerlendirmelerde, demineralize mikrosertlik ölçümlerine göre, başlangıç mine çürüğünün remineralizasyonu üzerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu duruma materyalin asit etkisine maruz kaldığında bileşiminden salınan ACP'nin asidik ortamı tamponlayarak plak pH'sını dengelemesi, kalsiyum ve fosfat iyonlarını diş yüzeyinde stabilize ederek demineralizasyonu önleyip, remineralizasyonu uyarması ve bakteriyel kolonizasyonu engellemesiyle sağladığı düşünülmektedir.

Literatürde, meyan kökünün başlangıç çürük lezyonları üzerinde remineralizasyonunu değerlendiren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda CCP-ACP + %5 Glisirizik asit içerikli macunun mikrosertlik artışı istatistiksel olarak anlamlılık göstermese de sayısal olarak diğer iki gruptan yüksek bulunmuştur. Ancak çalışmamızın bulgularına göre glisirizik asit eklenen CPP-ACP ajanlarının başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonunda istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiş ve remineralizasyonda destekleyici bir ajan olduğu düşünülmektedir.



Çalışmada kullanılan bir diğer yöntem olan taramalı elektron mikroskobu, in vitro çalışmalarda mine yüzeyinin topografik yapısının ve minenin yüzey morfolojisinde meydana gelen değişikliklerin hassas ve detaylıca incelenmesine olanak tanıyan bir yöntemdir (281, 282). SEM başlangıç mine lezyonlarının yüzey morfolojilerinin incelendiği birçok in vitro çalışmada altın standart olarak kullanılmaktadır (226, 227, 283, 284). İncelenmek istenen yüzey, x50 büyütmeden x300000 büyütme kadar çeşitli boyutlarda görüntülenebilmekte ve böylelikle örnekler en ince ayrıntısına kadar detaylandırılabilir (285).

SEM incelemesi öncesi, örnekler kuru ve iletken yapıda olmalıdır. Bu nedenle metalik olmayan örneklerin kurutulduktan sonra, vakumlu ortamda ve argon gazı varlığında kaplanmaları gereklidir. Kaplama materyali olarak genellikle altın kullanılmasına rağmen 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 (286-289). Örnek iletkenliğinin artırılması, görüntü kalitesi ve sinyal gücünün daha yüksek olması için çalışmamızda mine örnekleri  $10^4$  torr vakum altında altın ile kaplanmıştır.

Bu tez çalışmasında kullanılan farklı remineralizasyon ajanlarının mine dokusunda oluşturduğu değişiklikler taramalı elektron mikroskop kullanılarak morfolojik açıdan da değerlendirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız materyallerle ilgili SEM analizinin yapıldığı, literatürde CPP-ACP ile ilgili birçok çalışma mevcutken, meydan kökü ile ilişkili az sayıda çalışma yer almaktadır.

Altan ve ark.'nın (290) 2019 yılında yayınladıkları, çekilmiş 50 molar diş üzerinde farklı materyallerin remineralizasyon kapasitelerini SEM-EDS ile değerlendirdikleri çalışmalarında; arjinin, flor, CPP-ACP ve Novamin uygulanan örnekler pH döngüsüne maruz bıraktıktan sonra, remineralize edici maddeler örneklere 5 gün boyunca günde 2 kez 2 dk boyunca bir diş fırçası simülatörü yardımıyla uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda, tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde kalsiyum ve fosfat artışı olduğu ve remineralizasyonun indüklendiği belirtilmiştir.

Gomes ve ark.'ı (291) beyazlatma sonrası CPP-ACP uygulanan mine yüzeylerinin değişikliklerini, mikro-CT ve SEM analizi ile incelemişlerdir. %35'lik hidrojen peroksit maruz bırakılan çekilmiş premolar dişlere sonraki 7 gün boyunca CPP-ACP uygulanmış ve x3000 ve x100000 büyütmede incelenmiştir. Yedi günün sonunda mine prizmalarının çevresinde hidroksiapatit kristalleri arasında örtücü bir tabaka ve azalan boşluklar olduğu gözlenmiş, oluşan bu görüntünün kalsiyum birikmesinden kaynaklandığı ve bu yapının mine dış yüzeyinde kompakt bir yapı sağladığını düşünmüşlerdir.

Poggio ve ark.'ı (292) yaptıkları çalışmada, alkolsüz içeceğin neden olduğu eroziv bölgeye uygulanan CPP-ACP'nin mine ve dentin remineralizasyonuna etkisini araştırmak için AFM ve SEM analizlerini kullanmışlardır. Elde ettikleri SEM görüntülerinde eroziv minenin düzensiz, artmış çatlak ve poröziteli alanlara ve küçük kavitasyonlara sahip olduğunu, CPP-ACP uygulanması sonrası porözite gözlenen bölgelerin ve interprizmatik boşlukların dolduğunu ve daha düz bir yüzey oluştuğunu belirtmişlerdir.

Jayarajan ve ark.'ı (293) yaptıkları benzer bir çalışmada; CPP-ACP ve CPP-ACPF'nin mine remineralizasyonu üzerindeki etkinliğini DIAGNOdent ve SEM ile araştırmışlardır. Yapay tükürük kullanılan kontrol grubunda mine yüzeyinde poröz defektler ve bu defektlerin etrafında zayıf mineralizasyon alanları görülmüş ve CPP-ACP grubunda interprizmatik alanın belirgin olduğunu ve prizmatik sınırlar boyunca sık ve kalın remineralizasyon alanları olduğunu, ancak kalsifiye alanların daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. CPP-ACPF grubunda ise mine çubuklarının ve prizmatik maddenin belirgin olmadığı ancak kalsifiye alanların daha belirgin olduğu görülmüştür.

Pai ve ark.'ı (294) CPP-ACP içerikli patın başlangıç mine çürüklerinin remineralizasyonu üzerine etkisini SEM ve QLF yöntemlerini kullanarak değerlendirmişlerdir. Demineralize mine örneklerine 14 gün boyunca günde 3 dk süre ile CPP-ACP içerikli pat uygulanmış ve sonuç olarak QLF değerleri ve SEM görüntülerinden elde edilen skorlar karşılaştırıldığında, yapay tükürük (pozitif

kontrol) grubu ve salin (negatif kontrol) grubuna göre anlamlı bir şekilde remineralizasyonu artırdığını bildirmişlerdir.

Literatürde, yeni geliştirilen bir materyal olması nedeniyle meyan kökü uygulandıktan sonra SEM analizi yöntemi ile değerlendirilen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan biri olan Krishnakumar ve ark.'nın (295) yaptığı çalışmada, meyan kökü içerikli lollipopun remineralize edici potansiyelini ve antibakteriyel etkinliğini değerlendirme hedeflenmiştir. Antibakteriyel etkinlik; meyan kökü içeren lollipopların tüketiminden önce ve 10 günlük kullanımı sonrasında tükürükteki *S. mutans* ve *Lactobacillus* bakteri miktarı ölçülerek değerlendirilmiştir. Remineralizasyon potansiyeli; Hawley apareyine gömülmüş mine bloğunun gönüllüler tarafından kullanılırken aynı süre içerisinde 14 gün boyunca meyan kökü lollipopunun tüketimi sonrası SEM ile değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, *S. mutans*ların sayısında istatistiksel olarak anlamlı olan bir azalma gözlenmiş, bununla birlikte, meyan kökü içeren lollipopu kullanmadan önce veya kullandıktan sonra *Laktobasil* çoğalması gözlenmemiştir. SEM görüntüleme analizinde de mine yüzeyinde yapısal veya morfolojik bir değişiklik gözlenmediği tespit edilmiştir.

Yapılan bu çalışmanın SEM değerlendirmelerinde, diğer çalışmalar ile uyumlu olarak demineralizasyon sonrası oluşan eroziv görüntülerin azaldığı ve bazı bölgelerde yok olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın ikinci basamağını ise; araştırmada kullanılan materyallerin kontrol grubuna ve birbirlerine göre antibakteriyel etkinliklerinin karşılaştırılması oluşturmuştur.

Diş çürüğünün oluşumunu engelleme veya kontrol altına alma yönündeki gelişmeler, başlangıç çürük lezyonlarında gözlenen mineral kaybının farklı birçok ajan ile tekrar kazandırılmasının yanı sıra oral bakterilerin oluşturduğu biyofilm aktivitelerini modifiye etme ile de yakından ilişkilidir. Diş çürüğünden sorumlu mikroorganizmalar ve bu mikroorganizmalar üzerinde etkili olan antibakteriyel materyaller ile ilgili literatürde mevcut olan çalışmalarda; biyofilm yapısı, biyofilm içerisinde yer alan canlı mikroorganizma sayısı, plaktaki mevcut bakterilerin diş

dokularına adezyonu ve immün yanıtları gibi spesifik birçok özellikleri araştırılmıştır (296-299).

Oral kavite içerik olarak vücudun en zengin mikrobiyal yaşam alanlarından birini oluşturmaktadır. Oral mikrobiyota olarak da tanımlanabilen bu toplulukta; çok sayıda bakteri türü kültürden izole edilmiş ve tanımlanmıştır (300). Yapılan çalışmalarda, biyofilm gelişim aşamalarında birçok değişken olmasına rağmen, in vitro koşullarda oluşturulan biyofilmin ağız ortamında bulunan biyofilm ile benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca in vitro koşullarda tek bir bakteri cinsiyle biyofilm oluşturulabildiği gibi (monobiyofilm) birçok bakterinin bir arada bulunduğu biyofilmler üzerinde de çalışılmış ve tek bir cins bakteri ile oluşturulan dental biyofilm ile birçok mikroorganizmanın bir arada bulunduğu biyofilm arasında benzer yapısal özelliklerin olduğu görülmüştür (301-303).

Çalışmamızda diş yüzeylerinde biyofilm oluşturması amacıyla (*S. mutans*, ATCC 25175) bakteri suşu kullanılmıştır. *S. mutans*, çürük gelişiminde kilit role sahip olup çürük yüzeylerden tespit edilen başlıca patojenik ajan olarak tanımlanmıştır (304-306). Ayrıca, *S. mutans*; dental biyofilm içerisinde en fazla miktarda bulunan, bakteriler içerisinde en yüksek karyojeniteye sahip olan ve başlangıç çürük lezyonlarının oluşumunda birincil etki sahibi olan mikroorganizma çeşididir (301). *S. mutans* patogenezinin anahtar bileşeni; diş yüzeylerinde dental plak olarak bilinen biyofilm oluşturma yeteneği, tükürük tamponlama kapasitelerini aşan büyük miktarlarda glukoz ve asit üretebilmesi ve asidik ortamda yaşayabilme kabiliyetinin olmasıdır (306-308). Dolayısıyla, bu tez çalışmasında, CPP-ACP teknolojisi ile geliştirilmiş macun formunda olan Tooth Mousse ve içerisine farklı oranlarda gliserolik asit eklenen remineralizasyon ajanlarının antibakteriyel etkinlikleri, *S. mutans* ile oluşturulan monobiyofilm üzerinde değerlendirilmiştir.

