



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ

KAZEİN FOSFOPEPTİD AMORF KALSİYUM FOSFAT İÇEREN
REMİNERALİZASYON AJANLARININ NANOTEKNOLOJİK
TEKNİKLER İLE ANALİZİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

BURAK KİTİKİ

DOKTORA TEZİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Betül Kargül

İSTANBUL 2015



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ

KAZEİN FOSFOPEPTİD AMORF KALSİYUM FOSFAT İÇEREN
REMİNERALİZASYON AJANLARININ NANOTEKNOLOJİK
TEKNİKLER İLE ANALİZİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

BURAK KITIKI

DOKTORA TEZİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
PEDODONTİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Betül Kargül

İSTANBUL 2015

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Doktora
Anabilim Dalı : Pedodonti Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Dt. Burak KITIKI
Tez Başlığı : Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat İçeren Remineralizasyon Ajanlarının Etkilerinin Nanoteknolojik Teknikler ile Analizi ve Karşılaştırılması
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.
Sınav Tarihi : 24.07.2015

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Betül KARGÜL	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof. Dr. Betül KARGÜL	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.	
Prof. Dr. Ali MENTES	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.	
Yrd. Doç. Dr. Sertaç PEKER	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti A.D.	
Dr. Meltem SEZEN	Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi	
Dr. Feray BAKAN	Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 19/08/2015 tarih ve 11 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.

-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

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

30.06.2015

BURAK KİTİKİ

İmza

TEŞEKKÜR

Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı'na girişimde büyük desteği olan, Pedodonti eğitimini en iyi şekilde almamız için gerekli ortam ve şartları sağlayan değerli hocam Pedodonti Anabilim Dalı Başkanı Sayın **Prof. Dr. İlknur TANBOĞA**'ya

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmam sırasında bana büyük bir özveri ile destek olan; samimiyetini, bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyerek akademik deneyimi ve önerileri ile bana yol gösteren, sevgisini ve iyi niyetini her zaman hissettiğim çok değerli danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Betül KARGÜL**'e,

Pedodonti doktora eğitiminin disiplinini en iyi şekilde almamız için çaba gösteren ve bana sayısız katkıları olan değerli hocalarım Sayın **Prof. Dr. Serap AKYÜZ** ve **Prof. Dr. Ali MENTEŞ**'e,

Tezimin planlanması ve gerçekleştirilebilmesi için tüm imkanlarını kullanarak tüm tez çalışmam boyunca daima yanımda bulunan, tezim için değerli vaktini ayıran ve laboratuvar koşullarını sağlayan, fikirlerini ve emeklerini esirgemeyen Sabancı Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın **Prof. Dr. Mehmet Ali GÜLGÜN**' e ve tezimin laboratuvar çalışmalarında, tezimi kendi tezi gibi sahiplenerek bilgisini ve tecrübesini sınırsızca paylaşan, emeklerinin karşılığını asla ödeyemeyeceğim Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Öğretim Üyesi Sayın **Dr. Meltem SEZEN**'e

Tez jüri komitemde bulunan Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Öğretim Üyesi Sayın **Dr. Feray BAKAN**'a

Tüm klinik ve akademik çalışmalarım boyunca bana daima yardımcı ve destek olan Sayın **Yrd. Doç. Dr. Sertaç PEKER**, **Yrd. Doç. Dr. Işıl Özgül KALYONCU** ve **Yrd. Doç. Dr. Eda HAZNEDAROĞLU**, **Dr. Figen EREN GİRAY** ve **Dr. Başak DURMUŞ**, **Dr. AHU DURHAN**'a

Pedodonti Anabilim Dalı'na girdiğim ilk günden beri bilimsel ve mesleki alandaki birlikteliğimizin ötesinde dostluklarını, sevgilerini paylaştığım ve birlikteliğimizden güç aldığım **Dilara ÖZENAY DERGİN, Sevi AKGÜN, Didem KURAL DIRAZ, Damla AKŞİT BIÇAK, Serhat KARACA, Ezgi ÇEKMEGELİ ve Berna GÖKKAYA**'ya

Ayrıca doktora hayatımın pek çok mutlu ve hüzünlü günlerini paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve **Bahtişen ÜRER**'e

Beni her daim en iyi koşullarda yetiştiren, hayatım boyunca attığım her adımda sonsuz sevgi ve fedakârlığı ile bana destek olan, bugünlere gelmemi sağlayan canım annem **Suzan KİTİKİ** ve canım babam **Mehmet KİTİKİ**'ye

Hayatımdaki en iyi dostum ve gece gündüz tüm sıkıntılarımı paylaşan, yardım etmek için elinden geleni yapan canım ablam **Özlem KİTİKİ KAÇIRA** ve canım abim **Tibet KAÇIRA**'ya

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	iv
BEYAN	v
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
RESİMLER LİSTESİ.....	x
TABLolar LİSTESİ	xviii
1.ÖZET.....	1
2.SUMMARY	2
3.GİRİŞ ve AMAÇ	3
4.GENEL BİLGİLER.....	5
4.1.Diş Çürüğü	5
4.1.1.Tükürük.....	9
4.1.2.Dental plak ve biyofilm	10
4.1.3.Mikroorganizmalar	10
4.2.Mine Dokusu ve Histolojik Yapısı.....	11
4.3.Mine Çürüklerinin Klinik Özellikleri.....	14
4.3.1.Başlangıç mine lezyonları ve tabakaları.....	15
4.4.Demineralizasyon.....	18
4.5.Remineralizasyon.....	20
4.6.Yapay Çürük Modelleri.....	22
4.6.1.Asit tamponları kullanılması ile in-vitro demineralizasyon modeli:	23
4.6.2.Bakteriler tarafından üretilen asit ile in-vitro demineralizasyon modeli:	24
4.6.3.pH siklus modeli ile in-vitro demineralizasyon ve remineralizasyon modelleri: .	24
4.6.4.Yapay çene modeli:	26
4.6.5. In-vivo hayvan modelleri:	27
4.6.6.İnsan çenesinde in situ çalışmalar:	27
4.6.7.Çekimi planlanmış dişlerde yapılan çalışmalar:	28
4.6.8.Başlangıç mine lezyonlarında kullanılan remineralizasyon materyalleri	28

4.7. Flor	29
4.8.Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)	32
4.8.1.Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Floro Fosfat (CPP-ACFP).....	38
4.8.2.Tri-kalsiyum Fosfat	40
4.9.Mine Yüzeylerinin İncelenmesinde Kullanılan Yöntemler	41
4.9.1.Mikrosertlik	42
4.9.2.Mikroradyografi.....	44
4.9.3.Bilgisayarlı Mikrotomografi.....	45
4.9.4.Polarize Işık Mikroskobu	46
4.9.5.Konfokal Lazer Tarayıcı Mikroskobu	47
4.9.6.Lazer Floresans Yöntemi	47
4.9.7.Diagnodent	48
4.9.8.Kantitatif Işık Floresans (QLF).....	49
4.9.9.CarieScan PRO	51
4.9.10.VistaProof.....	52
4.9.11.Atomik Kuvvet Mikroskobu	53
4.9.12.Raman Spektroskopisi	54
4.9.13.Enerji Dağılımlı Spektroskopi (EDS)	57
4.9.14.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	59
4.9.15.Odaklanmış İyon Demeti (FIB)	61
4.9.16.Çift İyon Demetli Sistemler (SEM/FIB)	64
5. GEREÇ VE YÖNTEM	68
5.1 Etik Kurul Onayı	68
5.2.Mine Örneklerinin Hazırlanması.....	68
5.3.Başlangıç Raman Spektroskopisi, FIB, SEM ve EDS Ölçümleri	73
5.3.1.Mine örneklerinde Raman spektroskopi analizleri.....	73
5.3.2.EDS ve FIB/SEM analizleri öncesi mine örneklerinin yüzeylerinin kaplanması .	75
5.3.3.Mine örneklerinde EDS analizleri.....	76
5.3.4.Mine örneklerinde SEM analizleri	78
5.3.5.Mine örneklerinde FIB/SEM analizleri	80
5.4.Mine Yüzeylerinde Başlangıç Çürük Lezyonu Oluşturulması	85
5.5.Demineralizasyon Sonrası Raman Spektroskopisi, FIB/SEM Analizleri ve EDS Ölçümleri.....	86
5.6.Araştırmada Kullanılan Remineralizasyon Ajanları	86

5.7.Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden pH Döngüsünün Uygulanması	89
5.8.Remineralizasyon Sonrası Raman Spektroskopi Ölçümleri, EDS ve FIB/SEM Analizleri.....	91
5.11.İstatistiksel Değerlendirmeler	91
6. BULGULAR	93
6.1.RAMAN Spektroskopisi Bulgular	93
6.1.1.Raman spektroskopisi analizlerinin değerlendirilmesi	93
6.2.EDS Analizlerinin Değerlendirilmesi	99
6.2.1.Mine örneklerinin başlangıç EDS analizi	99
6.2.2.Mine örneklerinde demineralizasyon sonrası EDS analizi.....	100
6.2.3. Mine örneklerinin pH döngüsü ile remineralizasyonu sonrası EDS analizi.....	101
6.3. SEM ve FIB/SEM Analizleri	105
6.3.1. Sağlam mine yüzeylerinin SEM görüntülerinin değerlendirilmesi.....	105
6.3.2. Sağlam mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi	109
6.3.3. Başlangıç mine lezyonu SEM görüntülerinin değerlendirilmesi	111
6.3.4.Başlangıç mine lezyonu yüzeylerinde FIB/SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi.....	115
6.3.5. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeylerinin SEM görüntülerinin değerlendirilmesi.....	117
6.3.6.pH Döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeylerinde ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi	121
6.3.7.pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeylerine ait SEM görüntülerinin değerlendirilmesi	124
6.3.8.pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi.....	128
6.3.9.pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeylerine ait SEM görüntülerinin değerlendirilmesi	131
6.3.10.pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi.....	134
6.3.11.pH döngüsü ile Yapay Tükürük mine yüzeylerine ait SEM görüntülerinin değerlendirilmesi.....	137
6.3.12.pH Döngüsü ile Yapay Tükürük mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi	140
7. TARTIŞMA	145
7.1. Gereç ve Yöntemin Tartışılması	145

7.2.Bulguların Tartışılması.....	148
7.2.1.Raman spektroskopisi ölçümleri sonrası elde edilen bulgularının tartışılması....	148
7.2.2. EDS analizi sonrası elde edilen bulgularının tartışılması.....	153
8.1.3. SEM analizi sonrasında elde edilen bulgularının tartışılması.....	158
8.1.4. FIB/SEM analizi sonrasında elde edilen bulgularının tartışılması.....	166
8.SONUÇLAR	171
KAYNAKLAR.....	175
EK 1:	219
EK 2:	220
EK 3:	222
ÖZGEÇMİŞ	223

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

CPP	Kazein Fosfopeptid
ACP	Amorf Kalsiyum Fosfat
EDS	Enerji Dağılımlı Spektroskopi
FIB	Odaklanmış İyon Demeti
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
EPS	Ekstraselüler polisakkarit sentezi
α	Alfa
S. Mutans	Mutans Streptokok
TEM	Transmisyon elektron mikroskobu
CaF ₂	Kalsiyum florür
HAP	Hidroksiapatit
FHAP	Florohidroksiapatit
Ca	Kalsiyum
PO ₄	Fosfat
CPP-ACP	Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Fosfat
CaPO ₄	Kalsiyum Fosfat
QLF	Kantitatif Lazer Floresans
CPP-ACFP	Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Floro Fosfat
ACFP	Amorf Kalsiyum Floro Fosfat
TCP	Tri-Kalsiyum Fosfat
α -TCP	Alfa Tri-Kalsiyum Fosfat
β -TCP	Beta Tri-Kalsiyum Fosfat
IR	Kızıl Ötesi Işın

SE	İkincil Elektron
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
GIS	Gaz Enjeksiyon Sistemleri
DEM	Demineralizasyon
REM	Remineralizasyon

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.Dış çürüğü etiyolojik faktörler	6
Şekil 2. Remineralizasyon ve demineralizasyon dengesi.....	8
Şekil 3.pH döngüsü	91
Şekil4.Başlangıç, Demineralizasyon ve Remineralizasyona göre yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması	98
Şekil 5.Gruplara göre yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması	98

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1. Çürük lezyonunda oluşan tabakalar	17
Resim 2. Beyaz çürük lezyonunun polarize ışık mikroskobu görüntüsü	18
Resim 3. Mine çatlaklarının SEM görüntüsü 1800x (A) ve 5000x (B) büyütme	69
Resim 4. Mine çatlaklarının SEM görüntüsü 10 000x (A) ve 2000x (B) büyütme ...	69
Resim 5. Akriliğe gömülmüş kesim için hazırlanan büyük azı dişi.....	70
Resim 6. ISOMET kesme cihazı	71
Resim 7. Kesim için kullanılan elmas ince bıçak	71
Resim 8. Alüminyum oksitli abraziv kağıt ile zımparalanan mine örneği.....	72
Resim 9. 6 mm uzunluğunda hazırlanmış mine örneği (A), kaplama cihazına girmeden önce karbon bant ile kapatılmış mine örneği (B), mine örneğinin kaplama yapıldıktan sonra görüntüsü (C).....	73
Resim 10. Raman Spektroskopi cihazı (Renishaw InVia Raman Microscope, UK) .	74
Resim 11. Raman spektroskopinin üzerindeki ışık mikroskobundan (Leica, Avusturya) 20x ve 50x büyütme ile mine yüzeyi görüntüsü	74
Resim 12. Raman spektroskopi analizi sonucunda elde edilen spektrum.....	75
Resim 13. EDS cihazı (JEOL, JSM 6010)	76

Resim 14. EDS sonrasında elde edilen görüntünün elementsel analizi	77
Şekil 17. Resim 15. EDS analiz ile elde edilen grafik	77
Resim 16. EDS analiz sonuçlarının yüzde ve oranlarının bilgisayar programı ile gösterilmesi	78
Resim 17. Metal sıçratma kaplama cihazı.....	79
Resim 18. FIB/SEM incelemesi için hazırlanan örneklerin yükleme odacığından cihaz içerisine yerleştirilmesi	79
Resim 19. FIB/SEM görüntüleme cihazı	80
Resim 20. Sağlıklı mine yüzeyinin platin ile kaplanmış 5500x büyütmede SEM görüntüsü.....	81
Resim 21. FIB ile açılan kesitsel alanın 1500x büyütme SEM görüntüsü	82
Resim 22. FIB ile açılan kesitsel alanın 2200x büyütme SEM görüntüsü	82
Resim 23. FIB ile açılan kesitsel alanın 1700x büyütme SEM görüntüsü	83
Resim 24. FIB ile açılan kesitsel alanın 3300x büyütme SEM görüntüsü	83
Resim 25. FIB ile açılan kesitsel alanın 4500x büyütme SE görüntüsü	84
Resim 26. FIB ile açılan kesitsel alanın 8000x büyütme SE görüntüsü	84
Resim 27. MI Paste Plus	86
Şekil 30. Resim 28. Tooth Mousse	87
Resim 29. Clinpro Tooth Creme	87

Resim 30. Fırça yardımı ile remineralizasyon ajanının mine yüzeyine sürülmesi (A), fazla remineralizasyon ajanı uzaklaştırmak için deiyonize su ile mine yüzeyinin yıkanması (B)	90
Resim 31. Sağlam mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	106
Resim 32. Sağlam mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	106
Resim 33. Sağlam mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	107
Resim 34. Sağlam mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	107
Resim 35. Sağlam mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	108
Resim 36. Sağlam mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	108
Resim 37. Sağlam mine alt yüzeyinin 3000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü	109
Resim 38. Sağlam mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü	110
Resim 39. Sağlam mine alt yüzeyinin 4500x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü	110
Resim 40. Sağlam mine alt yüzeyinin 12 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü	111
Resim 41. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	112
Resim 42. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	112

Resim 43. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	113
Resim 44. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	113
Resim 45. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	114
Resim 46. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	114
Resim 47. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 3000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	115
Resim 48. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	116
Resim 49. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 9000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	116
Resim 50. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 15 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	117
Resim 51. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	118
Resim 52. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	119
Resim 53. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	119

Şekil 59. Resim 54. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	120
Resim 55. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	120
Resim 56. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	121
Resim 57. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 3000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	122
Resim 58. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 4000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	123
Resim 59. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	123
Resim 60. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 10 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	124
Resim 61. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	125
Resim 62. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	126
Resim 63. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	126
Resim 64. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	127

Resim 65. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	127
Resim 66. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	128
Resim 67. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 4000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	129
Resim 68. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	129
Resim 69. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 10 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	130
Resim 70. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 15 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	130
Resim 71. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	131
Resim 72. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	132
Resim 73. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	132
Resim 74. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	133
Resim 75. pH döngüsü ile Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	133

Resim 76. pH döngüsü ile Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	134
Resim 77. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 3000x(A) büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü	135
Resim 78. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	135
Resim 79. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 9500x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	136
Resim 80. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 15000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	136
Resim 81. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	137
Resim 82. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	138
Resim 83. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	138
Resim 84. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	139
Resim 85. pH siklüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 20000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	139
Resim 86. pH siklüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 30000x büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	140

Resim 87. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 4000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	141
Resim 88. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	141
Resim 89. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 10 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	142
Resim 90. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 15 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	142
Resim 91. Sağlam mine yüzeyinin 10 000x(A) büyütmede SEM-SE görüntüsü, Başlangıç mine lezyonunun 10 000x(B), pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulamasının 10 000x(C), pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulamasının 10000x(D), pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulamasının 10 000x (E) VE Yapay Tükürük uygulamasının 10 000x(F) büyütmede SEM-SE görüntüsü.....	143
Resim 92. Sağlam mine alt yüzeyinin 12 000x(A) büyütmelede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü, Başlangıç mine lezyonunun15 000x(B), pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulamasının 10 000x(C), Tooth Mousse uygulamasının 15 000x(D), Clinpro Tooth Creme uygulamasının 15 000x(E) ve Yapay Tükürük uygulamasının 15 000x (F) büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü.....	144

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Demineralizasyon solüsyonu	85
Tablo 2. Çalışmada kullanılan remineralizasyon materyalleri ve yapay tükürüğün kimyasal içeriği	88
Tablo 3. Demineralizasyon ve Remineralizasyon solüsyonu	89
Tablo 4. MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme, Yapay Tükürük gruplarının ve Başlangıç, Demineralizasyon sonrası, Remineralizasyon sonrası ölçümlerinin karşılaştırılması.....	94
Tablo 5. Grupların ikili karşılaştırmaları.....	95
Tablo 6. Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve Remineralizasyon sonrası için ikili karşılaştırma test sonuçları	96
Tablo 7. Mine örneklerinin başlangıçtaki Ca/P molar oranları.....	99
Tablo 8. Mine örneklerinde demineralizasyon sonrası Ca/P molar oranları.....	100
Tablo 9. Mine örneklerinin pH döngüsü ile remineralizasyonu sonrası Ca/P molar oranları	101
Tablo 10. Mine örneklerinin Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve MI Paste Plus, Tooth Mousse Clinpro Tooth Creme uygulamaları sonrası Ca/P molar oranlarının (ort ±SD) ve p değerleri	102
Tablo 11. MI paste Plus, Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme ile uygulaması sonrası EDS analizi ile elde edilen Ca/P molar değerlerinin karşılaştırılması.....	104

Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat İçeren Remineralizasyon Ajanlarının Etkilerinin Nanoteknolojik Teknikler ile Analizi ve Karşılaştırılması

Öğrencinin Adı: Burak KİTİKİ

Danışmanı: Prof. Dr. Betül KARGÜL

Anabilim Dalı: Pedodonti AD.

1.ÖZET

Amaç: Bu araştırmanın amacı, başlangıç yapay çürük lezyonlarında, CPP - ACP içeren çeşitli remineralizasyon ajanların etkinliğinin çeşitli nanoteknolojik sistemler ile araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmamız için 40 mine örneği üzerinde yapay çürük lezyonları oluşturuldu. Kullanılan remineralizasyon ajanlarına göre mine örnekleri dört gruba ayrıldı: Grup 1: MI Paste Plus, Grup 2: Tooth Mousse, Grup 3: Clinpro Tooth Creme, Grup 4: Kontrol. Başlangıçta, grupların demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasında Raman, EDS and FIB/SEM ölçümleri değerlendirildi. Elde edilen veriler tek yönlü ANOVA, Student t - testi ve Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. $0.05 \leq P$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Raman spektroskopisi ölçümleri ve EDS analizleri ile Clinpro Tooth Creme dışındaki tüm remineralizasyon ajanlarının remineralizasyonu arttırdığı belirlendi ($p < 0,001$). FIB/SEM incelemelerinde demineralize mine yüzeyi ve mine alt yüzeyinde yoğun poröz bir tabaka olduğu MI Paste Plus ve Tooth Mousse kullanımı ile bu poröz tabakanın kaybolduğu ve düzenli remineralizasyon tabakasının oluştuğu gözlemlenmiştir.

Sonuçlar: MI Paste Plus diğer CPP-ACP içerikli ürünlere göre daha iyi remineralizasyon etkisi göstermiştir. CPP-ACP ile florun kombinasyonu kalsiyum, fosfat ve florun mine yüzeyindeki birikimini değiştirerek materyalin etkinliğinin artmasına neden olmuştur.

Anahtar Sözcükler: FIB/SEM, Raman spektroskopisi, EDS, Remineralizasyon, CPP-ACP

KITIKİ B. Analysis and Comparison of the Effects of Remineralization Agents Containing Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate Using Nanotechnology Techniques.

Student: Burak KITIKİ

Advisor: Prof. Dr. Betül KARGÜL

Department: Department of Pedodontics

2.SUMMARY

Aim: The aim of this study is to investigate the remineralization efficacy of various CPP-ACP agents on artificial initial caries lesions with various nanotechnological systems.

Materials and Methods: Artificial caries lesions were created on 40 enamel specimens. Specimens were divided into 4 groups according to the remineralizing agent that was used. Group 1: MI Paste Plus, Group 2: Tooth Mousse, Group 3: Clinpro Tooth Crème, Group 4: Control. First of all, the groups were evaluated after demineralization and remineralization using Raman, EDS and FIB/SEM techniques. The obtained data was analyzed statistically using one-way ANOVA, Student's *t*-test and Tukey's multiple comparison tests. $P \leq 0.05$ was considered to be significant

Results: Raman spectroscopic results and EDS analysis show that all pastes-except Clinpro Tooth Crème reduce remineralization ($p < 0,001$). The FIB/SEM observation showed that a porous layer is occurred at demineralized enamel surface and subsurface, and it had been showed that organised remineralisation layer is occurred after this porous layer is disappeared by using MI paste and Tooth Mousse .

Conclusions:. MI Paste Plus presented better remineralization affect according to the other products include CPP-ACP.. The combination of CPP-ACP and fluoride increased the efficiency of the material by changing the accumulation of calcium, phosphate and fluoride on the enamel surface.

Key Words: FIB/SEM, Raman spectroscopy, EDS, Remineralization, CPP-ACP

3.GİRİŞ ve AMAÇ

Diş çürükleri diyet, karbonhidrat ve bakteri kaynaklı bir hastalık olup, insanlarda görülen en yaygın bakteriyel enfeksiyonlardan biridir. Diş çürükleri, basit olarak dental plaktaki biyofilm içerisindeki yer alan bakterilerin ürettiği asit kaynaklı demineralizasyon atakları ile oluşur. Asit atakları nedeniyle mine yüzeyinde pH değeri düşer, pH'ın kritik pH değerinin altına inmesi nedeniyle de mine yüzeyinde çözünmeler başlar. Bu çözünmeler başlangıçta yüzey yapısının bozulmasına, ilerleyen durumlarda da kavitasyonlara neden olur. (Cury ve Tenuta, 2009; Cheng ve ark, 2015). Düz mine yüzeylerindeki çürüğün ilk belirtisi beyaz opak noktalardır. Bu tebeşirimsi ve opak bölgeler başlangıç mine çürükleri olarak isimlendirilirler. Bu aşama diş çürüğü oluşumunun en erken safhasıdır ve bu aşamada çürük tedavi edilebilir (Roberson ve ark, 2011). Başlangıç mine çürüklerinde; tedavi edici ve koruyucu yöntemlerin birlikte uygulanması daha etkilidir.

Son yıllarda sağlıklı diş dokularının korumasında minimal invaziv yaklaşımlar önem kazanmıştır. Minimal invaziv yaklaşımlar içerisinde başlangıç çürük lezyonlarının tanısı ve tedavisi önemlidir. Böylece henüz kavitasyon oluşmadan demineralize mine ve dentin dokusunun remineralizasyonu sağlanabilir. Klinik olarak diş çürüğünün belirlenmesi, çürük riskinin belirlenmesi, koruyucu stratejilerin belirlenmesi gibi kavramları içinde barındıran ve klinikte karar verebilmeyi kolaylaştıran önemli bir anahtardır (Korkut ve ark, 2011). Çürük lezyonlarının erken dönemde tedavisi; uygulanması kolay, kısa zaman alan, hasta tarafından kolay tolere edilebilen, ekonomik ve konservatif uygulamalara olanak sağlar. Diyetin kontrolü, ağız hijyenin iyileştirilmesi, antibakteriyel ajanların kullanılmasının başlangıç çürüklerini engellemesinin dışında, koruyucu yöntemlerin içerisinde birçok ajan ve uygulama şekli bulunmaktadır (Çelik ve ark, 2011).

Flor uygulamaları koruyucu yöntemler içerisinde en çok bilinen ve uygulanan yöntemlerdendir. Flor uygulamalarının remineralizasyonu arttırdığı bilinen bir gerçektir. Florun pit ve fissürlerdeki demineralizasyon alanlarındaki sınırlı etkisinden, yüksek doz florun oluşturabileceği yan etkilerinden (Florozis) ve coğrafi koşullara göre bazı ülke ve şehirlerde flor uygulamalarının sınırlandırılması araştırmacıları farklı remineralizasyon ajanlarının araştırılmasına yönlendirmiştir (Goswami ve ark, 2012).

Araştırmacılar, çürüğü önlemek amacıyla sütün içerisindeki koruyucu faktörler ile ilgili çalışmalara odaklanmışlardır. Sonuç olarak sütteki koruyucu faktör olan Kazein fosfopeptid (CPP)'in, seçici çökeltme yöntemi kullanarak kazeinin tripsin enzimi ile parçalanması sonucunda elde edildiği bildirilmiştir (Goswami ve ark, 2012; Reynolds ve ark, 1994).

Kazein fosfopeptid (CPP), kazeinin protein dizilimini (-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu) içerir. CPP, kalsiyum fosfatı CPP-amorf kalsiyum fosfat (ACP) kompleksi şeklinde stabilize edebilir. Sıvılarda ACP ortokalsiyum fosfat veya apatit ürünleri gibi stabil kristal fazlara dönüşür. CPP-ACP diş yüzeyine ve plaktaki bakterilere bağlanır. Bu şekilde, CPP-ACP diş yüzeyine komşu alanlarda yüksek konsantrasyonda ACP depolar. Asidik koşullarda serbest kalsiyum ve fosfat iyonları salarak plaktaki kalsiyum fosfat seviyesini artırır böylece minede demineralizasyonunu önleyecek ve remineralizasyonu artıracak şekilde süpersaturasyon sağlar. CPP-ACP içerikli ajanlar sakızlara, diş macunlarına, pastillere, gargaralara veya spreylere ilave edilerek minede demineralizasyonun önlenmesine ve başlangıç çürük lezyonlarının remineralize edilmesine çalışılmıştır (Çetin ve ark, 2011; Evcin, 2009).

Bu ajanların remineralizasyon etkilerinin araştırılmasında daha hızlı ve daha detaylı yöntemlerin kullanılması önem taşımaktadır. Bu tez çalışmamızda çeşitli CPP-ACP içeren ajanların Clinpro Tooth Crème (950 ppm Flor içerikli), Tooth Mousse (Kazein fosfopeptid amorf kalsiyum fosfat, GC Tooth Mousse) ve MI Paste Plus (900 ppm Flor içerikli) mine remineralizasyon etkilerinin in vitro şartlarda Raman Spektroskopisi, Enerji Dağılımlı Spektroskopi (EDS) ve Odaklanmış İyon Demeti (FIB) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) gibi Nanoteknolojik cihazlarla incelenmesi ve farklılıklarının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

4.GENEL BİLGİLER

4.1.Diş Çürüğü

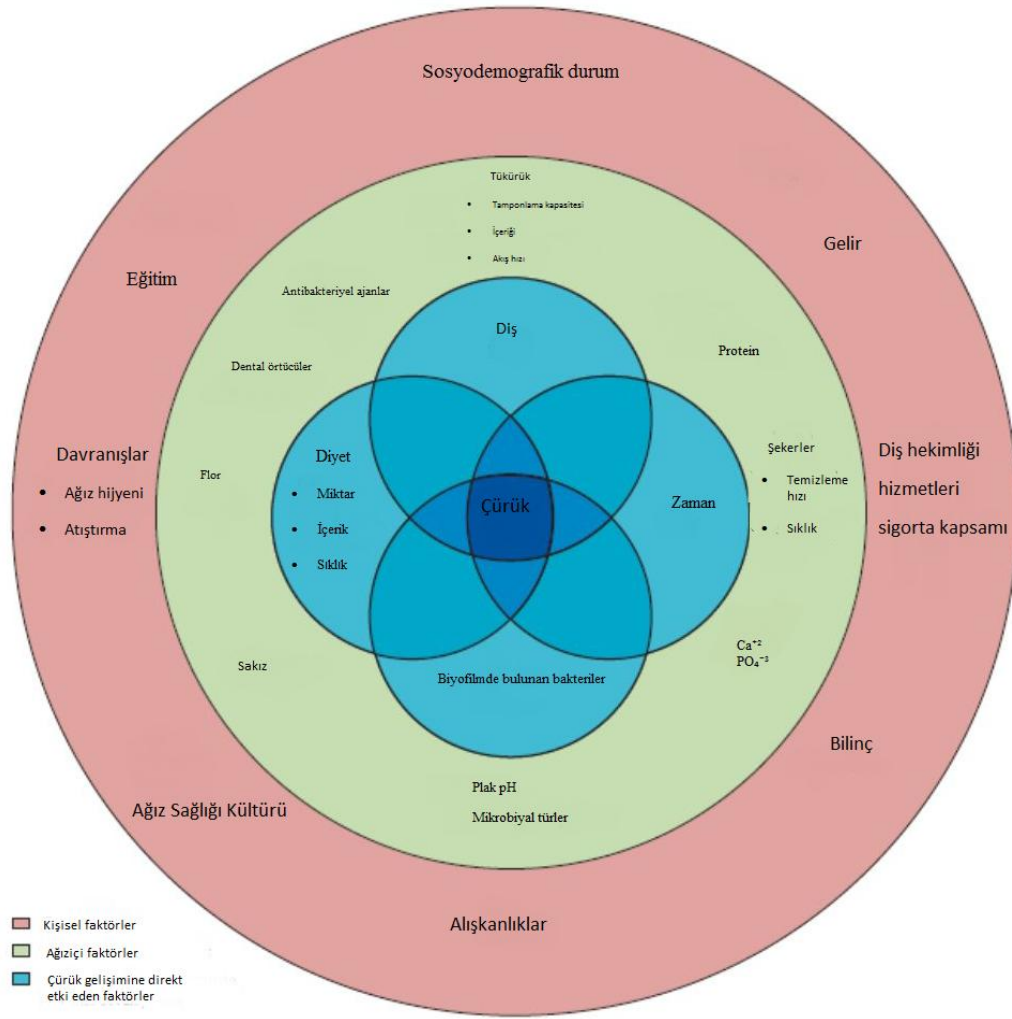
60'lı yıllarda yapılan çalışmalarda diş çürüğünün oluşmasında konak, besin ve diş plağının etkili olduğu düşünülmüştür (Keyes ve Jordan, 1963)

Günümüzde diş çürüğünün multifaktöriyel bir hastalık olduğu kanıtlanmıştır. Buna göre, çürük oluşabilmesi için dört ana faktörün bir arada bulunması gerektiği kabul edilmiştir (Haris ve Gorcia-Goday, 2004; Bowden, 2000; Reich ve ark, 1999).

Bu faktörler;

- a) Konak (diş sert dokuları),
- b) Karyojenik mikroorganizmalar,
- c) Diyet (işlenmiş karbonhidrat tüketimi)
- d) Zaman

İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda bu dört ana faktörün dışında, diş çürüğü oluşumunda tükürük, vücut savunma sistemi, genetik ve kültürel özellikler, immunolojik, davranışsal ve çevresel faktörler, sosyoekonomik durum, eğitim seviyesi ve flor kullanımı gibi birçok faktörün de rol oynadığı ve bütün faktörlerin küme ve alt kümelerinin etkili olduğu bildirilmiştir (Balakrishnan ve ark, 2000; Fejerskov ve Kidd, 2008; Touger-Decker ve Loveren, 2003; West NX ve Joiner, 2014) (Şekil 1).



Şekil 1.Diş çürüğü etiyolojik faktörler (West NX ve Joiner, 2014; Featherstone ve Rodgers, 1981)

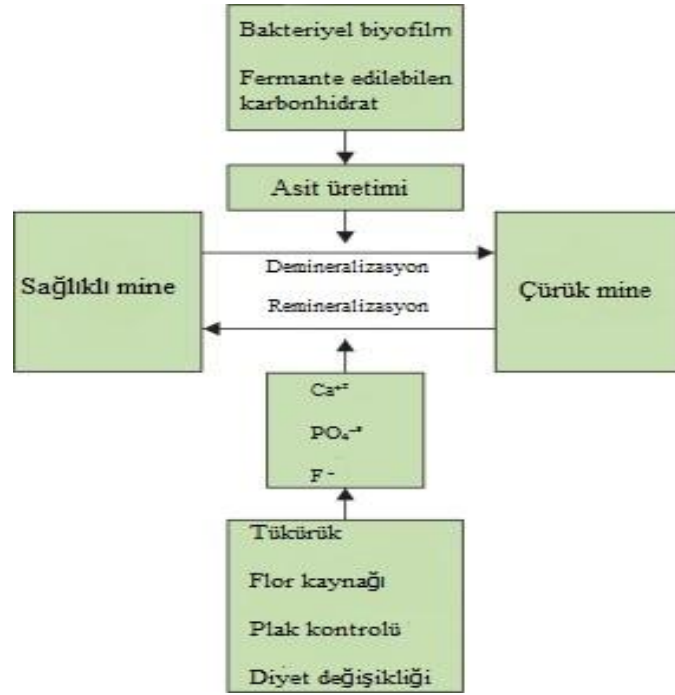
Çürük oluşum süreci, dişin mineral yapısı ve oral mikrobiyal biyo film arasındaki fizyolojik dengenin bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır. Dişler üzerindeki biyo film tabakasında yer alan asit üretebilen bakterilerin ağız içindeki karbonhidratları fermantasyonu sonucunda organik asitlerin formasyonu ve ortamın pH'sının kritik pH olan 5,5'in altına düşmesi ile başlar (Geddes, 1975). Plak bakterileri tarafından oluşturulan asitler plak sıvısı içerisine sızarak hidrojen iyon konsantrasyonunun artmasına neden olur. Bunu, mine yapısında bulunan difüzyon kanallarının açılması sonucunda, mine yüzeyinde çözünmenin başlaması takip eder. Bu sürecin devamında kavitasyon meydana gelmektedir (Zero, 1999; Selwitz ve ark, 2007; Matsui ve Cvitkovitch, 2010; Çakır ve ark, 2010).

Genel anlamda diş çürüğü basit bir kavram olmasına karşın ayrıntıları komplikedir (Featherstone ve ark, 1990). Ağız içerisindeki bakterilerin fermente olabilen karbonhidratları metabolize etmesi sonucunda asetik laktik ve propiyonik asit gibi organik asit ürünleri meydana gelir. Bu asitlerin mine ya da dentin gibi diş sert dokularına ulaşması sonucu dokunun mineral yapısında bir çözülme olur. Bu demineralizasyon fazı tükürük içerisindeki kalsiyum ve fosfat iyonları, tükürük proteinleri, antibakteriyel ajanlar ve florid iyonları varlığında yavaşlayabilir ya da durabilir. Özellikle ağız içerisinde ve diş yüzeylerinde pH oranının yükselmesi sonucu kalsiyum ve fosfat iyonlarının demineralize alanlardaki kristalit yapıları ile reaksiyona girerek flor iyonları birlikteliğinde bu bölgelere çökelmeleri sonucu sınırlı alanda kalmış demineralizasyon bölgeleri tekrar remineralize olabilirler (Featherstone ve ark, 1990; ten Cate ve Featherstone, 1991). Remineralize olmuş bölgelerdeki apatit kristalleri asit ataklarına karşı daha dirençlidirler. Bu aşamada flor iyonlarının iki temel avantajı ortaya çıkmaktadır; birincisi demineralizasyon fazını inhibe ederek olası çürük oluşumunun önüne geçmeleri, ikincisi ise remineralizasyon sürecini hızlandırarak yeni oluşan apatit yapının daha stabil ve dirençli olmasına katkıda bulunmalarıdır (ten Cate ve ark., 1985; Matsui ve Cvitkovitch, 2010; Toiger-Decker ve Loveren, 2003; García-Godoy ve Hicks, 2008; Caufield ve ark., 2005)

Diş çürüğünün oluşumunda etkili konak faktörü, genel itibariyle diş ve tükürüğe bağlı etmenleri içermektedir. Dişin ağız içerisindeki pozisyonu ve yeri, morfolojisi, yapısı ve ağız içerisinde bulunma süresi diş bağlı faktörler olarak özetlenebilir. Dişlerin okluzal yüzeyleri (özellikle fissür ve fossalar) en yüksek çürük riskine sahip bölgelerdir. Diş dizisindeki düzensizlikler, ortodontik amaçlı kullanılan apareyler ve diş dokusu uyumu olmayan, yanlış yapılan restorasyonlar plak birikimini ve çürük oluşumunu artırmaktadır. Tam olarak sürmemiş dişler, sürme süresince ağız içerisindeki fizyolojik temizleme sağlayan kuvvetlere maruz kalamadıkları için oklüzyona gelene kadar çürük yönünden risklidir. Ayrıca bu dişlerin minesini sürme aşamasında henüz tam olarak olgunlaşmadığı için diğer dişlere göre daha kolay demineralize olabilmektedir (Zero,1999; González-Cabezas, 2010; Pretty ve ark, 2002).

Gün içerisinde tüketilen asit içeriği yüksek olan içeceklere bağlı olarak anlık demineralizasyon meydana gelmektedir. Anlık oluşan demineralizasyon ilerlemedikçe, vücudun remineralizasyon kapasitesi sayesinde dişten kaybedilen kalsiyum, fosfat ve flor yüksek konsantrasyonda bulunduğu tükürükten geri kazanılabilmektedir (Featherstone, 2008).

Diş çürükleri demineralizasyonun, remineralizasyon ile dengelenemediği ya da remineralizasyonun önüne geçemediği durumlarda görülen patolojik bir süreç olarak tanımlanmaktadır (Haris ve Gorcia-Goday, 2004). Remineralizasyon ile demineralizasyon arasındaki denge diş çürüğünün ilerlemesi, durdurulması ve remineralize olmasından sorumludur. Gün içerisinde bu denge sürekli değişim içerisinde olup, demineralizasyon ve remineralizasyon olayları oldukça sık gerçekleşmektedir (Selwitz ve ark, 2007) (Şekil 2)



Şekil 2. Remineralizasyon ve demineralizasyon dengesi (Selwitz ve ark, 2007).

4.1.1. Tükürük

Tükürüğün kompozisyonu ve akış oranı çürük sürecini etkileyen konağa bağlı önemli bir faktördür. Tükürüğün koruyucu birçok mekanizması mevcuttur. Bunlar; mekanik temizleme, plak asitlerini tamponlama, antimikrobiyal özellikler ve demineralizasyonuna engel olan organik ve inorganik komponentleri içermesidir. Tükürüğün temel tampon maddesi bikarbonattır. Tamponlama kapasitesi sayesinde ağız ortamında asit direnci oluşur ve asit atakları nötralize edilir. Bakterilerin protein yıkımlarından oluşan üre ve amonyak düşüşe geçen pH'ı normal seviyesine getirir (Dodds ve ark, 2005). Tüketilen yiyeceklere bağlı olarak sürekli bir pH değişimi gerçekleşmektedir (Haris ve Gorcia-Goday, 2004). Karbonhidratlı besinleri tüketiminden sonra pH seviyesinde anlık bir düşüş meydana geldiği ve geriye dönüşünün çok uzun zaman aldığı belirtilmiştir. Farklı yiyecek ve içeceklerin tüketimi sonrasında ortaya çıkan pH değişimlerine bağlı düşüşler ve geri dönüşler 'Stephan eğrisi' ile gösterilmiştir (Koray, 1981; Newbrun, 1989; Zero, 1999). Remineralizasyon işleminde tükürüğün önemi göz ardı edilmemelidir. Diş macunları, içme suları ve besin ürünlerinden alınan flor iyonları ve tükürük içerisindeki kalsiyum, fosfor iyonlarının demineralize bölgeye taşınması ile remineralizasyon süreci içerisinde anahtar rol oynamaktadır (Krawczyk ve ark, 2014). Bu nedenle herhangi bir şekilde laboratuvar ortamında demineralizasyon ve remineralizasyon araştırması yapmak amacıyla çürük modeli oluşturulacak ise bu konuya ilişkin tüm bilgiler dikkate alınmalıdır (ten Cate ve ark, 1988; García-Godoy ve Hicks, 2008).

Tükürük mukoza ve diş yüzeylerinde mikroorganizma kolonizasyonunu engellemesi ile antimikrobiyal etki ve temizlik sağlar. Tükürük fonksiyonunun herhangi bir şekilde yitilmesi ya da salgılama miktarının yetersiz olması çürük insidansını artırmaktadır (Zraikat ve ark, 2011). Uyarılmış tükürük ve pH seviyesi bireyler için çürük risk profili açısından önem taşır. pH seviyesi 5,5 ile 7 arasındaki bireyler yüksek çürük profiline sahiptir. Tükürüğün uyarılması ile pH düşüşü engellenir bu tükürüğün koruyucu etkinliği arasındadır ve flor içerikli ajanlarla güçlendirilebilir (Willmott ve ark, 2007).

4.1.2.Dental plak ve biyofilm

Dişler yapı olarak çürüğe dayanıklı olsa da beslenme ve beslenme şekli bu dayanıklı yapıyı bozmaktadır. Besinlerin diş yüzeyine tutunması, fermente olabilen karbohidratların alınma sıklığı, tüketilen karbohidratların tipi çürük insidansı ile direkt ilişkilidir (Newbrun, 1989; Zero, 1999). Diş çürükleri fermente olabilen karbohidratların sürekli tüketimi ve pH'nın düşüşünden etkilenen biyofilm mikroorganizmalarının yer değiştirmesi ile ilişkili diyet ve biyofilm kaynaklı bir hastalık olarak tanımlanabilir (Fejerskov, 1997). Dental plak, diş yüzeyinde dişeti sınırları içerisinde şekilsiz, yapışkan bakteri tabakası anlamına gelmektedir. Oral biyofilm ise ağız içerisindeki mikroorganizmaların yumuşak dokular üzerinde yerleşmesi anlamına gelir. Dental plak çok sayıda asidojenik, asidojenik olmayan ve bazik mikroorganizmalardan oluşmaktadır (Rudney, 2000; Houte, 1994). Dişler üzerinde bakteri plağının birikmesi diş çürüğü başlangıcının ilk basamağını oluşturur (Newbrun, 1989, Radford ve ark, 2001; Beighton, 2005; Radford ve ark, 2001). Diş çürüğünün gelişimi için dental plak varlığının yanında fermente olabilen karbohidratların bulunması gerektiği bildirilmiştir. Karbohidratların fermantasyonu sonucu ortaya çıkan asitlerin diş yapısından mineral kaybına neden olduğu bilinmektedir (Krawczyk ve ark, 2014). Diş çürüğünün yayılması ya da artmasına dişin maruz kaldığı şekerde bağlıdır. Bu şekerin sakaroz şekeri olması halinde, biyofilmde bulunan bakterilerin asit üretiminin yanı sıra ekstrasellüler polisakkarit sentezi de gerçekleştirdikleri bildirilmiştir (Tenuta ve ark, 2010). Ekstrasellüler polisakkarit sentezi, bakteri tutunmasını artırmakta ve biyofilm içinde bulunan bakteri topluluğunun kaynaşmasında rol oynamaktadır (Arthur ve ark, 2011; Arthur ve ark, 2007).

4.1.3.Mikroorganizmalar

Bakterilerin de içerisinde bulunduğu ağız florası oldukça komplekstir. İnsan dental plağında yaklaşık 600 bakteri türünün olduğu bildirilmesine rağmen, aside dayanıklı ve asit üreten mikroorganizmalar olan Streptokok ve Laktobasiltürlerinin major insan dental patojenleri olduğu bildirilmektedir. Fermente edilebilir karbohidratların sık tüketiminin diş çürüğü riskini artıracakları bildirilmiştir (Loesche, 1986).

Diş çürüğü oluşumunda esas etkili bakterinin, viridans gruplar olarak tanımlanan oral α -hemolitik streptokoklardan olan *S. mutans* olduğu ve diğer bir etkili bakterinin de *Laktobacillus* olduğu bildirilmiştir. Yapılan çoğu in vitro ve in vivo çalışma, diş çürüğünün *S. Mutans*'ın kolonizasyonu ile başlayan ve laktobasillerin yardımı ile ilerleyen bir süreç olduğunu göstermiştir (Krol, 2008; García-Godoy ve Hicks, 2008).

Mutans streptokoklar yuvarlak veya oval şekilli gram (+) koklardır. Streptokoklar fakültatif anaerobik bakterilerdir (Yoneyama ve ark, 2006). Yapılan in vitro çalışmalar sonucunda mutans streptokokların asidojenik ve asidürik mikroorganizmalar oldukları ve hayvan deneyleri sonucunda da çürük yapıcı mikroorganizmalar olarak tanımlanmışlardır (Martine ve ark, 2010).

Laktobasiler ise derin çürük lezyonlarında ikinci derecede etkili mikroorganizmalar olarak tanımlanır. Çürüksüz ortamda plakta ve başlangıç çürük lezyonlarında bulunma oranları oldukça düşüktür. Kaviteye meydana gelmiş derin çürük lezyonlarında bulunma oranları yüksek değerlerdedir (Smiech-Slomkowska ve Jablonska-Zrobek, 2007). Ağız mikroflorasındaki Mutans streptokok ve laktobasillerin düşük pH seviyelerinde yaşayabilmeleri, karbonhidrat alımıyla pH seviyesi düşürmeleri, sükrözden ekstraselüler polisakkarit sentezleyebilme yetenekleri sayesinde diş yüzeyinde bulunan dental plağa kolaylıkla bağlanabilmeleri çürük oluşturmalarına sebep olmaktadır (Koray, 1981; Loesche, 1986; Newbrun, 1989).

4.2.Mine Dokusu ve Histolojik Yapısı

Vücutun en sert dokusu olan mine, dentin ve pulpa gibi diş dokularını korunmakla beraber, renk ve şekilleri nedeni ile estetik açıdan da önem taşımaktadır. Bu nedenle diş hekimliğinin en önemli amaçlarından birisi diş minesinin ömür boyu korunmasıdır (Roth ve ark, 1990).

Diş minesi mineralize olmuş epidermal dokudur. Mine, anatomik kuronun tümünü ve klinik kuronun bir kısmını örter ve kalınlığı kole bölgesinde sıfırdan başlayıp tüberkül tepesinde 2,5 mm'ye kadar ulaşır (Cengiz, 1996). Minenin oluşum sürecinde ilk olarak organik matris şekillenir. Organik matriksin şekillenmesinden sonra bu yapı ameloblastik hücreler tarafından bölümler halinde sindirilirler. Kalsiyum ve fosfor iyonları gelişen matris içerisinde hidroksiapatit çekirdekleri oluştururlar ve hızlı bir şekilde kristalleşerek büyürler (Robinson ve ark, 1997).

Mine dokusu hacim olarak %85-87 oranında kalsiyum-hidroksiapatit kristal yapısından, geri kalan kısmının ise su, protein ve lipitten oluştuğu görülmektedir (Dayangaç, 2000; Simmer ve Hu, 2001). Ağırlık olarak ise % 95-96'sı mineralize ya da inorganik materyal, %1'i organik materyal ve % 4'ü sudan oluşmuştur. Diş minesi elektronlardan, atomlardan, kristallerden ve prizmalardan meydana gelmiştir (Bath-Balagh ve Fehrenbach, 1997; Gwinnett, 1992). Kristaller arasındaki mikro boşluklar ağız ortamı ve pulpa, dentin sıvıları arasında dinamik bir bağlantı sağlarlar (Habelitz ve ark, 2001). Yarı geçirgen özelliğe sahip olması nedeniyle sıvılar, iyonlar ve zararlı fizyolojik ya da tedavi amaçlı küçük moleküler ağırlığa sahip parçacıklar mine içerisine diffüz olabilirler. Bu nedenle, demineralizasyon ve remineralizasyon prosesleri, flor alımı ve vital beyazlatma sadece mine yüzeyi ile sınırlı kalmayan aynı zamanda diş dokularının üç boyutta iç bölgelerine kadar aktif bir şekilde etkilendiği proseslerdir (Dumitrescu ve ark, 1996; Svejda ve Bures, 1974). Kristalize mineral yapıdan meydana gelmiş olan mine dokusu; okluzal kuvvetlerin ve asitlerin neden olduğu demineralizasyon ve çürüğe karşı gösterdiği direnç ve remineralizasyona olanak vermesi gibi önemli özellikler taşır (Elliott, 1997).

Hidroksiapatit kristallerinin birçoğu $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ şeklinde, içerisinde farklı iyon ve moleküller içermeyen olgunlaşmamış bir şekilde bulunur. Yaşam boyunca çevresel etkenlerle yapıya karbonhidrat, florid, magnezyum, sodyum gibi yaklaşık 40 element yapıya katılır. Bazı eser elementler çürük önleyici özelliklere sahip olup, bunlardan en önemlisi Flor'dur. Çürük önleyici etkileri bilinen diğer eser elementler ise; bor, baryum, lityum, magnezyum, molibden, stronsiyum ve vanadyum olarak sıralanabilir (Berkovitz ve ark, 1993; Piesco ve Simmerlink, 2002).

Yapıya katılan elementler sayesinde bu hidroksiapatit kristal yapısı, karma ve düzensiz bir yapı şeklini almaktadır (ten Cate ve ark, 2003; Pearce ve Nelson, 1989). Stabil olmayan bu kristalize yapı minenin geçirgen özelliği nedeniyle ağız ortamında bulunan bazı iyon ve moleküllerle reaksiyona olanak tanır. Örneğin bu kristal yapının flor ile reaksiyonu sonucu mine dokusunda daha sert ve asit ataklarına karşı daha dayanıklı bir yapı olan floro-hidroksiapatit kristalleri oluşur (Bonucci, 1995).

Mine, mine dentin sınırından dış yüzeyine kadar uzanan hidroksiapatit kristallerinin oluşturduğu organize olmuş prizmatik yapılardan meydana gelmiştir. Bu prizmalardan enine kesit alındığında bir baş ve bir kuyruk ile resmedilen anahtar şeklinde görünürler. Tek bir prizma ameloblast aktivasyonu sonucu oluşmuştur. Mineralizasyon prosesinin devamlılığında kesilmeler sonucu yüksek ve düşük aktivasyonlu bölgeler oluşur. Bu süreçte aktivasyonun az olduğu bölgeler “rest çizgilerini” oluşturur ki enine kesitlerde görülen bu yapı retzius çizgileri olarak görülür (Li ve Risnes, 2004). Bu bölgeler oransal olarak daha çok organik yapı içerirler. Retzius çizgilerinin olduğu bölgeler ve prizma yapıları arasındaki boşluklar su ve küçük iyonların (hidrojen iyonlarının) yapı içersinde hareketine olanak sağlarlar.

Minenin küçük moleküllerin hareketine izin verirken büyük molekül ve iyonların hareketini kısıtlaması bu sayede gerçekleşir. Çürük mine yapısı üzerindeki iyon hareketi mine de bir kavitasyon oluşturmaksızın daha alttaki dentin dokusunda asit çözülmesine neden olur. Bu asit atakları bilinmeyen bir mekanizma ile pulpal cevaba neden olabilirler. Retzius çizgilerinden kaynaklanan mine geçirgenliği düz yüzey çürüklerinin lateral olarak yayılmasına neden olur. Aslında retzius çizgileri erken mine çürüklerinden sorumlu tutulurlar. Okluzal minede retzius çizgiler ve mine prizmalarının yönü yüzeye dikeydir. Aksiyal yüzeyler de ise yüzeye diagonal olarak seyrederek (Risnes, 1998; Simmelink ve Abrigo, 1989; Svejda ve Bures, 1974).

4.3.Mine Çürüklerinin Klinik Özellikleri

Düz mine yüzeylerindeki çürüğün ilk belirtisi beyaz opak noktalardır. Bu beyaz noktalar yüzeyin kurutulması ile daha net gözlemlenirler. Bu tebeşirimsi ve opak bölgeler başlangıç çürükleri olarak isimlendirilirler. Bu bölgelerde mine saydam özelliğini kaybeder çünkü alt yüzeyde demineralizasyondan kaynaklanan yaygın poroziteler vardır. Başlangıç çürükleri, diş çürüğü oluşumunun en erken safhasıdır ve bu aşamada çürük lezyonu durdurulabilir ya da tedavi edilebilir (Carlstroem, 1964; Lenz, 1961; Mannerberg, 1964; Roberson ve ark, 2011).

Başlangıç çürüklerindeki beyaz noktalar ile gelişimsel mine hipokalsifikasyonlarının ayırıcı tanısı çok önemlidir. Başlangıç çürüklerinde minenin ıslatılması ya da kurutulması sonrasında yüzey değişikliği ile teşhis yapılabilirken, hipokalsifiye mine, kurutulma ve ıslatılma işlemlerinden etkilenmemektedir. Hipokalsifiye mine estetik olarak bir sorun taşımadıkça tedavi gereksinimi oluşturmamaktadır. Başlangıç çürük lezyonlarına sahip yüzeyler, yapısal değişiklik olmadığı sürece sond ile teşhis edilemezler fakat ilerlemiş lezyonlarda mine yüzeyinin sağlam mine yüzeyine göre daha pürüzlü ve yumuşak olması nedeniyle sond ile teşhis yapılabilir. Bu aktif bir çürüğün belirtisidir. Başlangıç lezyonları bazen radyografi ile teşhis edilebilir. Proksimal lezyonların radyografik olarak teşhis edilmesi, lezyonun dentin tabakasında değişikliğe neden olmuş ya da dentin tabakasında değişikliğe neden olabilecek kadar ilerlemiş olduğunu göstermektedir (Sundstrom ve ark, 1972; Roberson ve ark, 2011).

Başlangıç mine çürüklerinin remineralizasyonu birçok çalışma ile gösterilmiştir (Jones ve ark, 2006; Jones ve Fried, 2006; Sawyer ve Donly, 2004). Kavite oluşmamış mine lezyonlarında mine prizmaları içerisindeki demineralizasyondan etkilenmemiş ya da etkilenmiş ancak tamamen yapısal bütünlüğü bozulmamış kristal yapı remineralizasyon başlangıç bölgesi olarak görev yapar. Tükürük içerisindeki kalsiyum ve fosfat iyonları mine yüzeyine penetre olur ve lezyon içerisindeki yüksek reaktif özellikte olan kristal yüzeylerine çökerler. Tükürük içerisindeki kalsiyum ve fosfat iyonlarının yüksek miktarda olması remineralizasyonu kuvvetlendirir (Meyer-Lueckel ve ark, 2006; Ringelberg ve Tonascia, 1976).

Ortamda flor iyonlarının bulunması ile çökelen kalsiyum ve fosfat miktarının artar ve asit ataklarına daha dirençli yapı olan floroapatit yapısı oluşur (Sawyer ve Donly, 2004; Walker ve ark, 2006; Akkurt ve ark, 2010).

Lezyonlar remineralizasyon sonrasında klinik olarak sağlam ancak genellikle kahverengi ve siyah noktalar şeklinde renklenmiş görünürler. Mine içerisine metalik iyonların penetrasyonu ve organik kalıntıların buna neden olduğu düşünülmektedir. Remineralize olmuş bu yüzden, önceki mine yapısına göre daha sağlam ve dirençlidir. Estetik problemler dışında restore edilmesine gerek yoktur (Gonzalez ve ark, 2004).

4.3.1. Başlangıç mine lezyonları ve tabakaları

Başlangıç mine lezyonlarında histolojik olarak 4 ayrı tabaka gözlenmektedir (Resim1, Resim 2). İç taraftan dışa doğru sıralamak gerekirse; (Thylstrup ve ark, 1976; Young, 2012).

1. Saydam (translusens) tabaka
2. Karanlık tabaka
3. Lezyon gövdesi
4. Yüzey tabaka

1. Saydam (translusens) Tabaka

Mine lezyonunun ilerleyebildiği en derin bölgedir ve çürük mine dokusu sağlıklı mineden ayrılır. Polarize ışık mikroskopunda, lezyonun içersine quinolin sıvısı enjekte edilerek incelendiğinde herhangi bir yapı gözlemlenmediği için bu adı almıştır. Mine çürüğünde saydam tabakadaki boşlukların oranı, sağlam mine ile karşılaştırıldığında oranın 10 katıdır. Mine çürüğünde saydam tabakadaki boşlukların oranı %1'dir. Bu tabakada çürük lezyonunun bulunduğu bölgede az miktarda demineralizasyon gözlenmiştir (Robinson, 2000; Fejerskov ve Thylstrup, 1994).

2. Karanlık Tabaka

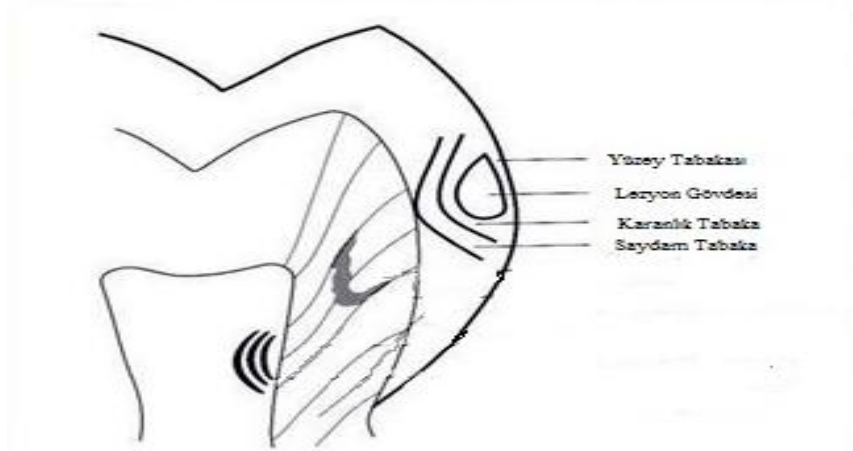
İkinci derin tabakadır. Polarize ışığı geçirmediği için karanlık tabaka olarak isimlendirilir. Bu bölgede yer alan küçük boşluklar içersindeki hava ve buhar bölgenin opak olmasına neden olur. Toplam boşluk oranı hacimce %2 ile %4 arasındadır. Bu tabaka remineralizasyon ve demineralizasyon dengesi için önemlidir. Kristalit yapıda bozulmalar görüldüğü için, tabakanın büyüklüğü remineralizasyon miktarı ve endikasyonu için büyük önem taşır. Burada gerçekleşen demineralizasyon miktarı, ilk tabakada görülen fazla lezyon gözdesinde görülen ise azdır (Roberson ve ark, 2011).

3. Lezyon Gövdesi

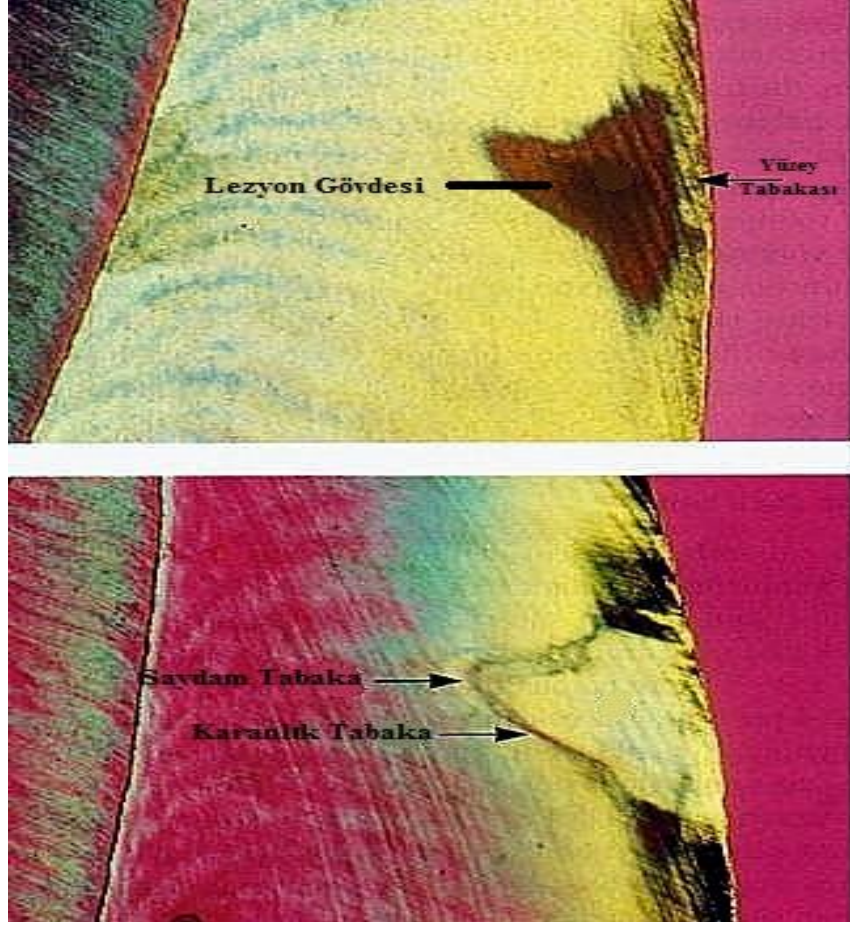
Lezyon gövdesi demineralizasyon işlemi sırasında başlangıç çürüklerinin en geniş bölgesidir. Hacimce en geniş boşluklar (%5-%25) bu alanda bulunur. Bu bölgede görülebilen retzius çizgileri, mineral çözülmesi ve oransal olarak daha büyük boşluklar bulunmasının bir nedeni ve belirtisidir. Mine yüzeyinde çürüklerin ilk başlangıcı retzius çizgileri boyuncadır. Prizmalar arası alanlar ve bu çapraz çizgilenmeler demineralizasyonun prizma içlerine kolay ilerleyebileceği bölgelerdir. Boşlukların yeterli genişlikte olması durumunda bu bölgede bakteriler de gözlemlenebilir. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve SEM ile yapılan çalışmalarda lezyon gövdesi tabakasında bakterilere rastlanmıştır (Cengiz, 1996; Roberson ve ark, 2011)

4. Yüzey Tabaka

Yüzey tabakası, çürük ataklarından en etkilenmemiş tabakadır. Lezyon gövdesinden çok daha az bir miktarda (%5 den az) boşluk içerir ve radyoopasitesi sağlam mine yapısına çok yakındır. Mine tükürük ile temasta olduğu için hipermineralizedir ve yeni oluşmuş mine yapısına göre daha yüksek oranda F içerir. Hipermineralizasyon ve yüzeyde artmış F oranı mine yüzeyinin korunmasında büyük katkı sağlamaktadır. Yüzeydeki hipermineralize alanın bazı işlemlerle kaldırılması çürük lezyonu açısından mine dokusunun direncinin azalmasına neden olmaktadır. Bakterilerin çürük bölgesine ilk giriş alanının ilerlemiş mine lezyonu olduğu tahmin edilmektedir. Bu aşama çürük prosesinin durdurulması çürük profilaksisi açısından büyük önem taşır (Silverstone, 1973; Koray, 1981; Dodds ve Wefel, 1995; Cengiz, 1996; Roberson ve ark, 2011).



Resim 1. Çürük lezyonunda oluşan tabakalar (<http://cariology.wikifoundry.com> erişim tarihi: 10 Mayıs 2015)



Resim 2. Beyaz çürük lezyonunun polarize ışık mikroskobu görüntüsü (<http://cariology.wikifoundry.com> erişim tarihi: 10 Mayıs 2015)

4.4.Demineralizasyon

Beslenme sonrasında karbonhidratların, çürükle ilişkili bakteriler tarafından metabolize edilmesi sonucu açığa çıkan organik asit ürünleri nedeniyle plak pH'sının düştüğü belirlenmiştir. Dental plak içerisinde daha asidojenik bakteri varlığı ya da dental plak kalınlığının fazla olması bu düşüşü hızlandırmaktadır (Houte, 1994). Bu düşük pH'da, plak sıvısı ve mine yüzeyinde hidroksiapatite göre az doymuş bir ortam olduğu bildirilmiştir. Bu ortamda apatit kristallerinden mineral kayıplarının ve böylece demineralizasyonun başladığı saptanmıştır (Featherstone, 1999).

Ağız ortamında demineralizasyon ve remineralizasyon olayları bir denge içinde gerçekleşmektedir. Demineralizasyon süreci, demineralizasyon ve remineralizasyon fazları arasındaki dengesizlik nedeniyle meydana gelmektedir (Dickinson ve ark, 2007). Bu dengesizliği etkileyen faktörlerin başında ağız içi pH, tükürük, oral bakteriler, sukroz alım sıklığı, flor ve diğer kimyasalların varlığı gelmektedir. Demineralizasyon ve remineralizasyon süreçleri ağız içerisinde farklı ortamlarda fakat aynı zaman içerisinde meydana gelmektedir. Yüksek bakteriyel aktivite ve düşük pH süreci boyunca denge demineralizasyon yönünde değişmektedir (ten Cate ve ark, 2003). Demineralizasyon mine yüzeyinde mikrobiyal aktivite ile başlayıp, dentin ve sement dokularının yıkımı ile devam eder (Silverstone ve ark, 1981). Mine demineralizasyonun ilk aşamasının interprizmatik mineral kaybı ile karakterize olduğu, sonraki aşamalarda erken çürük lezyonunu meydana getiren yüzey katmanı oluştuğu belirtilmiştir (Kudiyirickal ve Ivancaková, 2008). Plakta meydana gelen asit ataklarını takiben ilk olarak kalsiyum florürün (CaF_2) çözüldüğü bildirilmiştir. Sonrasında sırasıyla, hidroksiapatit (HAP) ve son olarak florohidroksiapatitin (FHAP) çözüldüğü belirtilmiştir (Haris ve Gorcia-Goday, 2004). Bunun sonucunda sağlam mine yüzeyi, beyaz ışık altında translüsent bir görünüm sergilerken demineralizasyona maruz kalmış mine yüzeyi, beyaz opak bir görünüm kazanmaktadır. Düz mine yüzeyinde oluşan çürük lezyonlarının en erken klinik belirtisi beyaz nokta lezyonlardır (Mellberg ve Ripa, 1983).

Karyojenik koşullarda, diş yüzey direncinin çürük oluşumuna engel olamadığı bildirilmiştir. Dişte meydana gelen mineral kaybının, mineral kazancına üstünlük sağladığı durumlarda mine yüzeyinde çürük lezyonunun gelişmeye başladığı belirtilmiştir. Bu durumda diş yüzeyinde pürüzlülük ve porozite gözlemlenmiştir. Çürük lezyonunu güçlü asitlerin neden olduğu dental erozyon gibi diğer demineralizasyon tiplerinden ayıran özelliğin, tabaka tabaka kaybedilen mine dokusu olduğu bildirilmiştir (González-Cabezas, 2010).

Hidroksiapatit kristallerinin termodinamik olarak hafif asit pH'da ve nötral pH'da daha stabil şekilde bulunduğu bildirilmiştir. Apatit minerallerinin eriyebilirliğinin bu pH derecesine bağlı olduğu bilinmektedir. Düşük pH'da çevredeki sıvılarda (plak sıvısı gibi) doymuşluk veya aşırı doymuşluk koşullarının sağlanabilmesi için daha fazla kalsiyum ve fosfata gerek duyulur. Belli koşullarda tükürük, kalsiyum ve fosfat için bir kaynak olabilir. Ancak pH 5,5'a düşerse mineraller için az doymuş hale gelir ve çözünme başlar. Demineralizasyon sürecinin başlaması için pH'ın 30 dakika kadar 4,5 seviyesinde kalması yeterlidir (Silverstone ve ark, 1981; Görken ve ark, 2013).

pH'nın normale dönüşü, hidroksiapatitin çözünen kısımlarının ağız ortamındaki doymuşluk koşullarının tekrar sağlanarak, hidroksiapatitin tekrar gelişmesi ve remineralizasyonun oluşması gösterilmektedir (Cury, 1993).

4.5.Remineralizasyon

Remineralizasyon, çürük veya farklı nedenlerden dolayı demineralizasyon sonrasında mine dokusundan kaybedilen kalsiyum, fosfat ve diğer iyonların tekrar mine yüzeyinde birikmesi yani tekrar sertleşme olarak tanımlanmaktadır ve dinamik çürük oluşum sürecinin bir parçasıdır (Mellberg ve Ripa, 1983; Tschoppe ve ark, 2011; Cury ve Tenuta, 2009; Hicks ve ark, 2004; Cochrane ve ark, 2012; Zero ve Reynolds, 2012). Kalsiyum ve fosfat iyonlarının ağız sıvılarında (tükürük, plak sıvısı) aşırı doymuş halde bulunduğu ve bu iyonların mine yüzeyinde sürekli olarak depolanabildiği ve kaybedildiği bölgelerde tekrar birikebildiği bildirilmiştir (Cury ve Tenuta, 2009).

Demineralizasyon-remineralizasyon süreçleri, ağız sıvılarının (tükürük ve plak) doygunluğu ile belirlenmektedir. Çürük lezyonunun tamiri, ağız sıvılarındaki kalsiyum veya flor konsantrasyonlarının artırılması ile gerçekleştirilebilmektedir (Pearce ve Moore, 1985; Kielbassa ve ark, 2009; Margolis ve ark, 1982; Cury ve Amaral, 2010; Tschoppe ve ark, 2011).

Çürük etiyojisine yönelik uygulamaların yanı sıra çürük riskini azaltmayı amaçlayan minimal invaziv yaklaşımların genellikle minede beyaz bir leke halinde başlayan demineralizasyonu durdurabileceği, minenin yeniden yapılabileceği ve sonuç olarak remineralize olabileceği bilinmektedir (Silverstone ve ark, 1988; Featherstone, 2004; Sudjalim ve ark, 2006; Tschoppe ve ark, 2011).

Optimal laboratuvar şartlarında, kısmen demineralize mine ve dentin apatit kristallerinin remineralize olabileceği bildirilmekle beraber klinik koşullarda remineralizasyonun büyük bölümünün yüzeyde gerçekleştiği belirlenmiştir. Remineralize mine yüzeyinin, orjinal mineden farklı yapı ve bileşende olduğu ve bozulmamış mineye göre demineralizasyona daha dirençli olduğu bildirilmiştir (González-Cabezas, 2010).

Mine çürüğünün yeniden remineralize olabilmesi için, öncelikle yüzeyde herhangi bir kavitasyonun olmaması gerekmektedir. Henüz bir kavitasyon oluşmamış, beyaz, opak mine lezyonlarında, mine prizmaları orjinal kristal yapılarını kaybetmemiştir. Seçici geçirken özelliği ile iyon geçişinin sağlanmasında rol üstlenen mine yüzeyindeki dış dış zarından mine yüzeyine penetre olan tükürükteki kalsiyum ve fosfat iyonlarının çürük lezyonunun reaktif kristal yüzeyine çökeldikleri ve başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonunu sağladıkları bildirilmiştir (Silverstone ve ark, 1988; Sjogren ve ark, 1995; Shen ve ark, 2001; Cai ve ark, 2010; Gonzales- Cabezas, 2010).

Remineralizasyon oluşumunda tükürüğün kalsiyum ve fosfat iyonları bakımından doygunluğunun yanı sıra ortamdaki kalsiyum ve fosfat iyonlarının yeniden çökmesinde katalizör etki gösterecek olan flor iyonunun da olması önemli bir etkidir (Silverstone ve ark, 1988; Görken ve ark, 2013). Laboratuvar verileri göstermiştir ki, kavitasyon gerçekleşmemiş çürük lezyonunun remineralizasyonu için gereken florid miktarının, çürük oluşumunun önlenmesi için gereken flor miktarından daha fazladır (Silverstone ve ark, 1988; Gonzales- Cabezas, 2010; Lammers ve ark, 1992).

Remineralize olmuş kristallerin orjinal kristaller kadar mükemmel olmadığı belirlenmiştir. Sağlam mine kristalleri birbirlerine paralel olarak dizilirken, remineralize olmuş mine kristallerinin oldukça dağınık ve rastgele dizildikleri bildirilmiştir (Schroeder ve ark, 1992; Mellberg ve Ripa, 1983). Mineral yoğunluğunun hiçbir zaman sağlam mine seviyesine geri dönemeyeceği belirlenmiştir. Ten Cate ve ark. (2001) yaptıkları in-vitro bir çalışmada, en fazla remineralizasyonun minenin dış yüzeyinde gerçekleştiğini, minenin iç yüzeyinde ve dentinde ise remineralizasyonun daha yavaş gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca yalnız minenin dış tabakasının, floridin difüzyonundan ve remineralizasyondan sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (ten Cate, 2001).

Geçmişten günümüze remineralizasyon hakkında araştırmalar yapılarak çeşitli ajanlarla remineralizasyon sağlanmaya çalışılmaktadır. Buna rağmen bakteri atağı fazla olduğu veya tükürük miktarının azaldığı durumlarda, remineralizasyonun, çürük oluşum sürecini durdurmakta ve tersine çevirmekte yetersiz kaldığı bildirilmiştir (Featherstone, 2009; Rirattanapong ve ark, 2010; Suyama ve ark.,2011; Tenuta ve Cury, 2013).

4.6.Yapay Çürük Modelleri

Tıp ve dişhekimliğinde özellikle materyaller ve prosesleri konusunda geniş fikirler edinebilmek amacıyla birçok simülasyon modelleri kullanılmaktadır. Bunlar içerisinde özellikle flor salınımı, remineralizasyon kabiliyetleri ve antibakteriyel özelliklerinin test edilmesi amacı ile yapay çürük modelleri kullanılmaktadır (Erickson ve Glasspoole, 1995; Schemehorn ve ark, 1999). Kullanılan yapay çürük modelleri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- 1.Asit tamponları kullanılması ile in- vitro demineralizasyon modeli
- 2.Bakteriler tarafından üretilen asit ile in- vitro demineralizasyon modeli
- 3.pH siklus modeli ile in- vitro demineralizasyon ve remineralizasyon modelleri
- 4.Yapay çene modeli
- 5.In- vivo hayvan modelleri
- 6.İnsan çenesinde in situ çalışmalar
- 7.Çekimi planlanmış dişlerde yapılan çalışmalar

4.6.1. Asit tamponları kullanılması ile in-vitro demineralizasyon modeli:

Yapay çürük modeli oluşturulmasında en kolay yöntemlerden birisi kalsiyum ve fosfat iyonları içeren asitlenmiş jelatin jeller ve asit tamponlarının kullanılmasıdır. Mine veya diş yüzeyinde oluşturulan küçük pencerelelerin ya da küçük kesitlerin günler ve aylar içerisinde bu çözelti içerisinde tutulması ile yapay çürük lezyonları oluşturulabilmekte ve bu lezyonlar histolojik olarak da doğal lezyonlara benzer özellikler sergileyebilmektedir (Featherstone ve Mellberg, 1981; ten Cate, 1994).

Bu solüsyonlarda önemli olan içerdikleri kalsiyum, fosfat ve flor yoğunluklarının bilinmesi ve pH derecesinin dikkatli bir şekilde ayarlanmasıdır. Asit olarak laktik ya da asetik asit kullanılmasında sakınca yoktur (Featherstone ve Rodgers, 1981). Ancak sitrik ve hidroklorik gibi asitler çürük prosesi açısından bu modelleme yönteminde kullanılmazlar çünkü bu asitler mine içerisine zayıf organik asitlerin penetre olabildiği gibi penetre olamazlar ve sadece yüzeyde madde kaybına neden olan bir demineralizasyon sağlarlar. Solüsyonun pH derecesinin 4,5 ile 5 arasında olması gerekmektedir ve solüsyonun jel halinde olmasının en önemli nedenlerinden birisi içerisinde buldukları kalsiyum ve fosfat iyonlarını bir anda hızlı bir şekilde demineralize alan içerisinde bırakmamalarıdır ki bu durumun remineralizasyon sürecini yavaşlattığı bildirilmektedir (White, 1987).

Bu yöntem ile hazırlanmış yapay çürük modellere ilişkin birçok çalışma yayınlanmıştır. Ancak çalışmalarda tükürük komponentinin, remineralizasyon fazının olmayışı, asidin devamlı yenilenmemesi ve materyal yüzeyindeki kalıntıların temizlenmemesi bu yöntem ile yapılan çalışmaların sonucunun güvenilirliği konusunda kuşku uyandırmaktadır. Yöntemin diğer büyük bir dezavantajı ise materyal içersinden salınan aşırı florun diş yüzeyinde birikmesi ile demineralizasyon fazını inhibe edici özelliğinin ortaya çıkmasıdır (Donly, 1994; Tsanidis ve Koulourides, 1992).

4.6.2.Bakteriler tarafından üretilen asit ile in-vitro demineralizasyon modeli:

Bu yöntemde dişler, içerisinde fermantasyon sonucu organik asit üretebilen bakteriler bulunan (özellikle S.Mutans) kaplar içerisine konurlar. Bu yöntemde inkübasyon döneminde ısısal değişiklikler de uygulanabilir. Ortamdaki kalsiyum, fosfat ve florid iyonlarının kontrol altında olamaması ve pH değerinin yine kontrolsüz bir şekilde düşüşü bu yöntemin sakıncaları arasındadır (Staninec ve ark, 1988).

4.6.3.pH siklus modeli ile in-vitro demineralizasyon ve remineralizasyon modelleri:

In-vitro pH siklus modeli, lokal çözünme fazının apatit mineral fazı ile aşırı doymuş olması nedeniyle demineralize minenin tamirinin gerçekleştiği (remineralizasyon) veya lokal çözünme fazının apatit mineral fazıyla doymamış olduğu asidik koşullarda mine kristallerinin çözünmesinin gerçekleştiği (demineralizasyon) in-vivo şartları taklit edebilmek amacıyla oluşturulmuştur. In-vivo şartlarda demineralizasyon ve remineralizasyon süreçleri gün içerisinde arka arkaya gerçekleşmektedir (Featherstone, 1996).

Bazı çalışmalarda yapay çürük lezyonları substratların tamponlanmış laktat veya asetat jellerine ya da pH aralığı 4,4 ile 5,0 değerinde olan solüsyonlara 16 saat ve 28 gün aralıklarında tercih edilen süre ile daldırılması ile oluşturulur (Magalhaes ve ark, 2010; Lynch ve ark, 2007). Bu protokollerin farklılığı oluşturulan lezyonun tipini (çürük benzeri yüzey altı lezyonlar ya da erozyon benzeri lezyonlar) belirlemektedir. Demineralizasyon prosedüründe erozyon tipi lezyon yerine çürük benzeri lezyon (yüzeyinde bozunmanın az olduğu, yüzey altı lezyonun olduğu) oluşumu istenmektedir. Fakat solüsyon içerisindeki kalsiyum, fosfat ve flor, solüsyonun pH'ı, başlangıç demineralizasyonu için geçen süre (demineralizasyon solüsyonunun hacmi ve yoğunluğuna göre solüsyon ile temas eden mine yüzeyi bu sürenin durumuna göre doygunluğa ulaşabilir) gibi faktörler etkilenmesi planlanan yüzeyi koruyabilir. Aynı zamanda bu faktörler birbirleri ile etkileşime de girebilir. Bu nedenle oluşturulması planlanan yüzey kalınlığının ya da derinliğinin bu faktörlerden etkilenebileceği unutulmamalıdır (Lynch ve ark, 2007, Buzalaf ve ark, 2010).

Dental materyalin ya da ürünün içerisindeki florun etkinliğinin test edildiği çalışmalarda pH siklus modeli başarılı ve güvenilir sonuçlar ortaya koymaktadır. Bu modellemede simültane olarak demineralizasyon hakkındaki net sonuçlar ve remineralizasyon hakkındaki tüm gelişmeler elde edilebilmektedir. Solüsyonlar düzenli olarak yenilenmekte ve solüsyon içeriklerinin kontrolsüz bir şekilde azalmasının ve sonuçlara yanlış etki etmesinin önüne geçilebilmektedir (Staninec ve ark., 1988). Bu yöntemin demineralizasyon fazında 4,3 gibi düşük pH derecesinde asetik asit, kalsiyum ve fosfat içeren asit tamponları kullanılmaktadır. Flor seviyesi düşük olmalıdır. Remineralizasyon solüsyonu içerisinde yer alan kalsiyum ve fosfat iyonları ise doğal tükürüğün içerdiği seviyede tutulmalıdır. Demineralizasyon ve remineralizasyon işlemleri çalışmanın amacı ve planına göre belirli aralıklarla tekrarlanır, örnekler solüsyonlar içerisinde belirlenen sürelerde tutulur, solüsyonlar belirli zamanlarda yenilenir ve farklı iki solüsyon arasında belirli aralıklar ile daldırma işlemi tekrarlanır. pH siklusu şeklinde tanımlanan bu modelleme tekniğinin doğal ortamdaki koşullara benzer sonuçlar vermesi amacı ile, çalışmada kullanılacak dişler çekim sonrasında her ne kadar kısa zaman içerisinde çalışmaya dahil edilecek olursa kapsadıkları flor miktarının fazla değişmemiş olması nedeni ile sonuçlar da o kadar güvenilir olacaktır (Featherstone, 1994; Featherstone ve ark, 1990).

Bu yöntemin flor salan materyallerin etkinliğinin değerlendirilmesi amacı ile yapılan çalışmalar için uygun olduğu ancak anti-bakteriyel ajanların etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalara uygun bir yöntem olmadığı görülmektedir (Featherstone, 1994; Featherstone ve ark, 1990). Flor salan materyallerin yanı sıra geliştirme aşamasında olan ya da üretimi tamamlanmış ürünlerde bu modelleme yönteminde kullanılabilir (Buzalaf ve ark, 2010).

pH siklüs modellerinde in vitro protokollerin bazı sınırlamaları bulunmaktadır:

1. Bu modeller çürük gelişimine imkan sağlayan ağız içi ortam koşullarını tamamen sağlayamamaktadır.

2. Normalde tükürüğün farklı hacim ve kombinasyonlara sahip olması nedeniyle, bu modellerde tükürük/plak sıvısı ya da katı yüzey alanı/solüsyon oranları doğal değerlerine göre taklit edilememektedir.

3. Substrat seçimi ve test koşullarındaki (demineralizasyon ve remineralizasyon zaman periyotları) farklılıklar doğal koşulların taklit edilmeye çalışılmasında ideal uygulama yöntemini oluşturamamaktadır.