Bakterilerin belirli bir yüzeye tutunmaları ile biyofilm oluşumunun ilk basamağı gerçekleşmektedir. Çeşitli in vitro çalışmalarda, biyofilm oluşturmak amacıyla, bakterilerin tutunabileceği birçok farklı yüzey kullanılmıştır. Bu yüzeyler; tercihen çekilmiş daimi veya süt dişleri, cam çubuklar, hidroksiapatit diskler, polistiren yüzeyler ya da akrilik diskler olabilmektedir. Chu ve ark.'nın (302) yaptığı

çalışmada, farklı yüzeylerde oluşturulan *S. mutans* biyofilmlerinin birbirleriyle canlılık açısından benzerlik gösterdiği bildirilmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında, gerçeğe en yakın sonuçları elde etmek için, fizyolojik kök rezorbsiyonu nedeni ile çekim endikasyonu konulan, 10-11 yaş arasındaki çocuklardan elde edilen çürüksüz, dolgu yapılmamış, mineralizasyon bozukluğu olmayan, mine yüzeyinde kırık ya da çatlak bulunmayan süt azı dişlerinin kullanılması tercih edilmiştir. Hazırladığımız mine örnekleri, üzerinde biyofilm oluşturma aşamasına geçilmeden önce; Janani ve ark'nın (309) çalışmalarında olduğu gibi 121°C de 15 psi basınçta 20 dk otoklavda sterilize edildi.

Mikroorganizmaların biyofilm meydana getirebilmesi için, öncelikle bir substrata adezyon sağlaması gerekmektedir (310). Bakterilerin adezyon ve kolonizasyon sağlayabilmesi ortamda tükürük komponentlerinin varlığı ve pelikül tabakasının formasyonuna bağlıdır (311, 312). Genellikle streptokokların belirli bir substrata adezyonuna, yapay tükürük veya insan tükürüğü gibi bir şartlandırma faktörü aracılık eder (310). Ayrıca pelikül tabakasının bileşenleri, bakterilerin adezyonunu sağlamak için reseptör görevini üstlenirler ve bakteriler fimbriyaları yardımıyla diş yüzeyine ya da adezinleriyle yüzeyde bulunan pelikül tutunurlar (301, 311, 312).

Yapılan bu tez çalışmasında, pelikül tabakasını oluşturabilmek amacıyla, mine örnekleri daha önce otoklavda sterilize etmiş olduğumuz yapay tükürük solüsyonu içerisinde bir süre bekletilmiş ve ardından biyofilm oluşturma aşamasına geçilmiştir.

Balhaddad ve ark.'nın (313), Gomez ve ark.'nın (314) ve Lu ve ark.'nın (315) çalışmalarında yapmış olduğu gibi, yapılan bu çalışmada da kullanılan *S. mutans* bakterileri Triptic Soy Broth besiyerinde, %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda, 37 °C'de, 24-72 sa inkübe edilip, çoğaltılmıştır.

*S. mutans*, glikoziltransferaz enzimlerinin etkisiyle sükrözü metabolize ederek adeziv glukanları sentezler ve bu glukanlar bakterinin diş yüzeyine sıkıca bağlanmasına aracılık eder (308). Bu sebeple, 2 haftalık inkübasyon periyodunun ardından, örneklerimiz günde 8 defa %10 sükröz içeren besiyerine 1 dk süre ile

yerleştirilmiş ve 1 dk sonra %2 glikoz içeren Tryptic Soy Broth besiyerine geri alınmıştır.

Mine yüzeyinde oluşturulan biyofilm üzerine, antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilen farklı ajanlar uyguladıktan sonra, Pourhajibagher ve ark.'nın (316) da çalışmalarında yapmış olduğu gibi, örnekler 300 µl kristal viyole boya ile boyanmış ve %95'lik 200 ml etanolde bekletilmiştir. Ardından, O'Toole'nin (317) çalışmasında olduğu gibi, 550 nm dalga boyunda olan plaka okuyucu kullanılarak biyofilm absorbans değerleri belirlenip, kaydedilmiştir.

Çalışmada kullanılan farklı içeriklerdeki ajanlara ait antibakteriyel etkilerin incelenmesi sonucu elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Çalışmanın sonucunda absorbans değerleri yani bakteri sayısını azaltmasına göre değerlendirildiğinde; kontrol grubuna göre sayısal olarak sırasıyla; Grup 2> Grup 3> Grup 1 olarak tespit edilmiş olsa da istatistiksel olarak bir anlamlılık göstermemiştir.

Literatür incelendiğinde, çalışmada kullanılan test materyallerinin antibakteriyel etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği benzer bir çalışma olmadığı görülmektedir. Literatürde CPP-ACP ile yapılan benzer çalışmalar mevcutken, glisirik asit içerikli materyallerle ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Padminee ve ark.'nın (318) 2018 yılında, CPP-ACP ve ksilitol içerikli sakızların kullanımı sonrası tükürük pH, tamponlama kapasitesi ve S. mutans seviyelerini ölçerek antikaryojenik etkinliği değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmalarında; 18-25 yaşları arasında 20 bireyin katıldığı rastgele iki grup oluşturulmuştur. 1. Gruba ksilitollü sakız, diğer gruba da CPP-ACP'li sakız iki hafta boyunca günde 3 kez kullanılmıştır. Bireylerden sakız kullanmaya başlamadan önce uyarılmamış tükürük, kullanım sonrası 24 sa sonunda ve 14. günde uyarılmış tükürükler toplanmış ve ölçülmüştür. Çalışmanın sonucuna göre, iki grupta da tükürük S. mutans seviyesinde azalma, tükürük pH'sında ve tamponlama kapasitesinde artış gözlenmiştir. 2. Gruptaki pH artışının 24 sa ve iki hafta sonunda 1. gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüş, ancak S. mutans

seviyesindeki azalma ve tamponlama kapasitesi açısından iki grup arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. CPP-ACP'nin tükürükteki S. mutans seviyesindeki azalmaya neden olmasının sebebi olarak, sütteki kazein fraksiyonlarının S. mutansların diş yüzeyine adezyonunu engellemesi ve ayrıca seçici olarak plak biyofilminin mikrobiyal içeriğini modüle etmesinden kaynaklandığını düşünmüşlerdir.

Benzer bir çalışma Hegde ve Thakkar (319) tarafından yapılmıştır. CPP-ACP ve ksilitol içerikli sakızların tüketimi öncesi ve sonrasında tükürük akış hızı, pH ve tamponlama kapasitesindeki değişimlerin karşılaştırılması ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır. 8-12 yaşları arasında 60 çocuktan oluşan çalışmada rastgele iki grup oluşturulmuştur. Çocuklara 10 dk boyunca sakızlar çiğnetilip uyarılmış ve uyarılmamış tükürük örnekleri toplanmıştır. İki çalışma grubu arasında tükürük akış hızı ve pH açısından anlamlı fark bulunmamıştır. Gruplar arası karşılaştırma, CPP-ACP grubunda tükürük tamponlama kapasitesinde ksilitole kıyasla anlamlı bir artış olduğunu göstermiştir.

Emamieh ve ark.'nın (320) yapmış olduğu, yaşları 20 ila 25 arasında değişen 60 diş hekimliği öğrencisinin katıldığı benzer bir çalışmada, CPP-ACP ve ksilitol içeren sakızın 3 hafta boyunca günde 3 kez kullanıldığı 2 grup oluşturulmuştur. Uyarılmamış ve uyarılmış tükürük değerleri ölçüldükten sonra, CPP-ACP'nin daha fazla olmakla beraber, iki grubun da tükürük S. mutans seviyesini önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir.

Yetkiner ve ark.'nın (321) CPP-ACP'nin beyaz nokta lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkisini ve S. mutans kolonizasyonu üzerindeki inhibitör etkisini değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmalarında; iki grup oluşturulmuş, ilk gruba CPP-ACP, kontrol grubuna ise florlu diş macunu kullanılmıştır. Öncesi ve 3 ay sonrasında DİAGNOdent yardımıyla yapılan ölçümler ve alınan tükürük örneklerindeki S. mutans sayısı incelenmiştir. İki grupta da 3 ay sonunda lezyonlarda gerileme gözlenmesine rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak, her iki grupta da 3 ay sonunda S. mutans sayısında anlamlı bir azalma izlenmiştir. CPP-ACP grubundaki lezyonların DIAGNOdent ölçümlerinde kontrol grubuna kıyasla hafif bir azalma göstermesi, CPP-ACP

kullanımı sonucunda macunun içeriğinde bulunan minerallerin ve kalsiyum, fosfat gibi iyonların fiziksel olarak tahrip olan hidroksiapatite diffüzyonu ile yeni hidroksiapatit kristalleri elde edilmesine ve erken çürük sürecinin tersine çevrilmesine neden olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmanın sonucunda, CPP-ACP'nin beyaz nokta lezyonları üzerinde hafif bir remineralizasyon etkisine sahip olduğunu, ancak daha büyük değişimin devam edip etmediğini doğrulamak için daha uzun gözlem yapılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Dashper ve ark.'nın (322) yaptığı in vitro bir çalışmada, konfokal lazer tarayıcı mikroskopla değerlendirilen, %3 CPP-ACP içeren bir cam iyonomer simanın biyofilm gelişimini önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir. Sulu %1 CPP-ACP ile 10 dk boyunca tek bir uygulamanın, oluşturulan *S. mutans* biyofilmlerinin biyokütle, kalınlığını ve yapısal mimarisini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir.

Poureslami ve ark.'nın (323) 6-9 yaşları arasındaki 25 çocuktan oluşan klinik çalışmalarında, öncelikle uyarılmamış tükürük ve üst çene 1. süt molar dişlerin bukkal yüzeyinden plak örnekleri alınmıştır. Yapılan CPP-ACP uygulamasının ardından tekrarlanan ölçümler sonrası; CPP-ACP uygulama öncesi ve sonrasında tükürük ve plaktaki kalsiyum, fosfat ve flor konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken, tükürük flor seviyesindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Heshmant ve ark. (324) ile Marchisio ve ark.'nın (325) gerçekleştirdiği çalışmalar sonucunda; ortodontik hastalarda, CPP-ACP'nin plak ve tükürük pH seviyelerini yükselttiği ve oral hijyen indeksini iyileştirdiği bildirilmiştir.

Reynolds ve ark.'ı (326) CPP-ACP'nin sakız ya da ağız çalkalama suyuna eklenmesi sonrası kullanımında, supragingival plağı değerlendirmiş ve CPP-ACP içeren ağız çalkalama suyunun, subgingival plaktaki kalsiyum ve inorganik fosfat seviyesini önemli ölçüde artırdığını ve CPP-ACP içeren sakız çiğnedikten 3 sa sonra bile plakta hala tespit edilebildiğini bildirmişlerdir. Rose'un (327) çalışmasında ise; supragingival plak örneklerinin SEM incelemelerinde, CPP-ACP'nin plağın hücre içi matrisine ve bakteri hücrelerinin yüzeyine bağlı olduğu ve CPP-ACP'nin *S. mutans*'a ve plağa sıkıca bağlandığı sonucuna varılmıştır.



Sankeshwari ve ark.'nın (328) lokal olarak hazırlanmış meyan kökü içerikli vernik (LV), flor vernik (FV) ve her iki verniğin kombinasyonunun (C) fiziksel özelliklerini değerlendirdikleri çalışmalarında; FV (Bifluorid 12) grubunu, pozitif kontrol olarak kullanmışlardır. Her 3 grup da S. mutanslara karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca, meyan kökünün daha ekonomik ve kolay temin edilebilir olması avantajları içerisinde yer alırken, daha kısa raf ömrüne sahip olması gibi dezavantajları da bildirilmiştir.