4. Uygulanan ajanların uygulama şekilleri normalde ağız içerisine yapılan uygulamalara göre farklılık göstermektedir. Örneğin pat şekilde kullanılan ajanın uygulama süresi bu modelleme ile normal koşullardaki uygulama ile farklılık gösterebilmektedir.

pH siklüsü ile elde edilen verinin klinik koşullara göre değerlendirilmesi sırasında bütün bu sınırlamalar dikkate alınmalıdır (Buzalaf ve ark, 2010).

4.6.4. Yapay çene modeli:

Laboratuar ortamında ağız ortamını simüle edebilecek bazı yapay çene modeli çalışmaları bulunmaktadır. Bu ortamda bakteriler (saf, karışık veya plak ile birlikte), tükürük (genellikle insan ya da sığırdan elde edilen tükürük), mine ya da diş kökleri, besin ürünleri hareket eden akışkan bir mekanizmada bulunurlar. Teorik olarak yapay çene modeli, tükürüğün temizleme ve akış özelliklerini ve tüm bileşenlerini bir araya getirmektedir. Ancak bu sistemde in-situ ve in-vivo modeller kadar iyi sonuçlar elde edilemediği bildirilmiştir. Bu nedenle bu sistem üzerinde daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir (Borczyk ve ark, 2006; de Long ve Douglas, 1991; Featherstone, 1996).

4.6.5. In-vivo hayvan modelleri:

Çok sayıda çalışmada denek olarak kobay fareler kullanılmıştır ve bu çalışmaların sonuçları insanlarda yapılan materyallerin florid salınımına ilişkin çürük çalışmaları ile de paralel sonuçlar ortaya koymaktadır. Ancak bu yöntemin de kullanılmasındaki en büyük zorluk hayvan çalışmalarının pahalı ve zaman alıcı olmasıdır. Buna ek olarak çalışmada kullanılacak materyallerin canlı sağlığı açısından tehdit edici olmadığı belirlenmeli ve materyallerin daha önceden test edilmiş olması gerekmektedir. Dental materyallerin kobay fare dişlerinde test edilmesindeki diğer bir zorluk ise bu hayvanlara ait dişlerin restorasyon açısından çok küçük olmalarıdır ve kobay farelerinin tükürük özelliklerinin insan tükürük özelliklerinden çok farklı olması elde edilen sonuçların daha dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır (Bowen, 1986; Stookey ve ark, 1995).

4.6.6. İnsan çenesinde in situ çalışmalar:

Bu tip çürük modelleme çalışmalarında diş minesini ya da dentin bloklar, kesitler halinde özel tasarlanmış protetik parçalar aracılığı ile belirli süreler içerisinde takip edilerek demineralizasyon ve remineralizasyon prosesleri değerlendirilir (Featherstone ve Zero, 1992). Bu çalışma modeli ile sağlam mine ve dentin yapıları bu yöntem ile demineralizasyon açısından değerlendirilebilir iken, kısmen demineralize edilmiş mine ve dentin dokuları remineralizasyon modeli olarak değerlendirilebilir (Zero, 1995). Bunlara ek olarak, dental materyallerin de flor etkinliği, antibakteriyel etkinlik ve ağız ortamlarına uyumunun değerlendirilmeleri açısından da bu yöntemler kullanılabilir. Pahalı, zaman alan ve detaylardaki değişikliklerin sonucu direkt etkileyebildiği bir yöntem olması nedeniyle bu yöntemin sonuçları dikkatlice değerlendirilmelidir (Dijkman ve Arends, 1992; Zero, 1995).

4.6.7.Çekimi planlanmış dişlerde yapılan çalışmalar:

Bu çalışmalar doğal demineralizasyon ve remineralizasyon proseslerini en doğru şekilde yansıtan çalışmalardır. Dişler, tükürük ve plak ile tamamen doğal ortamda bulunmaları ve beslenme kontrolünün de sağlanabilmesi amacı ile sonuçları en güvenilir çalışma yöntemidir. Çekimi planlanmış dişlere genellikle ortodontik braketler yapıştırılarak plak birikimi sağlanabilir. Bu yöntemde, flor salan kompozitler, antibakteriyel ajanlar ve flor salan simanlar hızlı ve güvenilir bir şekilde test edilebilirler (O'Reilly ve Featherstone, 1987).

4.6.8.Başlangıç mine lezyonlarında kullanılan remineralizasyon materyalleri

Kavitasyon oluşmamış mine lezyonlarında pH değerinin düşmesiyle beraber mine prizmalarının kristal ağının önemli bir kısmı bozulmamış şekilde formunu korur. (Arends ve Christoffersen, 1986; Featherstone ve ark; 1990). Mine kristalleri remineralizasyon için nükleasyon merkezi görevi üstlenir. Tükürük kaynaklı kalsiyum (Ca) ve fosfat (PO₄) iyonlarının mine yüzeyine penetrasyonu gerçekleşir ve iyonlar mine lezyonu içerisindeki reaktif kristal yüzeyleri üzerinde birikir. Böylece çürük lezyonunun erken aşamalarında remineralizasyon görülür. (Zero, 1999). Lezyonun remineralizasyonu olarak anlatılan bu olay hasar gören kristallerde yeniden mineral depolanması ya da yeni kristallerin oluşması şeklinde gerçekleşir. Minerallerin tekrar depolanması sırasında oluşan kristaller orijinal kristalle aynı büyüklükte ya da daha geniş çapta olabilir. Artan kristal çapları minenin organik azalmasına neden olur ve minenin asitler karşısında geçirgenliğini azaltır (Hicks ve ark, 2004b).

Günümüze Ca ve PO₄ iyonlarından kaynaklanan remineralizasyonu geliştirmek amacıyla birçok yöntem önerilmiştir, kullanılmış ve kullanılmaya devam etmektedir (Gjorgievska ve ark, 2013; Zheng ve ark, 2013; Narayana ve ark, 2014).

Flor uygulamalarının günümüze kadar ve günümüzde de koruyucu yöntemler içerisinde en çok kullanılan uygulama olmasının nedeni hidroksiapatit yapısı ile hızlı reaksiyona girebilmesi ve sonrasında tükürük içerisindeki kalsiyum ve fosfor iyonlarının çökmesini sağlaması ve oluşturduğu flo-ro-hidroksiapatit yapının çürüğe karşı daha dirençli bir yapıda olmasıdır. (Akıncı, 1995; Aktören, 2003; Featherstone, 1994; Axelsson, 2001). Flor uygulamalarının remineralizasyonu arttırdığı bilinen bir gerçektir. Florun pit ve fissürlerdeki demineralizasyon alanlarındaki sınırlı etkisinden, yüksek doz florun oluşturabileceği yan etkilerinden (Florozis) ve coğrafi koşullara göre bazı ülke ve şehirlerde Flor uygulamalarının sınırlandırılması araştırmacıları farklı remineralizasyon ajanlarının araştırılmasına yönlendirmiştir (Goswami ve ark, 2012).

4.7. Flor

Flor, florin elementinin iyonik formudur. Negatif yüklü bir iyondur. Halojen grubuna ait eser elementlerden biridir. Yüze y enerjisi diğer tüm elementlerden daha yüksektir bu nedenle elektronegatif ve reaktif element olarak adlandırılır. Diğer atomlarla hızlı bir şekilde reaksiyona girdiği için doğada çok nadir olarak serbest element olarak bulunur, genellikle inorganik flor bileşikleri halindedirler (Venkateswarlu, 1990). Kalsiyum ve sodyum gibi pozitif yüklü iyonlarla etkileşime girerek kalsiyum florür ve sodyum florür bileşkesini oluşturabilir. Flor iyonunun kalsiyum iyonuna olan yüksek afinitesi insanlardaki kemik ve dişler gibi kalsifiye dokularla etkileşim içinde olmasına neden olur. Flor uygulaması minenin demineralizasyonunu önlemede sık kullanılan bir yöntemdir. Diş çürüğünün oluşumunun ve ilerlemesinin önlenmesinde etkinliği kesin olarak kanıtlanmıştır (Dawes ve Weatherell, 1990; Larsen ve Jensen, 1994; Rose ve ark, 1997). Florun oral kavitede bulunması plak ve tükürükte bir rezervuar meydana gelmesine neden olur. Flor oluşturduğu rezervuardan yavaş salınım yaparak mineye bağlanır. Bu sayede minenin yapısına etki ederek demineralizasyonun önlenmesinde ve remineralizasyonun oluşumunda görev almaktadır (Koulourides, 1990; Chow, 1990, Tyagi ve ark, 2013).

Diş minesinin hidroksiapatit yapısı normal şartlarda sağlam ve stabil bir yapıdadır. Fakat asit ataklarına karşı çözünürlüğü yüksek olması nedeniyle beslenme sırasında yapısal bozulma görülebilir. Mineye flor uygulamaları sonucunda hidroksiapatit yapısına giren flor iyonu, yarıçapı kendisine çok benzeyen hidroksil iyonu ile yer değiştirerek asitler karşısında daha az çözünen fluoroapatiti $Ca_{10}(PO_4)_6(F_2)$ oluşturur (Christofferson ve ark, 1995; ten Cate, 1997; Featherstone, 2000). Bu oluşan yeni kristal form asitlere karşı daha dayanıklı bir yapı sergilemektedir (Chow, 1990; Lata ve ark, 2010).

Flor karyojenik bakterilerin faaliyetlerini etkileyerek çürük oluşumunu önlemektedir. Flor iyonu karbonhidrat metabolizmasında rol oynayan mikroorganizmalara bağlanarak, glikoz yıkımına engel olur ve şekerin aside dönüşümünü engelleyerek bakteriler üzerinde etki gösterir. Ayrıca mine yüzey enerjisini düşürerek ve bakteri yüzeyinde yük değişikliği yaparak mine yüzeyine yapışmalarını azaltır (Featherstone, 1999; Featherstone, 2000).

İyonize formda flor hücre duvarını geçemez fakat hücre duvarı etrafında bulunur. Asit üretimiyle hidrojen iyonları ortama girmekte ve hidrojen florür oluşmaktadır. Flor bu formda hücre duvarından içeri hızlı bir şekilde girerek, bakterinin asit üretme yeteneğini azaltmaktadır. Flor iyonları bakterinin bütünlüğünü bozmaktadır. Flor iyonu asit üretimini de engellediğinden tükürük pH'ını nötr hale getirir. Bu sayede tükürükteki kalsiyum ve fosfat iyonları, kalsiyum fosfat ($CaPO_4$) bileşiği şeklinde diş yüzeyine çökerek remineralizasyonun oluşmasını sağlar (Featherstone, 1999; Featherstone, 2000).

Flor tedavileri uygulanma şekillerine göre sistemik ve topikal olmak üzere 2 şekildedir. Sistemik flor uygulamaları; minenin organik matriks oluşumu ve mineralizasyonu sırasında yapıyı güçlendirmek amacıyla uygulanmasıdır. Sistemik uygulama sırasında, yutulan florun bir kısmının tükürük ve dişeti sıvısı içine ulaşması nedeniyle, flor plak mine ara yüzünde topikal etkiler de gösterir (Ellwood ve Fejerskov, 2003; Ercan ve ark, 2010).

Sistemik uygulamalar; içme sularının florlanması, sofra tuzlarına flor eklenmesi, multi vitamin flor kombinasyonları, flor içeren pastil, damla ve tabletlerden oluşmaktadır (Ellwood ve Fejerskov, 2003; Ercan ve ark, 2010). Topikal flor uygulamalarında amaç minenin remineralizasyonunu sağlayarak çürük önleyici etkiyi oluşturmaktır. Topikal uygulama yöntemleri jeller ve solüsyonlar, profeksi patları, vernikler, flor içeren simanlar ve restoratif materyaller, yavaş salınım apareyleri, gargaralar, diş macunları, florlu sakızlar ve diş iplerini içermektedir (Ellwood ve Fejerskov, 2003; Ercan ve ark, 2010; Featherstone, 2004).

Sistemik yolla uzun yıllar boyunca alınan florun, gelişmekte olan mineyi kuvvetlendirdiği ve çürüğü önleyici etki sağladığına inanılmaktaydı. Daha sonra yapılan çalışmalar sistemik olarak alınan florun diş çürüğünü önlemedeki etkisinin düşünülene göre çok daha az olduğunu bildirmiştir. Topikal flor uygulamaları ise etkilerini başarılı bir şekilde göstermekte ve mineden mineral kaybını engellemektedir (Tatevossian, 1990; Li ve ark., 1994; Rose ve ark., 1997).

Topikal uygulamalar sonucunda mine yüzeyi üzerinde kalsiyum florür (CaF_2) benzeri reaksiyon ürünleri oluşur, bu ürünler çürük önleme mekanizmasındaki ilk basamağı oluştururlar (Ogaard ve ark, 1991). CaF_2 yüzeydeki 'gevşek bağlanmış florid' olarak nitelendirilmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre, mineye uygulanan florlu solüsyonlardan sonra floroapatit gibi 'sıkı bağlanmış florid' tespit edilememesi sebebinin, CaF_2 'ün en son ürün olarak oluşmuş olabileceği belirtilmektedir (Cruz ve ark, 1991). Ağız sıvılarının nötral pH'da tükürük proteinleri ve fosfat ile kaplanmış olması nedeniyle CaF_2 düşük çözünme oranına sahiptir. Karyojenik ortamlardaki daha düşük pH derecelerinde, fosfat ve proteinlere bağlı çözünme inhibisyonu ortadan kaybolarak CaF_2 'ün çözünürlüğü artar. Bu sebepten dolayı, CaF_2 'ün flor rezervi olarak görev yapabilmesi ortamın pH'a bağlı bir özelliktir ve pH'ın 6'dan daha düşük değerlere ulaştığı karyojenik ortamlarda bu özelliği ortaya çıkar (Rolla ve Ogaard, 1986).

Flor mine içinde ve yüzeyinde homojen olmayan dağılıma sahiptir. Flor konsantrasyonu, mine yüzeyinden derinlere indikçe azalmaktadır. Bu nedenle remineralizasyon mine yüzeyinde daha iyi olmaktadır, ilerlemiş çürük lezyonlarında ise remineralizasyon olayı zorlaşmaktadır. Düşük çözünürlüğe sahip flor minerali, mine yüzeyinde birikme eğilimindedir. Yüksek konsantrasyonlarda uyguladığında yüzeydeki porözlu boşlukları dolduran flor iyonu, daha derinlere ilerleyememektedir. Bu nedenle flor iyonunun remineralizasyon oluşturma yeteneğinin, demineralizasyonu önleme becerisinden daha az olduğu belirtilmektedir. Bu yüzden topikal uygulamalarda florun daha az konsantrasyonlarda sık sık uygulanması mineral dengenin daha iyi korunmasını sağlamaktadır (Margolis ve Moreno, 1990; Ishikawa ve Eanes, 1993).

4.8.Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Fosfat (CPP-ACP)

Süt ve süt ürünlerinin çürük önleyici özelliğe sahip oldukları bilinmesine rağmen doğal olarak kullanıldıklarında bu etkilerini gösterebilmeleri için çok büyük miktarlarda tüketilmeleri gerekmektedir. Bu nedenle araştırmacılar, çürüğü önlemek amacıyla süt ve süt ürünlerinin içerisindeki koruyucu faktörleri ayırmışlar, daha az miktarda tüketimle çürük önleyici etkinin artırılmasına yönelik çalışmalara odaklanmışlardır (Aimutis, 2004). Süt, kazein, kazeinat ve peynirin antikaryojenik özelliğini gösteren birçok insan ve hayvan çalışmaları bulunmaktadır. Harper ve ark. ile Featherstone (Harper ve ark, 1986; Featherstone 2004) her biri farklı seviyelerde yağ, protein, kalsiyum ve fosfat içeren dört farklı peynir türünün antikaryojenik potansiyellerini karşılaştırmışlardır. Çürüğe karşı en koruyucu özelliğe sahip peynirin, içeriğinde en fazla oranda kazein fosfoproteinleri ve kalsiyumfosfat bulduran peynir olduğunu bulmuşlardır. Silva ve ark. (Silva ve ark, 1987) insan deneklerin ağız içi ortamında yaptıkları çalışmalarında, çedar peyniri suyunun mine yüzeyinde oluşan demineralizasyonu pH düşük seviyelerde olsa dahi önemli derecede azalttığını göstermişlerdir.

Reynolds ve ark. yaptıkları çalışmalar sonucunda kazeinatın sindirimi sonucu oluşan tripsinin demineralizasyonu önleyici özelliğinin devam ettiğini bulmuşlardır. Kazeine ait triptik peptidlerin, plak içerisindeki kalsiyum ve fosfat hacmini önemli derecede arttırdığını belirtmişlerdir. Bu triptik peptidler yüksek antikaryojenik özelliğe sahip olan, kalsiyum ve fosfatı stabilize edebilen fosfopeptidlerdir. Süt içerisinde bulunan kazeinin büyük çoğunluğu kalsiyum ve fosfat iyonlarının kümeleşmiş basit formları şeklindedir. Bu halleriyle çok fazla remineralizasyon yapabilme kabiliyetine sahip değildirler (Reynolds ve Black, 1987; Reynolds ve ark, 1995; Walker ve ark, 2006). Walker ve ark. sütün içerisine 2 gram ve 5 gram CPP-ACP karıştırarak yaptıkları çalışmalarında, kontrol grubu sade süte kıyasla %70 ve %148 oranında remineralizasyonun arttığını göstermişlerdir (Walker ve ark, 2006). CPP'nin triptik peptidlerden elde edilmesi ile ağız ortamında kullanılabilir olduğu ve temel ağırlığına kıyasla 10 kat daha fazla antikaryojenik özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir.(Reynolds, 1998). Reynolds yaptığı in vitro çalışmada, CPP'nin çökeltme işlemi yapılmadan önceki normal sulu haline kıyasla 100 kat daha fazla kalsiyum fosfat tutma özelliğine sahip olduğu göstermiştir (Reynolds, 1998).

Kazeinfosfopeptidlerin, seçici çökeltme metodu kullanılarak kazeinin tripsin enzimi ile parçalanması sonucunda elde edildiği bildirilmiştir (Reynolds ve ark, 1994). Kazein fosfopeptidler, Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu şeklindeki aminoasit dizilimi içermektedir ve dikkate değer bir biçimde amorf kalsiyum fosfatı stabilize etme yeteneğine sahiptir (Tyagi ve ark, 2013). Kazein fosfopeptidleri içerdikleri fosfoseril uzantılar boyunca amorf kalsiyum fosfatı küçük kümeler halinde bağlayarak solüsyon içerisinde çökelmeleri için gerekli boyuta ulaşmalarını engellemektedirler. Böylece Kazein fosfopeptid- amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP) nanokompleksi meydana gelmektedir (Reynolds, 1998; Çetin ve ark, 2011; Walker ve ark, 2009). CPP-ACP'nin çürük önleyici etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (Reynolds ve ark, 1995; Reynolds ve Black, 1987a; Reynolds ve Black, 1987b; Reynolds, 1997; Reynolds, 1998; Rose, 2000; Poggio ve ark, 2009).

Kazeinfosfopeptid amorf kalsiyumfosfatın çürük önleyici etkisi 3 farklı mekanizmayla açıklanmaktadır; CPP-ACP, asit etkisine maruz kaldığında bileşken ACP salınımı olmaktadır. Ortama salınan kalsiyum ve fosfat iyonları, dental plağın yapısına katılarak plağın asidik ortamı tamponlayarak plak pH'ını dengelemektedir (Reynolds, 1997; Çetin ve ark, 2011; Evcin, 2009). Bu mekanizma demineralizasyonun önlenmesinde ideal bir mekanizmadır. Çünkü plak kalsiyum ve fosfat seviyesiyle çürük oluşumu arasında ters bir ilişki mevcuttur. Plak içerisinde artan kalsiyum fosfat seviyesi, serbest haldeki kalsiyum ve fosfat iyonlarının aktivitesini destekleyici bir etki göstermektedir. Plağın dişe yakın bölümünde lokalize olan CPP-ACP plaktaki serbest kalsiyum ve fosfatı da bağlayarak diş yüzeyini aşırı doygun hale getirmektedir ve böylece demineralizasyonu önleyip remineralizasyonu arttırmaktadır (Srinivasan ve ark, 2010; Sathyakumar ve ark, 2011). Ayrıca plaktaki bakteri hücrelerinin yüzeylerine bağlanarak diş üzerinde kolonize olmalarını da engellemektedir (Sudjalim ve ark, 2006; Ardu ve ark, 2007).

Borges ve ark. ile. CPP-ACP'nin mine ve dentin üzerindeki etkilerini potansiyel kalsiyum bağlanma noktalarında artış ve kalsiyum difüzyonunda azalma olarak belirtmişlerdir. Bu etki ile karyojenik atak sırasında plaktan kalsiyum kayıp oranının azaldığının görüldüğünü belirtmişlerdir (Borges ve ark, 2012). Poggio ve ark. ise asit ataklarından sonra CPP-ACP uygulaması ile mine yüzeyinde interprizmatik kavitelelerin doldurulduğunu ve prizmaları kısmende olsa belirli bir süre kaplayan bir tabaka oluştuğunu belirtmişlerdir. Bu tabakanın oluşması sebebiyle de mine yüzeylerinin takip eden asit ataklarına karşı da korunacağını ifade etmişlerdir (Poggio ve ark, 2013). Bu etki sadece mineyle sınırlı değildir ve dentinde de aynı etki görülmektedir. CPP-ACP ile tedavi olan yüzeylerde çok az morfolojik değişim olmasına rağmen CPP-ACP mine yapılarını demineralizasyona karşı korumaktadır (Oshiro ve ark, 2007).

Piekarz ve ark. ve Panich ve Poolthong CPP-ACP'nin demineralizasyonu engellediği ve remineralizasyonu arttırdığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Bunun nedenini kazeinin asidik ortamı ayarlamasıyla yaptığını belirtmişlerdir. Asidik pH'da ACP'nin, CPP'den ayrılarak tükürüğün kalsiyum ve fosfat seviyelerini arttırdığını ve CPP'nin tükürük içindeki ACP'nin seviyesini kalsiyum ve fosfatın çökelmesini koruyarak sağladığını belirtmişlerdir (Piekarz ve ark, 2008; Panich ve Poolthong, 2009).

Günümüzde CPP-ACP'nin topikal etkisinden yararlanmak için şekersiz sakız, gargara, pastil, pat, spor içecekleri ve restoratif materyal gibi çeşitli ürünlerin içerisine katılarak piyasaya sunulmuştur (Pai ve ark., 2008, Adebayo ve ark, 2009).

şekersiz sakızların tükürük akışını arttırarak çürük önleyici etki gösterdiği bilinmektedir. Bundan yola çıkararak yapılan çalışmada başlangıç çürüklerinin remineralizasyonunda CCP-ACP içeren sakızlar kullanılmış ve başlangıç çürüklerinin remineralizasyonunda doza bağlı olarak bir artış olduğunu bulmuşlardır. (Shen ve ark, 2001). CPP-ACP içerikli sakızların kullanıldığı bir çalışmada (Reynolds ve ark, 2003), mine başlangıç çürük lezyonlarında remineralizasyonun arttırdığı ve sakızların kullanımından 3 saat sonra bile CPP-ACP'nin diř plağında bulunduğu gösterilmiştir. Itthagaran ve ark. (2005)'nin yaptığı baska bir çalışmada ise 47 mg CPP-ACP içerikli sakızlar günde 5 kere 20 dk. kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda ise lezyon derinliklerinde %10,1 'lik bir dūřuř olduğu bildirilmiştir. Morgan ve ark (2008)'nin yaptığı bir çalışmada 54 mg CPP-ACP içeren sakızla, şeker içermeyen sakızın aproksimal çürüklerin ilerlemesi üzerine etkisi bite-wing radyograflarla araştırılmıştır. Sonuç olarak aproksimal çürüğün ilerlemesi CPP-ACP içeren sakızda %18 oranında daha az bulunmuştur. (Manton ve ark, 2008).

Iijima ve ark.'nin yaptıkları klinik çalışmada, şekersiz sakızın içine 18,8 mg CPP-ACP koyduklarında demineralizasyona karşı direncin arttığını, mine yüzeyinde başarılı bir remineralizasyon gerçekleştiğini ve oluşan yeni mine yüzeyinin sonraki asit ataklara karşı daha dayanıklı bir yapı sergilediğini göstermişlerdir (Iijima ve ark, 2004).

Itthagarun ve ark. yaptıkları başka bir klinik çalışmada ise içerisinde 47 mg CPP-ACP katılan sakızı günde 5 kez yirmişer dakika çiğneyen deneklerin mine yüzeyinde bulunan lezyon derinliklerinde ortalama %10 oranında bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Itthagarun ve ark, 2005).

CPP-ACP içeren diş macunuyla florlu ağız gargaralarının beyaz nokta lezyonlarının remineralizasyon etkilerini karşılaştıran Andersson ve ark.'ları 12 aylık araştırmalarında lezyonları lazer floresanla incelediklerinde CPP-ACP içeren macunun % 63, florlu gargaranın % 25 oranında lezyonlarda remineralizasyon sağladığını gözlemlemişlerdir (Andersson ve ark, 2007).

CPP-ACP içerikli gargaraların ise plak kalsiyum ve fosfat seviyesini anlamlı derecede arttırdığı ve CPP'nin bakteri hücrelerinin duvarında lokalize olduğu rapor edilmiştir (Reynolds ve ark, 2003).

CPP'nin, karyojenik streptokok bakterilerin ağız ortamına tutunmalarını ve faaliyet göstermelerini engellediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Scupbach ve ark. yaptıkları in vitro çalışmada, CPP uygulaması sonrası özellikle S. sobrinus ve S. mutans olmak üzere bakterilerin tutunma kabiliyetlerinin önemli derecede azaldığını göstermişlerdir (Schupbach ve ark, 1996).

Şekersiz pastiller tükürük bezlerini stimüle ederek tükürük akısını arttırmakta ve ağız ortamında tamamen çözülmeğe ve remineralizasyonu arttıracak maddeler için etkili taşıyıcı ajan görevi görmektedir (Cai ve ark, 2003).

CPP-ACP'nin antide-mineralizasyon etkisi kullanılan dozajıyla doğru orantılı olarak artmaktadır. Cai ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, içerisinde belli oranlarda CPP-ACP katılan şekersiz pastilleri kullanan deneklerin mine yüzeyindeki beyaz lezyonlarında yüksek oranda remineralizasyon oluştuğunu göstermişlerdir. Kullanılan pastillerin içerisinde 18,8 ve 56,4 mg olmak üzere iki farklı oranda CPP-ACP katılmıştır. Gözlenen remineralizasyon miktarı katılan CPP-ACP miktarıyla orantılı olarak %78 ve %176 artmıştır (Cai ve ark, 2003).

Reynolds ile Farooq ve ark. CPP-ACP solüsyonlarının başlangıç mine lezyonlarını anlamlı derecede remineralizasyon etkisi gösterdiği bildirilmiştir. (Reynolds, 1997, Farooq ve ark, 2013). Bu sonuçlar CPP-ACP'nin diş yüzeyinde lokalize olması suretiyle plak pH'sını tamponladığını, demineralizasyonu önleyerek remineralizasyonu arttırdığını göstermektedir (Reynolds, 1998). Ağız ortamında yüksek çözünürlüğü, hızlı bir şekilde apatit formuna hidrolize olma yeteneği ve tat üzerine herhangi bir yan etkisinin olmaması CPP-ACP'yi remineralizasyon tedavileri için birincil aday yapmaktadır (Tung ve Eichmiller, 1999).

Ağız ortamında diş yapıları sürekli olarak demineralizasyon ve remineralizasyona maruz kalmaktadır. Denge demineralizasyon yönüne kaydığı anda diş dokularında yıkım meydana gelmektedir. Günde 2 kez mine üzerine %1 CPP-ACP içeren pat uygulamasının ultrasonik cihazlar kullanarak ölçümü sonucunda mine demineralizasyonunu engellendiği bildirilmiştir (Yamaguchi ve ark, 2006).

Reynolds ve ark. flor ve CPP-ACP'nin remineralizasyonu üzerinde yaptıkları araştırmalardan birinde %2 CPP-ACP içeren diş macununun 2800 ppm flor içeren diş macunuyla birbirine yakın bir remineralizasyon miktarı sağladığını göstermişlerdir. Başka bir araştırmalarında da % 2 CPP-ACP'ye ek olarak 1100 ppm flor ilave edilmiş diş macununda ise tüm formüllerden daha iyi sonuç alındığı belirlenmiştir (Reynolds ve ark, 2008).

Başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonu ile ilgili yapılan çalışmada, tek başına flor içeren diş macunu (1100 ppm) uygulandığında lezyon derinliğinde % 7 azalma, CPP-ACP içeren diş macunu kullanıldığında ise % 10 azalma gözlenirken florlu diş macununun kullanımından sonra CPP-ACP içeren diş macunu uygulandığında lezyon derinliğinde % 13 oranında azalma olduğu gözlenmiştir (Kumar ve ark, 2008).

In situ mine demineralizasyon çalışmasında, %1'lik CPP-ACP solüsyonunun günde iki kere uygulanmasının şeker solüsyonuna maruz kalmaktan kaynaklanan minedeki mineral kaybını 51 ± 19 oranında azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca %1'lik CPP-ACP solüsyonunun günde 2 kez kullanımının plak kalsiyum seviyesini %144 oranında inorganik fosfat seviyesini ise %160 oranında arttırdığı gözlenmiştir (Reynolds ve Black, 1987). Reynolds ve ark. enfekte ratlarda yaptığı bir çalışmada CPP-ACP solüsyonunun etkisinin topikal olarak ortaya çıktığı ve doza bağlı olarak arttığı sonucuna varılmıştır (Reynolds ve ark, 1995).

4.8.1.Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Floro Fosfat (CPP-ACFP)

Araştırmacılar florun diğer çürük önleyici maddelerle kombine edilmesiyle demineralizasyonu inhibe edici etkisinin arttığını göstermişlerdir (Featherstone JD, 2006; Trairatvorakul ve ark, 2008).

CPP-ACP içeren ürünlere flor ilave edilmesi plaktaki kalsiyum ve fosfat iyonlarıyla birlikte flor iyonu düzeyini de arttırarak remineralizasyona katkıda bulunur (Cross ve ark. 2004).

CPP-ACP ve florun anti karyojenik etkisi, yeni kalsiyum, flor ve fosfat iyonlarının CPP-ACP sayesinde diş yüzeyine kümeler şeklinde yerleşmesi ve floroapatit oluşturmak için doğru molar oranı sağlayacak şekilde pozisyonlarını almaları olarak açıklanabilmektedir (Reynolds, 2009).

-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu- molekül düzenine sahip kazein fosfopeptidler, kalsiyum ve fosfat iyonlarının yanı sıra flor iyonlarını da bağlayarak, çözünebilir kalsiyum florür ve fosfat makromolekülleri halinde stabilize eder (Cross ve ark. 2004).

Srinivasan ve ark. yaptıkları çalışmada içinde kazein fosfopeptid, kalsiyum klorür, sodyum fosfat ve 500ppm flor bulunan bir çözelti hazırlamışlardır. pH'ı 7 olan bu çözelti içindeki flor iyonlarının yarısının CPP tarafından stabilize edilen ACP ile etkileşim içine girdiğini görmüşlerdir. Bu oluşan yeni bileşene amorf kalsiyum florid fosfat (ACFP) adı verilmiştir. CPP-ACP ve Flor bileşiminin (ACFP) çürüğü önlemesi bakımından sinerjik etki oluşturdukları belirtilmektedir (Srinivasan ve ark, 2010). Araştırmacılar, florun antikaryojenik mekanizmasını, diş yüzeyinde birikebilmesi ile açıklamaktadırlar. Anti karyojenik etkinin artışı CPP-ACP ile florun diş yüzeyinde etkileşime girerek ACPF şeklinde birikmesiyle açıklanmıştır (Reynolds, 1997). Cochrane ve ark. ise yaptıkları çalışmada CPP-ACFP'nin remineralizasyon etkisinin; 5,5'in altındaki pH değerlerinde CPP-ACP'den daha fazla olduğu bildirilmiştir (Cochrane ve ark. 2008).

Badr ve İbrahim yaptıkları çalışmada, dental erozyon oluşturulan süt ve daimi dişlerin mine yüzeylerinde APF jeli, sodyum florid verniği ve CPP-ACPF içerikli ajanın etkilerini mikrosertlik ile ölçmüşlerdir. Süt dişlerinde APF jeli sodyum florid vernik ile CPP-ACPF'den daha etkili erozyonu önleyici etki gösterirken, daimi dişlerde CPP-ACPF ve APF jeli, sodyum florid verniğinden daha etkili erozyonu önleyici etki göstermiştir (Badr ve İbrahim, 2010).

Reynolds ve ark. yaptıkları çalışmada %2 CPP-ACP ve 450 ppm flor içerikli ağız gargarasının, sodyum florid içerikli eşit miktarda flor içeriğine sahip ağız gargarasına göre supragingival plak flor iyonu miktarını belirgin şekilde arttırdığını tespit etmişlerdir. Ayrıca plak içeriğinde kalsiyum, fosfat ve florür tespit edilmiş diş taşı tespit edilmemiştir. Bunu da CPP sayesinde kalsiyum florürün diş yüzeyine tutunduğu ve kristal yapıya farklılaşmamasıyla açıklamışlardır (Reynolds ve ark, 2008).

4.8.2.Tri-kalsiyum Fosfat

Kimyasal formülü $Ca_3(PO_4)_2$ olan tri-kalsiyum fosfat (TCP), alfa tri-kalsiyum fosfat (α -TCP) ve beta tri-kalsiyum fosfat (β -TCP) olarak iki şekilde bulunur. α -TCP, insan diş minesinin yüksek sıcaklıklarda ısıtılması ile oluşan ve kısmen çözünmeyen bir kimyasaldır. (Aminzadeh ve ark.1999). Kristal halindeki β -TCP ise; kalsiyum karbonat ve kalsiyum hidrojen fosfat karışımının 24 saat boyunca $1000^\circ C$ 'ye kadar ısıtılmasıyla elde edilir. β -TCP mineralize içeriklerin biyoaktif kaynağı olarak hareket eder ve kalsiyum fosfat sistemine sahip diğer kalsiyum tuz ve minerallerine göre sınırlı çözünübilirliğe sahiptir. β -TCP'nin çözünürlüğü α -TCP'den daha azdır ve ağız ortamına istenilen iyonize kalsiyumu sağlayamaz, bu nedenle α -TCP daha çok tercih edilmektedir (Walsh, 2009; Cochrane ve ark. 2008). β -TCP'nin önemli özelliği ızgara şeklinde defektlere sahip olmasıdır. Bu sayede kristal modifikasyonuna izin verir. β -TCP'nin modifikasyona izin vermesi ya da fonksiyonel olabilmesi nedeniyle biyoaktif ve florla uyumlu remineralizasyon ajanları alanında farklı bir araştırma bakış açısının oluşmasını sağlamıştır. β -TCP'nin organik ve inorganik moleküllerle fonksiyonel olmasının amacı; ilk olarak olgunlaşmamış flor ile kalsiyumun etkileşimini engellemesi ve ikincil olarak dental uygulamayı takiben uygulandığında hedeflenen noktaya etki etmesi olarak açıklanmaktadır (Karlinsey ve Mackey, 2012).

Vogel ve ark. yaptıkları çalışma ile ağırlıkça % 2.5 oranında α -TCP içeren sakızın, plasebo sakıza oranla plak sıvısındaki ve tükürükteki serbest kalsiyum ve fosfat düzeyi üzerinde az da olsa etkili olduğu bulmuşlardır (Vogel ve ark, 1998). Bu çalışmadan yola çıkılarak TCP'nin dental plak ve tükürük kalsiyum konsantrasyonlarının arttırılmasında rol alabileceği ileri sürülmüştür (Walsh, 2009).

Ortamda kalsiyum-fosfat bileşikleri ya da flor varlığında TCP içeren remineralizasyon ürünleri kalsiyum-florid bileşiklerini oluşturmaktadırlar. Bu bileşiklerin oluşması, ortamda serbest halde bulunan kalsiyum ve flor konsantrasyonunun azalarak, remineralizasyona kısmen engellemesine neden olmaktadır (Tyagi ve ark, 2013).

TCP içeren remineralizasyon ajanlarının % 1'den düşük oranda kullanılabilmesi ya da titanyumdioksit ve diğer metal oksitler gibi seramikle birleştirilerek kullanılabilmesi bu durumu önleyebilmektedir (Karlinsky ve Mackey 2009). Böylece, kalsiyum ve fosfat arasındaki etkileşim kısıtlanarak materyal daha kararlı hale getirilir.

TCP'nin florla istenmeyen etkileşimlerinin de engellenebilmesi amacıyla ileri sürülen teknik ise TCP'yi oluşturan partiküllerin sodyum lauril sülfat, karboksilik asit gibi yüzey aktif maddelerle, polimerlerle ya da kopolimerlerle kaplanmasıdır. Kaplanan bu partiküllerin ancak tükürükle temas ettiğinde çözünebileceği belirtilmiştir (Karlinsky ve Mackey 2009). Bu partiküllerin tükürük ile teması sonrasında kalsiyum fosfatın ve flor iyonları serbestleşmektedir. Bu serbestleşme ile zayıflamış mine tabakasında mineral birikmesiyle remineralizasyon oluşmaktadır (Tyagi ve ark, 2013).

Clinpro Tooth Creme β -TCP içerikli bir ürün olmakla beraber, beyaz çürük lezyonlarını iyileştirmede diğer CPP-ACP içerikli ajanlara göre etkili olduğu savunulmaktadır. β -TCP, TCP'nin sodyum lauril sülfat ile parçalanması sonucu oluşur. Bu işlem kalsiyum ve flor arasında gerçekleşen istenmeyen etkileşimleri engellemektedir. β -TCP floru solüsyonda stabil hale getirir ve beyaz çürük lezyonlarında yüksek konsantrasyonda kalsiyum fosfat ve flor olmasını sağlar. Bu sayede mine demineralizasyonunu engeller (Jo ve ark, 2014). Literatür incelendiğinde TCP ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır (Sathyakumar ve ark, 2011, Elkassas ve Arafa, 2014, Zhou ve ark, 2012).

4.9.Mine Yüzeylerinin İncelenmesinde Kullanılan Yöntemler

Günümüzde Minimal İnvaziv Diş Hekimliğinin gelişmesine paralel olarak, minenin remineralizasyonunun sağlanmasında etkili yöntem arayışları hız kazanmıştır. Son yıllarda çeşitli miktarlarda Ca, PO₄ ya da F⁻ içeren remineralizasyon ajanlarının başlangıç çürük lezyonlarında etkinliği ile ilgili laboratuvar ve in situ çalışmalar yapılmaktadır. (Sonju Clasen ve Ogaard, 1999; Hicks ve ark, 2004a; Hicks ve ark., 2004b; Iijima ve ark., 199; Iijima ve Takagi, 2000).

Dış minesi yüzeylerinin incelenmesi için birçok yöntem kullanılmaktadır. In vitro koşullarda remineralizasyon ajanlarının minedeki çürük lezyonları üzerindeki etkilerinin ortaya çıkarılmasında çeşitli direkt ve indirekt ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır. Bunlar;

- Mikrosertlik
- Mikroradyografi
- Bilgisayarlı mikrotomografi (Mikro-CT)
- Polarize Işık Mikroskobu
- Konfokal Lazer Tarayıcı Mikroskobu
- Lazer Floresans Yöntemi
- Diagnodent
- Kantitatif Işık Ölçümü Floresans
- CarieScan Pro
- Vista Proof
- Atomik Kuvvet Mikroskobu
- Raman Spektroskopisi
- Enerji Dağılımlı Spektroskopi
- Taramalı Elektron Mikroskobu
- Odaklanmış İyon Demeti teknikleridir.

4.9.1.Mikrosertlik

Mikrosertik, dış sert dokuların mineral içeriğini analiz etmede kullanılan başarılı bir yöntemdir. Cihazda yer alan elmaz uç ile ışık mikroskobu altında incelenen örneklerin yüzeylerine belirli sürelerle belirli ağırlıkların uygulanması ile yüzeyde izler oluşturulur. Bu oluşturulan izlerin değerlendirilmesi ile de incelenen örneğin sertlik değeri belirlenmeye çalışılır (Arends ve Bosch, 1992).

Mineral depolanması kristal karakteri, kimyası ya da mineral kaybının miktarı hakkında bilgi elde edilemez. Mikrosertlik sayesinde minenin ortalama sertliği ve minenin mineral dağılımları hakkında bilgi elde edilebilir. Demineralizasyon veya remineralizasyon işlemleri sonrasında yüzey mikrosertlik ölçümü mineral kaybı ya da kazanımının indirekt sonuçlarını verir (Arends ve Bosch, 1992).

Cihazın ucunda takılı olan elmas uç incelenen örneklerin farklı yüzeylerinden elde ettiği derinlik ölçütleri hesaplanır ve 'Vickers veya Knoop' sertlik değeri olarak kaydedilir. Vickers veya Knoop arasındaki fark aygıtların iz oluşturmaya yarayan şekillerin uçlarıdır. Vickers'ta bu uç kare şeklindeyken, Knoop'ta eşkenar dörtgen şeklindedir. Kaydedilen değerler sağlam yüzeylerdeki değerlerle karşılaştırılır (Westerman ve ark, 2004).

Tabari ve ark yaptıkları çalışma da süt dişlerinde demir damlası, CPP-ACP ile silikon yağının koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Vicker's mikrosertlik ve SEM ölçümleri ile sonuçları değerlendirdikleri çalışmalarında demir damlasının CPP-ACP ve silikon yağı gruplarına göre mikrosertlik değerlerinde en iyi sonucu verdiğini belirtmişlerdir. CPP-ACP ajanı uygulanan grubun erozyon sonrası koruyucu etkisinin kontrol grubu ile kıyaslandığında farklı olmadığını belirtmişlerdir (Tabari ve ark, 2014).