Almaz ve ark.'nın (101) çürüksüz ve yüksek çürük riskli çocuklarda S. mutanslar üzerinde meyan kökü içerikli lollipopun etkinliğini değerlendirdikleri, 5-11 yaşları arasında karışık dişlenme döneminde olan 108 çocuğun katılmış olduğu çalışmalarında; çürüğü olmayanlar, yüksek çürük riskli olup tedavileri lollipop kullanımı öncesi yapılanlar ve diş tedavileri yapılmamış olan yüksek çürük riskli çocuklar olarak üç grup oluşturulmuştur. Her grup kendi içinde 2 alt gruba ayrılmış olup, tüm alt grupların yarısına bitkisel içerikli diğer yarısına da plasebo lollipop kullanılmıştır. Alınan tükürük örnekleri sonucunda; 10 günlük kullanım sonrası yüksek çürük riskli, tedavileri yapılmamış, meyan kökü içerikli lollipop kullanan çocuklarda tükürükteki S.mutans seviyesinde anlamlı derecede düşüş olduğu bildirilmiştir. Üç aylık kullanım sonrasında ise aynı grupta S.mutans seviyesinde artış gözlenirken, çürüksüz ve tedavileri yapılmış yüksek çürük riskli, meyan kökü içerikli lollipop kullanan bireylerde ve tüm plasebo gruplarında S. mutans seviyesinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Yüksek çürük riskli, tedavileri yapılmamış, meyan kökü içerikli lollipop kullanan çocuklarda gözlenen etkinin, lollipop kullanımından önce yüksek S. mutans seviyeleri ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Sadece bu grupta, 3 ay sonunda S. mutans seviyesindeki artışın, 3 aylık periyotta diş hekiminin kontrol eksikliğinden kaynaklanabileceği ya da çocukların eski oral hijyen ve beslenme alışkanlıklarına geri dönmüş olabileceği düşünülmüştür.

Ajagannavar ve ark.'ı (329) yaptıkları çalışmalarında, S. mutans ve Lactobacillus acidophilus (L. Acidophilus) suşları üzerinde, sulu ve alkollü meyan kökü özü ile klorheksidin (CHX) etkinliğini karşılaştırmışlardır. S. mutans ve L. acidophilus'a karşı alkollü meyan kökü özü uygulanması sonucu gözlenen inhibitör etkinin, sulu form ve CHX'inkine kıyasla daha üstün olduğunu bildirmişlerdir.

İnhibitör etkinin, alkollü olanda sulu olana göre neden daha yüksek olduğu bilinmemekle beraber, meyan kökü bileşiğinin alkolde daha iyi çözünebilme kapasitesine, daha iyi biyoyararlanıma ve antibakteriyel bileşiklerin polaritesine bağlı olabileceği ve bu durumun da bileşiğin organik çözücüler tarafından daha kolay ekstrakte edilmesini sağlayabileceği ifade edilmiştir.

Bahsi geçen bu çalışmalarda da belirtildiği gibi, çalışmamızda da CPP-ACP ve glisirizik asit içerikli CPP-ACP ajanlarının her ikisinde de kontrol grubuna kıyasla biyofilmin azaldığı, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Çalışma sonucunda kontrol grubu ile kıyaslandığında; inhibisyon değerindeki azalma CPP-ACP grubunda %9,45; CPP-ACP + %5 Glisirizik asit grubunda %11,62 ve CPP-ACP + %10 Glisirizik asit grubunda %9,52 olarak bulunmuştur. Bu sonuçların, sütteki kazein fraksiyonlarının S. mutansların dış yüzeyine adezyonunu engellemesi ve seçici olarak plak biyofilminin mikrobiyal içeriğini değiştirmesinden, meyan kökünün ise S. mutansların glikoziltransferaz enzimi aktivitesine müdahale ederek biyofilm oluşumu için gerekli olan çözünmeyen glukanların sentezini inhibe etmesinden dolayı oluşabileceği düşünülmüştür. Ancak bu azalma, materyaller uygulanırken yapılan fırçalama sonucunda da gerçekleşmiş olabilir. Bu sebeple bu materyalleri kapsayan ileri çalışmalara gerek vardır.

Bu çalışma; deneysel olarak CPP-ACP teknolojisi ile geliştirilmiş macun formunda olan Tooth Mousse ve içerisine farklı oranlarda glisirizik asit eklenen remineralizasyon ajanlarının başlangıç mine çürüğü oluşturulan süt dişi mine yüzeyine uygulanmasının, remineralizasyona etkilerini tespit etmek, mine yüzey değişikliklerini saptamak, antibakteriyel etkinliklerini değerlendirmek ve bu yolla koruyucu diş hekimliğine katkıda bulunmak amacıyla planlandı. Bahsi geçen materyal ilaveleri gerçekleştirilen ve içeriği zenginleştirilerek oluşturulan materyaller, başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu üzerine etkinliğini bozmadığı ve antibakteriyel etkinlik değerlendirildiğinde, antibakteriyel etkinliği artırdığı fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

Test edilen hipotez, süt dişleri mine yüzeyi üzerinde, farklı içeriklere sahip remineralizasyon ajanlarının kullanımının, remineralizasyon etkinliğini artırabileceği

ve antibakteriyel etkinlik gösterebileceğidir. Çalışmadan elde ettiğimiz verilere göre; tüm gruplarda uygulanan remineralizasyon materyallerinin, süt dişi minesinde oluşturulan yapay çürük lezyonlarının remineralizasyonunu olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Uygulanma sonrası antibakteriyel etkinlik değerlendirildiğinde ise, materyallerin antibakteriyel etkinliğe katkıda bulunduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasından elde edilen verilerin tümü değerlendirildiğinde şu sonuçlar tespit edilmiştir;

1. Vickers mikrosertlik ve SEM analizleri değerlendirildiğinde çalışmada kullanılan tüm materyallerin başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağladığı tespit edilmiş ve ajanların başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunda başarı ile kullanılabileceği düşünülmektedir.
2. Süt dişi örneklerinde oluşturulan başlangıç mine lezyonlarının mikrosertlik değerleri, sağlam minenin mikrosertlik değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Başlangıç mine lezyonu oluşturmada, 96 sa gibi bir süre yeterli bulunmuştur.
3. Süt dişi örneklerinde remineralizasyon değerleri demineralizasyon değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Üç diş macununun da etkili remineralizasyon yaptığı görülmüştür. Ancak, remineralizasyon değerleri incelendiğinde, hiçbir grupta başlangıç mikrosertlik değerine ulaşamadığı tespit edilmiştir.
4. Gruplardan alınan mine örneklerinin SEM görüntüleri değerlendirildiğinde; demineralizasyon sonrası mine yüzeylerinde gözlenen porözitelerin remineralizasyon ajanlarının uygulanması sonrasında daha az izlendiği, daha düzgün bir yüzey elde edildiği görülmüştür.
5. Çalışmada kullanılan materyaller, antibakteriyel etki açısından değerlendirildiğinde, tüm ajanların, oluşturulan *S. mutans* biyofilmi üzerine uygulanmalarının ardından, biyofilm absorbans değerinde azalma olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, tüm materyaller arasında en yüksek antibakteriyel etkinin sayısal olarak sırasıyla Grup 2> Grup 3> Grup 1'de gözlendiği ancak, istatistiksel olarak kontrol grubuyla aralarında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir.
6. Bu çalışmada Tooth Mousse içerisine eklenen glisirizik asidin, başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu engellemediğini ve antibakteriyel etkinliğini artırdığı fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

Ancak, glisirizik asit içerikli ajanların başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu ve uzun vadede antibakteriyel etkinliğinin kesin olarak belirlenebilmesi için daha çok sayıda in vivo ve in vitro çalışma yapılması gerekmektedir.

Günümüze kadar, ideal remineralizasyon ajanını elde edebilmek için pek çok çalışma yapılmış olmasına karşın, daha iyi ve ekonomik bir materyal için arayışların süreceği kuşkusuzdur. Bu çalışmadan elde edilen verilerden yola çıkarak, CPP-ACP ve glisirik asit içerikli CPP-ACP ajanlarının hassas mine yüzeyine sahip olan ve organik içeriği yüksek süt dişlerinde etkili bir remineralizasyon gösterdiği, bu nedenle EÇÇ başlangıcı görülen çocuklarda çürüğün etkin şekilde önlenmesi için tavsiye edilebileceği kanaatindeyiz. Glisirizik asit içerikli ajanların remineralizasyon etkinliğini klinik ortamda da kanıtlayabilmesi için, bulgularımızın in vivo ortamda yapılan çalışmalarla desteklenmeye ihtiyacı olduğunu düşünüyoruz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Summitt JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS, Dos Santos Jr J. Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach. 3 ed. Hanover Park, IL: Quintessence Pub.; 2-4, 2006.
2. Pardi V, Sinhoreti MAC, Pereira AC, Ambrosano GMB, Meneghim MdC. In vitro evaluation of microleakage of different materials used as pit-and-fissure sealants. *Braz Dent J*, 17(1):49-52, 2006.
3. Arends J, Christoffersen J. Invited review article: the nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res*, 65(1):2-11, 1986.
4. Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr*, 134(4):989-95, 2004.
5. Nagarathana C, Sakunthala BK, Naveena Preethi P. An update on current remineralizing agent. *Oral Health Dent Manag*, 14(4):183-87, 2015.
6. Chokshi K, Chokshi A, Konde S, Shetty SR, Chandra KN, Jana S, ve ark. An in vitro comparative evaluation of three remineralizing agents using confocal microscopy. *J Clin Diagn Res*, 10(6):39-42, 2016.
7. Jeon JG, Rosalen PL, Falsetta ML, Koo H. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. *Caries Res*, 45(3):243-63, 2011.
8. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ*, 65(9):896-905, 2001.
9. Roth KK, Struss N, Ahrens G. Histologic verification of the reliability of clinical caries diagnoses. *Deutsche zahnärztliche Zeitschrift*, 45(12):782-84, 1990.
10. Hu JCC, Chun YHP, Al Hazzazzi T, Simmer JP. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*, 186(1):78-85, 2007.
11. Marthaler TM. Changes in dental caries 1953–2003. *Caries Res*, 38(3):173-81, 2004.
12. Robinson C, Brookes SJ, Shore RC, Kirkham J. The developing enamel matrix: nature and function. *Eur J Oral Sci*, 106(S1):282-91, 1998.
13. Hara AT, Zero DT. The caries environment: saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. *Dental Clinics*, 54(3):455-67, 2010.

14. Imanishi H, Nishino M. Post eruptive maturation of immature young permanent enamel. *Journal of the International Association of Dentistry for Children*, 14(2):49-54, 1983.
15. Thaveesangpanich P, Itthagaran A, King NM, Wefel JS. The effects of child formula toothpastes on enamel caries using two in vitro pH-cycling models. *Int Dent J*, 55(4):217-23, 2005.
16. Hosoya Y. Resin adhesion to the ground young permanent enamel: influence of etching times and thermal cycling test. *J Clin Pediatr Dent*, 18(2):115-22, 1994.
17. Murdoch-Kinch CA, McLean ME. Minimally invasive dentistry. *J Am Dent Assoc*, 134(1):87-95, 2003.
18. Balsaraf S, Chole R. Epidemiology of dental caries—A review. *Univ Res J Dent*, 6(3):206-06, 2016.
19. He Xs, Shi Wy. Oral microbiology: past, present and future. *Int J Oral Sci*, 1(2):47, 2009.
20. Zero DT. Dental caries process. *Dent Clin North Am*, 43(4):635-64, 1999.
21. Harris R, Nicoll AD, Adair PM, Pine CM. Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. *Community Dent Health*, 21(1):71-85, 2004.
22. Thylstrup A, Fejerskov O. Clinical and pathological features of dental caries: In: *Textbook of clinical cariology*. In: 2, eds. Copenhagen: Munksgaard; 130-36, 1995.
23. Cury JA, Tenuta LMA. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res*, 23:23-30, 2009.
24. Tinanoff N, Palmer CA. Dietary determinants of dental caries and dietary recommendations for preschool children. *J Public Health Dent*, 60(3):197-206, 2000.
25. Mundorff-Shrestha SA, Featherstone JDB, Eisenberg A, Cowles E, Curzon MEJ, Espeland MA, et al. Cariogenic potential of foods. *Caries Res*, 28(2):106-15, 1994.
26. Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res*, 9(3):214-30, 1995.

27. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet*, 369(9555):51-59, 2007.
28. Van Houte J. Microbiological predictors of caries risk. *Adv Dent Res*, 7(2):87-96, 1993.
29. Chandki R, Banthia P, Banthia R. Biofilms: A microbial home. *J Indian Soc Periodontol*, 15(2):111, 2011.
30. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent*, 28(1):47-52, 2004.
31. Marsh PD. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. *Dent Clin North Am*, 54(3):441-54, 2010.
32. Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J*, 45(4):235-45, 2000.
33. Peker K, Bermek G. Diş çürüklerinin etiyolojisinde ve önlenmesinde fermente olabilen karbonhidratların önemi. *J Istanbul Univ Fac Dent*, 42(3-4):1, 2008.
34. Preston AJ, Edgar WM. Developments in dental plaque pH modelling. *J Dent*, 33(3):209-22, 2005.
35. Neel EAA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, ve ark. Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. *International journal of nanomedicine*, 11:4743-63, 2016.
36. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of saliva and dental plaque in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 1). *J Clin Pediatr Dent*, 28(1):47-52, 2003.
37. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Erratum: Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent*, 28(3):203-14, 2004.
38. Pınkham JR. *Infancy Through Adolescence*. *Pediatr Dent*. 3 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 174-76, 1999.
39. Reisine S, Douglass JM. Psychosocial and behavioral issues in early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol*, 26(S1):32-44, 1998.



40. Pediatrics AAO. Policy on early childhood caries (ECC): classifications, consequences, and preventive strategies. *Pediatr Dent*, 30(7):40, 2007.
41. Tinanoff N, O'sullivan DM. Early childhood caries: overview and recent findings. *Pediatr Dent*, 19(1):12-16, 1997.
42. Roberson TM, Heyman HO, Swift EJ. Introduction to Art and Science of Operative Dentistry. 5 ed. St.Louis: Mosby Co; 67-134, 2011.
43. Øgaard B. White spot lesions during orthodontic treatment: mechanisms and fluoride preventive aspects. *Seminars in Orthodontics*; 2008: Elsevier; 2008. p. 183-93.
44. Ten Cate JM, Mundorff-Shrestha SA. Working group report 1: laboratory models for caries (in vitro and animal models). *Adv Dent Res*, 9(3):332-34, 1995.
45. Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM, Winston AE. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent*, 10(1):13-16, 1999.
46. Ten Cate JM. In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res*, 8(2):125-33, 1994.
47. Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent*, 29(5):371-76, 2001.
48. Staninec M, Giles WS, Saiku JM, Hattori M. Caries penetration and cement thickness of three luting agents. *Int J Prosthodont*, 1(3):259-63, 1988.
49. Featherstone JD. Fluoride, remineralization and root caries. *Am J Dent*, 7(5):271-74, 1994.
50. Featherstone JDB. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater*, 12(3):194-97, 1996.
51. Stookey GK, Warrick JM, Miller LL, Greene AL. Animal caries models for evaluating fluoride dentifrices. *Adv Dent Res*, 9(3):198-207, 1995.
52. DeLong R, Douglas WH. An artificial oral environment for testing dental materials. *IEEE Trans Biomed Eng*, 38(4):339-45, 1991.
53. O'reilly MM, Featherstone JDB. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 92(1):33-40, 1987.

54. 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*, 36(1):44-52, 2002.
55. Al-Khateeb SN, Tarazi SJ, Al Maaitah EF, Al-Batayneh OB, Alhajja EA. Does acid etching enhance remineralisation of arrested white spot lesions? *Eur Arch Paediatr Dent*, 15(6):413-19, 2014.
56. Young DA. New caries detection technologies and modern caries management: merging the strategies. *Gen Dent*, 50(4):320-31, 2002.
57. Featherstone JDB, Ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res*, 17(5):385-91, 1983.
58. Schlüter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res*, 45(1):13-23, 2011.
59. Kargul B, Özcan M, Peker S, Nakamoto T, Simmons WB, Falster AU. Evaluation of human enamel surfaces treated with theobromine: a pilot study. *Oral Health Prev Dent*, 10(3):275-82, 2012.
60. Al-Nazhan S. SEM observations of the attachment of human periodontal ligament fibroblasts to non-demineralized dentin surface in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97(3):393-97, 2004.
61. Önal B, Özata F, Diekwisch TGH. Dis sert dokularında taramalı elektron mikroskobu atlası. izmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 2003.
62. Ten Cate JM, Duijsters PPE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res*, 16(3):201-10, 1982.
63. Arends J, Ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*, 71:924-28, 1992.
64. Borisova E, Uzunov T, Avramov L. Laser-induced autofluorescence study of caries model in vitro. *Lasers Med Sci*, 21(1):34-41, 2006.
65. Akın M. Ortodontik tedavi sırasında oluşabilen white spot lezyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan üç tane yöntemin etkinliklerinin karşılaştırılması [Doktora Tezi]. Konya (Danışman: Prof. Dr. Faruk Ayhan Başçiftçi). Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2011.

66. Lussi A, Hibst R, Paulus R. DIAGNOdent: an optical method for caries detection. *J Dent Res*, 83(1):80-83, 2004.
67. Lussi A, Imwinkelried S, Pitts NB, Longbottom C, Reich E. Performance and reproducibility of a laser fluorescence system for detection of occlusal caries in vitro. *Caries Res*, 33(4):261-66, 1999.
68. Korkut B, Tağtekin DA, Yanıkoğlu FÇ. Diş çürüklerinin erken teşhisi ve teşhiste yeni yöntemler: QLF, Diagnodent, elektriksel iletkenlik ve ultrasonik sistem. *Ege Üniv Diş Hek Fak Derg*, 32:55-67, 2011.
69. Teo TK-Y, Ashley PF, Louca C. An in vivo and in vitro investigation of the use of ICDAS, DIAGNOdent pen and CarieScan PRO for the detection and assessment of occlusal caries in primary molar teeth. *Clin Oral Investig*, 18(3):737-44, 2014.
70. Davis GR, Wong FS. X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiol Meas*, 17(3):121-46, 1996.
71. Savaş S, Küçükyılmaz E. Diş hekimliğinde kullanılan remineralizasyon ajanları ve çürük önleyici ajanlar. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*, 24(9):113-25, 2014.
72. Ellwood R, Fejerskov O. Clinical use of fluoride. I: Fejerskov O, Kidd EAM., red. *Dental caries, the disease and its clinical management* København: Blackwell Munksgaard:189-222, 2003.
73. Moi GP, Tenuta LMA, Cury JA. Anticaries potential of a fluoride mouthrinse evaluated in vitro by validated protocols. *Braz Dent J*, 19(2):91-96, 2008.
74. Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE. Ortodontide beyaz nokta lezyonları ve güncel teşhis, korunma ve Tedavi yaklaşımları. *Cumhuriyet Dental Journal*, 12(2):152-61, 2009.
75. Alsaffar A, Tantbirojn D, Versluis A, Beiraghi S. Protective effect of pit and fissure sealants on demineralization of adjacent enamel. *Pediatr Dent*, 21:446-51, 2011.
76. Nalbantgil D, Oztoprak MO, Cakan DG, Bozkurt K, Arun T. Prevention of demineralization around orthodontic brackets using two different fluoride varnishes. *Eur J Dent*, 7(1):41-47, 2013.

77. Koçyiğit C, Bezgin T, Özalp N. Erken Çocukluk Çağı Çürüklerinde Diş Macunlarının Rolü. *Türkiye Klinikleri J Restor Dent-Special Topics*, 3(1):25-29, 2017.
78. Peng J-Y, Botelho MG, Matinlinna JP. Silver compounds used in dentistry for caries management: a review. *J Dent*, 40(7):531-41, 2012.
79. Zhi QH, Lo ECM, Kwok ACY. An in vitro study of silver and fluoride ions on remineralization of demineralized enamel and dentine. *Aust Dent J*, 58(1):50-56, 2013.
80. Gao SS, Zhao IS, Hiraishi N, Duangthip D, Mei ML, Lo ECM, ve ark. Clinical trials of silver diamine fluoride in arresting caries among children: a systematic review. *JDR Clin Trans Res*, 1(3):201-10, 2016.
81. Srilatha KT, Nikitha BS, Sukumaran A, Bhargavi M, George R. Non Fluoridated Remineralizing Agents—A Review. *Archives of Dental and Medical Research*, 2(3):58-66, 2016.
82. Hedberg M, Hasslöf P, Sjöström I, Twetman S, Stecksén-Blicks C. Sugar fermentation in probiotic bacteria—an in vitro study. *Mol Oral Microbiol*, 23(6):482-85, 2008.
83. Soderling E, Isokangas P, Pienihäkkinen K, Tenovuo J. Influence of maternal xylitol consumption on acquisition of mutans streptococci by infants. *J Dent Res*, 79(3):882-87, 2000.
84. Takatsuka T, Exterkate RAM, Jacob M. Effects of Isomalt on enamel de-and remineralization, a combined in vitro pH-cycling model and in situ study. *Clin Oral Investig*, 12(2):173-77, 2008.
85. Birkhed D, Edwardsson S, Kalfas S, Svensäter G. Cariogenicity of sorbitol. *Swed Dent J*, 8(3):147-54, 1984.
86. Splieth CH, Alkilzy M, Schmitt J, Berndt C, Welk A. Effect of xylitol and sorbitol on plaque acidogenesis. *Quintessence Int*, 40(4), 2009.
87. Moore JP, Le NT, Brandt WF, Driouich A, Farrant JM. Towards a systems-based understanding of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci*, 14(2):110-17, 2009.
88. Kutlu Z. Meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) ve Karanfil (*Syzygium aromaticum*) Baharatlarından Elde Edilen Ekstraktların invitro Antioksidan

Özelliklerinin Araştırılması [Yüksek Lisans]. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2013.

89. Akan H, Balos M. GAP Bölgesi'nden toplanan meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.) taksonunun ihracat durumu, etnobotanik özellikleri ve tıbbi önemi. Fırat Üniv Fen ve Mühendislik Bilimleri Derg, 20(2):233-41, 2008.
90. Şerbetçi H. Meyan (*Glycyrrhiza glabra* l.) Bitkisinin Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2007.
91. Öztürk M, Altay V, Hakeem KR, Akçiçek E. Licorice: From Botany to Phytochemistry. 1 ed: Springer; 31-40, 2018.
92. Onkarappa R, Shobha KS, Chaya K. Efficacy of four medicinally important plant extracts (crude) against pathogenic bacteria. Asian J Microbiol Biotechnol Environ Sci, 7(2):281-84, 2005.
93. He J, Chen L, Heber D, Shi W, Lu Q-Y. Antibacterial Compounds from *Glycyrrhiza uralensis*. J Nat Prod, 69(1):121-24, 2006.
94. Sela MN, Steinberg D, Segal R. Inhibition of the activity of glucosyltransferase from *Streptococcus mutans* by glycyrrhizin. Oral Microbiol Immunol, 2(3):125-28, 1987.
95. Shaikh S, Kumar SM. Beneficial effects of specific natural substances on oral health. Saudi Med J, 38(12):1181, 2017.
96. Messier C, Epifano F, Genovese S, Grenier D. Licorice and its potential beneficial effects in common oro-dental diseases. Oral Dis, 18(1):32-39, 2012.
97. Bergeron C, Bodet C, Gafner S, Michaud A, Dumas L, Grenier D. Effects of licorice on *Porphyromonas gingivalis* growth and biofilm viability. J Dent Res, 87:1277, 2008.
98. Choi EM. The licorice root derived isoflavan glabridin increases the function of osteoblastic MC3T3-E1 cells. Biochem Pharmacol, 70(3):363-68, 2005.
99. Das SK, Das V, Gulati AK, Singh VP. Deglycyrrhizinated licorice in aphthous ulcers. J Assoc Physicians India, 37(10):647, 1989.