Zhang ve ark mine yüzeyinde oluşturulan yapay çürük lezyonlarında CPP-ACP içerikli remineralizasyon ajanının etkisini araştırdıkları çalışmalarında, CPP-ACP içerikli ajanı sodyum florid içerikli solüsyon ve kontrol grubuyla kıyaslamışlardır. Ölçümlerde ise SEM ve mikrosertlik kullanmışlardır. Mikrosertlik ölçümleri sonucunda CPP-ACP içerikli ajan, sodyum florid içerikli solüsyona göre remineralizasyonda daha başarılı bulunmuştur (Zhang ve ark, 2011).

Rezvani ve ark 30 sağlam daimi premolar dişin, başlangıç ve remineralizasyon sonrası mikrosertlik ölçümü yaptıkları çalışmalarında gruplar içi ve gruplar arası mikrosertlik değerlerinde artış görmüşlerdir. Remineralizasyon ajanı olarak yoğurt ve Tooth Mousse, kontrol grubu olarak yapay tükürük kullanmışlar ve yoğurt grubunun mikrosertlik değerindeki artışın en yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Rezvani ve ark, 2015).

4.9.2.Mikroradyografi

in vitro ve in vivo koşullar altında mine ve dentinin morfolojik özellikleri ile mineral içerikleri ve ortaya çıkan değişimler hakkında yüksek hassasiyette ölçüm için kullanılan cihazlardır. Mineral içeriği ve yoğunluğu diş dokuları tarafından emilen ve sapma yapan X ışınları sayesinde hesaplanmaktadır (Arends ve Bosch, 1992).

Diş dokusuna penetre olan X ışınlarının ölçülebilmesi için ilk başlarda fotoğraf film şeritleri kullanılırken bu yöntem sonraları yerini foton ölçere bırakmıştır. Ölçümlerin sonuçları foton yoğunluğu ya da elde edilen fotoğraf filminin siyahlık derecesine göre değerlendirilir (Barbour ve Rees, 2004).

Kumar ve ark mine lezyonları üzerinde Tooth Mousse remineralizasyon ajanının etkisini ve flor içerikli diş macunu ile kıyaslamasını yaptıkları çalışmalarında, ajanların etkilerini polarize ışık mikroskobu ve mikroradyografi ile ölçmüşlerdir. Flor içerikli diş macunu ile Tooth Mousse uygulamaları sonrasında polarize ışık mikroskobu ile yapılan ölçümlerde lezyon derinliklerinde azalma görülürken, lezyon derinliğindeki azalma en çok flor içerikli diş macunu uygulamasını takiben Tooth Mousse uygulaması yapılan grupta görülmüştür. Mikroradyografi ölçümlerinde ise ajanların uygulanmasından önceki lezyon derinliklerinde istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Kontrol grubu dişındaki bütün gruplarda lezyon derinliğinde azalma görülmüş, kontrol grubunda lezyon derinliğinde artış görülmüştür. Lezyon derinliğinin en fazla azalığı grup ise flor içerikli diş macunu sonrasında Tooth Mousse uygulanan grup olarak bulunmuştur. (Kumar ve ark, 2008).

4.9.3. Bilgisayarlı Mikrotomografi

Bilgisayarlı mikrotomografi, tıp bilimlerinde yaygın bir şekilde kullanılan komputere tomografi yönteminin minyatür şeklidir. Bilgisayarlı mikrotomografinin çalışma prensibi farklı açılarla obje içinden geçen X ışınlarının bilgisayar yazılımı ile düzlemsel azalma katsayısının yeniden oluşturulması ve hesaplanması esasına dayanır. Görüntüdeki kontrast farkı X ışınlarının dokular arasındaki düzlemsel azalma katsayısı farkına dayanır. Bu da görüntünün sayısal analizine olanak sağlar (Davis ve Wong, 1994, Anderson ve ark, 1996).

Örnek hazırlama ve kesit alma işlemlerindeki zaman kayıplarını engellemesi, örnek inceleme sırasında özel boyama tekniklerine ihtiyaç duymaması ve boyamaya bağlı olarak incelenecek yüzeylerin boya ve boyama tekniklerinden etkilenmemesi avantajları arasındadır (Kim ve ark, 2007, Flannery ve ark, 1987, Davis ve Evershed, 2013). Bilgisayarlı mikrotomografi, in vitro demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında örnekler bozulmadan yüksek çözünürlükte ve 3 boyutlu görüntü kaydı yapabilmesi ve tarama sonrasında elde edilen üç boyutlu örneğin, dişin mineral yoğunluğu ile uyumluluk göstermesi nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir (Tanaka ve ark, 2010, Lo ve ark, 2010).

Besinis ve ark yaptıkları çalışmada demineralize dentin bloklarında silika ve hidroksiapatit nano partikülleri ile meydana gelen remineralizasyonu Micro CT ve TEM ile incelemişlerdir. Ölçümler en başta ve belirlenen aralıklarda gerçekleştirilmiş, Ca ve P seviyeleri ve mineral hacim yüzdeleri başlangıç değerleriyle kıyaslanmış. Micro CT değerlendirme sonucunda başlangıç ölçümlerine göre silika nano partiküller mineral hacim yüzdesinde en etkili remineralizasyon stratejisi olduğunu belirtmişlerdir.

Malkoç ve ark, beş farklı polimerize edilmiş yapıştırıcı simanın yapısında oluşan hava kabarcığının hacmi, yüzey alanı, sayısı ve tüm yüzey alanına oranının bilgisayarlı mikro tomografi ile değerlendirilmesini amaçladıklarını çalışmalarında, Adhesor Carbofine ve Choice II hava kabarcığı hacmi ve örneğin toplam hacmine oranı açısından test edilen gruplar arasında en fazla değere sahip olduğunu bulmuşlardır. Yüzey alanı değerlendirildiğinde, Adhesor Carbofine grubunun hava kabarcıklarının en fazla yüzeyi kapladığını belirtmişlerdir. Pat şeklinde olan rezin esaslı yapıştırma simanları polimerizasyon sonrasında daha az hava kabarcığı barındırdığı sonucuna ulaşmışlardır (Malkoç ve ark, 2015).

4.9.4.Polarize Işık Mikroskobu

Lezyon derinliği ve çürük tabakasının ölçülebildiği bu yöntemde lezyonun mineral yoğunlu hakkında bilgi toplanamamaktadır. Polarize ışık demetinin hız farklılığı olan ışıklarının kırılma indekslerindeki farklılık esas alınarak inceleme yapılır. Minenin organik kısımları, demineralizasyon sonrası görülen poroz yapılar pozitif kırılma gösterirken, sağlam bölgeler negatif kırılma gösterir. Mikroskop yardımıyla lezyon derinliği ve alan ile üç noktadan ölçüm yapılır. Yapılan ölçümler, bilgisayar yazılımlarıyla işlenerek üç noktadan alınan ölçümlerin ortalaması alınarak belirlenir. Daha sonra görüntülerin analizleri yine bilgisayar yazılımı yardımı ile yapılır. Analiz sonucu ile lezyon derinliği hakkında bilgi edinilirken, mineral yoğunluğu hakkında bilgi edinilemez (Arends ve Bosch, 1992).

Kumar ve ark. florlu diş macunu ve CPP-ACP içerikli ajanın yapay çürük lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkisini inceledikleri çalışmalarında polarize ışık mikroskobu yardımıyla remineralizasyonu değerlendirmişlerdir. CPP-ACP'nin florlu diş macununa göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (Kumar ve ark, 2008).

4.9.5.Konfokal Lazer Tarayıcı Mikroskobu

Odaklanmış bir lazer kaynağından elde edilen aydınlatma ile örnek üzerinde çizgiler halinde tarama yapılır. Odaklanan bölge dışından gelen yansımalar engellenerek sadece odaklanan alan izlenir. Demineralize olmuş mine tabakalarındaki porozitelere floresan boya infiltrasyonu ile ölçüm yapılır. SEM'den farklı olarak ıslak yapıdaki örnekleri incelemeyi ve pratik olarak uygulanmasa da tedavi öncesi değerlendirmeyi mümkün kılar. Konfokal tekniği ile 100 nanometreden küçük alt yüzey düzlemleri tomografik olarak incelenir. Kaydedilen sıralı görüntü serileri odak derinliğini artırır ve üç boyutlu gerçek bir görüntünün rekonstrüksiyonu sağlanır. Onbektif lensi ve örnek yüzeyi arasında immersiyon likiti kullanılmalıdır (Bayındır ve ark, 2004).

Yansıma ve floresans olarak iki moda inceleme yapar. Yansıma modunda tarayıcı lazer ışını örneğin yüzey ve yüzeyaltı mikro bölgelerini aydınlatır. Mikroskobik yapılarda dağılan veya yansıyan bu lazer ışını aynı odaklı iğne büyüklüğündeki delikten geçerken elektronik olarak saptanır. Floresans modunda ise, floresans boyayıcı ajanın dapılmı kaydedilerek penetrasyon yolları incelenebilir. Kullanılan optik filtreler tarayıcı lazer dalga boyunun filtreden geçişine izin vermez, sadece lazerin boyada meydana getirdiği floresansın sahip olduğu dalga boyu filtreden geçerek dedektör tarafından kaydedilir (Bayındır ve ark, 2004).

İncelenecek örneğin dış tabakasının yüzey altı ile ilgili çalışma yapılacaksa örnek hazırlama aşamasında özel bir işleme gerek yoktur. Örneklerin ince kesitler şeklinde hazırlanması ve kurutulması gibi uygulamalara gereksim yoktur (Sonju ve ark, 1997, Gonzales-Cabeaz ve ark, 1998).

4.9.6.Lazer Floresans Yöntemi

Floresans, herhangi dalga boyundaki bir ışığın (uyarıcı dalga boyu) doku tarafından absorbe edilmesinin ardından daha uzun bir dalga boyuyla (yayıma dalga boyu) yayılmasıdır. Floresans oluşabilmesi için belirli bir maddenin belirli bir dalga boyuyla uyarılması gerekir (Korkut ve ark,2011).

Floresans bir objenin belli bir dalga boyundaki ışıkla uyarılması ve objenin daha geniş dalga boyundaki bir ışığı yansıtması şeklinde tanımlanabilir. Laser floresans yöntemi diş dokusunun ışık uygulanması sonrası, sağlıklı ve çürük mine arasındaki floresans farkının ölçümü esasına dayanır. Minenin mineral içeriği düşük bölgeleri, düşük floresansa sahiptir. Dolayısıyla mineral kaybıyla floresans radians arasında ilişki vardır. Dental sert dokular, floresansın karakteristik bir tipi olarak tanımlanan, otofloresans özelliğine sahiptir. Uygun dalga boyundaki kırmızı ışık diş üzerine uygulandığında, mine tarafından absorbe edilerek saçılır ve diş içerisinde derinlere penetre olabilir. Bu penetrasyon sayesinde, minenin altındaki çürük dentinin floresansını ölçmek mümkündür. Oluşan floresans, sağlam ve çürük diş dokuları için farklı özelliklerdedir (Braga ve ark,2009, Chawla ve ark, 2012).

4.9.7.Diagnodent

Diagnodent, lazer ışığından yararlanarak çürük teşhisinde kullanılan bir cihazdır. Ölçüm yapılan uç, optik kablo, lazer diyot ve elektronik üniteden oluşmaktadır. Kontrol ve gösterge paneli elektronik ünite üzerindedir. Lazer diyot, 655 nm dalga boyuna sahip bir ışık sağlar. Diş yapısındaki organik ve inorganik maddeler lazer ışığını absorbe eder. Diş yapısında farklılık olduğu zaman bu ışık geri yansımada başka floresans yansımaları yapar. Dokulardan yansıyan floresans ve saçılmış ışık bir araya toplanır ve filtreden geçer. Filtre, uzun dalga boylu ışık yansıtırken, saçılmış ve kısa dalga boylu ışığı absorbe eder. Yansıyan ışığın floresans değeri, kontrol ünitesinde rakamsal olarak 0-99 arasında bir değeri gösterir. Bu değerlerin yardımı ile yüzey hakkında bilgi edinilmektedir. Lussi ve ark. 2001 yılında yaptıkları çalışma sonucunda DIAGNOdent okumalarında 0-13 değerini: çürük yok, 14-20 değerini mine çürüğü ve >20 değeri ise dentin çürüğü olmak üzere gold standart olarak belirlemiştir (Lussi ve ark, 2001, Souza ve ark, 2012).

Cihaz yüzeylerde kullanmadan önce firma tarafından hazırlanmış porselen referans ile kalibre edilmelidir. Kalibrasyon sonrası sağlam yüzeylerden ölçüm yapılarak, o yüzey için geçerli başlangıç değeri oluşturulur. Daha sonra cihazın ucu ölçüm yapılacak bölge üzerine yerleştirilerek istenilen yüzeyin ölçüm değerleri elde edilecektir. (Bahrololoomi ve ark, 2013, Tomczyk ve ark, 2014).

Yapılacak ölçümler için iki tip uç kullanılmaktadır. Bu uçlar, Eğimli ve konik şekilli A ucu ve dik ve düze olan B ucudur. A ucu fissür çürüklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. B ucu ise bukkal ve lingual yüzeylerde kullanılmaktadır. Diagnodent ile incelenecek dişler temizlenmelidir ve kurutulmalıdır ancak aşırı kurutmanın, yetersiz polisajın, polisaj sonrasında dişin yeterince yıkanmamasının floresans değerlerini etkilediği bildirilmiştir Ayrıca; diş taşı, renklenmiş fissürler, restorasyonlar ve dişin yapısındaki mineralizasyonla ilgili gelişimsel defektler floresans değerini etkilemektedir (Kouchaji 2012, Huth ve ark., 2008).

Anttonen ve ark. (2003) çocukların rutin diş kontrollerinin bir parçası olarak DIAGNOdent'in ise yararlılığını değerlendirmek ve görsel muayene ve radyografi sonuçlarıyla DIAGNOdent sonuçlarını karşılaştırmayı amaçladıkları klinik bir çalışmada radyografik muayenenin en başarısız yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca DIAGNOdent'in çocukların rutin kontrollerinde görsel muayeneye yardımcı bir yöntem olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Anttonen ve ark.,2004).

Attril ve Ashley; okluzal çürüğe sahip süt dişlerinin teşhisinde geleneksel yöntemler ile DIAGNOdent'i karşılaştırmak için yaptıkları çalışmada, süt büyük azıların okluzal derin lezyonlarının teşhisi için DIAGNOdent'in en doğru sistem olduğunu ancak kavitasyon göstermeyen dişlerde görsel yöntemden daha iyi olmadığını ve DIAGNOdent'in önceden belirleyici klinik cihaz olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Attril ve Ashley, 2001).

4.9.8.Kantitatif Işık Floresans (QLF)

Lazer Floresans yönteminin, lazer yerine ışık kullanılan şeklidir. Kantitatif ışık floresansı; ışığın dağılması, saçılması ya da mineral kaybıyla ilişkili olarak çürük lezyonun ölçümünde kullanılır (Akarsu, 2006). Ağızda bulunan organik maddeler belirli dalga boyundaki ışığı absorbe eder ve daha sonra bu ışığı farklı dalga boyunda tekrar yayarlar. Aydınlatıcı ışık engellenerek QLF görüntüsü elde edilir. QLF dişlerin yapısındaki floresansı kullanır. Diş mavi ışığa maruz kaldığı zaman yapısındaki floresans uyarılır ve yeşil floresans meydana gelir.

Dişin yapısındaki floresans demineralizasyon ile kaybolur. Çürük lezyon alanlarının floresansı düşük olduğu için gün ışığında beyaz görülen alanlar daha karanlık görünür. Bazen de enfekte lezyonların içerisinde bakteri ve ya plak nedeniyle porfirin birikimine bağlı olarak kırmızı veya turuncu spektrum elde edilir. Diş dokusu tarafından oluşturulan yeşil floresansın kaybı, beyaz nokta lezyonları gibi çok erken çürükleri, kırmızı floresans ise dişte bakteriyel aktivitenin arttığı alanları gösterir. Kırmızı floresans gösteren beyaz nokta lezyonları ise bakterilerin kendisinin olmasa bile metabolitlerinin lezyona girebildiğini ve mine yapısının çok pöröz bir hal aldığı bir safhaya ilerlediğini düşündürür. Kırmızı floresans, yeşile göre daha güçlü olduğundan, görülmesi sağlam bir mine yüzeyinin altında gizlenen çürük şüphesini akla getirmelidir. Ayrıca, kırmızı floresans daha ileri lezyonlarda (dentini de içine alan) ilerleyici beyaz nokta lezyonlarında, matür plak ve kalkulus varlığında görülür. Spektrum değerleri bilgisayar yazılımı yardımı ile değerlendirilir. Düz yüzey başlangıç mine çürükleri, dental plak, renklenme ve diş beyazlatması gibi in vitro ve in vivo çalışmalarda kullanılabilir (Heinrich- Weltzien ve ark, 2003; Korkut ve ark, 2011; Korkmaz ve ark, 2014).

Heinrich-Weltzien ve ark. fissür örtücülerin kalitesinin değerlendirilmesinde QLF cihazının kullanılabilirliğini belirtmişlerdir (Heinrich- Weltzien ve ark, 2003)

Jo ve ark. florlu, CPP-ACP ve beta TCP içerikli diş macunlarının beyaz çürük lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkilerini QLF ile ölçmüşlerdir. Clinpro Tooth Creme ve Tooth Mousse macun içeren gruplarında floresans, florlu macun ve kontrol grubuna göre çok fazla yükselmiştir fakat bu yükselme belirgin bir fark ortaya koymamıştır. Clinpro Tooth Creme ve CPP-ACP macun içeren grupların beyaz çürük lezyonlarında daha etkili olduklarını belirtmişlerdir (Jo ve ark, 2014).

4.9.9.CarieScan PRO

Elektrik sinyalleriyle diş çürüklerinin incelenmesi yeni bir yöntem değildir. Literatüre göre ilk defa 1950'lerde İngiltere'de kullanılmıştır ve 1970'lerde Amerika'da günlük kullanım için bu prensibe dayanan bir cihaz bile tasarlanmıştır (Pitts, 2010). Cariescan PRO' ya kadar olan süreçte şu aşamalar kaydedilmiştir:

1. Alternatif Akım Direnç Spektroskopi metodunun görsel bitewing röntgeni ve lazer floresans yöntemine göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

2.Genellikle specificity ve sensitivity arasında ters orantı vardır. Bu yüzden bu ikisi arasında optimal bir denge geliştirmek önemli olduğundan çalışmalar buraya yoğunlaşmıştır. Cariescan Pro bu anlamda ikisi arasındaki dengeyi, çürük tespiti ve izlenmesi açısından optimize etmektedir (Pitts, 2010).

3.Gizli dentin çürüklerini tespit etmek birçok diş hekiminin karşılaştığı bir problemdir. Bu çürükler klinik olarak normal görünürken radyografik veya cerrahi olarak yoğun çürük gözlenmektedir. Cariescan Pro'nun gizli dentin çürüklerinin tespitinde başarılı olduğu görülmüştür (Diana ve ark, 2014).

CarieScan PRO (CarieScan Ltd. Dundee, Scotland) teknolojisi, ACIS değerlendirmeleri için kullanılır ve kullanma kılavuzuna göre kalibre edilir. Cariescan PRO elle tutulabilir, sarj edilebilir ve Cariescan PRO'nun atılabilen sensörleri bulunmaktadır. Sensörün ucu, fissüre tıpkı kalem kullanır gibi ucun ölçüm sırasında oynamadığından emin olarak hafifçe bastırılır. Önceden seçilmiş bölgede aygıt üç kez istikrarlı bir sonuç gösterdiği zaman test değeri kaydedilir (Diana ve ark, 2014). Aygıtın gösterdiği skorlar 0 ile 100 arasındadır. Bu skorlar çürük olasılığını göstermektedir.0-50 arası düşük olasılık, 51-90 arası orta olasılık, 91-100 arası yüksek olasılık olduğunu gösterir. Ayrıca 0-50 arası aygıt yeşil rengi, 51-90 arası sarı rengi, 91-100 arası kırmızı rengi gösterir (Eric, 2013).

CarieScan PRO, Alternatif Akım Direnç Spektroskopisi (Alternating Current Impedance Spectroscopy Technique-ACIST) tekniğini kullanarak mine tabakası boyunca oluşan lezyonları inceler (Francis ve ark, 2014). Daha önceleri ölçümler doğru akım kullanılarak, elektrik iletkenlik ölçümüyle (ECM) yapılmaktaydı; fakat etkili değildi. Cariescan PRO'nun histolojik lezyon okuması, hastalığın ilerleyişini önceki yöntemle göre çok daha etkili öngörmektedir. CarieScan PRO, aynı ECM gibi diş yüzeyinin demineralizasyon seviyesini ölçmektedir (Eric, 2013).

4.9.10.VistaProof

VistaProof LED teknolojisi ile çalışan, floresans kameralı sistemdir. 405 nm dalga boyuna sahip 6 adet mavi ışık çıkaran GAN-LED ledler bulunmaktadır. Filtreler yardımıyla CCD sensöre gelen uyarılmış ışığın dalga boyu 495 nm'nin altına düşürülür. Özel yazılımı sayesinde yüksek çözünürlükte görüntüler elde edilir ve bu görüntüler floresansın kırmızı ve yeşil yansımalarını analiz eder. Yine bu yazılım sayesinde diş yüzeyinden toplanan floresans sinyalleri ile 0-3 arasındaki rakamsal değerlerle, çürüğün yayılımına bağlı olarak lezyonun büyüklüğünü tespit edilebilmektedir. Cihaz kullanımı açısından çok fazla yapılan yayın bulunmamaktadır (Rodrigues ve ark, 2008, Souza ve ark, 2012).

Seremidi ve ark, Vista Proof çürük teşhis cihazınının çürük tespitindeki doğruluğu ve güvenilirliğini Diagnodent ve görsel metodlar ile kıyaslamışlardır. Mine ve dentin lezyon derinliği ölçümlerinde Diagnodent ve görsel metodlar ile Vista Proof arasında istatistiksel fark bulunamamıştır. Floresans cihazlarının arasında belirgin bir fark olmadığı ve kavite oluşmamış lezyonların tespitinde görsel metodlardan daha iyi olduklarını belirtmişlerdir

Jablonski-Momeni ve ark, in vivo koşullarda oklüzal yüzeylerde Vista Proof'un performansını ölçmüşlerdir. Ölçümleri sonucunda Vista Proof teşhiste iyi sonuçlar vermiştir (Jablonski-Momeni ve ark, 2014).

4.9.11. Atomik Kuvvet Mikroskobu

AFM yüzey topografisini Angström mertebesinde 100 mikrona kadar ölçebilen bir metot olup çok hassas bir iğnenin yüzeyi taramasıyla atomlar arası kuvvetler nanonewton hassasiyetine ölçülebilir. Bu teknik, atomik ve nanometrik ölçekte ölçülen yüzeyin özelliklerini haritalamak için örnek yüzeyine göre araştırma ucunun uzaysal konumunu kontrol etme yeteneği sağlayan piezoelektrik güç çeviricilerin kullanımını temel alır. Elektronik, telekomünikasyon, biyoloji, kimya, otomotiv, uzay-havacılık ve enerji gibi endüstrilerde kullanılmaktadır (Oura ve ark 2003, Demet 2005). AFM sadece görüntü elde etmekle kalmaz aynı zamanda yüzey hakkında nicel bilgiler (boyut, kesit, pürüzlülük ve frekans) vermektedir (Bhushan 2004, Meyer ve ark 2004). Görüntü alma mekanizmasına bağlı olarak boyamaya, dehidratasyona, ince filmle kaplamaya ve vakumlu bir ortama ihtiyacı yoktur. Bu yüzden mine rodları ve dentin tübülleri bu mikro yapılarla direk olarak karakterize edilebilir (Sanchez ve ark,2009; Agrawal ve ark, 2014).

Atomik kuvvet mikroskobu, SEM çalışmalarına kıyasla göre daha az miktarda örnek hazırlama işlemi gerektirir. Az miktarda örnek hazırlama ile atomik çözünürlükte görüntüler elde edilmesini sağlar. Genellikle mine ve dentin erozyon çalışmalarında biyomineraller ve minenin erken safhadaki madde kayıplarının ölçülmesinde kullanılırken, erozyon sonrasında meydana gelen materyal kaybının karakterizasyonu da yapılabilmektedir (Mahmoud ve ark, 2012; Lombardini ve ark, 2013). Demineralizasyon ve remineralizasyon işlemleri sonrasında örneklerin topografik analizlerinin yapılmasını sağlar. En çok kullanılan topografik parametre yüzey kalitesini belirlemede kullanılan yüzey pürüzlülüğüdür. Poggio ve ark. mine ve dentinde meydana gelen erozyonun Tooth Mousse ile önlenmesini araştırdıkları çalışmalarında, erozyon sonrası ve Tooth Mousse uygulaması sonrasındaki ölçümlerde Atomik kuvvet mikroskobu kullanmışlardır. Atomik kuvvet mikroskobu ölçümlerinde erozyon sonrasında dentin yüzeyindeki tübüllerin çapındaki genişleme görülürken, Tooth Mousse uygulaması sonrasında tübül çaplarında azalma görülmüştür (Poggio ve ark, 2009).

4.9.12.Raman Spektroskopisi

Çoğu analitik metottan farklı olarak Raman spektroskopisi örneklerin fiziksel olarak hazırlanmasına gerek duymayan, erozyon ve demineralizasyon işlemlerinde faydalı, örneklerde yüzeysel yıkım ya da zarar vermeyen bir yöntemdir. (Gilchrist ve ark, 2007)

Titreşim spektroskopisi, maddenin kızılötesi ışınlarını absorplaması veya saçması üzerine kurulmuş olan bir spektroskopi dalıdır. Homo nükleer moleküller (N_2 , O_2 ve Cl_2 gibi) hariç bütün moleküller infrared ışınlarını absorplar ve infrared spektrumu verirken homo-nükleer moleküller de Raman'da sinyal verirler. Titreşim spektroskopisinde ışınlar dalga boylarıyla değil, dalga sayılarıyla belirlenir. Titreşim spektroskopisi organik bileşiklerin tanınmasında kullanılır. Titreşim spektroskopisi ile nicel analiz de yapılabilir. Fakat genellikle daha uygun ve daha keskin bir nicel analiz yöntemi bulunabileceğinden nicel uygulamalar nitel olanlara göre daha önemsizdir. Infrared ışınlarının (IR) dalga boyları 1000-300.000 nm olmasına rağmen infrared spektroskopisinde genellikle dalga boyları 2500 ile 25.000 nm arasındaki ışıklardan yararlanır. Raman IR'nin tamamlayıcısı olup IR'de gözlenmeyen zayıf titreşimler burada gözlenir. Ayrıca kullanılan malzeme açısından sınırlama olmayışı, ultraviyole, Görünür ve yakın IR ışınların kullanılabilmesi, optik olarak ölçüm kolaylığının olması, sulu ortamda rahatlıkla çalışabilmesi, dipol moment değişimine gerek duyulmaksızın yani simetrik gerilmelerin raman aktif olması ve yüksek çözünürlük gibi IR'e göre bir takım avantajları vardır (Karan ve ark, 2009).

Raman Spektroskopisi, bir numunenin yakın-IR monokromatik ışından oluşan güçlü bir lazer kaynağıyla ışınlanmasıyla saçılan ışının belirli bir açıdan ölçümüne dayanır. Moleküllerin şiddetli bir monokromatik ışın demeti ile etkileşmesi sırasında ışık absorpsiyonu olayı gerçekleşmiyorsa ışık saçılması olayı meydana gelir. Işık saçılması sırasında saçılan ışığın büyük bir kısmının enerjisi madde ile etkileşen ışığın enerjisine eşit olur ve bu tür elastik saçılma olayına Rayleigh saçılması denir.

Rayleigh saçılması tek bir pik verir ve titreşim geçişleri hakkında bilgi vermez. Bu yöntemde molekül ile etkileşen ışığın dalga boyuna göre saçılan ışığın dalga boyunda oluşan farklar ölçülür. Bu farklar Raman kayması olarak adlandırılır (Gilchrist ve ark, 2007).

Herhangi bir formda ışık saçıldığında fotonların enerjisinin çoğunluğu değişmeden kalır. Saçılan moleküllerin titreşimsel enerjisine göre ortalama bir milyonda bir foton enerji kazanır ya da kaybeder. Bunlar saçılım görülen ışık spektrumunda ek pikler olarak görülür ve Raman saçılımı ya da elastik olmayan saçılım olarak adlandırılır. Bu ek pikler incelenen örneğin içerisindeki moleküllere özeldir ve bu içeriğe bir karakteristik parmak izi üretir. Bu piklerin yoğunluğu hidroksiapatit molekülünün içerisindeki belirli grupların konsantrasyonu hakkında bilgi verir. Örneğin, hidroksiapatit mine de dentine göre daha yoğundur ve bu Raman spektrumunda görülebilir (Alex ve ark, 2006).

Raman spektroskopisi sentetik ve dokuda düşük seviyede biyokimyasal değişiklikleri değerlendirilebilecek biyolojik materyallerin kimyasal içeriklerini analiz etmede oldukça faydalı bir yöntemdir. Lazer ve CCD dedektörlerdeki gelişmeler elde edilen spektrumların hızının artması sağlanmasıyla bu teknik son yıllarda daha sık kullanılmaktadır. Sert dokular, DNA ve in vitro beyaz kan hücrelerini inceleyen tıp alanlarında kullanılmaktadır.

Diş hekimliği araştırmalarında Raman spektrumu uygulaması mine tozları, yapay apatit, sentetik karbonat apatit ve sentetik florohidroksiapatit, minedeki kalsiyum florür formasyonu, minenin raman karakteristiğinin oryantasyonu, dıştaşındaki mineral fazlarının tespiti ve restore edilmiş dişlerin resin-dentin arayüzünün incelenmesi gibi alanlarında da kullanılmaktadır (Tsuda ve ark, 1993; Tsuda ve ark, 1994; Puppels ve ark, 1990; Puppels ve ark, 1991; Yuanyuan ve ark, 2007).

Diş sert dokularında hidroksiapatit içerisindeki P-O bağlarının gerilimini gösteren 960 cm^{-1} etrafında yer alan fosfat ν_1 bandı hidroksiapatit molekülü içerisindeki değiştirilemeyen fosfat ve oksijen bağı ile ilgili titreşimsel enerjiyi göstermektedir. Bu hidroksiapatit molekülü içerisindeki fosfat grup konsantrasyonu ile ilgili değişikliklerin analiz edilmesi sağlamaktadır (Tsuda ve ark, 1996; Tramini ve ark, 2000; Wentrup-Byrne ve ark, 1997). Fosfatın diğer titreşimsel modları 430 cm^{-1} (ν_2), 1045 cm^{-1} (ν_3) and 590 cm^{-1} (ν_4). Minenin protein içeriği de karakteristik raman bantları oluşturmaktadır. Protein matriksindeki CH, CH₂, CH₃ gruplarının C-H gerilim titreşimleri 2935 cm^{-1} merkezli geniş kompleks bant dağılımı göstermektedir. $\sim 1450\text{ cm}^{-1}$ 'deki bant C-H bükülmesine bağlıdır. $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ merkezli zayıf bant ise Amid I moduna aittir. Bu bant peptid bağları ve C-O ile C-N gerilimlerinin kombinasyonu olarak yükselir (Sauer ve ark, 1994; He ve Swain, 2009; Xu ve ark, 2009).

Konstantinos ve ark. hayvan kemiğinin trabeküler ve kortikal bölümlerini sentetik hidroksi apatit ile karşılaştırdıkları çalışmalarını Raman spektroskopisi kullanarak yapmışlardır. Kortikal tabakanın trabeküler tabakaya göre %30 daha mineralize olduğunu tespit etmişlerdir. Hayvan kemiğinin sentetik hidroksiapatite benzer bir yapı gösterdiğini Raman piklerinin ortak ya da yakın olmasına bağlamışlardır (Konstantinos ve ark, 2007).

Aminzadeh ve ark yaptıkları çalışmada sağlam, enfekte ve etkilenmiş dentinin kızılötesi ve Raman spektralarını incelemişlerdir. Enfekte ve etkinleşmiş dentini sağlam dentin ve hidroksiapatit ile kıyaslamışlardır. Enfekte dentinin yapısını kaybettiğini, etkilenmiş dentinin ise sağlam dentinle kıyaslandığında yapısal benzerlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Enfekte ve etkinleşmiş dentinde moleküler kollajen yapının değişmediğini belirtmişlerdir (Aminzadeh ve ark, 2002).

He ve Swai, farklı açılarla bölümlere ayrılmış minenin dıştan içe doğru bölümlerini nanoindentasyon, Raman spektroskopisi ve SEM ile inceleyerek kıyaslamışlardır. İç mine tabakası (dentine yakın kısım) dış mine tabakasına (yüzeğe yakın kısım) göre düşük elastik modül ve sertliğe sahipken, yüksek stres dağılımına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bunun nedenini minenin tabakalarındaki yapısal değişikliğine bağlamışlardır. Raman spektroskopisi ölçümlerini 50x büyütmede ve 960 cm^{-1} pik değeri merkezli olacak şekilde ölçüm yapmışlardır (He ve Swai,2009).

Wentrup-Byrne ve ark yaptıkları çalışmada minenin farklı tabakalarından Raman spektroskopisi ölçümleri yapmışlar ve elde ettikleri pik değerlerine göre minenin haritasını çıkarmaya çalışmışlardır. Yapılan haritalama işlemi karbon ve fosfat iyonlarının dağılımı ve organik içeriğin fazını belirleme amacıyla yapılmıştır. Örnekler hazırlandıktan sonra herhangi bir kimyasal ya da fiziksel ön hazırlık yapılmadan ölçümlere başlanmıştır. Dentin için $1200-1700$ ile $2700-2880$ bant aralığında ölçümler dikkate alınırken, mine için hidroksiapatit belirteci 960 cm^{-1} değeri dikkate alınırken, 1071 , 591 ve 430 cm^{-1} bantları da apatit yapının farklı bileşenleri olarak incelenmiştir (Wentrup-Byrne ve ark, 1997).

4.9.13.Enerji Dağılımlı Spektroskopisi (EDS)

EDS elementin atomik yapısının analizi için SEM ile bağlantılı olarak kullanılan bir tekniktir. Bu sistemle SEM ile yapısal analiz yaparken, EDS vasıtasıyla da element analizi yapılabilir. Enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi herhangi bir örnek veya örnek üzerindeki ilgili alanda yüzeyde biriken malzemelerin kimyasal karakterizasyonunu kantitatif analiz ile yapmaktadır (Besinis ve ark,2014).

Bu spektroskopinin temel prensibi her bir elementin kendine has atomik yapısının karakteristik özelliklerinin X ışınıyla diğer elementlerden ayrılmasıdır. Bir örneğin karakteristik X ışını emilimini uyarması için, elektron ve proton gibi yüksek enerji ışınları partikülleri ya da X ışını, çalışılan örneğe odaklanmalıdır. Atom partikülü, ayrı enerji seviyesinde ya da çekirdeğe bağlı yörüngede uyarılmamış elektron içermektedir.

EDS analizi, örnek üzerine taramalı bir elektron demeti düşürülerek gerçekleştirilir. Bu elektronların bazıları numune içindeki elektronlar ile çarpışarak elektronların yörüngelerinden çıkması sağlanır. Elektron ışınmayla bir iç yörüngeye geçer ve çıktığı yörüngede elektron deliği oluşur. Daha dıştaki yüksek enerjili yörüngede bulunan elektron bu boşluğu doldurmakta ve yüksek ve alçak enerjili yörüngeler arasındaki enerji farkı X ışını formunda salınmaktadır. Bir örnekten yayılan X ışının sayısı ve enerjisi enerji dağılımlı spektrometreyle ölçülebilir. EDS spektrumu toplandıktan sonra, atomların o an bulunduğu enerji seviyelerine göre otomatik belirleme yapılmaktadır. Toplama K, L ve M (atomik yüzde seviyesinde ağırlık- kütle oranları) üç enerji seviyesinde olmaktadır. X ışını enerjisi, iki yörünge arasındaki enerji farklılığıyla ve yayıldıkları elementin atomik yapısıyla karakterizedir. Yayılan x-ışınları analiz edilerek, numunenin elementel kompozisyonu tespit edilebilmektedir (Goldstein ve ark 2003; Arends ve Ten Bosch, 1992; <http://faik.com.tr/cihaz> Erişim tarihi: 3 Ocak 2015; Cristina ve ark, 2011).

SEM görüntüleme analizleri lezyonun gözenekliliği veya biriken minerallerin azlığı ya da çokluğu ile ilgili bilgi verirken minedeki çürük lezyonlarının demineralizasyon ve remineralizasyonundaki mineral değişkenlikleri belirlenmemektedir. Bu nedenle EDS yöntemi kullanılarak, minedeki minerallerin dağılımı ve miktarı görülebilmektedir (Arends ve Ten Bosch, 1992; <http://faik.com.tr/cihaz> Erişim tarihi: 3 Ocak 2015; Cristina ve ark, 2011).

EDS sistemi ve yazılımı sayesinde farklı yöntemlerle elemental veri alınabilir ve gösterilebilir. Bu yöntemler:

1. Tek bir nokta ya da birden fazla noktadan spektrum elde edilerek, hedeflenen bölgeden elemental bilgi elde edilmesi,

2. İncelenen örnek üzerine çizilen bir doğrultu ile daha önceden belirlenen elementlerin, bu doğrultu üzerindeki dağılımlarının analizin yapılabilmesi,

3. İncelenen alan üzerinde belirlenmiş elementlerin dağılımlarının ve yoğunluklarının haritalama ile gösterilmesi şeklindedir (<http://www.charfac.umn.edu> Erişim tarihi: 1 Mayıs 2015).

Kwon ve ark. Nd:YAG lazer ile pürüzlendirilmiş mine yüzeylerindeki değişimi X-ray difraksiyon analizi, EDS, Raman spektroskopisi ve lazer konfokal taramalı mikroskobu ile incelemişlerdir. Mine yüzeyini iki bölgeye ayırmışlar ve bir yüzey lazer ile pürüzlendirilmiş yüzey olarak belirlenirken diğer yüzey %37'lik fosforik asit ile pürüzlendirilmiş ve kontrol bölgesi olarak incelenmiştir. EDS analizleri sonucunda işlem yapılmamış mine yüzeydeki Ca/P oranına göre, %37'lik fosforik asitle pürüzlendirilmiş mine yüzeyindeki Ca/P oranında az miktarda düşüş görülürken, Nd:YAG lazer uygulaması yapılan yüzeydeki Ca/P oranında başlangıç durumuna göre hafif bir artış görülmüştür. Uygulamalar öncesi ve sonrasındaki Ca/P oranındaki fark ise belirgin bulunmuştur (Kwon ve ark, 2003).

Oliveira ve ark. süt ve daimi dişlerin mineral içeriklerini kıyasladıkları in vitro çalışmalarında SEM, EDS, X ışını difraksiyonu kullanmışlardır. Daimi dişlerin minesindeki kalsiyum ve fosfat yüzdelerinin, süt dişlerinin minesindeki yüzdeye göre daha yüksek bulmuşlardır. Süt dişlerinin mine yapılarının düşük seviyede kalsiyum ve fosfat içerdiğini ve daimi dişlerle kıyaslandığında daha kalın ve yüksek sayıda roda sahip olduğunu belirtmişlerdir (Oliveira ve ark, 2010).

4.9.14.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) elektron demetinin örneği taramasına dayalı bir metottür. Bu mikroskopta uygun bir saptırıcı düzenek aracılığıyla bir elektron demetinin incelenecek yüzeyi sürekli olarak taraması sağlanır. SEM, örneğin üzerindeki birincil elektron demetinin uyarılması ile saçılan düşük enerjili ikincil elektronları toplayarak görüntü üretir. SEM içerisinde elektron demeti örnek içerisinden tarama yaparak geçerken, lateral ışın pozisyonuna göre sinyalleri toplayan detektörler görüntünün haritasını oluştururlar (Goodhew ve ark, 2001). Bu sayede SEM kullanımı ile araştırılan objelerin topografik görüntülerini de elde etmek mümkündür. Genel çalışma prensibi örneğe odaklanmış elektron probu, deflektör sarmalları ve ikincil elektronları ya da diğer sinyalleri toplayan dedektörler ile elde edilen verilerin monitöre aktarılmasıdır.

SEM ile görüntü alınırken yüzeye çarpan elektronlar ikincil elektronların fırlamasına yol açar. Bu ikincil elektronlar, elektronların çarpmasıyla kısa süreli ani ışık parlamaları oluşturan kristale gönderilir. Kristalde ortaya çıkan parlamalar bir lamba aracılığıyla elektrik sinyaline dönüştürülür ve başka bir lambanın ekranında yüzeyin yapısını gösteren bir görüntü elde edilir ve bunların sonucunda incelenen örneğin SEM görüntüsü elde edilmiş olur (Önal ve ark, 2003).

Taramalı elektron mikroskobu örnekleri üç boyutlu inceleme imkanı sağlayan bir elektron mikroskobudur. Gerek ayırım gücü, gerek odak derinliği ve gerek görüntü ve analizi birleştirme özelliği taramalı elektron mikroskobunu araştırma ve incelemeler de geniş ölçüde kullanılan bir aygıt haline getirmiştir. Bunun yanında mikro işlemci ve bilgisayarların mikroskopla birlikte kullanılmaları cihaza kullanım kolaylığı sağlamıştır. İncelenen numunelerin yüzey özellikleri kesin ve daha ayrıntılı olarak görüntülenebilmektedir (Agematsu ve ark, 1997; Al-Nazhan, 2004; Babay, 2001; Breschi ve ark., 2003a; Breschi ve ark., 2003b). Arnold ve ark. SEM ile yapılan yüzey analizinin demineralizasyon ve remineralizasyonda lezyonların değerlendirilmesinde güçlü bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir (Arnold ve ark, 2003).

Zhou ve ark. yaptıkları çalışmada, remineralizasyon sonrasında mine yüzeyi üzerinde oluşturulan remineralizasyonun etkisini QLF, mikrosertlik, SEM ve 3B yüzey topografisi ile ölçmüşlerdir. Remineralizasyon ajanı olarak Clinpro XT vernik, Flor verniği, Tooth Mousse, Fuji 3 ve cam polialkonat siman kullanmışlardır. SEM incelemeleri sonucunda sadece flor verniği grubunda remineralizasyon sonrasında dairesel kalsiyum florürün mine yüzeyinde görüldüğü ve düzgün yüzeyli bir remineralizasyon tabakasının oluştuğunu, diğer gruplarda ise yeni oluşan remineralizasyon tabakasının keskin kenarlı düzensiz yapıda bir tabaka olduğunu belirtmişlerdir. Tooth Mousse'un flor salınımı yapan diğer ajanlarla SEM incelemeleri sonrasındaki kıyaslamasında CPP-ACP içeriğinin remineralizasyonda belirgin bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (Zhou ve ark, 2012).

Souza ve ark. karbondioksit lazer veya flor uygulamasından sonra insan ve hayvan dişlerinin mine yüzeylerindeki değişimleri mikrosertlik ve SEM ile inceledikleri çalışmalarında flor içeren ajan olarak %5'lik flor verniği ve APF kullanmışlardır. Mikrosertlik sonuçlarında flor verniği en iyi yüksek yüzey sertlik değerini vermiştir. Verniğin daha başarılı olmasının nedenini mine yüzeyinde verniğin daha iyi çözülmesine ve remineralizasyonu arttıracak şekilde çürük lezyonuna florun daha iyi penetre olmasına bağlamışlardır. SEM incelemelerinde insan ve hayvan dişlerinden alınan mine örneklerinde belirgin bir fark bulamamışlardır. APF grubu ve kontrol grubundaki değişimleri benzer bulmuşlardır. Bu iki grupta da mine prizmalarının açılmadığını ve bazı bölgelerin smear tabakasıyla kapatıldığını belirtmişlerdir. Flor verniği grubunda ise flor verniğinin içeriği kaynaklı globüler yapıların mine yüzeyini örttüğü ve düzensiz remineralizasyon tabakasının oluştuğunu belirtmişlerdir (Souza ve ark., 2010).

4.9.15.Odaklanmış İyon Demeti (FIB)

Odaklanmış iyon demeti (FIB) taramalı elektron mikroskobuna benzer bir mikroskoptur. FIB ile yüksek çözünürlükte görüntü elde etmeyi ve mikro düzeyde işlem yapılabilmesini tek bir platformda toplamaktadır. Sadece örneği tarama esnasından elektron demeti değil iyon demeti kullanır (Volkert ve Minor, 2007). Basit bir FIB sistemi: vakum sistemi ve odası, sıvı emtak iyon kaynağı, iyon kolonu, örneğin yerleştiği bölge, detektörler, gaz iletim sistemi ve bütün sistemi çalıştıracak bilgisayardan oluşur (Giannuzzi ve Stevie, 2004).

Tipik FIB sisteminin iki vakum pompalama bölgesi vardır: birincisi iyon kolunu ve detektörler için ve ikincisi örnek değişiminin sağlandığı oda içindir. Vakum sistemi, örnek ve örneğin yerleştiği odanın kontaminasyonunu engellemek ve iyon kolundaki yüksek voltaja bağlı elektriksel değişiklikleri önlemek içindir. (Giannuzzi ve Stevie, 2004).

FIB sıvı metal iyon kaynağı tarafından üretilen, metal iyonlarının odaklanmış ışın demetini kullanır. Sıvı metal iyon kaynağı için çok sayıda metalik element ya da maden kaynağı kullanılmaktadır. Galyum FIB sistemlerinden en çok kullanılan kaynaktır. Bunun nedenleri:

1. Galyumun ergime sıcaklığının ($T_m = 29,8 \text{ }^\circ\text{C}$) sıvı metal ve tungsten iğne arasındaki herhangi bir reaksiyon veya ara-difüzyona sebebiyet vermeyecek derecede düşük olması,
2. Galyumun ergime sıcaklığında uçuculuğunun az olması nedeniyle metal kaynağının korunması ve kullanım ömrünün uzaması,
3. Serbest yüzey enerjisinin düşük olması ile galyumun tungsten üzerindeki viskoz davranışı,
4. Düşük buhar basıncı sayesinde galyumun alaşım yerine saf halinde kullanılabilmesi ve buna bağlı olarak sıvının buharlaşmasının önlenmesi,
5. Galyumun üstün mekanik, elektrik ve vakum özellikleri,
6. Galyumun emisyon karakterine bağlı, düşük enerji dağılımı ile yüksek açısal şiddet oluşumudur (Orloff ve ark, 2002; Miura ve ark, 2012; Volkert ve Minor, 2007).

Wu ve ark. in vitro koşularda mine yzeyinde meydana gelen aşınma miktarını incelemişlerdir. Atrizyon ve korozyon işlemlerine ve aşınma mekanizmasına bağlı aşınma çatlaklarını ve alt yzey incelemelerini FIB/SEM ile yapmışlardır. Düz mine yzeylerinde aşınma esnasından meydana gelen madde kaybının kullanılan kayganlaştırıcının korozyon etkisine bağlamışlardır. Düşük korozyon ekisine sahip kayganlaştırıcı kullanıldığında (distile su, farklı pH'larda asitler gibi), az madde kaybı gerçekleşerek yzeyin aşındığını belirtmişlerdir. Yüksek koroziv ortamda aşınma esnasında yüksek miktarda madde kaybı gerçekleştiğini belirtmişlerdir (Wu ve ark, 2015).

Coutinho ve ark. TEM için diş biyomateryal hazırlamada FIB ve geniş iyon demeti tekniklerinin kullanılabilirliğini belirlemek ve mine ve dentin ile konvasyonel cam iyonomer ve üç basamaklı adezivlerin klas bir kavitelerdeki yzeyssel ilişisinin karakterizasyonunu araştırmışlardır. Ultrayapısal morfolojide FIB ile geniş iyon demeti teknikleri arasında büyük bir fark bulunamamıştır. Biyomateryal sert dokusu arayüzünü kesme zorluğu ve kolay kırılabilir yzeylerden ince örnekler hazırlama işlemlerinde FIB, mikrotomiye göre uygun ve güvenilir alternatif bir yöntemdir. FIB, örneğin küçük boyutlarındaki yapısal ayrıntıları göstermede ve daha ileri yöntemleri uygulama için örneği hazırlamada daha uygun bir yöntemdir (Coutinho ve ark, 2009).

Meerbeek ve ark. yaptıkları çalışmada resin dentin arayüzünde, açığa ıkımış kollajenlere resin penetrasyonunu FIB ile incelemeye çalışmışlardır. Ara yzeyde ısınmaya bağlı olarak meydana gelen artefaktlar nedeniyle resin dentin bağlantı yzeyleri inceleyememişler. FIB ile yapılacak ölçümlerin çok hassas ve dikkatle yapılması gerektiğini belirterek, daha fazla çalışma yapılmasını ve ortaya çıkabilecek artefaktların belirlenmesi ile bu artefaktlara dikkat edilerek ölçümlerin yapılması gerektiğini belirtmişlerdir (Meerbeek ve ark, 1995).

Hoshi ve ark. dentin yapısını inceledikleri çalışmalarında Enerji Filtreli Transmisyon Elektron Mikroskobu ölçümü için 100nm kalınlıkta dentin dilimleri oluşturmak için FIB kullanmışlardır. Kristal yapıya yakın bölgelerde karbon tespit edebilir fakat kristal yapı içerisinde karbonu tespit edememişlerdir. Kalsiyumu ise inceledikleri tüm bölgelerde tespit edebilmişlerdir. Bunu dentin matrisindeki organik yapılarda kalsiyum bulunmasına bağlamışlardır (Hoshi ve ark, 2001).

Coutinho ve ark. yaptıkları çalışmada klas I kavitelere konvansiyonel cam iyonomer, iki aşamalı ve üç aşamalı adezivlerin mine ve dentin tabakaları ile etkileşimlerini TEM ile incelemişlerdir. TEM örneği hazırlarken Odaklanmış İyon Demeti (FIB) ve Genişletilmiş İyon Demeti (BIB) tekniklerini kullanmışlardır. FIB ve BIB teknikleri arasında yapısal morfoloji incelemelerinde belirgin bir fark bulamamışlardır. Bu metodların hassas ve ince örnek hazırlama işlemlerinde ve biyomateryal ile sert doku arasında etkileşim olan örneklerin kesim zorluğunda, konvansiyonel ultramikrotomiye alternatif olabileceğini belirtmişlerdir (Coutinho ve ark, 2011).

4.9.16.Çift İyon Demetli Sistemler (SEM/FIB)

FIB ile taramalı elektron mikroskobunun tek sisteme entegre olduğu sistemdir. İki ünitenin bir arada bulunması ve eş-zamanlı kullanılabilmesi ile metalden polimere çok geniş spektrumdaki malzemelerin görüntülenmesi, bölgesel analizi ve nano-yapılandırılması gibi birçok işlem başarıyla yürütülmektedir. SEM elektronlar ile ölçüm sağlarken FIB hem elektron hem de iyonlar yardımıyla ölçüm sağlamaktadır (Drobne, 2013). Bu kombinasyon, özellikle iyon demeti malzeme yüzeyine normal açıyla aşındırma yaparken, elektron demetinin aşındırılan yüzeyin görüntüleme yapmasından dolayı kesit şeklinde numune hazırlamada kullanılmaktadır. Tipik çift iyon demetli kolon konfigürasyonu eğimli iyon kolonu ile vertikal elektron kolunu düzenine sahiptir. İyon demeti 52° vertikal eğimli pozisyon alır bu sayede örnek yüzeyine normal kesim işlemi yapılabilir. Elektron ve iyon kolonlarına ek olarak FIB sistemi spektroskopi, depozisyon, pürüzlendirme ve manipulasyon işlemlerini içeren diğer sistemlerle birlikte çalışabilir.

Gaz depolama sistemleri, elektron ve iyon demetleri ile bağlantılı olarak kullanılır ve metal veya yalıtkan malzemelerin depolanması veya kontrollü aşındırması/dağlamamasını sağlamaktadır. Çift iyon demetli sistemler, transmisyon elektron mikroskobu (TEM) örneği hazırlama işleminde, kesit alınması ve görüntülenmesi işleminde, üç boyutlu mikroyapısal karakterizasyon ve FIB tomografisi gibi nano düzeyde çalışılan işlemlerde kullanılmaktadır (Mayer ve ark., 2007; Pacher ve ark., 2008; Loos ve ark., 2002; van Leer ve Giannuzzi, 2007; Uchic ve ark., 2007; Uchic ve ark., 2004; Kiener ve ark., 2007).

FIB teknolojisinin SEM sistemlerine göre bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Avantajları; her iki sistem görüntü elde edilmesi için kullanılsa da, iyonlar elektronlara göre daha ağır olduğu için; FIB sistemleri konvansiyonel görüntüleme işlemi dışında daha fazla uygulamaya izin verir. İyonların elektronlara daha büyük ve ağır olması nedeniyle, iyonlar pozitif yüklenebilirler fakat elektronlar her zaman negatif yüklüdürler. İyonlar, elektronlara göre daha yavaş hareket ederek daha geniş alanlara odaklanabilir ve kontrol edilebilirler. Elektronlara göre iyonlara örnek içerisinde daha derinlere ulaşırlar bu görüntü kalitesinde bozulmalara yol açar. Dezavantajları ise iyonlar incelenen örnek üzerinde elektronlara çok daha büyük direkt etki yaratırlar. İyonlar odaklandığı bölgede ısınma ve odağa yakın alandaki atomların uzaklaştırılmasına ve yüzeye iyon depolama problemleri ile incelenen örneğin yüzeyinin ve iç yapısının bozulmasına yol açarken, elektron demetler çok küçük bir bozulma ya da yüzeyde değişiklik olmama ile örneğin iç yapısında değişiklik yaratmazlar. Bu nedenle FIB kullanıcının bu alanda uzmanlaşmış, tecrübeli olması gereklidir. FIB ile çalışılan örneklerde inceleme için ayrılan zaman genelde SEM örnekleri incelemelerine göre daha uzun sürmektedir (Scougall ve ark., 2007).

FIB kesitleri mekanik prosedürlere göre mine adeziv bağlantısı bölgesinde mikrofraktürler, seperasyonlar ve bağlantı kopuklukları gibi mekanik işlemler sonucu oluşan artefaktlardan uzak temiz ve güzel bir inceleme imkanı sunar (Scougall ve ark., 2007).

Vilchis ve ark. ortodontik adezivle mine tabakasının ilişkisini FIB/SEM çift iyon demetli sistem kullanarak inceledikleri çalışmalarında, %37'lik fosforik asit ile pürüzlendirilmiş mine yüzeyini primer uygulanan yüzey ile karşılaştırmışlardır. FIB ile alınan kesitsel görüntüleme esnasında mine ve adeziv birleşim yerinde hasar meydana getirmemesi ve temiz incelenebilir bir bölge oluşturması nedeniyle FIB ile kesitsel görüntüler almışlardır. FIB/SEM görüntülemesi sonucunda %37'lik fosforik asit ile pürüzlendirilmiş mine yüzeyinde primere göre daha fazla aşınmış yüzey görüldüğü belirtilmiştir (Vilchis ve ark, 2007).

Nalla ve ark dentin yapısını TEM ile inceledikleri çalışmalarında, dentin örneğini TEM incelemesi için hazırlarken FIB/SEM çift iyon demetli sistemi kullanmışlardır. Ultramikrotomi kullanımı ile kırılma ve çatlama görülebilecek kadar ince örneklerin TEM için hazırlanması aşamasında, örnek hazırlaması FIB sistemi kullanımı ile yapılırsa örneğin zarar görmeden hazırlanabileceğini ve örnek hazırlama aşamasında çift demetli sistem sayesinde istenilen bölgenin seçilebileceğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında dentin yapısındaki yaşa bağlı olarak meydana gelen değişimler ile mineralize yapıda oluşan çatlakları incelemişlerdir. Bu incelemelerin yapısal değişimleri tanımlamak ve bu aşamaları anlamak için geliştirilmesi gereken başlangıç çalışması olarak araştırmalarını tanımlamışlardır (Nalla ve ark, 2005).

Earl ve ark. yaptıkları çalışmada dentinin tübül yapısının 3 boyutlu yapısal incelemesini FIB/SEM çift iyon demetli sistem ile yapmışlardır. FIB ile aldıkları kesitsel alanların görüntüsünü 3 boyutlu hale çevirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda dentinin tübül yapısını tüm diş yüzeyinde incelemeyi hedefleyerek, dentin hassasiyeti ve önlenmesi konularını daha açıklayıcı hale getirebilecek yeni FIB/SEM çalışmaları gerektiğini belirtmişlerdir (Earl ve ark, 2010).

Miura ve ark. yaptıkları çalışmada mine ve dentinin TEM ile incelemesinde örnek hazırlama aşamasında FIB tekniği kullanmışlardır. FIB tekniği yardımıyla mine ve dentin gibi sert ama kolay kırılabilen yapılardan örnek hazırlamada hassas kesit alma özelliği yardımıyla ince örnekler hazırlanabilmişlerdir. Hazırladıkları örnekleri 3 boyutlu hale getirerek mine ve dentin yapısını incelemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda FIB ile hazırlanan kesitsel örneklerin kalsifiye dokular ya da materyallerin diş dokularıyla etkileşimini gösteren ara yüze incelemelerinde büyük kolaylık sağladığını belirtmişlerdir (Miura ve ark, 2012).

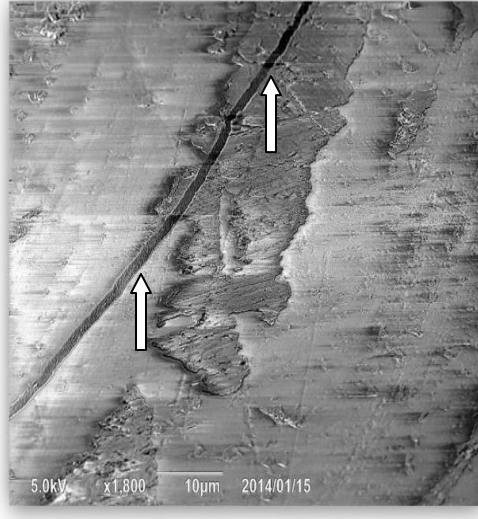
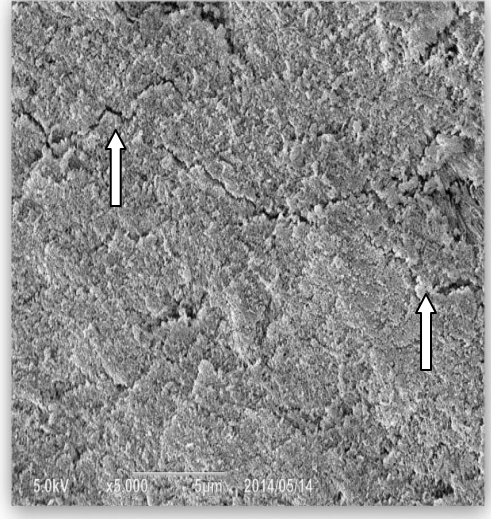
5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1 Etik Kurul Onayı

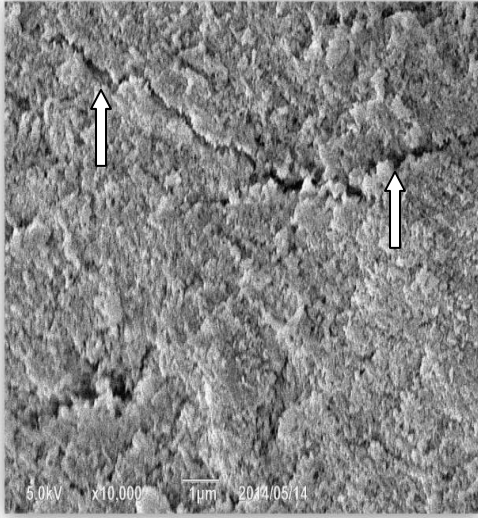
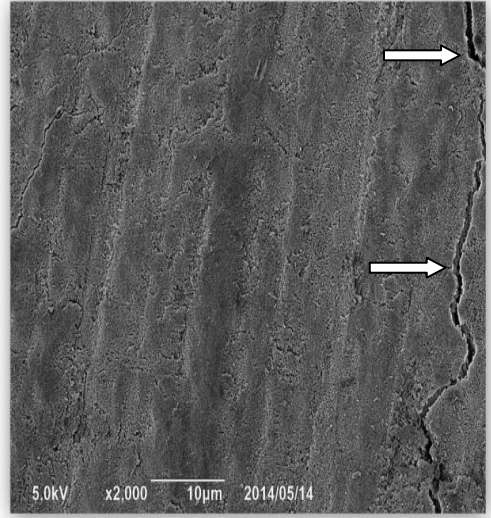
Araştırma için gerekli olan etik kurul onayı, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'ndan alınmıştır (Protokol no:110, sayı:4, Tarih: 08/10/2013).

5.2.Mine Örneklerinin Hazırlanması

Araştırmamızda, Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Kliniğine başvuran hastalardan ortodontik veya periodontal nedenlerle çekilen 20 adet çürüksüz daimi büyük azı dişi kullanıldı. Çürüklü, beyaz nokta lezyonlu, çatlak, hipoplazili, lekeli veya mine defekti olan, restorasyonlu veya fissür örtücü yapılmış dişler araştırmaya dahil edilmedi. Çekim sırasında kırılan ya da çatlak oluşan dişler, çalışmaya alınmadı. Hazırlanan mine örnekleri SEM görüntüsü ile kontrol edilip çatlak ve/ veya mikro çatlak bulunan dişler çalışma dışında bırakıldı. Resim 3 ve 4 de SEM görüntülerinin farklı büyütmelerinde mine örneklerindeki çatlaklar gösterilmiştir.

A**B**

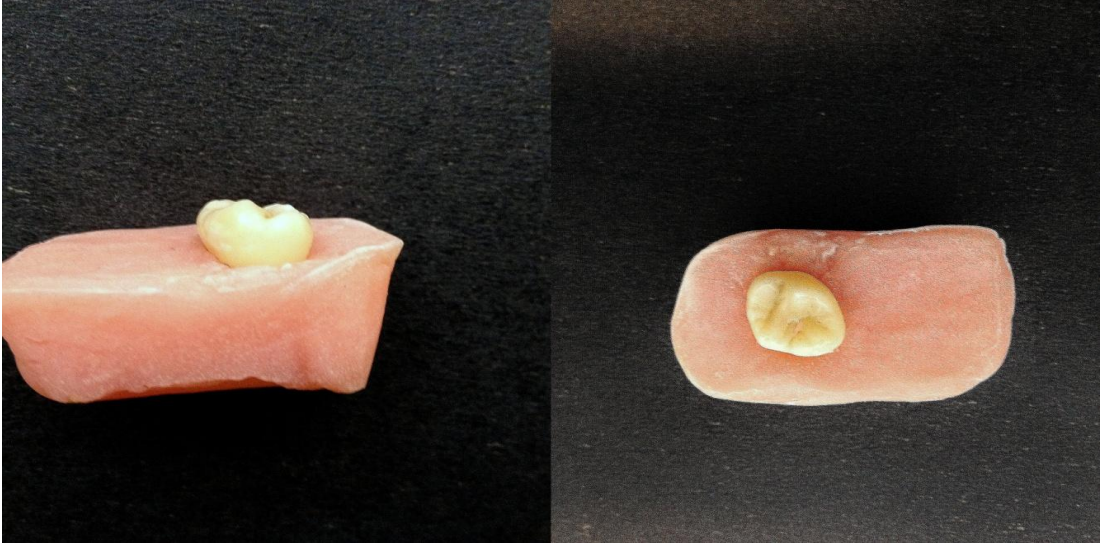
Resim 3. Mine çatlaklarının SEM görüntüsü 1800x (A) ve 5000x (B) büyütme

A**B**

Resim 4. Mine çatlaklarının SEM görüntüsü 10 000x (A) ve 2000x (B) büyütme

Çekim sonrası dişlerin üzerindeki organik artıkların temizliği mekanik olarak el aletleri ile yapıldıktan sonra diş yüzeyleri flor içermeyen pomza ve polisaj fırçası ile temizlendi. Diş yüzeyindeki yumuşak doku artıklarının temizliği ve dişlerin polisaj işleminin tamamlanmasından sonra örnekler, içinde %0,1'lik timol solüsyonunda saklanarak dehidrate olmaları önlenildi (Mathias ve ark, 2011).

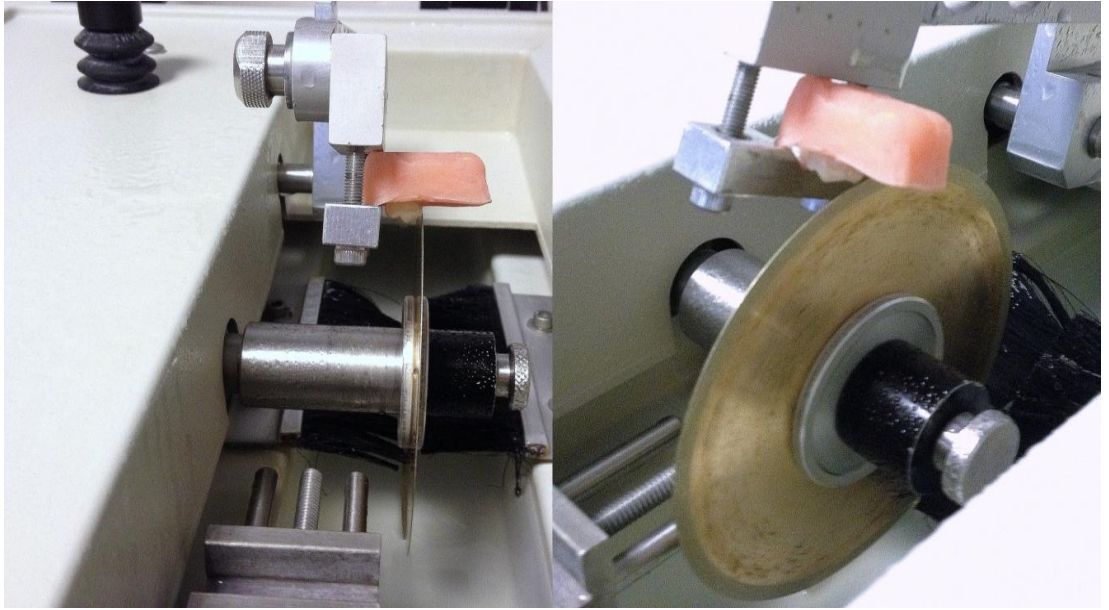
Dişlerin çekimden sonraki iki ay içerisinde araştırmada kullanılması sağlandı. Akrilik bloklara gömülen 20 adet daimi diş (Resim 5), düşük hızlı kesim makinesi ISOMET (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, ABD) ile önce kron ve köklerinden ayrıldı (Resim 6). Daha sonra bukkal ve lingual kesit alınacak şekilde ikiye bölünen dişlerden, elmas disk (ExttecCorp., Enfield, CT, ABD) yardımıyla 2 mm aralık ile enine kesilerek 2 ×6 ×3 mm boyutlarında 40 adet mine örneği hazırlandı (Resim 7). Mine örnekleri sırasıyla 200, 400, 600, 800, 1200 ve 2000 gridlik alüminyum oksitli abraziv kağıt diskler ile 100 mikron madde kaldırılacak, düz ve pürüzsüz bir yüzey elde edilecek şekilde zımparalandı (Resim 8). Pürüzsüz yüzey elde edilemediği durumlarda zımparalama işlemi tekrarlandı. Cilalama işlemlerinin ardından örnekler deiyonize su ile yıkandı.



Resim 5. Akriliğe gömülmüş kesim için hazırlanan büyük azı dişi



Resim 6. ISOMET kesme cihazı (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, ABD)

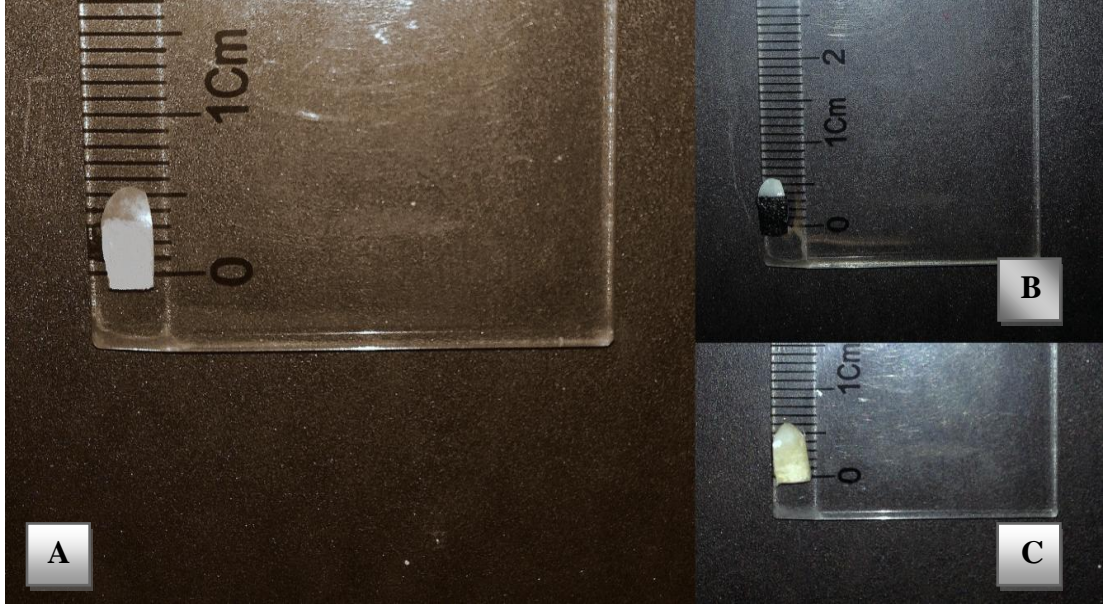


Resim 7. Kesim için kullanılan elmas ince bıçak (Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, ABD)



Resim 8. Alüminyum oksitli abrazyiv kağıt ile zımparalama işlemi

FIB/SEM ve EDS ölçümleri için mine yüzeylerinin kaplanması gerektiğinden Raman spektroskopisi ölçümleri sonrasında kaplama işlemine geçilmeden önce mine örnekleri 3 bölgeye ayrıldı (Resim 9A). İlk 1/3'lük kısım başlangıç, sonraki 1/3'lük kısım demineralizasyon ve son 1/3'lük kısım remineralizasyon ölçümleri için ayrıldı. Başlangıç ölçümleri için yüzey kaplaması yapılırken diğer yüzeylerin etkilenmemesi için ilk 1/3'lük kısım dışındaki bölgeler karbon bant ile kapatıldı (Resim 9B). Kaplanmış mine yüzeyinin FIB/SEM ve EDS ile incelemeleri yapıldı (Resim 9C). Başlangıç ölçümü yapıldıktan sonra demineralizasyon ve remineralizasyon işlemleri için kalan 1/3'lük kısımlar için aynı işlemler tekrarlandı.



Resim 9. 6 mm uzunluğunda hazırlanmış mine örneği (A), kaplama cihazına girmeden önce karbon bant ile kapatılmış mine örneği (B), mine örneğinin kaplama yapıldıktan sonra görüntüsü (C)

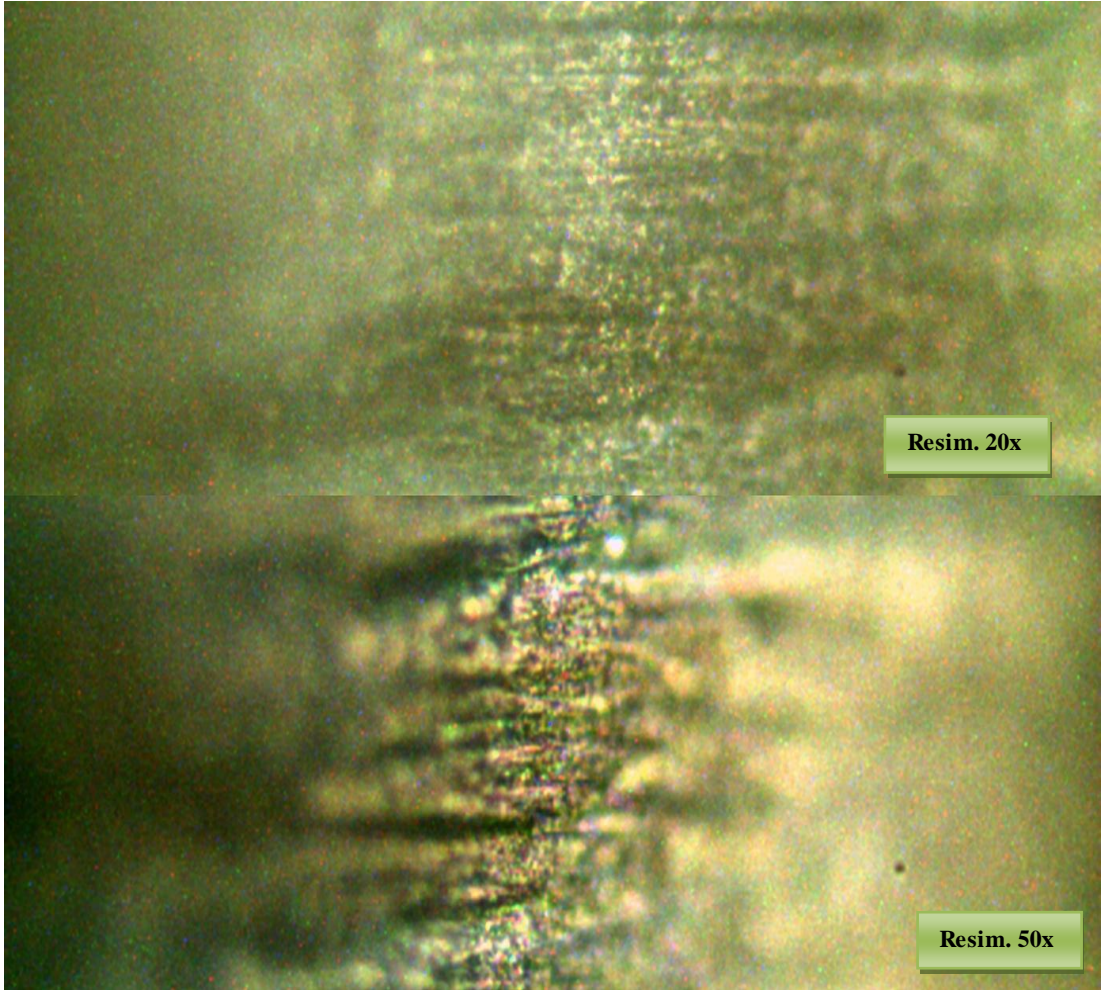
5.3. Başlangıç Raman Spektroskopisi, FIB, SEM ve EDS Ölçümleri

5.3.1. Mine örneklerinde Raman spektroskopisi analizleri

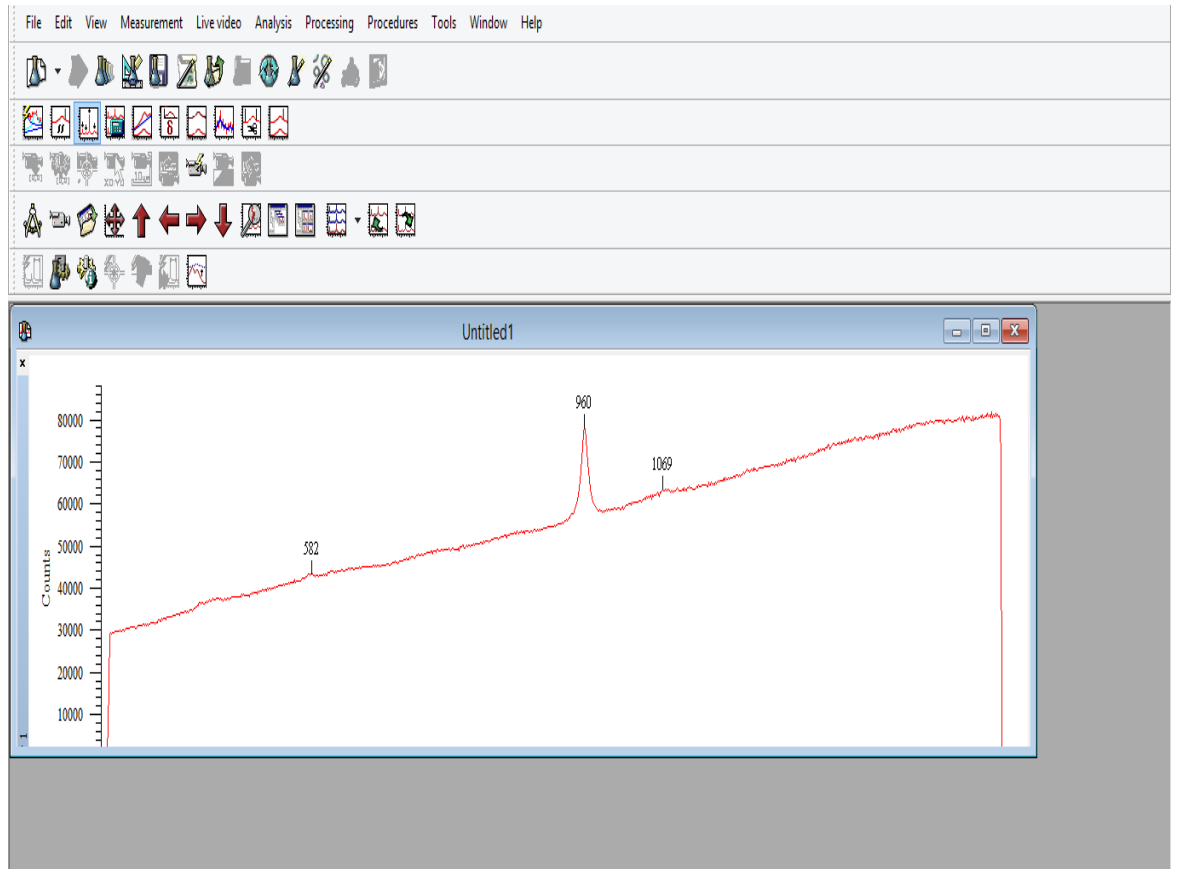
Raman spektrumları, Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SUNUM) laboratuvarlarında Raman spektroskopisi tekniği kullanılarak elde edilmiştir (Renishaw InVia Raman Microscope, UK), (Resim 10). Dalga boyu 785 nm ve yaklaşık 14 μm odak genişliği olan yeşil lazer ile 2400 lines/mm grating donanımlı cihazda yürütülmüştür. Objektif lensi x50 büyütmede (Resim 11) tarama aralığında merkez dalga boyu 960 cm^{-1} ve lazer gücü %100 olarak seçildi. Standardizasyon sağlamak için tüm örneklerde aynı değerler kullanıldı. Raman spektroskopisi analizi sonucunda elde edilen spektrum örneği Resim 12’de gösterilmiştir.



Resim 10. Raman Spektroskopi cihazı (Renishaw InVia Raman Microscope, UK)



Resim 11. Raman spektroskopinin üzerindeki ışık mikroskopundan (Leica, Avusturya) 20x ve 50x büyütme ile mine yüzeyi görüntüsü



Resim 12. Raman spektroskopi analizi sonucunda elde edilen spektrum

5.3.2.EDS ve FIB/SEM analizleri öncesi mine örneklerinin yüzeylerinin kaplanması

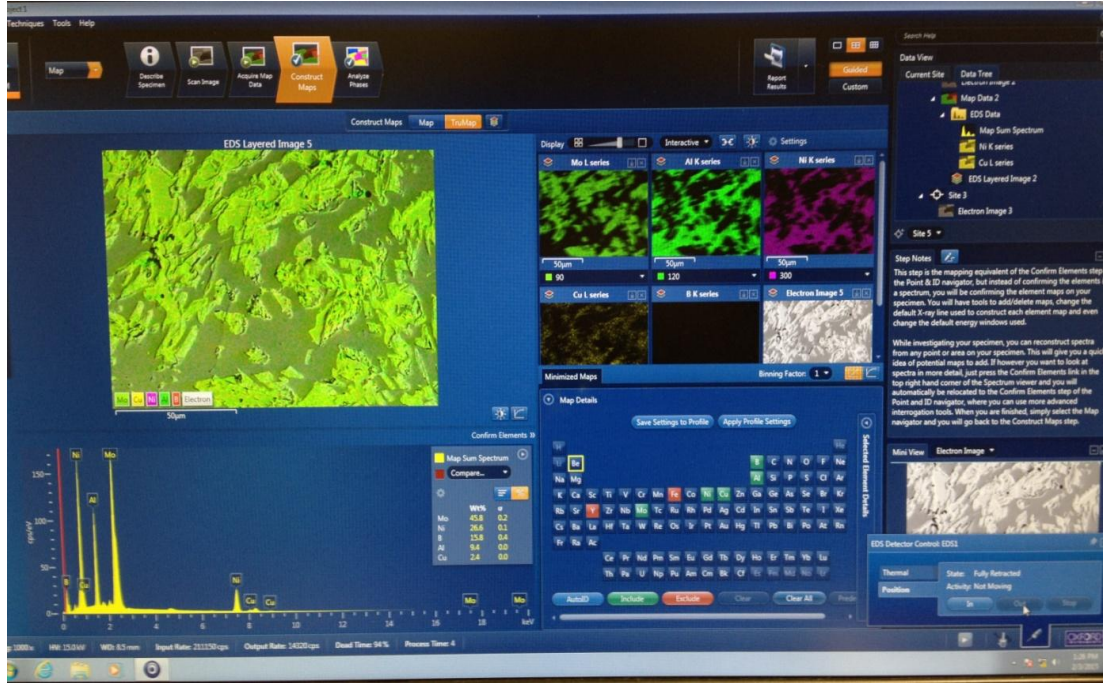
EDS ve FIB/SEM incelemeleri öncesinde mine örneklerinin eşit kalınlıkta ve düz yüzeylere sahip olması için örnekler sıçratma kaplama cihazında 40 saniye süre ve 40 mA akım ile 10 nm kalınlıkta altın veya platin/paladyum tabakası ile kaplanmıştır. Metal kaplama ile yüzeyde iletken film oluşturulması ve mikroskoplarda elektriksel yüklemenin ortadan kaldırılması ve dolayısıyla çözünürlüğün artırılması amaçlanmıştır (Cristina ve ark, 2011). Mine örneklerinin kaplama işlemi 5x10 milibar basınç ve 10 miliamper elektrik voltajında tamamlandı.