100. Peters MC, Tallman JA, Braun TM, Jacobson JJ. Clinical reduction of *S. mutans* in pre-school children using a novel liquorice root extract lollipop: a pilot study. *Eur Arch Paediatr Dent*, 11(6):274-78, 2010.
101. Almaz ME, Sönmez IŞ, Ökte Z, Oba AA. Efficacy of a sugar-free herbal lollipop for reducing salivary *Streptococcus mutans* levels: a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig*, 21(3):839-45, 2017.
102. Perumalla AVS, Hettiarachchy NS. Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. *Food Res Int*, 44(4):827-39, 2011.
103. Green B, Yao X, Ganguly A, Xu C, Dusevich V, Walker MP, ve ark. Grape seed proanthocyanidins increase collagen biodegradation resistance in the dentin/adhesive interface when included in an adhesive. *J Dent*, 38(11):908-15, 2010.
104. Jawale KD, Kamat SB, Patil JA, Nanjannawar GS, Chopade RV. Grape seed extract: An innovation in remineralization. *J Conserv Dent*, 20(6):415-18, 2017.
105. Zhang T-T, Guo H-J, Liu X-J, Chu J-P, Zhou X-D. *Galla chinensis* compounds remineralize enamel caries lesions in a rat model. *Caries Res*, 50(2):159-65, 2016.
106. Chu JP, Li JY, Hao YQ, Zhou XD. Effect of compounds of *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel carious lesions in vitro. *J Dent*, 35(5):383-87, 2007.
107. Kato M, Mizuno K, Fujimura T, Iwama M, Irie M, Crozier A, ve ark. Purification and characterization of caffeine synthase from tea leaves. *Plant Physiol*, 120(2):579-86, 1999.
108. Mete S. Teobromin içeren diş macununun remineralizasyon potansiyelinin değerlendirilmesi [Doktora Tezi ]. İstanbul Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2014.
109. Syafira G, Permatasari R, Wardani N. Theobromine effects on enamel surface microhardness: In Vitro. *J Dent Indones*, 19(2):32-36, 2013.

110. Zhang J, Boyes V, Festy F, Lynch RJ, Watson TF, Banerjee A. In-vitro subsurface remineralisation of artificial enamel white spot lesions pre-treated with chitosan. *Dent Mater*, 34(8):1154-67, 2018.
111. Yıldırım Z, Öncül N, Yıldırım M. Kitosan ve antimikrobiyal özellikleri Ömer Halisdemir Üniv Mühendislik Bilimleri Derg, 5(1):19-36, 2015.
112. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *Int J Food Microbiol*, 144(1):51-63, 2010.
113. Muzzarelli R, Tarsi R, Filippini O, Giovanetti E, Biagini G, Varaldo PE. Antimicrobial properties of N-carboxybutyl chitosan. *Antimicrob Agents Chemother*, 34(10):2019-23, 1990.
114. Cerruti M, Greenspan D, Powers K. Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass® 45S5. *Biomaterials*, 26(14):1665-74, 2005.
115. Hench LL, West JK. *Biological applications of bioactive glasses*. 3 ed: Harwood Academic Publishers; 187-241, 1996.
116. Burwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin®): remineralization potential. *Adv Dent Res*, 21(1):35-39, 2009.
117. Prabhakar AR, Arali V. Comparison of the remineralizing effects of sodium fluoride and bioactive glass using bioerodible gel systems. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 3(4):117-21, 2009.
118. Jeong SH, Jang SO, Kim KN, Kwon HK, Park YD, Kim BI. Remineralization potential of new toothpaste containing nano-hydroxyapatite. *Key Eng Mater*, 309:537-40, 2006.
119. Grenho L, Barros J, Ferreira C, Santos VR, Monteiro FJ, Ferraz MP, ve ark. In vitro antimicrobial activity and biocompatibility of propolis containing nanohydroxyapatite. *Biomed Mater*, 10(2):1-8, 2015.
120. Vano M, Derchi G, Barone A, Covani U. Effectiveness of nano-hydroxyapatite toothpaste in reducing dentin hypersensitivity: a double-blind randomized controlled trial. *Quintessence Int*, 45(8):703-11, 2014.
121. Reynolds EC, Cain CJ, Webber EL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, ve ark. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res*, 74(6):1272-79, 1995.

122. Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist*, 18(1):8-16, 1998.
123. Çetin B, Avşar A, Ulusoy AT. Kazein içerikli besinler ve dental ürünler. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*, 2011(4):24-31, 2011.
124. Ekçi ES, Özenen DÖ. Süt Dişlerinde Görülen Beyaz Nokta Lezyonlarının Remineralizasyon Tedavilerinde Güncel Yaklaşımlar. *Türkiye Klinikleri J Restor Dent-Special Topics*, 3(1):19-24, 2017.
125. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent*, 35(8):695-98, 2007.
126. Reynolds EC, Black CL. Reduction of chocolate's cariogenicity by supplementation with sodium caseinate. *Caries Res*, 21(5):445-51, 1987.
127. Azarpazhooh A, Limeback H. Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc*, 139(7):915-24,94-95, 2008.
128. Keleş K. Mine yüzeyindeki beyaz lezyonların "CPP-ACP" ile remineralizasyonu sonrası braket bağlanma dayanımlarının incelenmesi: in vitro çalışma. [Doktora tezi]. Adana: Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2010.
129. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res*, 80(12):2066-70, 2001.
130. Riordan PJ. Dental fluorosis, dental caries and fluoride exposure among 7-year-olds. *Caries Res*, 27(1):71-77, 1993.
131. Mazzaoui SA, Burrow MF, Tyas MJ, Dashper SG, Eakins D, Reynolds EC. Incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass- ionomer cement. *J Dent Res*, 82(11):914-18, 2003.
132. Cross KJ, Huq NL, Stanton DP, Sum M, Reynolds EC. NMR studies of a novel calcium, phosphate and fluoride delivery vehicle- $\alpha$ (S1)-casein(59-



- 79) by stabilized amorphous calcium fluoride phosphate nanocomplexes. *Biomaterials*, 25(20):5061-69, 2004.
133. Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res*, 42(2):88-97, 2008.
134. Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC. Comparison of the remineralization potential of CPP-ACP and CPP-ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study. *Arch Oral Biol*, 55(7):541-4, 2010.
135. Walsh LJ. Contemporary technologies for remineralization therapies: A review. *Int Dent SA*, 11(6):6-16, 2009.
136. Tavassoli-Hojjati S, Atai M, Haghgoo R, Rahimian-Imam S, Kameli S, Ahmaian- Babaki F, ve ark. Comparison of various concentrations of tricalcium phosphate nanoparticles on mechanical properties and remineralization of fissure sealants. *J Dent Tehran* 11(4):379- 88, 2014.
137. Brunton PA, Davies RPW, Burke JL, Smith A, Aggeli A, Brookes SJ, ve ark. Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides—a clinical safety trial. *Br Dent J*, 215-216(4):E6, 2013.
138. Chow LC, Guo MK, Hsieh CC, Hong YC. Apatitic fluoride increase in enamel from a topical treatment involving intermediate  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  formation, an in vivo study. *Caries Res*, 15(5):369-76, 1981.
139. Sullivan RJ, Masters J, Cantore R, Roberson A, Petrou I, Stranick M, ve ark. Development of an enhanced anticaries efficacy dual component dentifrice containing sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate. *Am J Dent*, 14:3-11, 2001.
140. Lynch RJ, ten Cate JM. The anti-caries efficacy of calcium carbonate-based fluoride toothpastes. *Int Dent J*, 55(3):175-78, 2005.
141. O'Mullane DM, Kavanagh D, Ellwood RP, Chesters RK, Schafer F, Huntington E, ve ark. A three-year clinical trial of a combination of trimetaphosphate and sodium fluoride in silica toothpaste. *J Dent Res*, 76:1776–81, 1997.

142. Danelon M, Takeshita EM, Sasaki KT, Delbem AC. In situ evaluation of a low fluoride concentration gel with sodium trimetaphosphate in enamel remineralization. *Am J Dent*, 26(1):15-20, 2013.
143. Jablonski-Momeni A, Klein SMC. In-vivo performance of the CarieScan pro device for detection of occlusal dentine lesions. *Open Access Journal of Science and Technology*, 3:6, 2015.
144. Lundeen TF. Cariology: the lesion, etiology, prevention, and control. *The art and science of operative dentistry*; 60-128, 1995.
145. Goswami M, Saha S, Chaitra TR. Latest developments in non-fluoridated remineralizing technologies. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 30(1):2-6, 2012.
146. Elliott JC. Structure, crystal chemistry and density of enamel apatites. In: Derek JC, Gail C, editors. *Ciba Foundation Symposium 205-Dental Enamel*; 2007: Wiley Online Library; 2007. p. 54-72.
147. Erickson RL, Glasspoole EA. Model investigations of caries inhibition by fluoride-releasing dental materials. *Adv Dent Res*, 9(3):315-23, 1995.
148. Tuncer S, Demirci M, Tekçe N. Minimal İnvaziv Diş Hekimliği Kavramı, Yaklaşımı ve Stratejisi. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci-Special Topics*, 5(3):1-11, 2014.
149. Lee JK. Restoration of primary anterior teeth: review of the literature. *Pediatr Dent*, 24(5):506-10, 2002.
150. Usha M, Deepak V, Venkat S, Gargi M. Treatment of severely mutilated incisors: a challenge to the pedodontist. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 25(5):34-36, 2007.
151. Slabšinskienė E, Milčiuvienė S, Narbutaitė J, Vasiliauskienė I, Andruškevičienė V, Bendoraitienė EA, ve ark. Severe early childhood caries and behavioral risk factors among 3-year-old children in Lithuania. *Medicina (B Aires)*, 46(2):135-41, 2010.
152. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials—fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater*, 23(3):343-62, 2007.

153. Peters MC, Bresciani E, Barata TdJE, Fagundes TC, Navarro RL, Navarro MFdL, ve ark. In vivo dentin remineralization by calcium-phosphate cement. *J Dent Res*, 89(3):286-91, 2010.
154. Longbottom C, Ekstrand K, Zero D, Kambara M. Novel preventive treatment options. In: Pitts NB, eds. *Detection, Assessment, Diagnosis and Monitoring of Caries*: Karger Publishers; 156-63, 2009.
155. Rošin-Grget K, Peroš K, Šutej I. The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Med Acad*, 42(2):179-88, 2013.
156. Li J, Xie X, Wang Y, Yin W, Antoun JS, Farella M, ve ark. Long-term remineralizing effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on early caries lesions in vivo: a systematic review. *J Dent*, 42(7):769-77, 2014.
157. Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *J Dent*, 42(1):12-20, 2014.
158. De VSQ, Nouer PR, Tabchoury CP, Lima-Arsati YB, Nouer DF. In vivo evaluation of fluoride dentifrice and diet control on the demineralization/remineralization process using laser readouts at the margin of the orthodontic bracket/enamel interface. *Am J Dent*, 28(1):23-27, 2015.
159. Danelon M, Pessan JP, Neto FNS, de Camargo ER, Delbem ACB. Effect of toothpaste with nano-sized trimetaphosphate on dental caries: In situ study. *J Dent*, 43(7):806-13, 2015.
160. Manarelli MM, Delbem ACB, Binhardi TDR, Pessan JP. In situ remineralizing effect of fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate. *Clin Oral Investig*, 19(8):2141-46, 2015.
161. Meyer-Lueckel H, Wierichs RJ, Schellwien T, Paris S. Remineralizing efficacy of a CPP-ACP cream on enamel caries lesions in situ. *Caries Res*, 49(1):56-62, 2015.
162. Cardoso CAB, Cassiano LPS, Costa EN, Souza-e-Silva CM, Magalhães AC, Grizzo LT, ve ark. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in situ. *J Dent*, 50:74-78, 2016.