5.3.3.Mine örneklerinde EDS analizleri

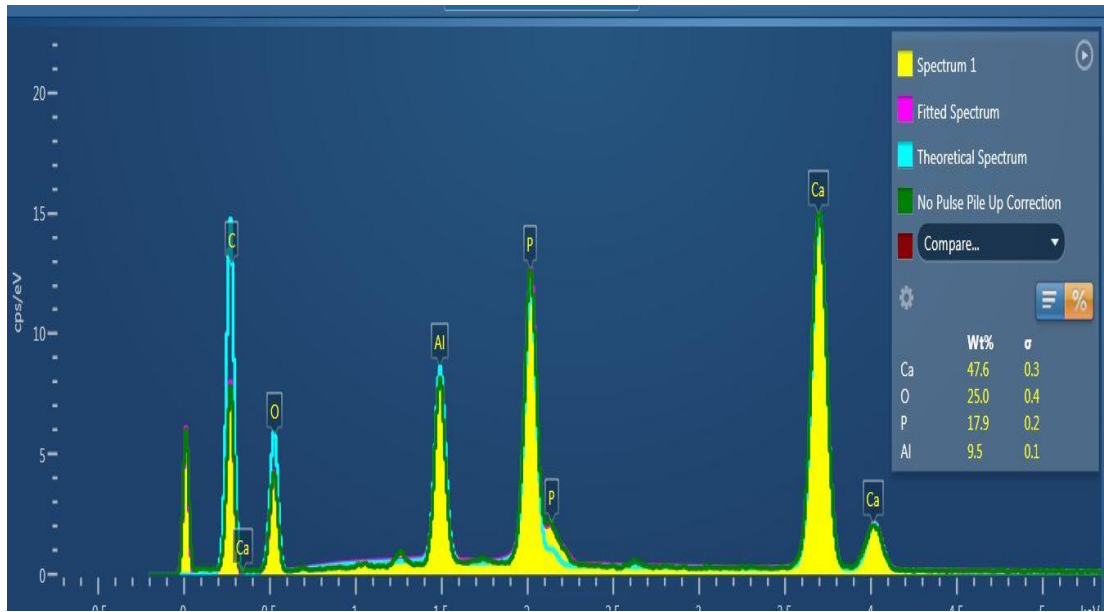
Aynı mine yüzeylerinde kalsiyum ve fosfat içeriği ve kalsiyum ile fosfatın molar oranının belirlenebilmesi amacıyla Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SUNUM) laboratuvarlarında Enerji Dağılımlı Spektroskopi (EDS) analizleri yapılmıştır (Resim 13). EDS spektrumları 20kV ivmelendirici gerilimde, ölü zaman %30 ve üzeri olmak üzere 16 mm çalışma mesafesi ve 500x büyütmede elde edilmiştir. EDS analizleri JEOL marka JSM 6010 model tungsten filamanlı SEM içerisinde, Oxford Instruments EDS sistemi yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Resim 14’da EDS analizi sonrasında bilgisayar programı yardımı (AzTEC yazılımı, Xmax^N Detektör modeli) ile elde edilen görüntünün elementsel analiz ve grafiği, Resim 15 ve 16’de EDS analizinden elde edilen yüzde ve oransal değerler gösterilmiştir.



Resim 13. EDS cihazı (JEOL, JSM 6010)



Resim 14. EDS sonrasında elde edilen görüntünün elementsel analizi



Resim 15. EDS analiz ile elde edilen grafik

Quant Results View

Viewed Data: Spectrum 1 Result Type: Weight %

Processing Option Used: All Elements Processed (Normalized)

Element	Wt% ±	Wt% Sigma
Ca	47.58	0.28
O	25.01	0.35
P	17.92	0.17
Al	9.48	0.11
Total	100.00	

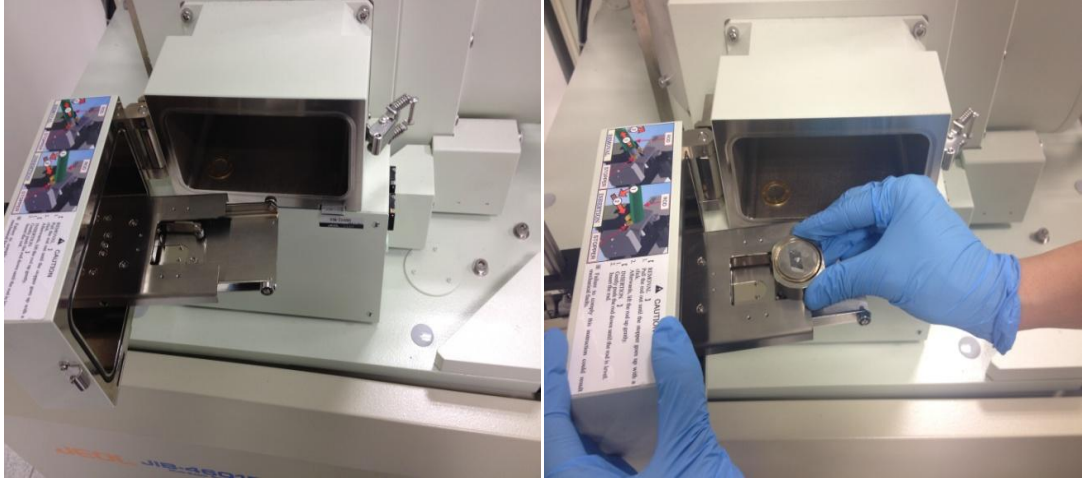
Resim 16. EDS analiz sonuçlarının yüzde ve oranlarının bilgisayar programı ile gösterilmesi

5.3.4.Mine örneklerinde SEM analizleri

Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine örneklerine uygulanan MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme ve Yapay Tükürüğün mine yüzeylerinde oluşturduğu remineralizasyonun değerlendirilmesi amacıyla her gruptan ikişer adet olacak şekilde rastgele seçilen mine örnekleri Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SUNUM) laboratuvarlarında yaklaşık 10 nm kalınlığında kaplama cihazı (Cressington 108 Sputter Coater, USA) yardımıyla altın veya platin/paladyum ile kaplanmıştır. (Resim 17) Platin kaplama işlemi sonrasında SEM (JEOL JIB 4601 F MultiBeam FIB/SEM Platformu, Japonya) incelemesi için hazırlanan mine örnekleri cihaz içerisine yerleştirilerek (Resim 18), farklı büyütme oranlarında (2000x, 5000x, 10000x, 15000x, 20000x, 30000x) inceleme yapılarak değerlendirilmiştir. (Resim 19)



Resim 17. Metal sıçratma kaplama cihazı (Cressington 108 Sputter Coater, USA)



Resim 18. FIB/SEM incelemesi için hazırlanan örneklerin yükleme odacığından cihaz içerisine yerleştirilmesi

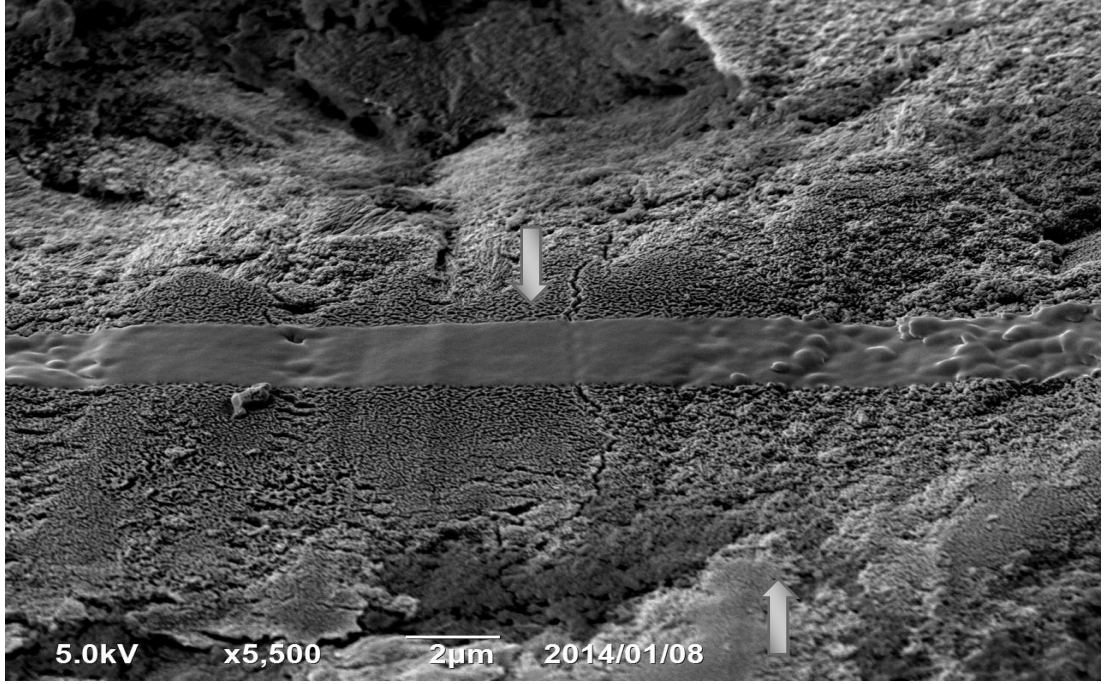


Resim 19. FIB/SEM görüntüleme cihazı (JEOL JIB 4601 F MultiBeam FIB/SEM Platformu, Japonya)

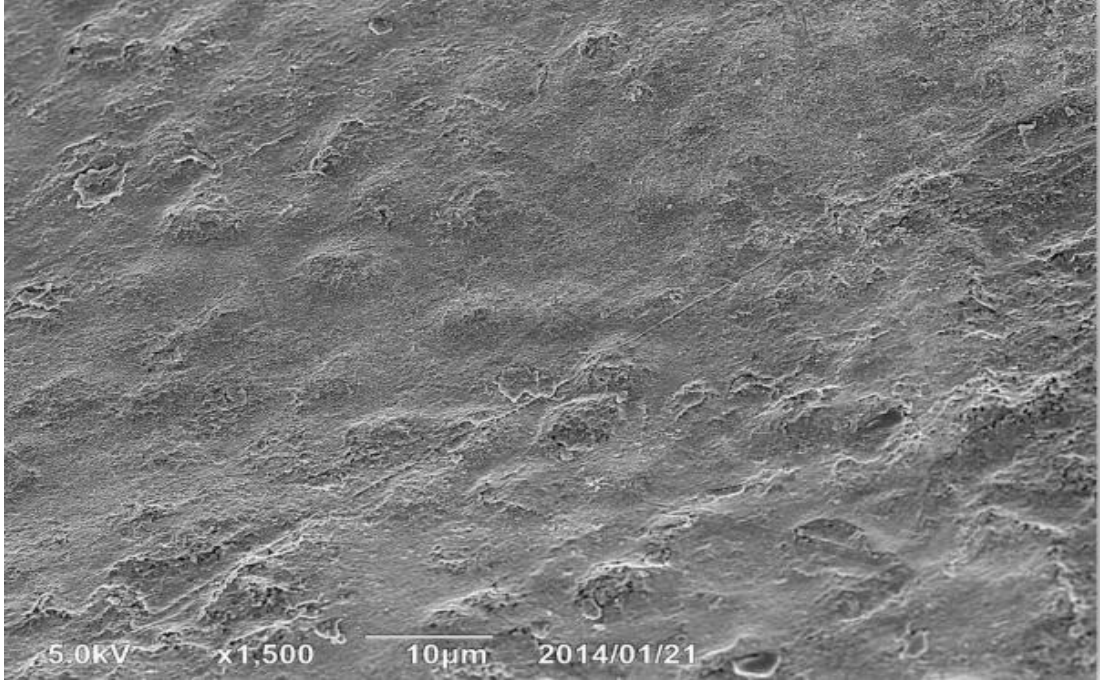
5.3.5. Mine örneklerinde FIB/SEM analizleri

Mine örnekleri incelenmeden önce yapılan altın veya platin/paladyum kaplamaya ek olarak FIB/SEM çift demet platformu içerisinde bulunan, gaz enjeksiyon sistemleri (GIS) yardımıyla incelenmesi planlanan mine yüzeylerine lokal olarak, ince (1–2 μm kalınlığında) platin depolanması yapılmıştır (Resim 20). Tekrar yüzeye kaplama yapılmasının sebebi, kesit alma işlem sırasında incelenecek yüzeyi nispeten düzleştirmek ve gelen iyonların vereceği zarardan koruyarak, aşındırmaya bağlı görüntü ve görüntüleme hatalarını engellemektir (Knott ve ark, 2008). Kesitsel alanı açabilmek için ilk başlarda, iyon aşındırması işlemi nispeten yüksek akım (3-5 nA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hassas düzeltme aşamasında ise düşük akımlar (0,5-0,3 nA) ile çalışılarak, ilgili alan temizlenmiştir. Her aşamada kontrollü gidilmiş, parlatma yoluyla temizlenen bölgeler incelenerek devam edilmiştir (Resim 21, 22, 23, 24). Yan kesitte oluşan çubuksu yapılar, galyum iyonlarının paternleme sırasında oluşturduğu perdeleme etkisine bağlı kesit izler olarak görülmektedir (Resim 25,26). Bölgeler temizlendikten sonra farklı büyütme oranlarında (3000x, 4000x, 4500x, 5000x, 9000x, 9500x, 10000x, 12000x, 15000x) değerlendirilmiştir

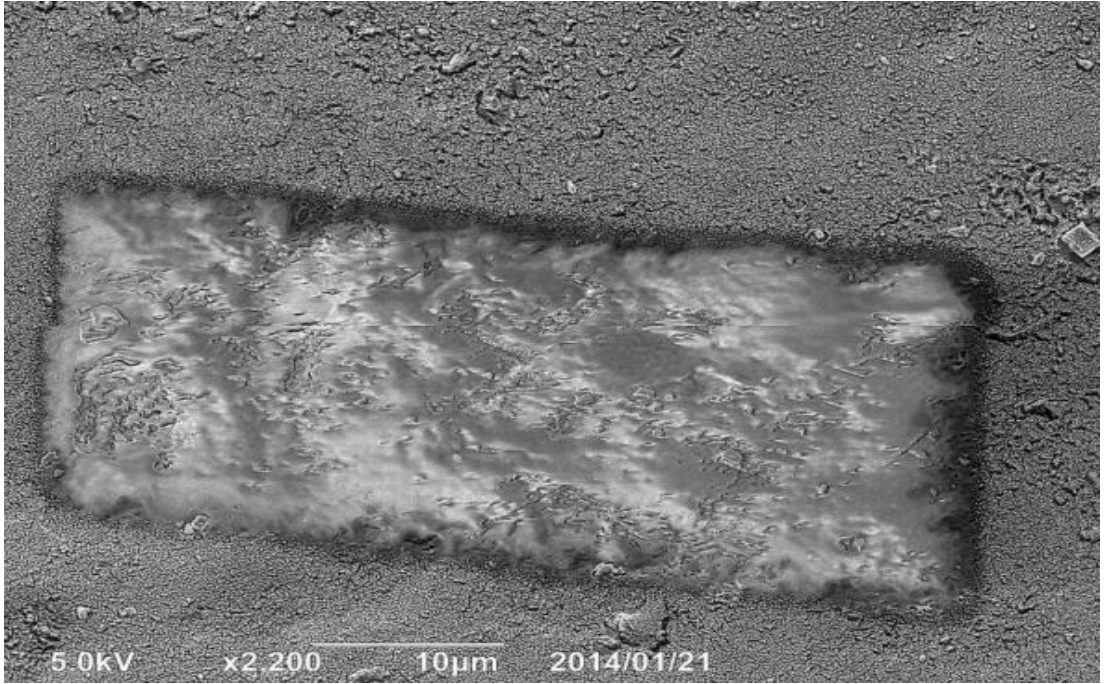
Bu işlem için Sabancı Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (SUNUM) laboratuvarlarında bulunan çift iyon demetli sistem SEM/FIB (JEOL JIB 4601 F MultiBeam FIB/SEM Platformu, Japonya) kullanılmıştır (Resim 19). Bu çalışmada iyon enerjisi 30 keV olarak seçilirken, elektronlarla görüntüleme için ortalama 5 keV kullanılmıştır. Çalışma mesafesi, kavuşma noktası olarak da tanımlanan, elektronların ve iyonların aynı noktaya düştüğü yükseklik olup, belirtilen marka ve model için 8,5 mm'dir.



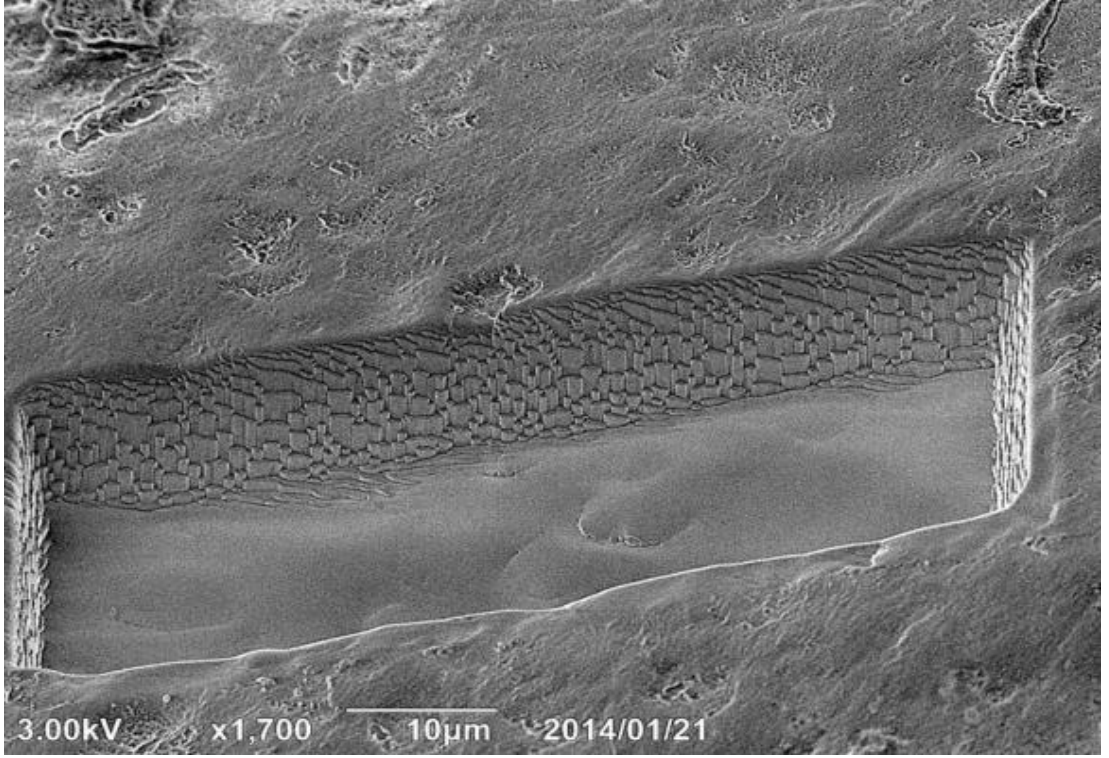
Resim 20. Sağlıklı mine yüzeyinin platin ile kaplanmış 5500x büyütmede SEM görüntüsü



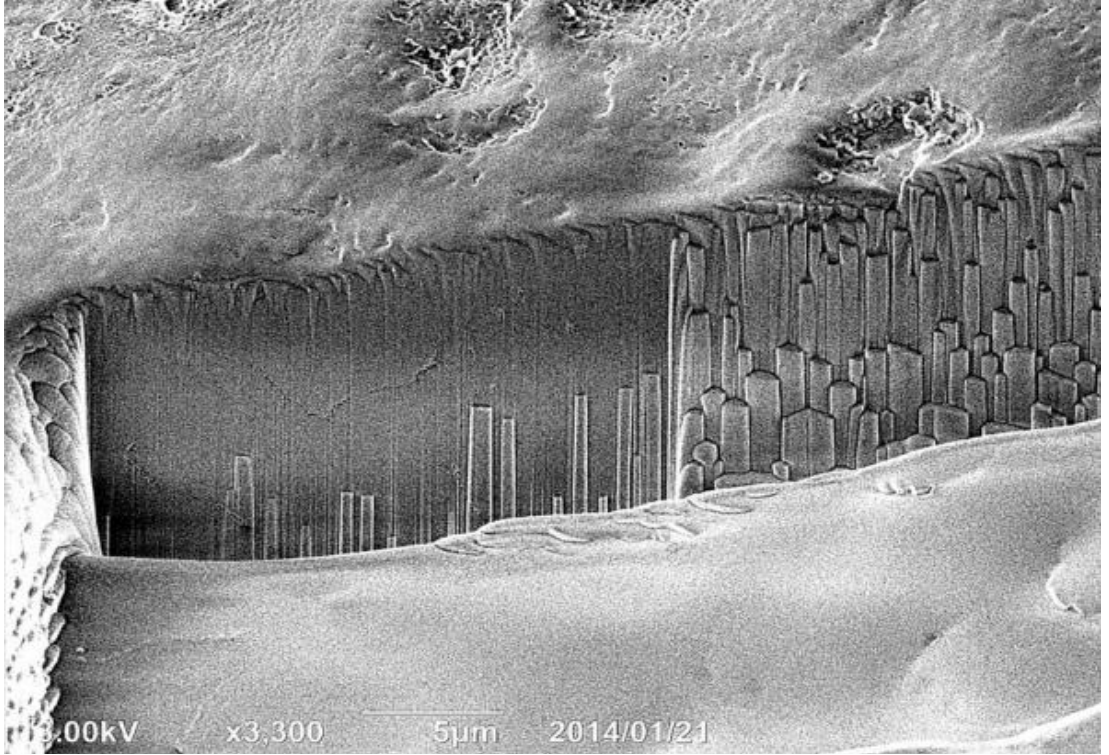
Resim 21. FIB ile açılan kesitsel alanın 1500x büyütme SEM görüntüsü



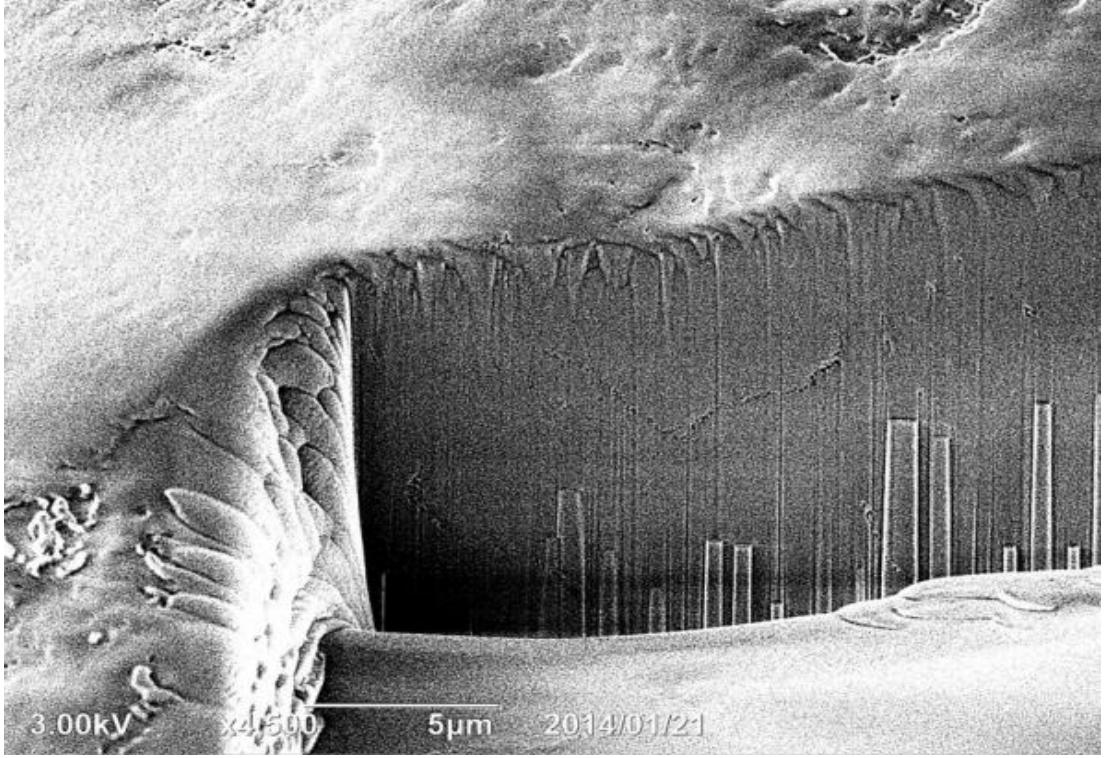
Resim 22. FIB ile açılan kesitsel alanın 2200x büyütme SEM görüntüsü



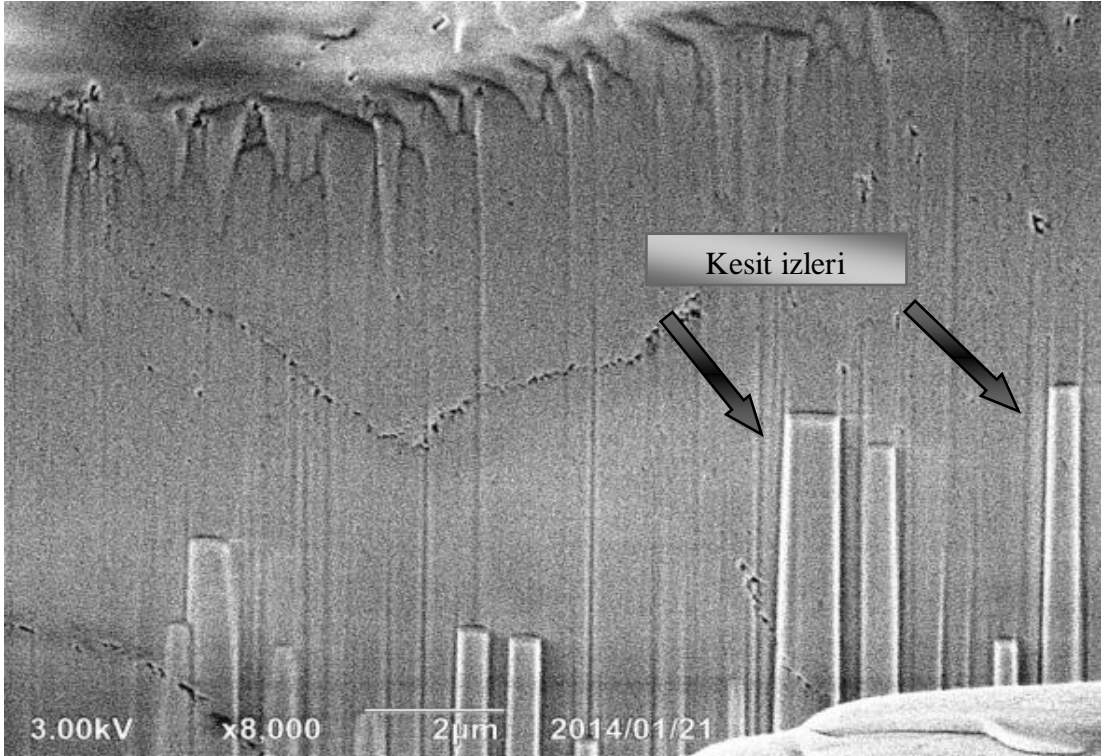
Resim 23. FIB ile açılan kesitsel alanın 1700x büyütme SEM görüntüsü



Resim 24. FIB ile açılan kesitsel alanın 3300x büyütme SEM görüntüsü



Resim 25. FIB ile açılan kesitsel alanın 4500x büyütme SE görüntüsü



Resim 26. FIB ile açılan kesitsel alanın 8000x büyütme SE görüntüsü

5.4.Mine Yüzeylerinde Başlangıç Çürük Lezyonu Oluşturulması

Araştırmamızda MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme remineralizasyon ajanlarının başlangıç mine lezyonları üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandığından toplam 40 adet mine örneğinde başlangıç mine lezyonu oluşturulmuştur. Demineralizasyon solüsyonu (Tablo 1). (ten Cate ve Arends, 1978, Viera ve ark, 2005) Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Laboratuvarında deneyler öncesinde taze olarak hazırlanmıştır. Yapılan pilot çalışmada mine örnekleri sırasıyla 24, 48 ve 72 saat ile 1 haftalık sürelerle demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Belirlenen süreler sonrasında mine örneklerinin yüzey değişimleri EDS, Raman Spektroskopisi ve SEM analizleri kontrol edilmiştir. 24 saatlik süre ile yapılan demineralizasyonun mine yüzeylerinde çok az miktarda yıkım yarattığı tespit edilmiştir. 48 ve 72 saatlik ile 1 haftalık sürelerde meydana gelen demineralizasyonda belirgin bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle dişler 48 saat boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş ve mine örneklerinde EDS, SEM ve Raman analizleri yapılmıştır.

Tablo 1. Demineralizasyon solüsyonu (ten Cate ve Arends, 1978, Viera ve ark, 2005)

Demineralizasyon Solüsyonu
2,0 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
2,0 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
75 mmol/L asetat tampon
pH 4,7

5.5.Demineralizasyon Sonrası Raman Spektroskopi, FIB/SEM Analizleri ve EDS Ölçümleri

Mine örnekleri demineralizasyon solüsyonundan çıkarılıp de-iyonize su ile yıkanarak kurutulduktan sonra (Queroz ve ark, 2008, Viera ve ark, 2005) Raman Spektroskopi, EDS, ölçümleri ve FIB/SEM analizleri yürütülmüştür.

5.6.Araştırmada Kullanılan Remineralizasyon Ajanları

Araştırmamızda başlangıç mine lezyonlarının remineralizasyonu amacıyla 3 farklı ajan GC MI Paste Plus (Resim 27), GC Tooth Mousse (Resim 28) ve Clinpro Tooth Creme (Resim 29) kullanılmıştır. Kontrol amaçlı yapay tükürük kullanılmıştır. Tablo 2’de araştırmada kullanılan remineralizasyon ajanları ve içerikleri gösterilmiştir.

1) Deney grubu 1 (D1) → MI Paste Plus (GC MI Paste Plus)



Resim 27. MI Paste Plus (GC, Tokyo, Japonya)

2) Deneý grubu 2 (D2) → Tooth Mousse (GC Tooth Mousse)



Resim 28. Tooth Mousse (GC, Tokyo, Japonya)

3) Deneý grubu 3 (D3) → Clinpro Tooth Creme (3M Espe)



Resim 29. Clinpro Tooth Creme (3M Espe, ABD)

Tablo 2. Çalışmada kullanılan remineralizasyon materyalleri ve yapay tükürüğün kimyasal içeriği

Ürün adı	Üretici Firma	Kimyasal İçerik
MI Paste Plus	GC Corporation,Tokyo, Japonya	Su, Gliserol, CPP-ACP, Kalsiyum fosfat, D-sorbitol, Karboksimetilselüloz propilen glikol, Silikon ve titanyum dioksit, Ksilitol,Fosforik asit, Tatlandırıcı, Sodyum sakarin, etilpropilbütül hidroksibenzoat, 900 ppm flor
Tooth Mousse	GC Corporation,Tokyo, Japonya	%10 Kazein fosfopeptit-amorf kalsiyum fosfat, su, gliserol, sorbitol, silikondioksit, CMC-Na, titanyumdioksit, ksilitol, fosforik asit, propil hidroksibenzoat, fosforikasit, çinkooksit, sodyum sakarin, etil hidroksibenzoat, magnezyum oksit, bütül hidroksi benzoat
Clinpro Tooth Creme	3M ESPE,ABD	Su, sorbitol, gliserin, hidrate silika, polietilen-polipropilen glikol, tatlandırıcı, polietilen glikol, sodyum, titanyum dioksit, karboksimetil selüloz, sodyum sakarin, 950 ppm sodyum florid, trikalsiyum fosfat
Yapay Tükürük (Poggio ve ark, 2013)		14,4 mM NaCl, 16,1 mM KCl, 0,3 mM Cl ₂ .6H ₂ O, 2,9 mM K ₂ HPO ₄ , 1,0 mM CaCl ₂ .2H ₂ O, 0,10 g/100 ml Sodyum karboksimetilselüloz, pH 4,7

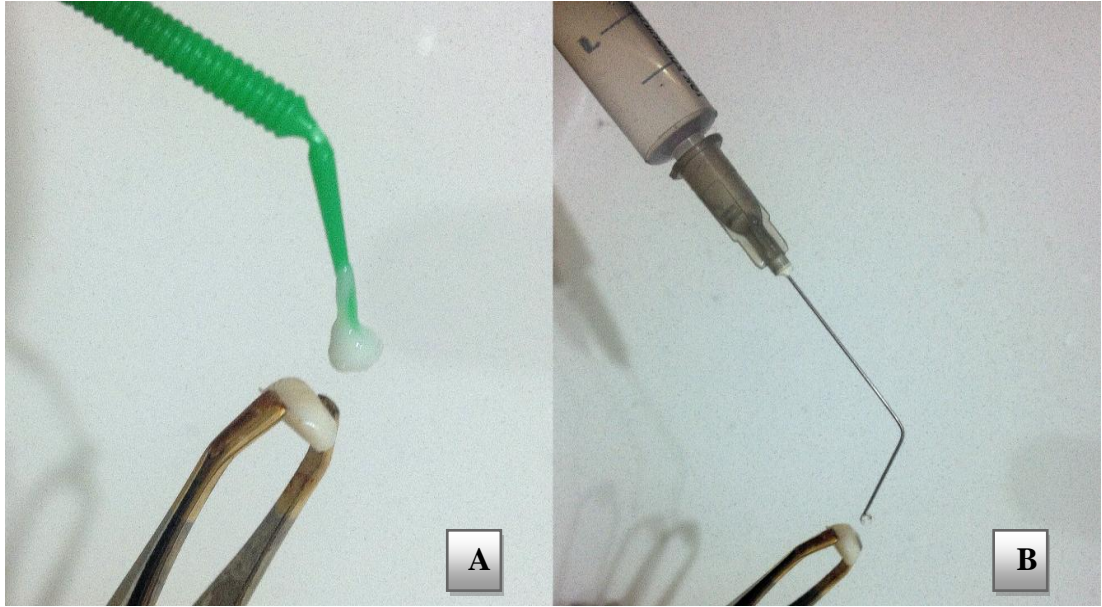
5.7.Mine Örneklerine Ağız Ortamını Taklit Eden pH Döngüsünün Uygulanması

Ağız ortamındaki gün boyu değişen pH değişikliklerini taklit etmek amacıyla Viera ve ark. ve ten Cate ve Arends tarafından önerilen 1 haftalık pH döngüsü kullanılmıştır (Viera ve ark, 2005; ten Cate ve Arends, 1978). pH döngüsünde kullanılacak olan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonları Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Laboratuvarında hazırlanmıştır. Hazırlanan demineralizasyon ve remineralizasyon solüsyonlarının kimyasal yapısı aşağıda belirtilmiştir;

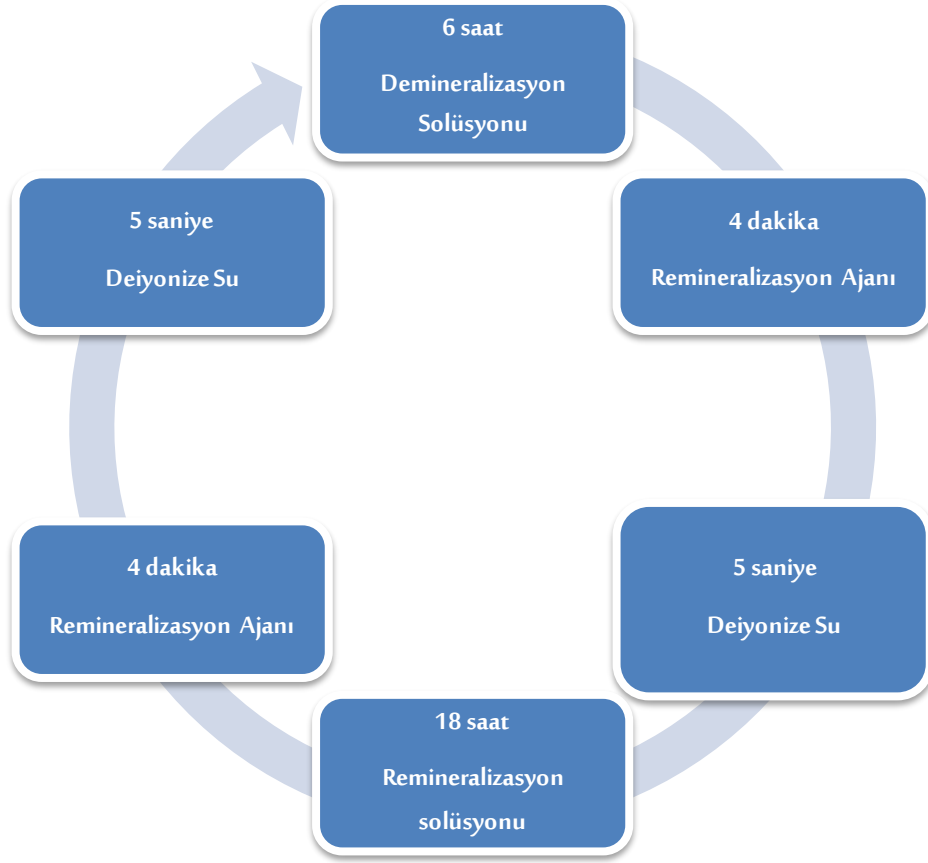
Tablo 3. Remineralizasyon solüsyonu (ten Cate ve Arends, 1978, Viera ve ark, 2005)

Remineralizasyon Solüsyonu;
1,5 mmol/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
0,9 mmol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
150 mmol/L KCl
0,02 mol/L Tris tamponu
0,05 ppm F
pH 7,0

İlk beş gün örnekler 37 °C’de karıştırmadan demineralizasyon solüsyonunda 6 saat (30 ml her örnek grup için) ve remineralizasyon solüsyonunda 18 saat (30 ml her örnek grubu için) bekletilmiştir. Son iki gün örnekler sadece remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Remineralizasyon ajanları günde iki defa, demineralizasyon öncesi ve sonrasında küçük bir fırça yardımıyla 4 dakika uygulanmıştır (Resim 30A). Fazla remineralizasyon ajanı uzaklaştırılarak, örnekler 5 saniye deiyonize su ile yıkanarak (Resim 30B) demineralizasyon ya da remineralizasyon solüsyonunda koyulmuştur. Bu işlem her grup için günde iki kez tekrarlanmıştır (Şekil 3).



Resim 30. Fırça yardımı ile remineralizasyon ajanının mine yüzeyine sürülmesi (A), fazla remineralizasyon ajanı uzaklaştırmak için deiyonize su ile mine yüzeyinin yıkanması (B)



Şekil 3. pH döngüsü

5.8. Remineralizasyon Sonrası Raman Spektroskopi Ölçümleri, EDS ve FIB/SEM Analizleri

Remineralizasyon ajanlarının ve yapay tükürüğün uygulanması sonrasında mine örneklerinin Raman spektroskopi ölçümleri, EDS ve FIB/SEM analizleri yapıldı.

5.11. İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmamızdan elde edilen verilerin istatistiksel analizi Statistical Package for the Social Sciences yazılımı (SPSS 17 for Windows, SPSS Inc., Şikago ABD) kullanılarak yapıldı.

Çalışma gruplarına ait EDS ile elde edilen % Ca/P molar ilişkisi ve Raman spektroskopi ile elde edilen verilerin yoğunlukları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Deney grupları arasındaki farklılık, Tek Yönlü Anova Testi ile belirlendi. Farklılığın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığının istatistiksel olarak anlamlılığının tespit edilmesi için Tukey HSD Çoklu Karşılaştırma Testi uygulandı. Remineralizasyon ajanlarının uygulanması sonrasında başlangıç ve demineralizasyona durumlarına göre etkileri ise Student-Newman-Keuls testi ile incelendi. Sonuçlar, $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde ve %95'lik güven aralığında değerlendirildi.

6. BULGULAR

Araştırmamızda yapay olarak oluşturulan başlangıç mine lezyonu üzerine ağız ortamını taklit eden bir pH döngüsü ile uygulanan CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanlarının değerlendirilmesi amacıyla nanoteknolojik inceleme yöntemlerinden olan Raman Spektroskopisi, EDS, FIB/SEM analizleri yapıldı. Bu amaçla 20 daimi molar dişten 40 adet mine örneği hazırlandı. Bu örneklerden başlangıçta hiçbir uygulama yapılmadan, demineralizasyon solüsyonunda 48 saat bekletilmesinin ardından ve 7 günlük pH siklusu ile CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanlarının uygulamaları sonrasında olmak üzere ölçümleri yapılarak değerlendirilmiştir.

6.1.RAMAN Spektroskopisi Bulgular

6.1.1.Raman spektroskopisi analizlerinin değerlendirilmesi

RAMAN Spektroskopisi bir numunenin yakın-IR monokromatik ışıktan oluşan güçlü bir lazer kaynağıyla ışınlanmasıyla saçılan ışının belirli bir açıdan ölçümüne dayanır. Moleküllerin şiddetli bir monokromatik ışın demeti ile etkileşmesi sırasında ışık absorpsiyonu olayı gerçekleşmiyorsa ışık saçılması olayı meydana gelir. Işık saçılması sırasında saçılan ışığın büyük bir kısmının enerjisi madde ile etkileşen ışığın enerjisine eşit olur ve bu tür elastik saçılma olayına Rayleigh saçılması denir. Ancak Rayleigh saçılması tek bir pik verir ve titreşim geçişleri hakkında bilgi vermez. Bu yöntemde molekül ile etkileşen ışığın dalga boyuna göre saçılan ışığın dalga boyunda oluşan farklar ölçülür. Bu farklar Raman kayması olarak adlandırılır. (Gilchrist ve ark, 2007).

Işık herhangi bir formda saçılınca foton enerjileri değişmeden kalır. Saçılan moleküllerin titreşimsel enerjisine göre ortalama bir milyonda bir foton enerji kazanır ya da kaybeder. Bu değişimler saçılım gösteren ışık spektrumunda ek pikler olarak görülür ve Raman saçılımı ya da elastik olmayan saçılım olarak adlandırılır.

Bu ek pikler karakteristik parmak izi üretir ve incelenen örneğin içerisindeki moleküllere özeldir. Bu piklerin yoğunluğu hidroksiapatit molekülünün içerisindeki belirli grupların konsantrasyonu hakkında bilgi verir. Örneğin, hidroksiapatit mine de dentine göre daha yoğundur ve bu Raman spektrumunda görülebilir (Alex ve ark, 2006).

Araştırmamızda mine örneklerinin Başlangıç, Demineralizasyon ve Remineralizasyon sonrası yapılan ölçümlerinden elde edilen 960 cm^{-1} piki yoğunluk değerlendirmeleri istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,001$). MI Paste Plus, Tooth mousse, Clinpro Tooth Creme ve Yapay tükürük grupları ile Remineralizasyon sonrası ölçümlerde 960 cm^{-1} pikinin yoğunluk değerlendirmeleri istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,001$). MI Paste Plus, Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme ajanlarının Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve Remineralizasyon sonrası 960 cm^{-1} pikinin yoğunluk değerlendirmeleri istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p<0,001$) (Tablo 4).