163. Nóbrega DF, Fernández CE, Cury AADB, Tenuta LMA, Cury JA. Frequency of fluoride dentifrice use and caries lesions inhibition and repair. *Caries Res*, 50(2):133-40, 2016.
164. Samuel SR, Dorai S, Khatri SG, Patil ST. Effect of ozone to remineralize initial enamel caries: in situ study. *Clin Oral Investig*, 20(5):1109-13, 2016.
165. Carvalho TS, Peters BG, Rios D, Magalhães AC, Sampaio FC, Buzalaf MAR, ve ark. Fluoride varnishes with calcium glycerophosphate: fluoride release and effect on in vitro enamel demineralization. *Braz Oral Res*, 29(1):1-6, 2015.
166. Mielczarek A, Gedrange T, Michalik J. An in vitro evaluation of the effect of fluoride products on white spot lesion remineralization. *Am J Dent*, 28(1):51-56, 2015.
167. Vyavhare S, Sharma DS, Kulkarni V. Effect of three different pastes on remineralization of initial enamel lesion: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent*, 39(2):149-60, 2015.
168. Al Dehailan L, Martinez-Mier EA, Lippert F. The effect of fluoride varnishes on caries lesions: an in vitro investigation. *Clin Oral Investig*, 20(7):1655-62, 2016.
169. Yazici AR, Kiremitçi A, Dayangaç B. A two-year clinical evaluation of pit and fissure sealants placed with and without air abrasion pretreatment in teenagers. *J Am Dent Assoc*, 137(10):1401-05, 2006.
170. Pollard MA. Potential cariogenicity of starches and fruits as assessed by the plaque-sampling method and an intraoral cariogenicity test. *Caries Res*, 29(1):68-74, 1995.
171. 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*, 43(10):1261-67, 2015.
172. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, ve ark. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*, 28(3):215-35, 2003.
173. Buzalaf MAR, Hannas AR, Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem ACB. pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated

- dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci*, 18(4):316-34, 2010.
174. de Dios Teruel J, Alcolea A, Hernández A, Ruiz AJO. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Arch Oral Biol*, 60(5):768-75, 2015.
175. Lippert F, Juthani K. Fluoride dose-response of human and bovine enamel artificial caries lesions under pH-cycling conditions. *Clin Oral Investig*, 19(8):1947-54, 2015.
176. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil*, 26(8):624-30, 1999.
177. Field J, German M, Waterhouse P. Using bearing area parameters to quantify early erosive tooth surface changes in enamel: a pilot study. *J Dent*, 41(11):1060-67, 2013.
178. Nozari A, Ajami S, Rafiei A, Niazi E. Impact of nano hydroxyapatite, nano silver fluoride and sodium fluoride varnish on primary teeth enamel remineralization: An in vitro Study. *J Clin Diagn Res*, 11(9):97, 2017.
179. Serdar-Eymirli P, Turgut MD, Dolgun A, Yazici AR. The effect of Er, Cr: YSGG laser, fluoride, and CPP-ACP on caries resistance of primary enamel. *Lasers Med Sci*:1-11, 2018.
180. Salman NR, ElTekeya M, Bakry N, Omar SS, El Tantawi M. Comparison of remineralization by fluoride varnishes with and without casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate in primary teeth. *Acta Odontol Scand*, 77(1):9-14, 2019.
181. Zeczkowski M, Tenuta LMA, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lima DANL. Effect of different storage conditions on the physical properties of bleached enamel: An in vitro vs. in situ study. *J Dent*, 43(9):1154-61, 2015.
182. Aydın B, Pamir T, Baltacı A, Orman MN, Turk T. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *Eur J Dent*, 9(2):262-66, 2015.

183. Western JS, Dicksit DD. A systematic review of randomized controlled trials on sterilization methods of extracted human teeth. *J Conserv Dent*, 19(4):343-46, 2016.
184. Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: discussion and conclusions. *Caries Res*, 45(1):69-77, 2011.
185. Punathil S, Pulayath CV, Ismail SP, Bavabeedu SS, Moyin S, Uthappa R. Assessment of Enamel Surface Microhardness with different Fluoride Varnishes-An In Vitro Study. *J Contemp Dent Pract*, 19(11):1317-21, 2018.
186. Alsayed EZ, Hariri I, Sadr A, Nakashima S, Bakhsh TA, Shimada Y, ve ark. Optical coherence tomography for evaluation of enamel and protective coatings. *Dent Mater J*, 34(1):98-107, 2015.
187. Pinto de Souza SCT, Araújo KCd, Barbosa JR, Cancio V, Rocha AA, Tostes MA. Effect of dentifrice containing fTCP, CPP-ACP and fluoride in the prevention of enamel demineralization. *Acta Odontol Scand*, 76(3):188-94, 2018.
188. Mehta R, Nandlal B, Prashanth S. Comparative evaluation of remineralization potential of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate fluoride on artificial enamel white spot lesion: An in vitro light fluorescence study. *Indian J Dent Res*, 24(6):681, 2013.
189. Savas S, Kucukyilmaz E, Celik EU. Effects of remineralization agents on artificial carious lesions. *Pediatr Dent*, 38(7):511-18, 2016.
190. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*, 89(11):1187-97, 2010.
191. Zero DT, Creeth JE, Bosma ML, Butler A, Guibert RG, Karwal R, ve ark. The effect of brushing time and dentifrice quantity on fluoride delivery in vivo and enamel surface microhardness in situ. *Caries Res*, 44(2):90-100, 2010.
192. Nakajima E. Effect of fluoride on rehardening of artificially softened bovine enamel. *Bull of Kanagawa Dent Col*, 21:16-24, 1993.

193. Lippert F, Lynch RJM. Comparison of Knoop and Vickers surface microhardness and transverse microradiography for the study of early caries lesion formation in human and bovine enamel. *Arch Oral Biol*, 59(7):704-10, 2014.
194. Ceci M, Mirando M, Beltrami R, Chiesa M, Poggio C. Protective effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel erosion: Atomic force microscopy studies. *Scanning*, 37(5):327-34, 2015.
195. Arnold WH, Dorow A, Langenhorst S, Gintner Z, Bánóczy J, Gaengler P. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. *BMC Oral Health*, 6(1):8, 2006.
196. Lata S, Varghese NO, Varughese JM. Remineralization potential of fluoride and amorphous calcium phosphate-casein phospho peptide on enamel lesions: An in vitro comparative evaluation. *J Conserv Dent*, 13(1):42-46, 2010.
197. Savas S, Kavrik F, Kucukyilmaz E. Evaluation of the remineralization capacity of CPP-ACP containing fluoride varnish by different quantitative methods. *J Appl Oral Sci*, 24(3):198-203, 2016.
198. Puangpanboot N, Phonghanyudh A, Surarit R, Naimsiri N. The effects of chitosan mouthrinse on enamel caries in vitro. *Walailak Procedia*, 2018(3):55, 2018.
199. Stoleriu S, Andrian S, Pancu G, Nica I, Iovan G. The use of arginine containing toothpastes in dental hard tissues remineralization. *Rom J Oral Rehab*, 8(4):12-16, 2016.
200. Featherstone JDB, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res*, 15(1):109-14, 1981.
201. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors affecting the development of carious lesions in bovine teeth in vitro. *Arch Oral Biol*, 43(8):619-28, 1998.
202. Fontana M, Dunipace AJ, Gregory RL, Noblitt TW, Li Y, Park KK, ve ark. An in vitro microbial model for studying secondary caries formation. *Caries Res*, 30(2):112-18, 1996.
203. Lynch RJM, Ten Cate JM. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de-and remineralisation behaviour. *Caries Res*, 40(6):530-35, 2006.

204. Ekambaram M, Itthagarun A, King NM. Comparison of the remineralizing potential of child formula dentifrices. *Int J Paediatr Dent*, 21(2):132-40, 2011.
205. Itthagarun A, King NM, Cheung Y. The effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on artificial enamel carious lesion progression: an in-vitro pH-cycling study. *Hong Kong Dent J*, 7(2):61-66, 2010.
206. Kumar VLN, Itthagarun A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J*, 53(1):34-40, 2008.
207. Bozathlıoğlu R. Farklı remineralizasyon ajanlarının uygulandığı yapay çürük lezyonlu dişlerin yüzey sertlik değerlerinin karşılaştırılması ve SEM görüntülerinin değerlendirilmesi. [Doktora Tezi]. İstanbul: Yeditepe Üniversitesi; 2012.
208. Bajaj M, Poornima P, Praveen S, Nagaveni NB, Roopa KB, Neena IE, ve ark. Comparison of CPP-ACP, tri-calcium phosphate and hydroxyapatite on remineralization of artificial caries like lesions on primary enamel-An in vitro study. *J Clin Pediatr Dent*, 40(5):404-09, 2016.
209. Kani T, Kani M, Isozaki A, Kato H, Fukuoka Y, Ohashi T, ve ark. The effect of apatite-containing dentifrices on artificial caries lesions. *J Dent Health*, 38(3):364-66, 1988.
210. Mueller J, Meyer-Lueckel H, Paris S, Hopfenmuller W, Kielbassa A. Inhibition of lesion progression by the penetration of resins in vitro: influence of the application procedure. *Oper Dent*, 31(3):338-45, 2006.
211. Meyer-Lueckel H, Paris S. Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. *Caries Res*, 42(2):117-24, 2008.
212. Itthagarun A, King NM, Rana R. Effects of child formula dentifrices on artificial caries like lesions using in vitro pH-cycling: preliminary results. *Int Dent J*, 57(5):307-13, 2007.
213. Rana R, Itthagarun A, King NM. Effects of dentifrices on artificial caries like lesions: an in vitro pH cycling study. *Int Dent J*, 57(4):243-48, 2007.



214. Thaveesangpanich P, Itthagarun A, King NM, Wefel JS, Tay FR. In vitro model for evaluating the effect of child formula toothpastes on artificial caries in primary dentition enamel. *Am J Dent*, 18(3):212-16, 2005.
215. Itthagarun A, Wei SHY, Wefel JS. The effect of different commercial dentifrices on enamel lesion progression: an in vitro pH-cycling study. *Int Dent J*, 50(1):21-28, 2000.
216. Takagi S, Liao H, Chow LC. Effect of tooth-bound fluoride on enamel demineralization/remineralization in vitro. *Caries Res*, 34(4):281-88, 2000.
217. Ivancakova R, Hogan MM, Harless JD, Wefel JS. Effect of fluoridated milk on progression of root surface lesions in vitro under pH cycling conditions. *Caries Res*, 37(3):166-71, 2003.
218. Hu W, Featherstone JD. Prevention of enamel demineralization: an in-vitro study using light-cured filled sealant. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 128(5):592-600, 2005.
219. Uysal T, Amasyali M, Koyuturk AE, Sagdic D. Efficiency of amorphous calcium phosphate-containing orthodontic composite and resin modified glass ionomer on demineralization evaluated by a new laser fluorescence device. *Eur J Dent*, 3(2):127-34, 2009.
220. Villena RS, Tenuta LMA, Cury JA. Effect of APF gel application time on enamel demineralization and fluoride uptake in situ. *Braz Dent J*, 20(1):37-41, 2009.
221. Itthagarun A, Verma S, Lalloo R, King NM, Wefel JS, Nair RG. Effects of fluoridated milk on artificial enamel carious lesions: a pH cycling study. *J Dent*, 39(12):817-24, 2011.
222. Casals E, Boukpepsi T, McQueen CM, Eversole SL, Faller RV. Anticaries potential of commercial dentifrices as determined by fluoridation and remineralization efficiency. *J contemp dent pract*, 8(7):1-10, 2007.
223. Neto FCR, Maeda FA, Turssi CP, Serra MC. Potential agents to control enamel caries-like lesions. *J Dent*, 37(10):786-90, 2009.
224. ten Cate JM, Timmer K, Shariati M, Featherstone JDB. Effect of timing of fluoride treatment on enamel de-and remineralization in vitro: a pH-cycling study. *Caries Res*, 22(1):20-26, 1988.

225. Hornby K, Evans M, Long M, Joiner A, Laucello M, Salvaderi A. Enamel benefits of a new hydroxyapatite containing fluoride toothpaste. *Int Dent J*, 59(6S1):325-31, 2009.
226. Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi BT. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent*, 22(5):139-43, 2011.
227. Patil N, Choudhari S, Kulkarni S, Joshi SR. Comparative evaluation of remineralizing potential of three agents on artificially demineralized human enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 16(2):116-20, 2013.
228. Kinsun S. Nanohidroksiapatit esaslı materyallerin mine remineralizasyonu üzerine etkilerinin incelenmesi [Doktora Tezi]: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2007.
229. Keskin G. Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat ve amelogeninin mine remineralizasyonuna etkisi [Doktora Tezi]: İnönü Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2014.
230. Shen P, Bagheri R, Walker GD, Yuan Y, Stanton DP, Reynolds C, ve ark. Effect of calcium phosphate addition to fluoride containing dental varnishes on enamel demineralization. *Aust Dent J*, 61(3):357-65, 2016.
231. Poosti M, Ahrari F, Moosavi H, Najjaran H. The effect of fractional CO 2 laser irradiation on remineralization of enamel white spot lesions. *Lasers Med Sci*, 29(4):1349-55, 2014.
232. Sicca C, Bobbio E, Quartuccio N, Nicolò G, Cistaro A. Prevention of dental caries: A review of effective treatments. *J Clin Exp Dent*, 8(5):604-10, 2016.
233. Bostancı B, Korkut E, Ünlü N. Başlangıç Mine Lezyonlarının Florür İçermeyen ve İnvaziv Olmayan Tedavi Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Restor Dent-Special Topics*, 3(1):7-13, 2017.
234. Güngör A. Xylitol ve floridin birlikte kullanılmasının diş minesini üzerine etkisinin in-vitro incelenmesi [Doktora Tezi]. Ankara: Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 1998.
235. Ismail AI, Bandekar RR. Fluoride supplements and fluorosis: a meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol*, 27(1):48-56, 1999.

236. Oliveira MJL, Martins CC, Paiva SM, Tenuta L, Cury JA. Estimated fluoride doses from toothpastes should be based on total soluble fluoride. *Int J Environ Res Public Health*, 10(11):5726-36, 2013.
237. Santos PS, Martins-Júnior PA, Paiva SM, Klein D, Torres FM, Giacomini A, ve ark. Prevalence of self-reported dental pain and associated factors among eight-to ten-year-old Brazilian schoolchildren. *PLoS One*, 14(4):214990, 2019.
238. Whitford GM. The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res*, 69(2):539-49, 1990.
239. Aren G. Çocukta floridli diş macunu kullanımının yararları ve olası riskleri. *Türk Dişhekimleri Birliği Derg*, 140:74-79, 2014.
240. Chu CH, Lo ECM. Promoting caries arrest in children with silver diamine fluoride: a review. *Oral Health Prev Dent*, 6(4):315-21, 2008.
241. Reynolds EC. The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res*, 66(6):1120-27, 1987.
242. Rai N, Sandhu M, Sachdev V, Sharma R. Evaluation of Remineralization Potential of Beverages modified with Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on Primary and Permanent Enamel: A Laser Profiler Study. *Int J Clin Pediatr Dent*, 11(1):7, 2018.
243. Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, ve ark. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res*, 87(4):344-48, 2008.
244. Hawkins R, Locker D, Noble J, Series EJK. Prevention. Part 7: professionally applied topical fluorides for caries prevention. *Br Dent J*, 195(6):313-17, 2003.
245. Munjal D, Garg S, Dhindsa A, Sidhu GK, Sethi HS. Assessment of white spot lesions and in-vivo evaluation of the effect of CPP-ACP on white spot lesions in permanent molars of children. *J Clin Diagn Res*, 10(5):149-54, 2016.
246. Haghgou EHR, Haghgoo R, Roholahi MR, Ghorbani Z. Effect of Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate and Three Calcium

- Phosphate on Enamel Microhardness. *J Contemp Dent Pract*, 18(7):583-86, 2017.
247. Ardu S, Castioni NV, Benbachir-Hassani N, Krejci I. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence Int*, 38(8):633-36, 2007.
248. Wang YH, Liu F, Liu HN, Wang QX, Xing WZ, Li ZC. Impact assessment on enamel remineralization after orthodontic treatment with casein phosphopeptide calcium phosphate complex. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*, 27(4):382-85, 2018.
249. Mendes AC, Restrepo M, Bussaneli D, Zuanon AC. Use of Casein Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on White-spot Lesions: Randomised Clinical Trial. *Oral Health Prev Dent*, 16(1):27-31, 2018.
250. Zhao IS, Mei ML, Zhou ZL, Burrow MF, Lo EC-M, Chu C-H. Shear Bond Strength and Remineralisation Effect of a Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate-Modified Glass Ionomer Cement on Artificial "Caries-Affected" Dentine. *Int J Mol Sci*, 18(8):1723, 2017.
251. Guclu ZA, Alacam A, Coleman NJ. A 12-week assessment of the treatment of white spot lesions with CPP-ACP paste and/or fluoride varnish. *Biomed Res Int*, 2016:1-9, 2016.
252. Pithon MM, dos Santos MJ, Andrade CS, Leão Filho JCB, Braz AKS, de Araujo RE, ve ark. Effectiveness of varnish with CPP-ACP in prevention of caries lesions around orthodontic brackets: an OCT evaluation. *Eur J Orthod*, 37(2):177-82, 2014.
253. Hu Ch, He J, Eckert R, Wu Xy, Li Ln, Tian Y, ve ark. Development and evaluation of a safe and effective sugar-free herbal lollipop that kills cavity-causing bacteria. *Int J Oral Sci*, 3(1):13-20, 2011.
254. Asokan S, Rathan J, Muthu MS, Rathna PV, Emmadi P. Effect of oil pulling on *Streptococcus mutans* count in plaque and saliva using Dentocult SM Strip mutans test: a randomized, controlled, triple-blind study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 26(1):12-17, 2008.
255. Agarwal P, Nagesh L. Comparative evaluation of efficacy of 0.2% Chlorhexidine, Listerine and Tulsi extract mouth rinses on salivary

- Streptococcus mutans count of high school children—RCT. *Contemp Clin Trials*, 32(6):802-08, 2011.
256. Taheri JB, Azimi S, Rafieian N, Akhavan Zanjani H. Herbs in dentistry. *Int Dent J*, 61(6):287-96, 2011.
257. Wu CD. Grape products and oral health. *J Nutr*, 139(9):1818-23, 2009.
258. Isbrucker RA, Burdock GA. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regul Toxicol Pharmacol*, 46(3):167-92, 2006.
259. Račková L, Jančinová V, Petriková M, Drábiková K, Nosál R, Štefek M, ve ark. Mechanism of anti-inflammatory action of liquorice extract and glycyrrhizin. *Nat Prod Res*, 21(14):1234-41, 2007.
260. Gupta VK, Fatima A, Faridi U, Negi AS, Shanker K, Kumar J, ve ark. Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots. *J Ethnopharmacol*, 116(2):377-80, 2008.
261. Steinberg D, Sgan-Cohen HD, Stabholz A, Pizanty S, Segal R, Sela MN. The anticariogenic activity of glycyrrhizin: preliminary clinical trials. *Isr J Dent Sci*, 2(3):153-57, 1989.
262. Gafner S, Bergeron C, Villinski JR, Godejohann M, Kessler P, Cardellina JH, ve ark. Isoflavonoids and coumarins from *Glycyrrhiza uralensis*: antibacterial activity against oral pathogens and conversion of isoflavans into isoflavanquinones during purification. *J Nat Prod*, 74(12):2514-19, 2011.
263. Agematsu H, Sawada T, Watanabe H, Yanagisawa T, Ide Y. Immunoscanning electron microscope characterization of large tubules in human deciduous dentin. *Anat Rec*, 248(3):339-45, 1997.
264. Babay N. SEM study on the effect of two different demineralization methods with saturated tetracycline hydrochloride on diseased root surfaces. *J Contemp Dent Pract*, 15(2):25-35, 2001.
265. 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*, 16:77-81, 2003.

266. 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*, 16:57-62, 2003.
267. Goldstein J, Newbury DE, Joy DC, Lyman CE, Echlin P, Lifshin E, ve ark. *Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis*. 3 ed. New York: Kluwer Akademik/Plenum Publishers; 297- 355, 2005.
268. Mc Comb D, Tam L. Diagnosis of occlusal caries: Part 1. Conventional methods. *J Can Dent Assoc*, 67:454-57, 2001.
269. Zero DT, Rahbek I, Fu J, Proskin HM, Featherstone JDB. Comparison of the iodide permeability test, the surface microhardness test, and mineral dissolution of bovine enamel following acid challenge. *Caries Res*, 24(3):181-88, 1990.
270. Mandava J, Reddy YS, Kantheti S, Chalasani U, Ravi RC, Borugadda R, ve ark. Microhardness and Penetration of Artificial White Spot Lesions Treated with Resin or Colloidal Silica Infiltration. *J Clin Diagn Res*, 11(4):142-46, 2017.
271. Herkströter FM, Witjes M, Ruben J, Arends J. Time dependency of microhardness indentations in human and bovine dentine compared with human enamel. *Caries Res*, 23(5):342-44, 1989.
272. Amaechi BT, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai PK, Vasquez RAC, Sadeghpour A, ve ark. Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res*, 47(5):399-405, 2013.
273. Karlinsey RL, Mackey AC, Walker ER, Frederick KE. Preparation, characterization and in vitro efficacy of an acid-modified  $\beta$ -TCP material for dental hard-tissue remineralization. *Acta Biomater*, 6(3):969-78, 2010.
274. Cirano FR, Romito GA, Todescan JH. Determination of enamel and coronal dentin microhardness. *Braz J Oral Sci*, 2(6):258-63, 2003.
275. Ye XY, Zheng HY, Cheng SL, Cheng H, Yu H. Effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on enamel erosion: an in situ study. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*, 53(3):195-200, 2018.

276. Yu H, Jiang N-w, Ye X-y, Zheng H-y, Attin T, Cheng H. In situ effect of Tooth Mousse containing CPP-ACP on human enamel subjected to in vivo acid attacks. *J Dent*, 76:40-45, 2018.
277. Bayram M, Kusgoz A, Yesilyurt C, Nur M. Effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate application after interproximal stripping on enamel surface: An in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 151(1):167-73, 2017.
278. Esfahani KS, Mazaheri R, Pischevar L. Effects of treatment with various remineralizing agents on the microhardness of demineralized enamel surface. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 9(4):239, 2015.
279. Balakrishnan A, Jonathan R, Benin P, Kuumar A. Evaluation to determine the caries remineralization potential of three dentifrices: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 16(4):375, 2013.
280. Zhang Q, Zou J, Yang R, Zhou X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate crème on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int J Paediatr Dent*, 21(5):374-81, 2011.
281. Sonugelen M, Artunç C, Güngör MA. Farklı yöntemlerle polimerize edilen estetik restoratif materyallerde aşınma ve sertliğin incelenmesi. *Ege Diş Hek Fak Derg*, 21:1-10, 2002.
282. O'Brien WJ. *Dental Materials and Their Selection*. Chicago, IL, USA: Quintessence Pub Co., 2002.
283. Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Combined effects of nano-hydroxyapatite and *Galla chinensis* on remineralisation of initial enamel lesion in vitro. *J Dent*, 38(10):811-19, 2010.
284. Chen L, Liang K, Li J, Wu D, Zhou X, Li J. Regeneration of biomimetic hydroxyapatite on etched human enamel by anionic PAMAM template in vitro. *Arch Oral Biol*, 58(8):975-80, 2013.
285. Dabanoğlu A, Yücel T. Farklı polimerizasyon tekniklerinin yüzey sertliği üzerine etkileri. *İstanbul Üniversitesi*; 84-88, 2003.
286. Taşveren S. İki farklı restoratif materyalin yüzey sertliklerinin karşılaştırılması. *CÜ Diş Hek fak Derg*, 8(2):94-97, 2005.

287. Craig RG. Direct esthetic restorative materials, Restorative dental materials. 10 ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc, 1997.
288. Ateş G. Beş farklı dual-cure yapıştırıcı rezin simanın değişik kompozit ve porselen kalınlıkları altında polimerizasyon etkinliğinin karşılaştırılması [Doktora Tezi]. Ankara; 2002.
289. O'Brien WJ. Polymeric restorative materials: composites and sealants In Dental Materials and Their Selection. In: Solaro E, eds. Dental materials and their selection. 2 ed. Illinois: Quintessence Publishing Co. Inc. , 2005.
290. Altan H, Göztaş Z, Kahraman K, Kuş M, Tosun G. Inhibition Effects of Different Toothpastes on Demineralisation of Incipient Enamel Lesions. Oral Health Prev Dent, 14:1-7, 2019.
291. Gomes MN, Rodrigues FP, Silikas N, Francci CE. Micro-CT and FESEM enamel analyses of calcium-based agent application after bleaching. Clin Oral Investig, 22(2):961-70, 2018.
292. Poggio C, Lombardini M, Vigorelli P, Ceci M. Analysis of dentin/enamel remineralization by a CPP-ACP paste: AFM and SEM study. Scanning Microsc, 35(6):366-74, 2013.
293. Jayarajan J, Janardhanam P, Jayakumar P. Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization-An in vitro study using scanning electron microscope and DIAGNOdent®. Indian J Dent Res, 22(1):77, 2011.
294. Pai D, Bhat S, Taranath A, Sargod S, Pai V. Use of laser fluorescence and scanning electron microscope to evaluate remineralization of incipient enamel lesions remineralized by topical application of casein phospho peptide amorphous calcium phosphate (CPP-aCP) containing cream. J Clin Pediatr Dent, 32(3):201-06, 2008.
295. Krishnakumar G, Gaviappa D, Guruswamy S. Anticaries Efficacy of Liquorice Lollipop: An ex vivo Study. J Contemp Dent Pract, 19(8):937-42, 2018.
296. Takeshita EM, Danelon M, Castro LP, Sasaki KT, Delbem ACB. Effectiveness of a toothpaste with low fluoride content combined with trimetaphosphate on dental biofilm and enamel demineralization in situ. Caries Res, 49(4):394-400, 2015.



297. Pinto CF, Berger SB, Cavalli V, Da SC, Goncalves RB, Ambrosano G, ve ark. In situ antimicrobial activity and inhibition of secondary caries of self-etching adhesives containing an antibacterial agent and/or fluoride. *Am J Dent*, 28(3):167-73, 2015.
298. 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*, 27(3):160-66, 2014.
299. Souza-Gabriel AE, Turssi CP, Colucci V, Tenuta LMA, Serra MC, Corona SAM. In situ study of the anticariogenic potential of fluoride varnish combined with CO<sub>2</sub> laser on enamel. *Arch Oral Biol*, 60(6):804-10, 2015.
300. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu W-H, ve ark. The human oral microbiome. *J Bacteriol*, 192(19):5002-17, 2010.
301. Ccahuana-Vásquez RA, Cury JA. *S. mutans* biofilm model to evaluate antimicrobial substances and enamel demineralization. *Braz Oral Res*, 24(2):135-41, 2010.
302. Chu CH, Mei L, Seneviratne CJ, Lo ECM. Effects of silver diamine fluoride on dentine carious lesions induced by *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* biofilms. *Int J Paediatr Dent*, 22(1):2-10, 2012.
303. 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*, 29(2):157-60, 2007.
304. Eriksson L, Lif Holgersson P, Esberg A, Johansson I. Microbial Complexes and Caries in 17-Year-Olds with and without *Streptococcus mutans*. *J Dent Res*, 97(3):275-82, 2018.
305. Teutle-Coyotecatl B, Contreras-Bulnes R, Scougall-Vilchis RJ, Almaguer-Flores A, García-Pérez VI, Rodríguez-Vilchis LE, ve ark. Adhesion of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* on Er: YAG Laser-Irradiated Dental Enamel: Effect of Surface Roughness. *Photomed Laser Surg*, 36(12):660-66, 2018.

306. Almoudi MM, Hussein AS, Hassan MIA, Zain NM. A systematic review on antibacterial activity of zinc against *Streptococcus mutans*. *Saudi J Dent Res*, 30(4):283-91, 2018.
307. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the human mouth: a sticky situation. *PLoS Pathog*, 9(10):1003616, 2013.
308. Matsumoto-Nakano M. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Jpn Dent Sci Rev*, 54(1):22-29, 2018.
309. Janani M, Jafari F, Samiei M, Lotfipour F, Nakhband A, Ghasemi N, et al. Evaluation of antibacterial efficacy of photodynamic therapy vs. 2.5% NaOCl against *E. faecalis*-infected root canals using real-time PCR technique. *J Clin Exp Dent*, 9(4):e539, 2017.
310. Motevasselian F, Zibafar E, Yassini E, Mirzaei M, Pourmirhoseni N. Adherence of *Streptococcus Mutans* to Microhybrid and Nanohybrid Resin Composites and Dental Amalgam: An In Vitro Study. *J Dent (Tehran)*, 14(6):337-43, 2017.
311. Koo H, Falsetta ML, Klein MI. The exopolysaccharide matrix: a virulence determinant of cariogenic biofilm. *J Dent Res*, 92(12):1065-73, 2013.
312. Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci*, 113(1):2-13, 2005.
313. Balhaddad AA, Melo MAS, Gregory RL. Inhibition of nicotine-induced *Streptococcus mutans* biofilm formation by salts solutions intended for mouthrinses. *Restor Dent Endod*, 44(1):e4, 2019.
314. Gomez GF, Huang R, Eckert G, Gregory RL. Effect of phototherapy on the metabolism of *Streptococcus mutans* biofilm based on a colorimetric tetrazolium assay. *J Oral Sci*, 60(2):242-46, 2018.
315. Lu C, Zheng Y, Zhong Q. Corrosion of dental alloys in artificial saliva with *Streptococcus mutans*. *PLoS One*, 12(3):0174440, 2017.
316. Pourhajibagher M, Chiniforush N, Shahabi S, Palizvani M, Bahador A. Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy Against Intracanal *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Comparative

- Study with Traditional Endodontic Irrigation Solutions. *J Dent (Tehran)*, 15(4):197, 2018.
317. O'Toole GA. Microtiter dish biofilm formation assay. *J Vis Exp*, (47):2437, 2011.
318. Padminee K, Poorni S, Diana D, Duraivel D, Srinivasan MR. Effectiveness of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and xylitol chewing gums on salivary pH, buffer capacity, and *Streptococcus mutans* levels: An interventional study. *Indian J Dent Res*, 29(5):616, 2018.
319. Hegde RJ, Thakkar JB. Comparative evaluation of the effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and xylitol-containing chewing gum on salivary flow rate, pH and buffering capacity in children: An in vivo study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 35(4):332, 2017.
320. Emamieh S, Khaterizadeh Y, Goudarzi H, Ghasemi A, Baghban AA, Torabzadeh H. The effect of two types chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and xylitol on salivary *Streptococcus mutans*. *J Conserv Dent*, 18(3):192, 2015.
321. Yetkiner A, Yetkiner A, Kara N, Ateş M, Ersin N, Ertuğrul F. Does casein phosphopeptid amorphous calcium phosphate provide remineralization on white spot lesions and inhibition of *Streptococcus mutans*? *J Clin Pediatr Dent*, 38(4):302-06, 2014.
322. Dashper SG, Catmull DV, Liu S-W, Myroforidis H, Zalizniak I, Palamara JE, et al. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate reduces streptococcus mutans biofilm development on glass ionomer cement and disrupts established biofilms. *PLoS One*, 11(9):e162322, 2016.
323. Poureslami HR, Ra H, Re H, Sharifi H, Poureslami P. Concentration of Calcium, Phosphate and Fluoride Ions in Microbial Plaque and Saliva after Using CPP-ACP Paste in 6-9 year-old Children. *J Dent Biomater*, 3(2):214, 2016.
324. Heshmant H, Banava S, Abdian H, Kharrazifard MJ. Effect of GC Tooth Mousse and MI Paste Plus on dental plaque acidity. *J Dent Res*, 92(Spec Iss B):82902, 2014.

325. Marchisio O, Esposito MR, Genovesi A. Salivary pH level and bacterial plaque evaluation in orthodontic patients treated with Recaldent® products. *Int J Dent Hyg*, 8(3):232-36, 2010.
326. 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*, 82(3):206-11, 2003.
327. Rose RK. Binding characteristics of *Streptococcus mutans* for calcium and casein phosphopeptide. *Caries Res*, 34(5):427-31, 2000.
328. Sankeshwari R, Ankola A, Bhat K, Bolmal U, Rao M. Evaluation of Physical Parameters of Novel Licorice Varnish Versus Fluoride and Combination Varnish: An In-Vitro Study. *Acta Med Acad*, 47(2), 2018.
329. Ajagannavar SL, Battur H, Shamarao S, Sivakumar V, Patil PU, Shanavas P. Effect of aqueous and alcoholic licorice (*glycyrrhiza glabra*) root extract against *streptococcus mutans* and *lactobacillus acidophilus* in comparison to chlorhexidine: an in vitro study. *J Int Oral Health*, 6(4):29, 2014.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı Soyadı:** Feride Şahin

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Kdz. Ereğli, 04.04.1990

**Medeni Hali:** Bekar

**Yabancı Dil:** İngilizce

**İletişim Adresi:** Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı Merkez/SİVAS

**Tel:** +90 346 219 10 10

**Faks:** +90 346 219 12 37

**E-posta Adresi:** sahinnferide@gmail.com

### Eğitim Bilgileri

Uzmanlık Eğitimi:	Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hek. Fak.	2016- halen
Lisans:	Bülent Ecevit Üniversitesi Diş Hek. Fak.	2009- 2014
Lise:	Kdz. Ereğli Anadolu Lisesi	2004- 2008