Tablo 4. MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme, Yapay Tükürük gruplarının ve Başlangıç, Demineralizasyon sonrası, Remineralizasyon sonrası ölçümlerinin karşılaştırılması

	Hata Kareler Toplamı	SD	Kareler Ortalaması	F	p
Grup	1,53	3	5,11	10,98	,001
Başlangıç, Demineralizasyon,Remineralizasyon	8,04	2	4,02	86,42	,001
Grup*Başlangıç, Demineralizasyon,Remineralizasyon	3,11	6	5,18	11,14	,001
a.R²=,716 (Düzeltilmiş R²=,687)					

Grupların 2'li karşılaştırılması incelendiğinde; Yapay Tükürük ile MI Paste Plus ve Clinpro Tooth Creme grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir. ($p < 0,001$). Bunun dışında Clinpro Tooth Creme grubu ile MI Paste Plus grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0,001$). Diğer ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur ($p < 0,001$) (Tablo 5).

Tablo 5. Grupların ikili karşılaştırmaları

(I) Grup	(J) Grup	Ortalama Farkı (I-J)	Standart Hata	p	%95 Güven Aralığı	
					Alt Limit	Üst Limit
MI Paste Plus	Tooth Mousse	3853,01	1761,33	,133	-743,17	8449,20
	Clinpro Tooth Creme	6600,51	1761,33	,002	2004,32	11196,70
	Yapay Tükürük	-2747,65	1761,33	,406	-7343,84	1848,52
Tooth Mousse	MI Paste Plus	-3853,01	1761,33	,133	-8449,20	743,17
	Clinpro Tooth Creme	2747,50	1761,33	,406	-1848,68	7343,68
	Yapay Tükürük	-6600,67	1761,33	,002	-11196,85	-2004,48
Clinpro Tooth Creme	MI Paste Plus	-6600,51	1761,33	,002	-11196,70	-2004,32
	Tooth Mousse	-2747,50	1761,33	,406	-7343,68	1848,68
	Yapay Tükürük	-9348,17	1761,33	,000	-13944,35	-4751,98
Yapay Tükürük	MI Paste Plus	2747,65	1761,33	,406	-1848,52	7343,84
	Tooth Mousse	6600,67	1761,33	,002	2004,48	11196,85
	Clinpro Tooth Creme	9348,17	1761,33	,000	4751,98	13944,35

Başlangıç, Demineralizasyon ve Remineralizasyonun 2'li karşılaştırmasında; Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve Remineralizasyon sonrası ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Tüm 2'li karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). (Tablo 6).

Tablo 6. Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve Remineralizasyon sonrası için ikili karşılaştırma test sonuçları

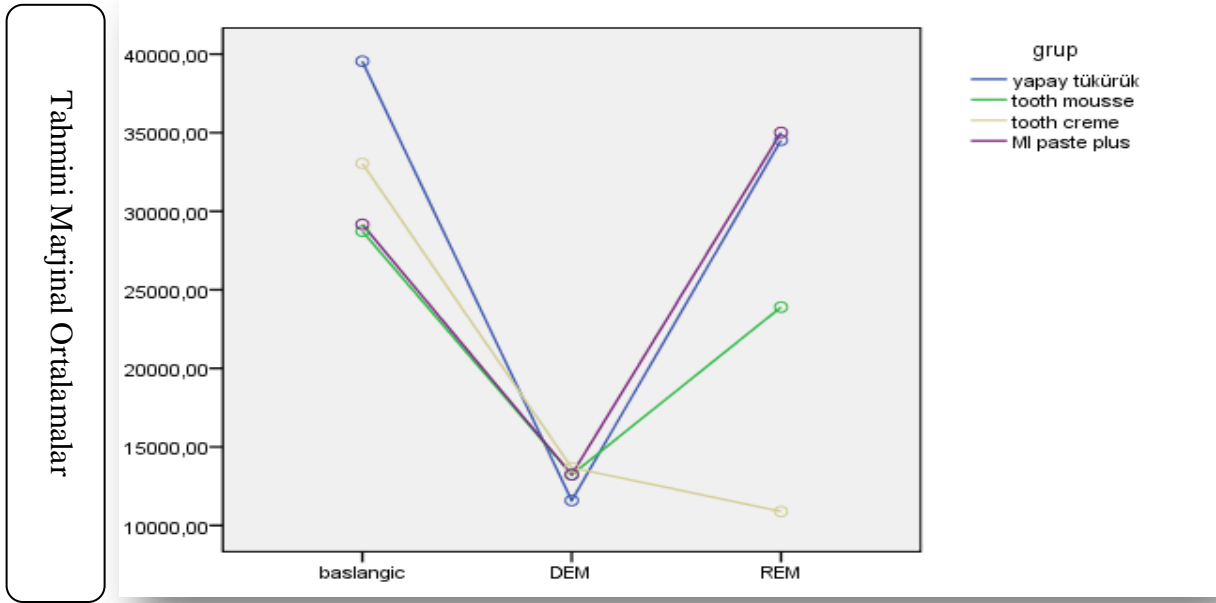
(I)	(J)	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Sig.	%95 Güven Aralığı	
					Alt Limit	Üst Limit
Başlangıç	DEM	19688,09	1525,36	,000	16063,13	23313,06
	REM	6540,89	1525,36	,000	2915,92	10165,85
DEM	Başlangıç	-19688,09	1525,36	,000	-23313,06	-16063,13
	REM	-13147,20	1525,36	,000	-16772,16	-9522,23
REM	Başlangıç	-6540,89	1525,36	,000	-10165,85	-2915,92
	DEM	13147,20	1525,36	,000	9522,23	16772,16

Şekil 4 farklı grupların 960 cm^{-1} pikinin yoğunluk değerlerinin başlangıçtan remineralizasyona değişimini göstermektedir. Dikey eksen 960 cm^{-1} hidroksiapatit pikinin yoğunluk değerini; yatay eksen “Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve Remineralizasyon sonrası”ni göstermektedir.

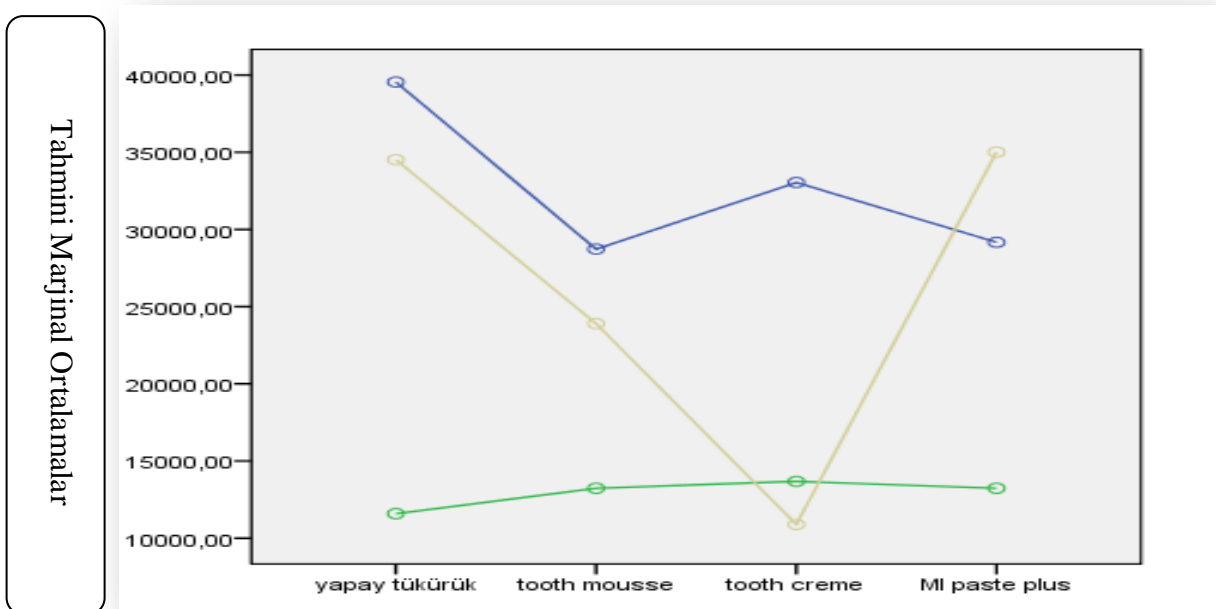
Demineralizasyon sonrasında bütün gruplarda değerlerin ortak olduğu görülmektedir.

MI Paste Plus ve Yapay Tükürük gruplarının remineralizasyon sonrasında benzer değerlere ulaştığı ve başlangıç değerlerine yaklaştığı fakat Clinpro Tooth Creme grubunun demineralizasyon sonrasında başlangıç değerinden daha düşük seviyelere ulaştığı görülmektedir. (Şekil 4)

Şekil 5’te Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve Remineralizasyon sonrası eğrilerin birbirlerini kesmeleri etkileşimin anlamlı olduğunu göstermektedir. Eğrilerin birbirlerini kesmeleri etkileşimin anlamlı olduğunu göstermektedir. Bunun dışında 4 grubun başlangıç değerlerine baktığımızda gruplara göre farklılık gösterdiği, benzer durumun Demineralizasyon sonrası zamanı için de olduğunu görülmektedir. Demineralizasyon sonrası zamanı için elde edilen değerlerin 4 grupta da birbirine yakın olduğunu görülmektedir ancak gruplar arasında farklılık olup olmadığını net olarak söylemek doğru olmayacaktır. Gruplar içinde MI Paste Plus grubunun başlangıç değerlerine göre en iyi sonucu gösterdiği aynı şekilde Clinpro Tooth Creme grubunda en düşük değerler görülmektedir (Şekil 5)



Şekil 4.Başlangıç, Demineralizasyon ve Remineralizasyona göre yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 5.Gruplara göre yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması

6.2.EDS Analizlerinin Değerlendirilmesi

6.2.1.Mine örneklerinin başlangıç EDS analizi

EDS; Herhangi bir örnek veya örnek üzerindeki ilgili küçük bir alanda elementel kompozisyonu tanımlamak için kullanılan bir tekniktir. Elektron mikroskopunda bulunan EDS analizi, örnek üzerine taramalı bir elektron demeti düşürülerek gerçekleştirilir. Bu elektronların bazıları numune içindeki elektronlar ile çarpışarak elektronların yörüngelerinden çıkması sağlanır. Boşalan pozisyonlar x-ışınları yayan yüksek enerjili elektron tarafından doldurulur. Yayılan x-ışınları analiz edilerek, numunenin elementel kompozisyonu tespit edilebilmektedir (<http://faik.com.tr/cihaz> Erişim tarihi: 3 Ocak 2015, Cristina ve ark, 2011)

Araştırmamızda, EDS analizi için hazırlanan tüm mine örneklerinin başlangıç ölçümlerinde sağlam mine yüzeylerine sahip oldukları tespit edilmiştir.

Araştırmamızın başlangıç EDS analizi sonucu mine örneklerinden elde edilen Ca/P oranları 1,60 ve daha yüksek değerlerde bulunmuş ve sağlam mine yüzeyi olarak değerlendirilmiştir. (Yoshimura ve Suda (1994), Legeros (1994)) Başlangıç EDS analizleri sonrasında mine yüzeylerinden elde edilen Ca/P molar oranları Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Mine örneklerinin başlangıçtaki Ca/P molar oranları

	MI Paste Plus	Tooth Mousse	Clinpro Tooth Creme	Yapay Tükürük
Örnek sayısı	Ca/P mol	Ca/P mol	Ca/P mol	Ca/P mol
1	1,64	1,69	1,60	1,69
2	1,60	1,66	1,66	1,66
3	1,68	1,64	1,62	1,64
4	1,62	1,60	1,66	1,60
5	1,61	1,66	1,66	1,66
6	1,68	1,60	1,62	1,60
7	1,61	1,60	1,62	1,60
8	1,66	1,66	1,62	1,66
9	1,60	1,69	1,62	1,69
10	1,66	1,62	1,62	1,62

6.2.2.Mine örneklerinde demineralizasyon sonrası EDS analizi

Araştırmamızda demineralizasyon sonrasında mine yüzeylerinde oluşturulan yapay çürük ile hidroksiapatit tabakasında meydana gelen bozulmaya bağlı olarak EDS analizlerinde Ca/P oranlarında sağlam mine değerlerine göre düşüş tespit edilmiştir. Demineralizasyon sonrasında EDS analizleri ile mine yüzeylerinden elde edilen Ca/P molar oranları Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. Mine örneklerinde demineralizasyon sonrası Ca/P molar oranları

	MI Paste Plus	Tooth Mousse	Clinpro Tooth Creme	Yapay Tükürük
Örnek sayısı	Ca/P mol	Ca/P mol	Ca/P mol	Ca/P mol
1	1,52	1,52	1,50	1,52
2	1,50	1,47	1,50	1,47
3	1,50	1,43	1,47	1,43
4	1,52	1,52	1,50	1,52
5	1,52	1,52	1,55	1,52
6	1,52	1,52	1,55	1,52
7	1,52	1,52	1,47	1,52
8	1,50	1,52	1,55	1,52
9	1,44	1,52	1,50	1,52
10	1,50	1,52	1,50	1,52

6.2.3. Mine örneklerinin pH döngüsü ile remineralizasyonu sonrası EDS analizi

Mine yüzeylerine pH döngüsü ile MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme uygulamaları sonrası EDS analizleri ile elde edilen Ca/P molar oranları Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Mine örneklerinin pH döngüsü ile remineralizasyonu sonrası Ca/P molar oranları

	MI Paste Plus	Tooth Mousse	Clinpro Tooth Creme	Yapay Tükürük
Örnek sayısı	Ca/P mol	Ca/P mol	Ca/P mol	Ca/P mol
1	1,71	1,69	1,60	1,66
2	1,66	1,71	1,70	1,68
3	1,75	1,64	1,62	1,66
4	1,70	1,93	1,70	1,66
5	1,70	2,00	1,75	1,80
6	1,75	2,13	1,62	1,61
7	1,83	2,77	1,62	1,80
8	1,70	2,70	1,62	1,89
9	1,66	2,16	1,62	1,61
10	2,10	2,15	1,75	1,61

Mine örneklerinin Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve MI Paste Plus, Tooth Mousse Clinpro Tooth Creme uygulamaları sonrası yapılan EDS analizlerinden elde edilen Ca/P molar oranlarının Ortalamaları Standart sapma ve p değerleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Mine örneklerinin Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve MI Paste Plus, Tooth Mousse Clinpro Tooth Creme uygulamaları sonrası Ca/P molar oranlarının (ort ±SD) ve p değerleri

		Ortalama ± SS	%95 Güven aralığı	F	p
MI Paste Plus	Başlangıç	1,64 ± 0,03	1,60 – 1,68	28,74	<0,001*
	Demine ralizasyon sonrası	1,50 ± 0,02	1,44 – 1,52		
	Remine ralizasyon sonrası	1,76 ± 0,13	1,66 – 2,10		
Tooth Mousse	Başlangıç	1,64 ± 0,04	1,60 – 1,69	18,08	<0,001*
	Demine ralizasyon sonrası	1,51 ± 0,03	1,43 – 1,52		
	Remine ralizasyon sonrası	2,09 ± 0,39	1,64 – 2,77		
Clinpro Tooth Creme	Başlangıç	1,63± 0,02	1,60 – 1,66	54,45	<0,001*
	Demine ralizasyon sonrası	1,51± 0,03	1,47 – 1,55		
	Remine ralizasyon sonrası	1,66 ± 0,06	1,60 – 1,75		
Yapay Tükürük	Başlangıç	1,69 ± 0,01	1,69 – 1,69	17,90	<0,001*
	Demine ralizasyon sonrası	1,51 ± 0,03	1,43 – 1,52		
	Remine ralizasyon sonrası	2,09 ± 0,39	1,64 – 2,77		

Mine örneklerinde; başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulaması sonrası EDS analiz sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bu farklılığın hangileri arasında olduğu Student-Newman-Keuls testi ile incelendiğinde başlangıç ve demineralizasyon sonrası değerleri ile MI Paste Plus uygulaması sonrası istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p < 0,001$).

Mine örneklerinde başlangıç demineralizasyon sonrası ve pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulaması sonrası EDS analiz sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bu farklılığın hangileri arasında olduğu Student-Newman-Keuls testi ile incelendiğinde başlangıç değerleri ile remineralizasyon sonrası değerleri arasında ve demineralizasyon sonrası değerleri ile Tooth Mousse uygulaması sonrası istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p < 0,001$) ve bu demineralizasyon değerleri ile başlangıç ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$). Gruplar arası ölçüm değerleri arasındaki oransal farkın az olması nedeniyle demineralizasyon istatistiksel olarak kanıtlanamamıştır. Grup içi örnek sayılarının artırılması ile istatistiksel olarak anlamlılık daha doğru bir şekilde değerlendirilebilecektir. İstatistiksel olarak anlamsız olarak görünen sonuç yine de kesinlik ifade etmemekte olup, sadece oransal değerlerin sonuçlarının değerlendirilmesinde doğruluğu etkilememektedir.

Mine örneklerinde başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulaması sonrası EDS analiz sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bu farklılığın hangileri arasında olduğu Student-Newman-Keuls testi ile incelendiğinde başlangıç değerleri ile demineralizasyon sonrası değerleri arasında ve demineralizasyon sonrası değerleri ile Clinpro Tooth Creme uygulaması sonrası istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p < 0,001$) ve bu remineralizasyon değerleri ile başlangıç ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$).

Mine örneklerinde başlangıç, demineralizasyon sonrası ve pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulaması sonrası EDS analiz sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bu farklılığın hangileri arasında olduğu Student-Newman-Keuls testi ile incelendiğinde başlangıç EDS değerleri ile remineralizasyon sonrası değerleri arasında anlamlı farklılık olduğu ($p < 0,001$) ve demineralizasyon sonrası değerleri ile Yapay Tükürük uygulaması sonrası istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$).

Ca/P molar oranlarında MI Paste Plus, Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme, uygulamaları sonrasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. ($p < 0,003$). Farklılıkların hangi gruplar arasında olduğu Tukey-Kramer testi ile incelendiğinde MI Paste Plus ile Tooth Mousse grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p = 0,052$). MI Paste Plus ile Yapay Tükürük grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p = 0,143$). MI Paste Plus ile Clinpro Tooth Creme grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p = 0,029$). Tooth Mousse ile Yapay Tükürük grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p = 0,004$). Tooth Mousse ile Clinpro Tooth Creme grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. ($p = 0,002$). Clinpro Tooth Creme ile Yapay Tükürük grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p = 0,061$). (Tablo 11)

Tablo 11. MI paste Plus, Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme ile uygulaması sonrası EDS analizi ile elde edilen Ca/P molar değerlerinin karşılaştırılması

	Ortalama \pm SS	%95 Güven aralığı	F	p
MI Paste Plus	1,76 \pm 0,13	1,66 – 2,10	6,05	<0,003
Tooth Mousse	2,09 \pm 0,39	1,64 – 2,77	6,05	
Clinpro Tooth Creme	1,66 \pm 0,06	1,60 – 1,75	6,05	
Yapay Tükürük	1,69 \pm 0,10	1,64 – 1,76	6,05	

6.3. SEM ve FIB/SEM Analizleri

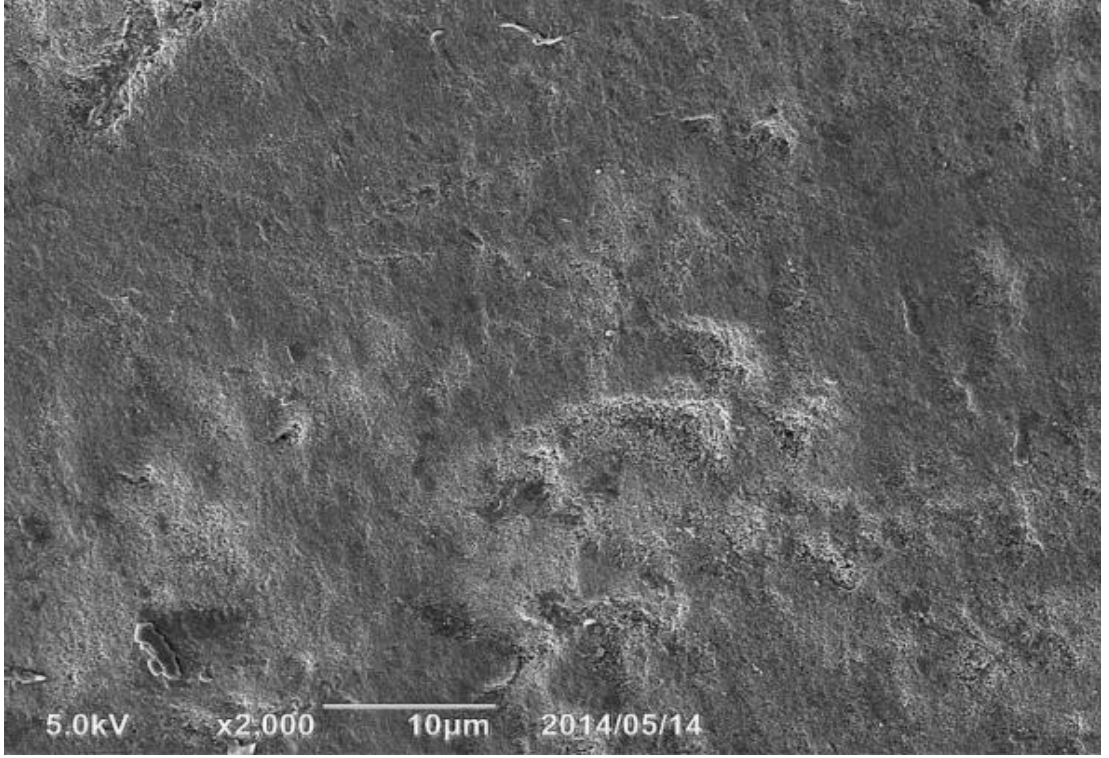
6.3.1. Sağlam mine yüzeylerinin SEM görüntülerinin değerlendirilmesi

SEM dış sert dokularının rezorpsiyonunun in vitro olarak ölçülmesinde kullanılan ilk tekniktir ve günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik ile numune yüzeyine elektron dağıtılır ve alınan sinyal ile yüzey topografyası ve bileşimi hakkında bilgi sağlanır. SEM ile farklı derinliklere sahip numunelerin tamamına odaklanarak yüksek çözünürlüklü 3 boyutlu görüntüler elde edilebilir (Field ve ark, 2010).

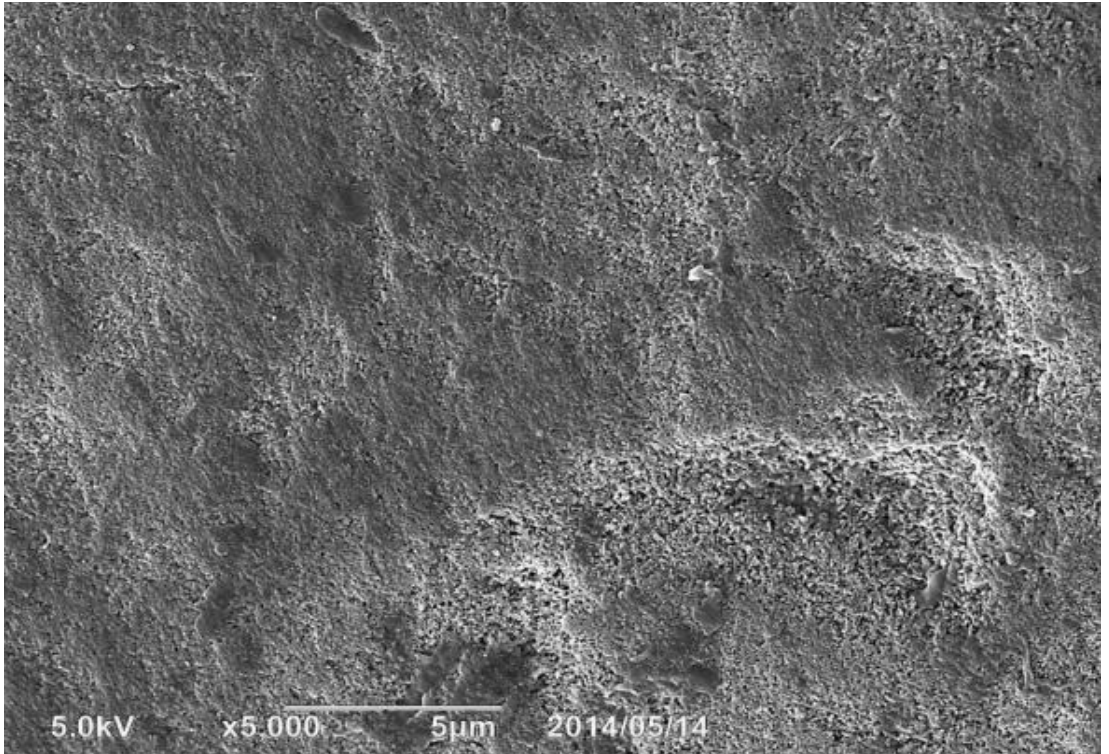
Araştırmamızda SEM’de topografik kontrast bilgisi sağlayan ikincil elektron (SE) görüntülemesi tekniği kullanılmıştır. İkincil elektronlar, elektron tabancısından çıkan birincil elektronların incelenen malzeme ile etkileşimi sonucu yüzeye ait atomlardan kopan elektronlar olup, bu parçacıkların ikincil elektron detektörü ile toplanıp işlenmesi sonucu ikincil elektron görüntüleri oluşmaktadır. İkincil elektronlar düşük enerjiye sahip elektronlardır (<5eV) ve çoğu yüzeyden geldiği için topografik kontrast görüntü alınmasını sağlarlar.

Sağlam mine yüzeyleri 2000x, 5000x, 10 000x, 15 000x, 20 000x ve 30 000x büyütmelerde SEM ile değerlendirilmesi sonucunda;

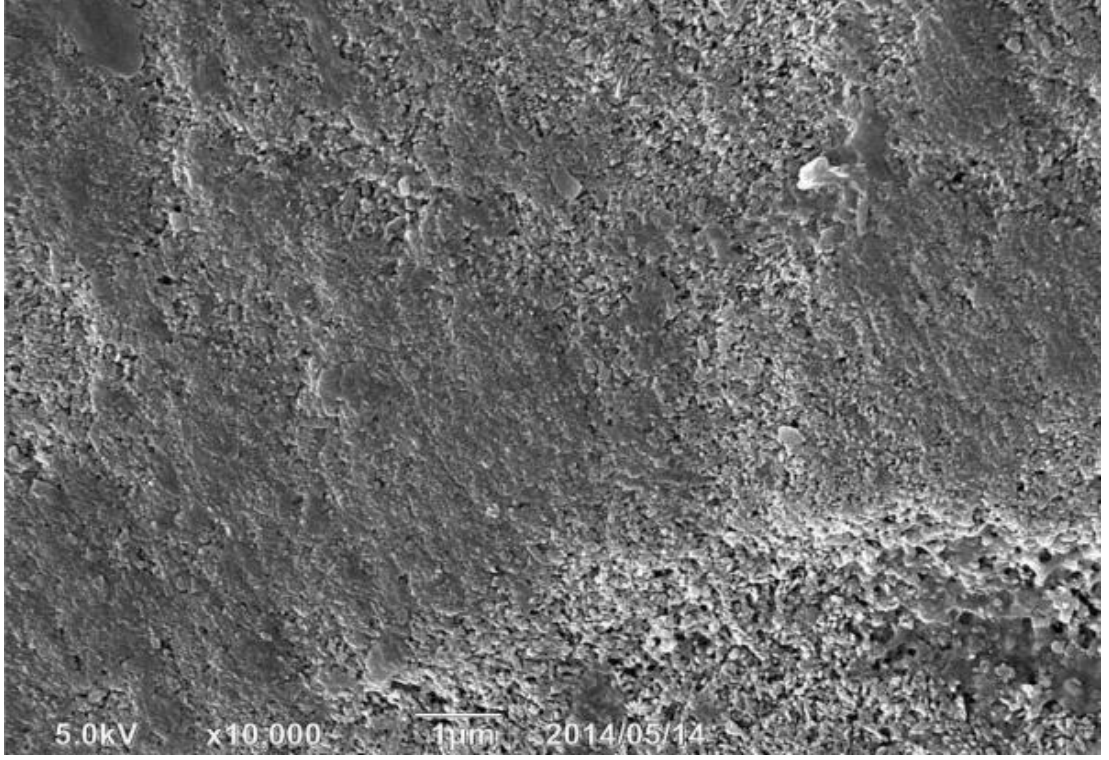
Sağlam mine yüzeyinde sırayla dizilmiş rod yapısı ve yüzeyde mine kristallerinin homojen sıralanışı görülürken çatlak ve/ veya mikro çatlaklar görülmemiştir. İyi ve homojen bir yüzeyden söz edilebilmektedir. Resim 31, 32, 33, 34, 35 ve 36’da sağlam mine yüzeyi görüntüleri bulunmaktadır.



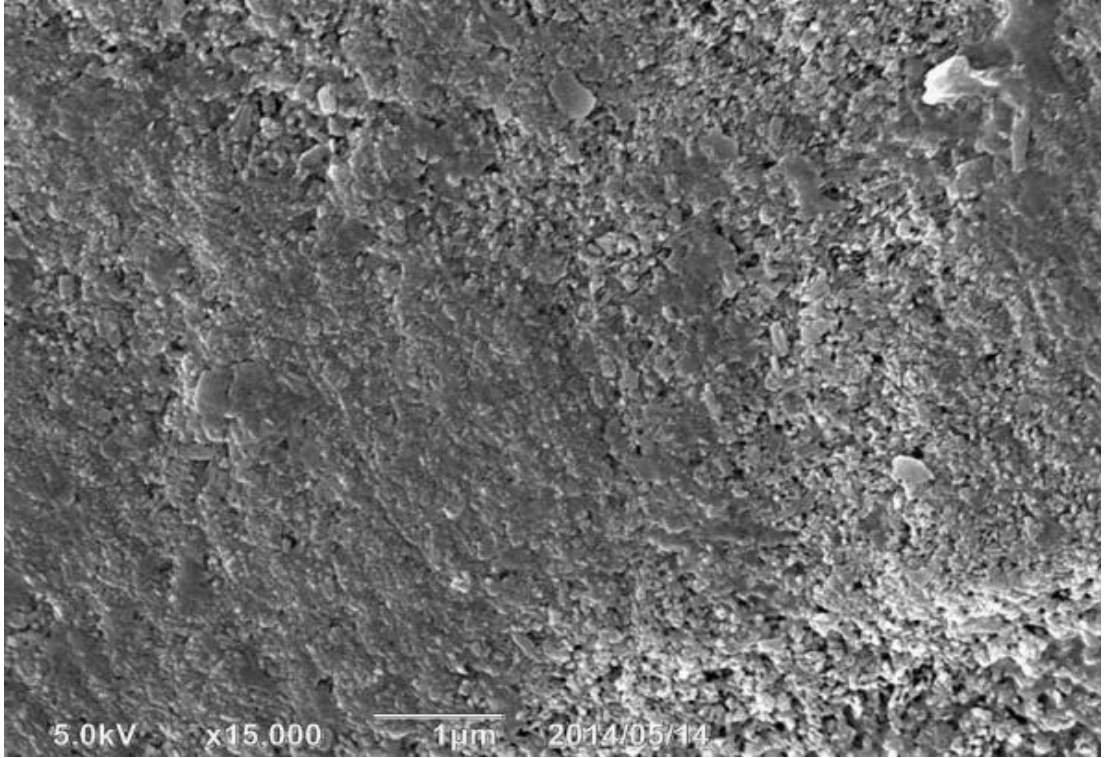
Resim 31. Sağlam mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



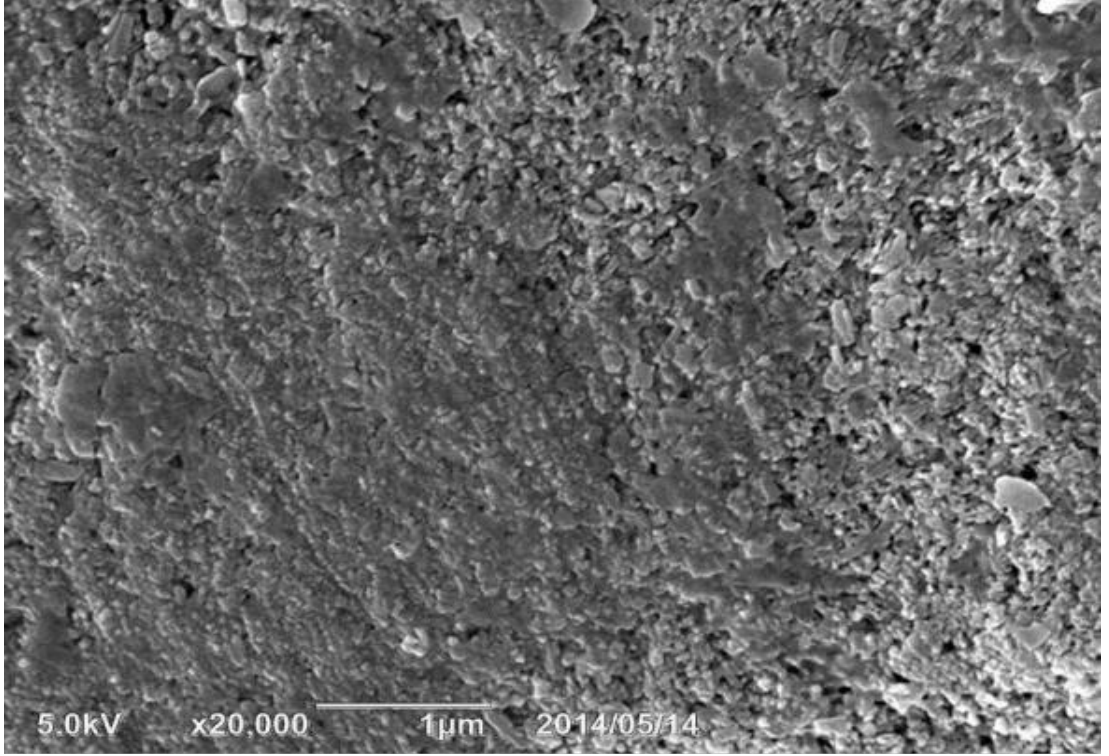
Resim 32. Sağlam mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



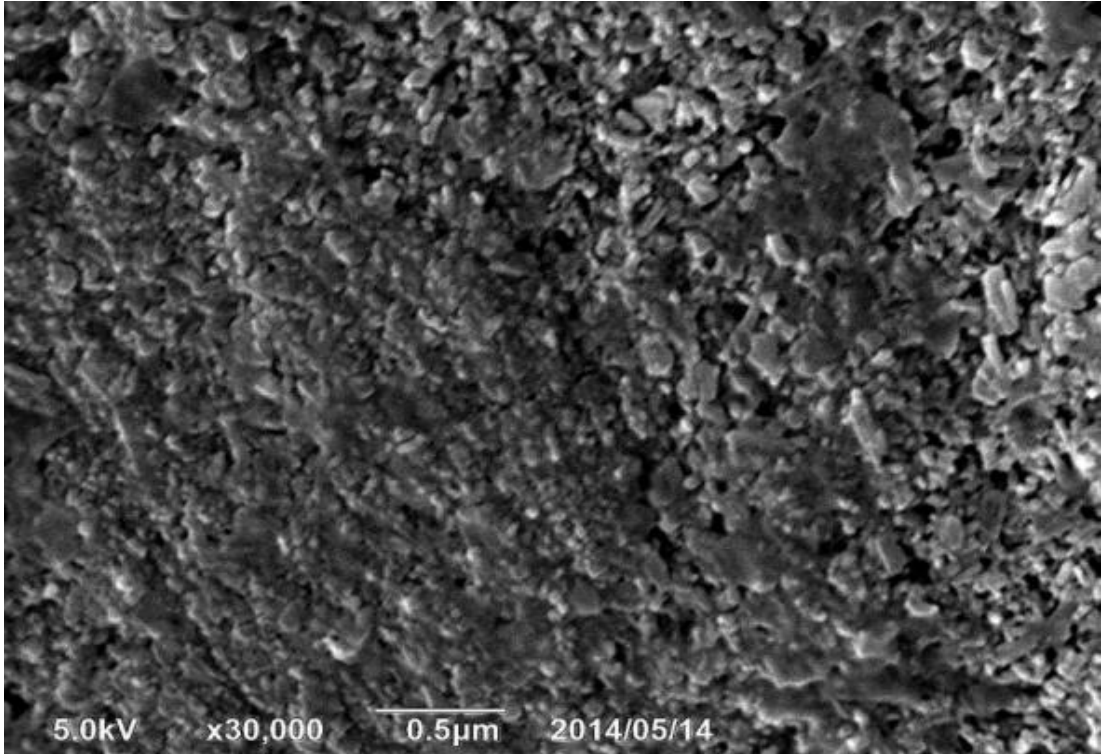
Resim 33. Sağlam mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 34. Sağlam mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



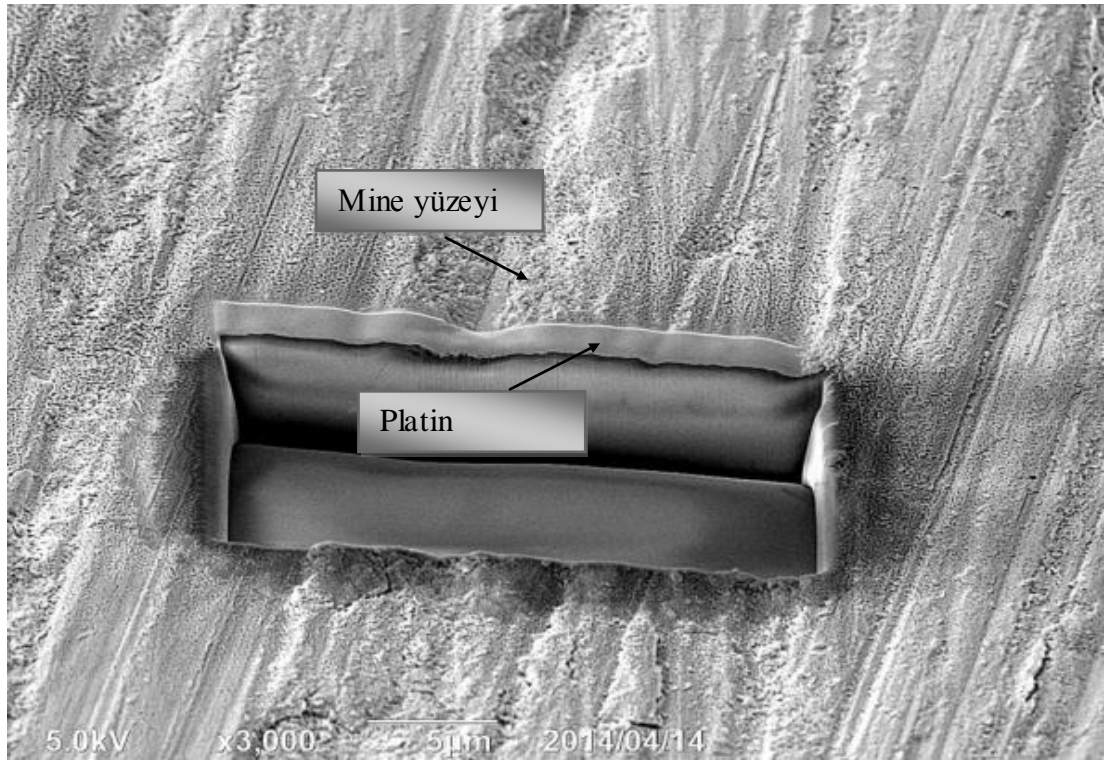
Resim 35. Sağlam mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



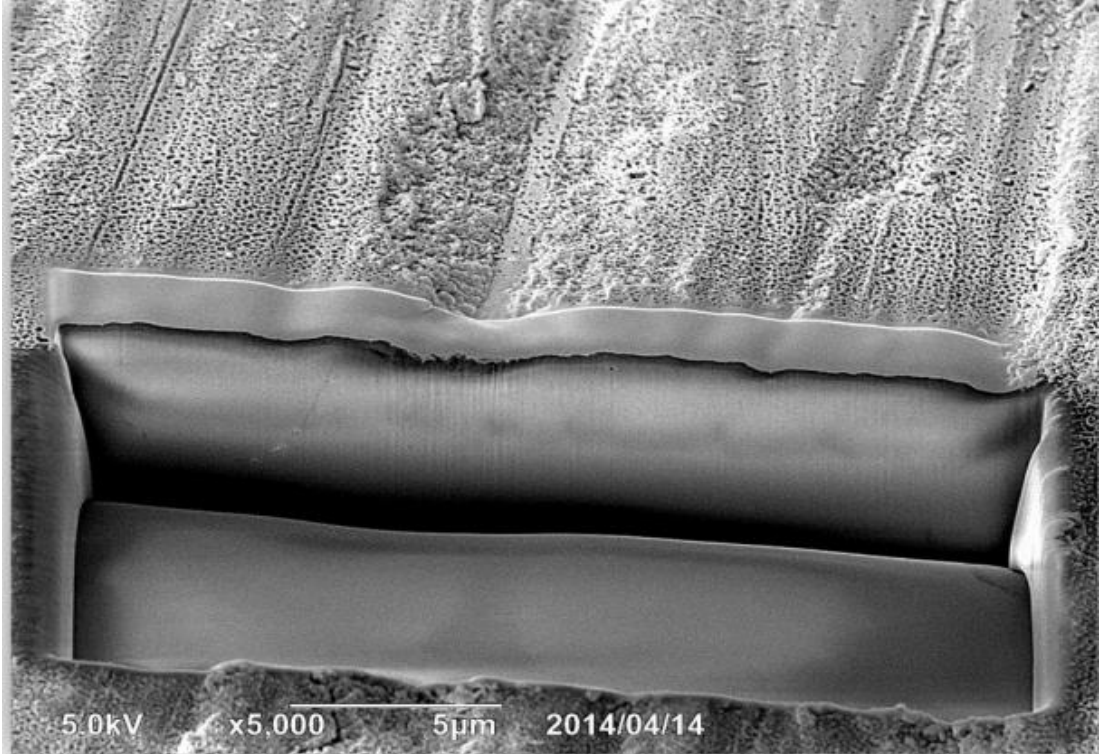
Resim 36. Sağlam mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü

6.3.2. Sağlam mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi

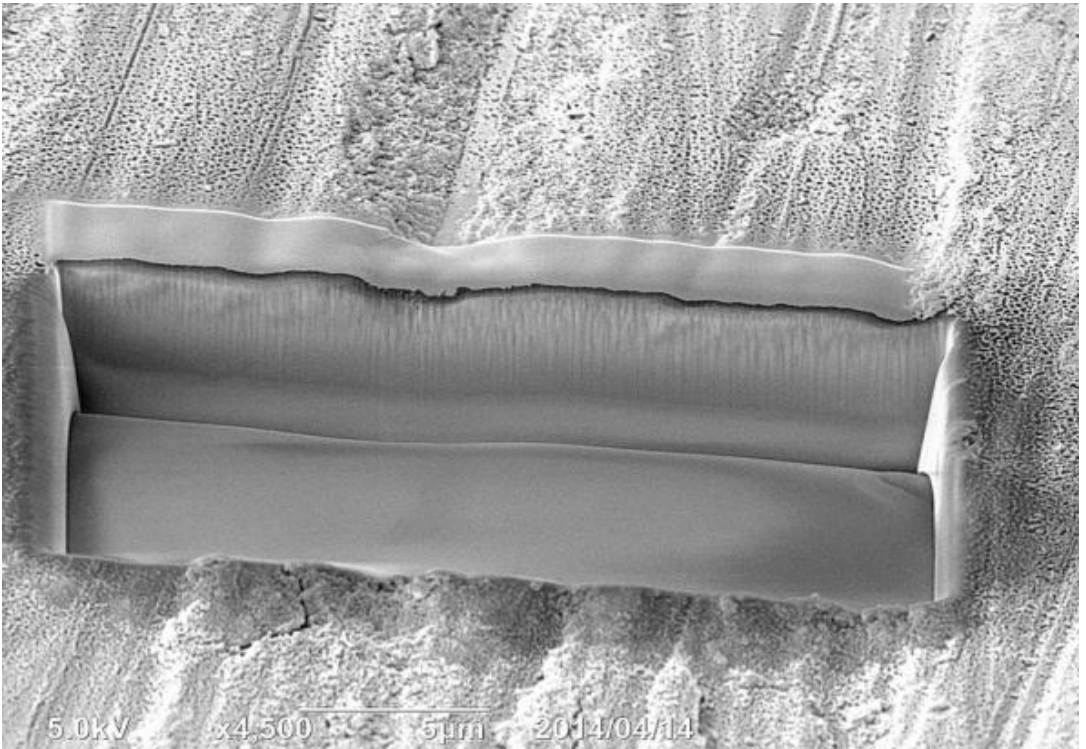
Sağlıklı mine yüzeylerinin FIB ile değerlendirilmesi sonucunda; SEM örneklerindeki yüzey görüntüsüne benzer olarak yüzey altında da 3000x, 4500x, 5000x ve 12 000x büyütmede pürüzsüz düzgün ve sağlam yüzey görülmektedir İyi ve homojen bir yüzeyden söz edilebilmektedir (Resim 37, 38, 39, 40)



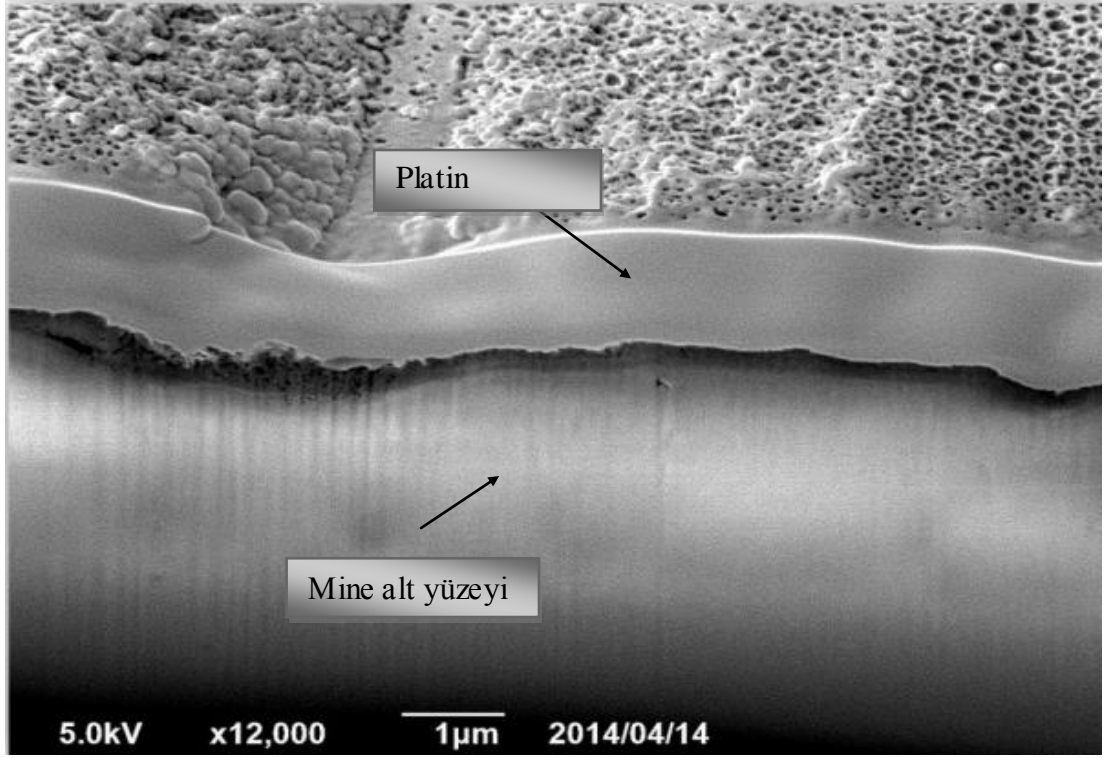
Resim 37. Sağlam mine alt yüzeyinin 3000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 38. Sağlam mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 39. Sağlam mine alt yüzeyinin 4500x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü

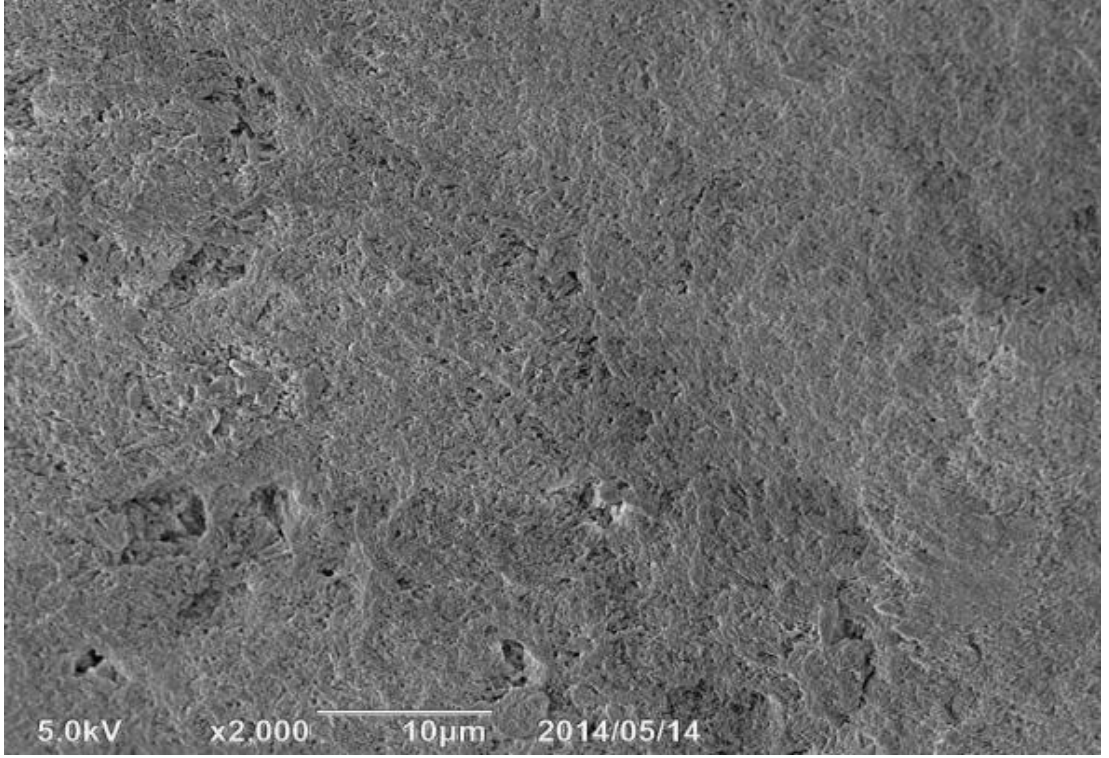


Resim 40. Sağlam mine alt yüzeyinin 12 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü

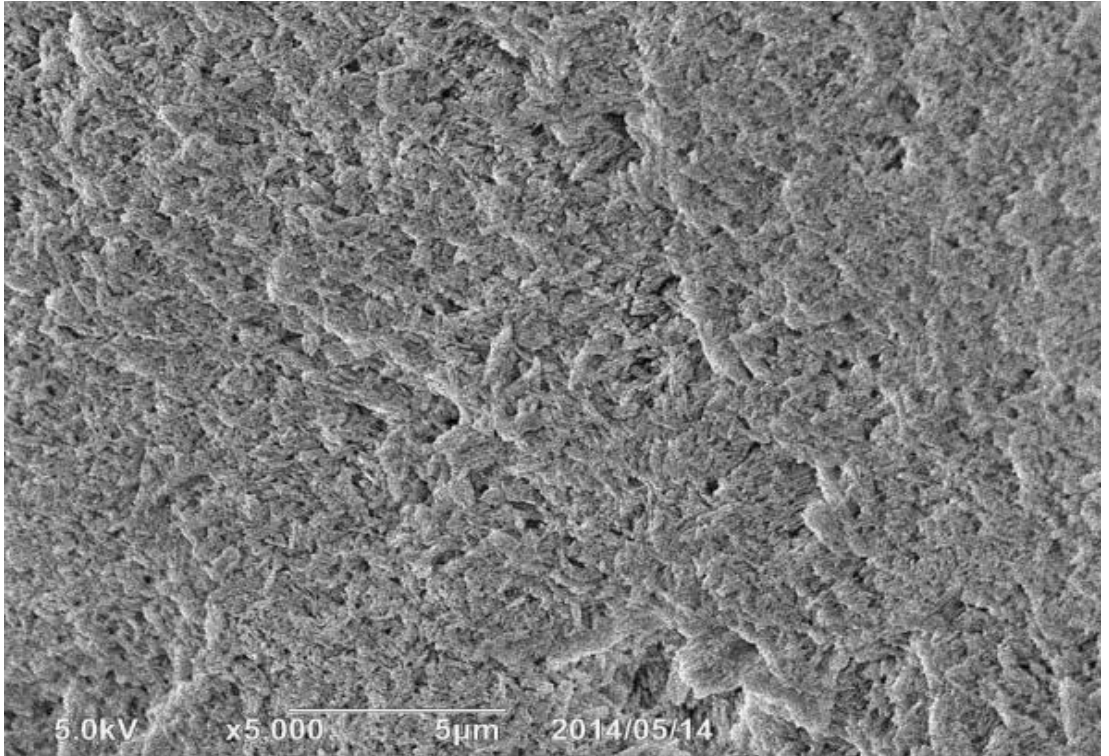
6.3.3. Başlangıç mine lezyonu SEM görüntülerinin değerlendirilmesi

Demineralizasyon solüsyonunda bekletilerek başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine örneklerinin SEM ile değerlendirilmesi sonucunda;

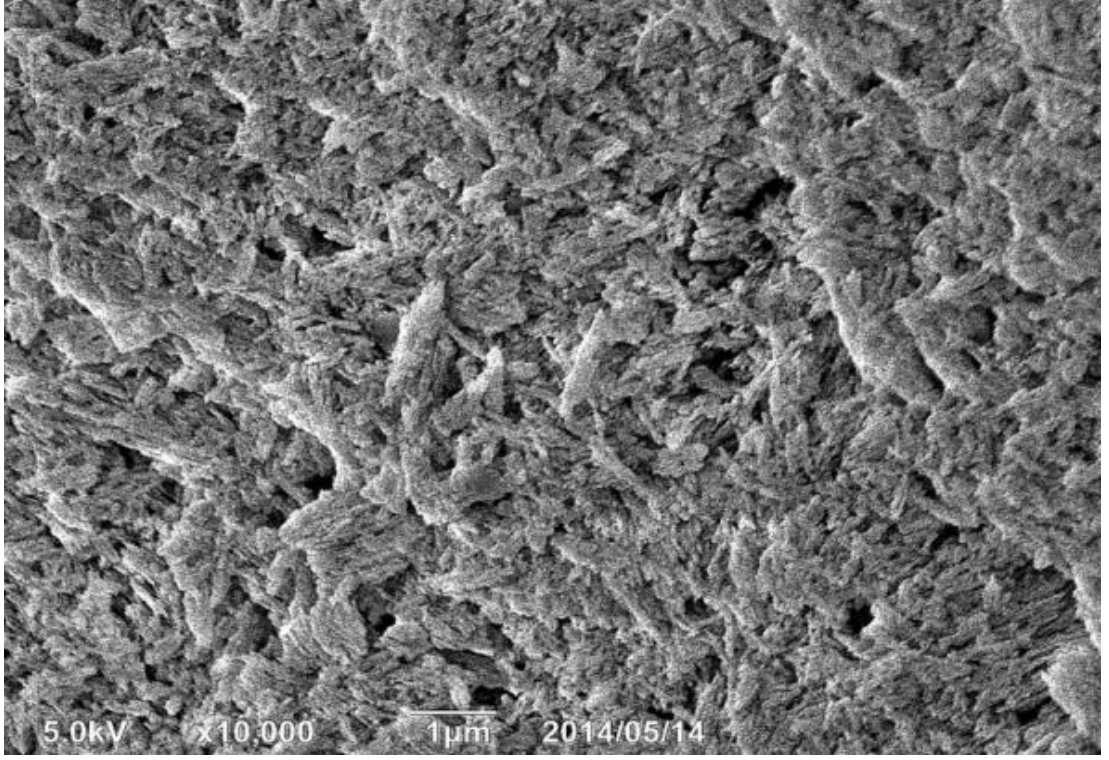
2000x büyütmede mine yüzeyinin düz olduğu görünürken (Resim 41), 5000x ve daha büyük büyütmelerde düz gibi görünen mine yüzeyinin oldukça poröz yapıda olduğu görülmektedir (Resim 42). Daha büyük büyütmelerde prizmalara ait kristallerin çözülmüş görüntüsü belirgin şekilde görülebilmektedir. İyi tanımlanan interprizmatik boşluklar yüzeyin tamamında izlenebilmiştir. İyi ve homojen bir demineralizasyondan söz edilebilmektedir. (Resim 43’de 10 000x, 44’de 15 000x, 45’de 20 000x ve 46’da 30000x büyütmelerle ilgili görüntüler verilmiştir).



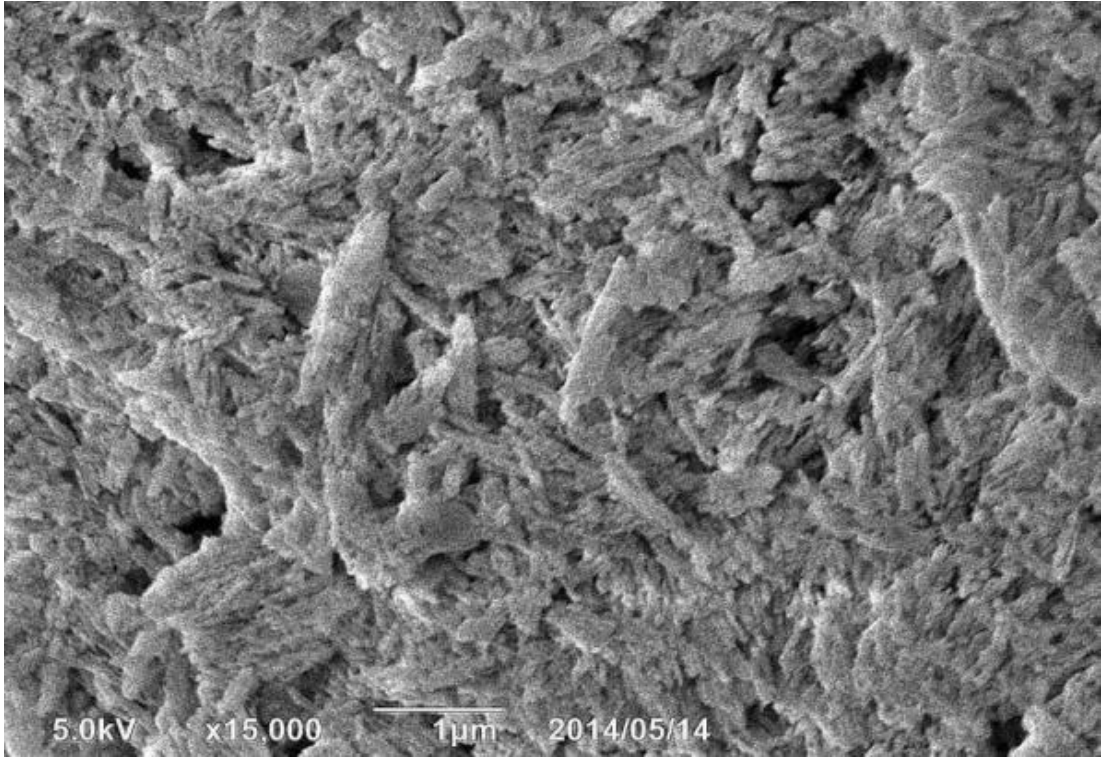
Resim 41. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



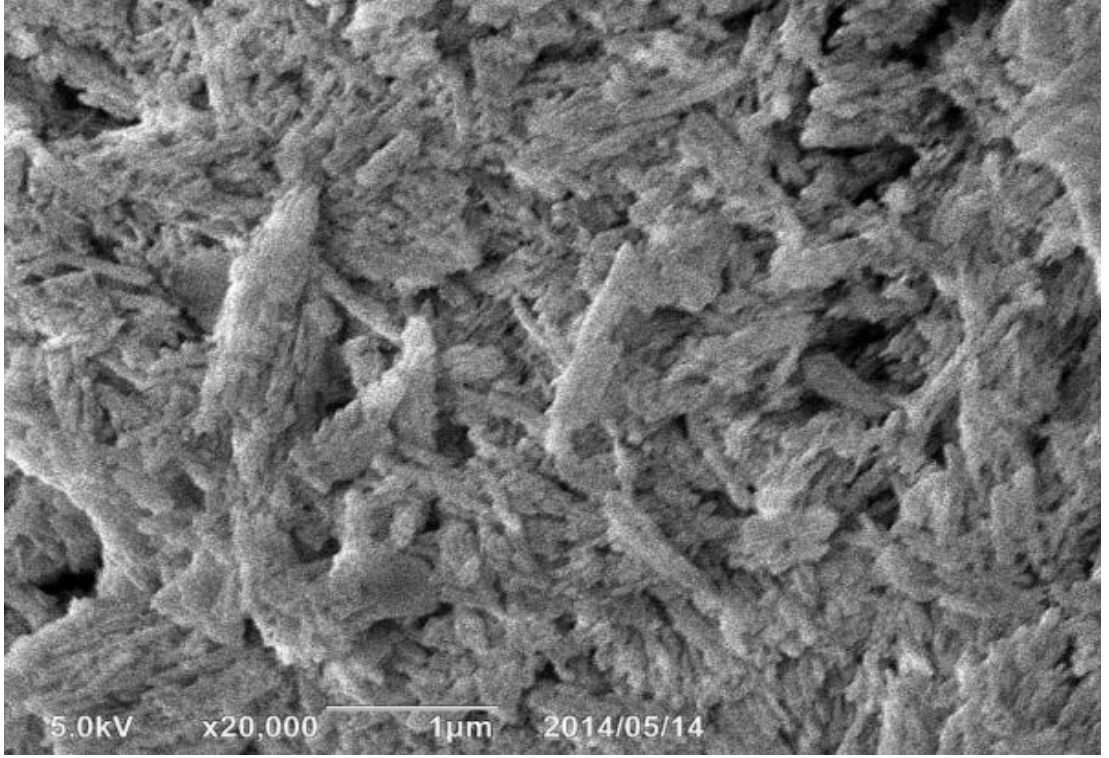
Resim 42. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



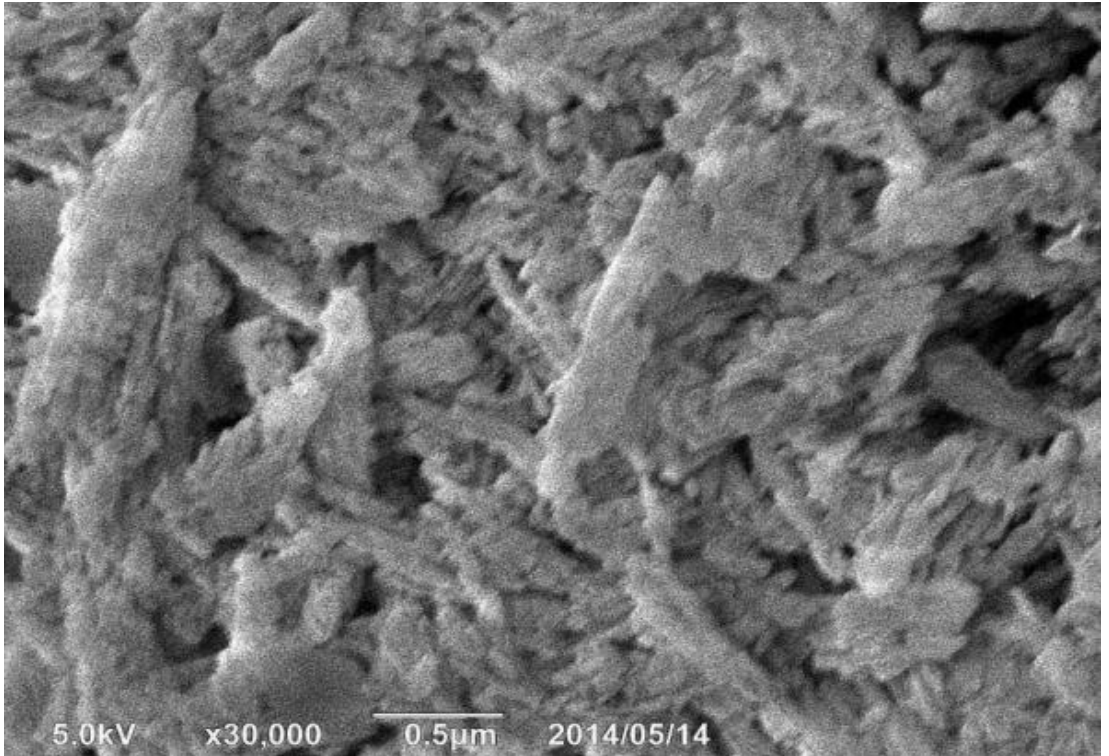
Resim 43. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 44. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 45. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü

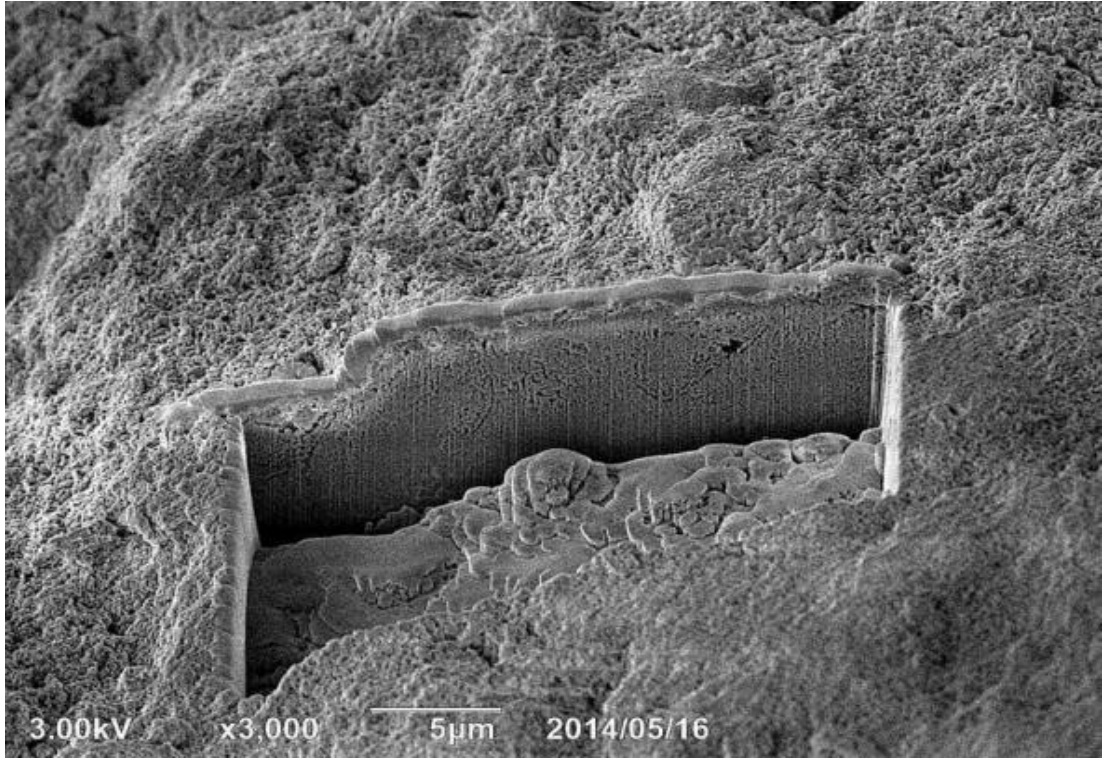


Resim 46. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü

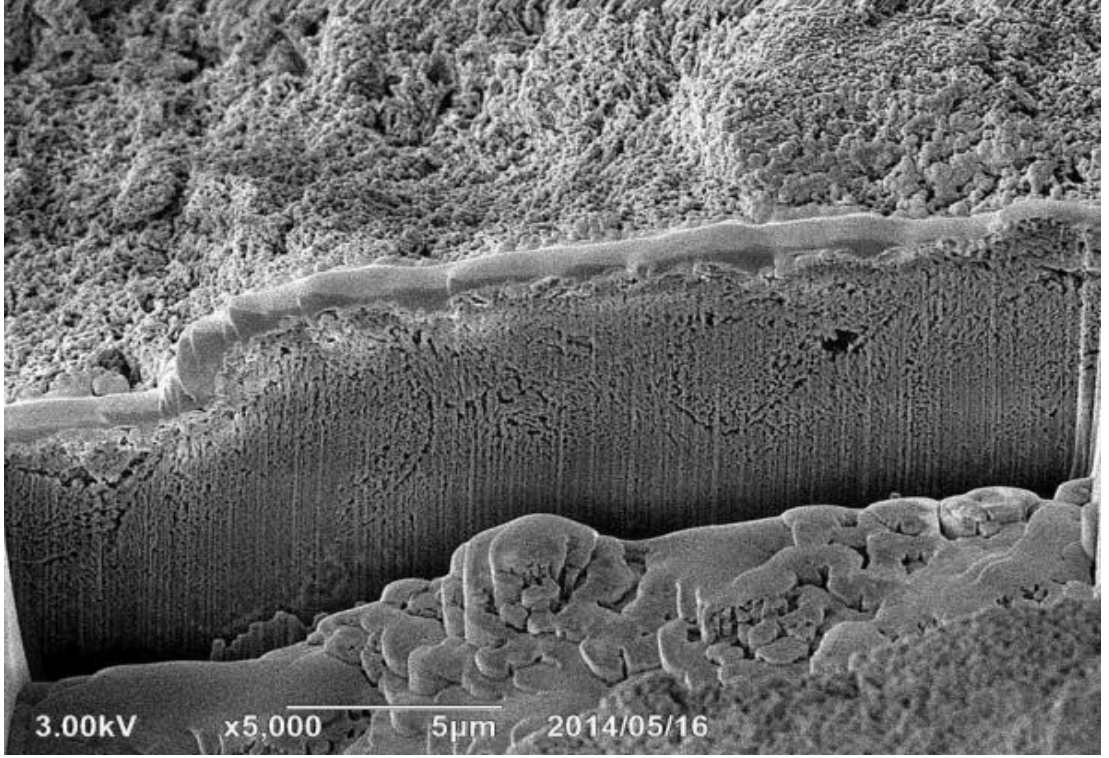
6.3.4. Başlangıç mine lezyonu yüzeylerinde FIB/SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi

Mine örneklerinde demineralizasyon solüsyonu ile meydana getirilen başlangıç mine lezyonlarında FIB ile oluşturulan yan kesitlerin SEM-SE ile değerlendirilmesi sonucunda;

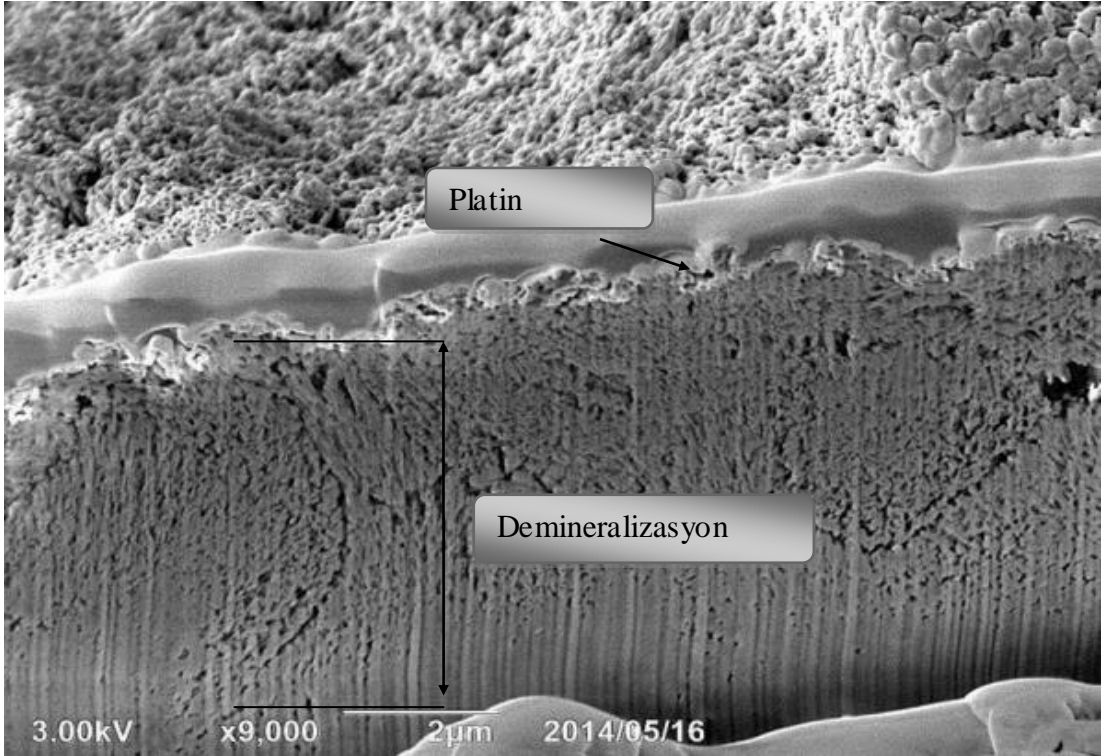
Yüzey porozitesine benzer olarak yüzey altında da 3000x ve 5000x büyütmede yoğun porozitelerin olduğu görülmektedir (Resim 47,48). 9000x ve 15 000x büyütmelerde yüzeyin altındaki alanda meydana gelen demineralizasyonun daha yoğun olduğu görülmektedir. (Resim 49,50). Yüzeyden uzaklaşıp daha derinlere inildikçe demineralizasyon derinliğinin azaldığı görülmektedir İyi ve homojen bir demineralizasyondan söz edilebilmektedir



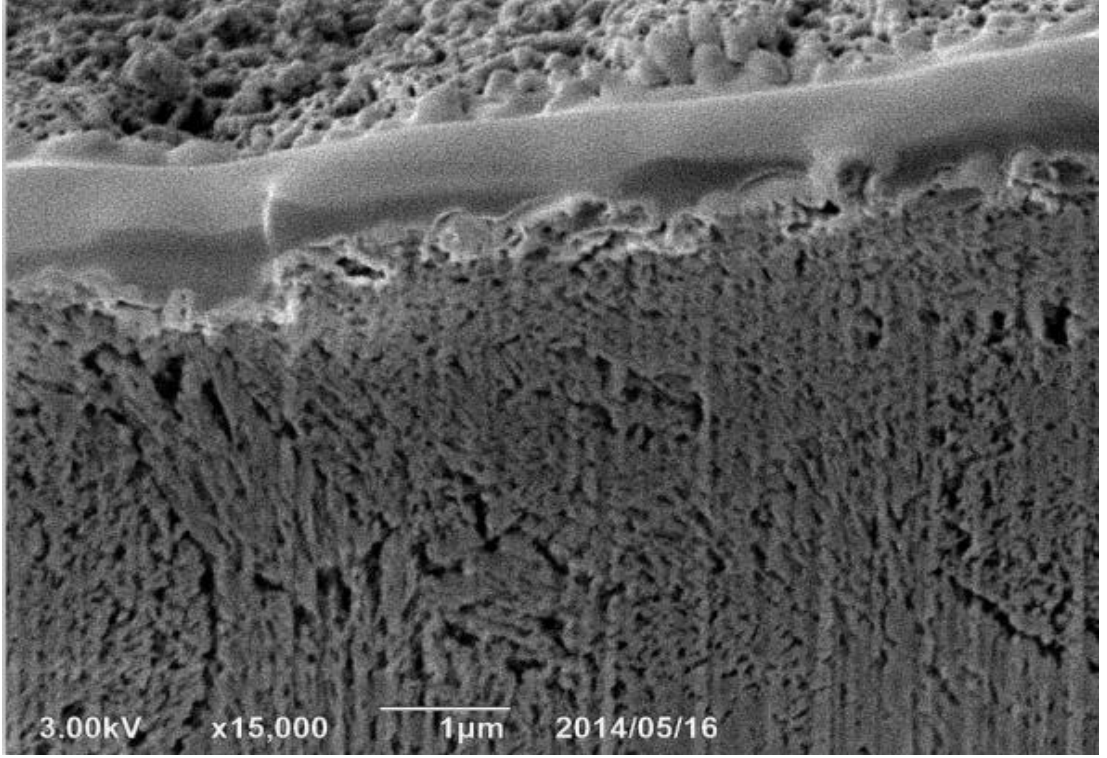
Resim 47. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 3000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 48. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 49. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 9000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 50. Başlangıç mine lezyonu oluşturulan mine alt yüzeyinin 15 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü

6.3.5. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeylerinin SEM görüntülerinin değerlendirilmesi

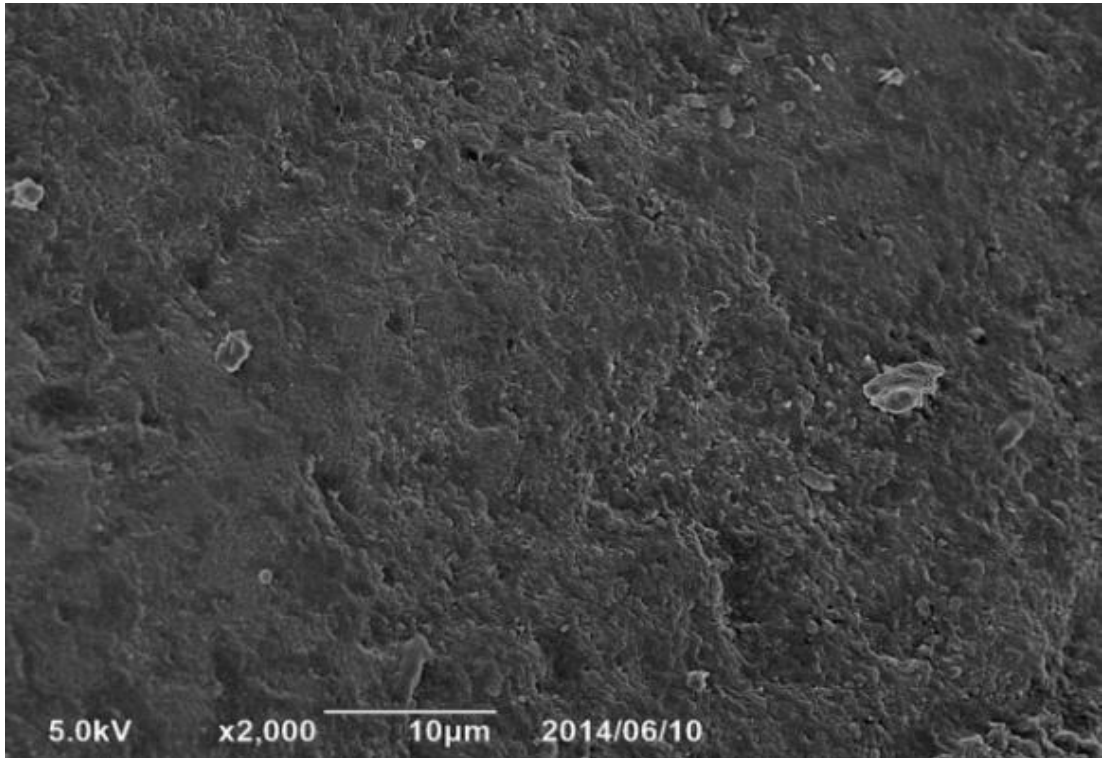
Başlangıç mine lezyonları üzerine pH döngüsü ile MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme uygulamaları sonrasında, yüzeyde kendi reaksiyon ürünlerini oluşturarak farklı morfolojik görüntüye neden olmuşlardır.

pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine örneklerinde;

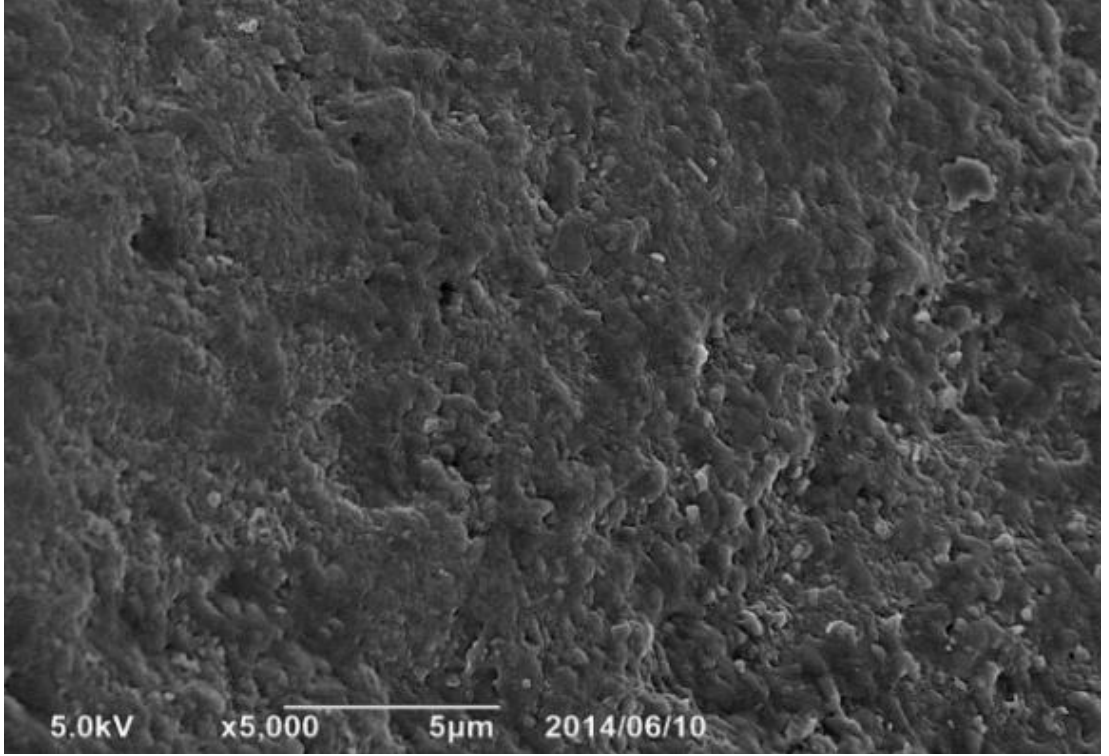
- Başlangıç mine lezyonu sonrası yüzeyde oluşan poröz yapının tamamen kaybolduğu görülmüştür.
- Demineralizasyon sonrası oluşan interprizmatik boşlukların tıkanıp görülmüştür.
- Mine de çukurcuklar gözlenmemiştir.

- Diş yüzeyinde pürüzlü bir film tabakası oluştuğu görülmüştür.
- Remineralizasyonun yoğun çökelmeler şeklinde olduğu gözlenmiştir.
- Homojen ve düzenli remineralizasyon tabakasının oluştuğu gözlemiştir (Resim 51 , 52 ,53 ,54 ,55 ,56).

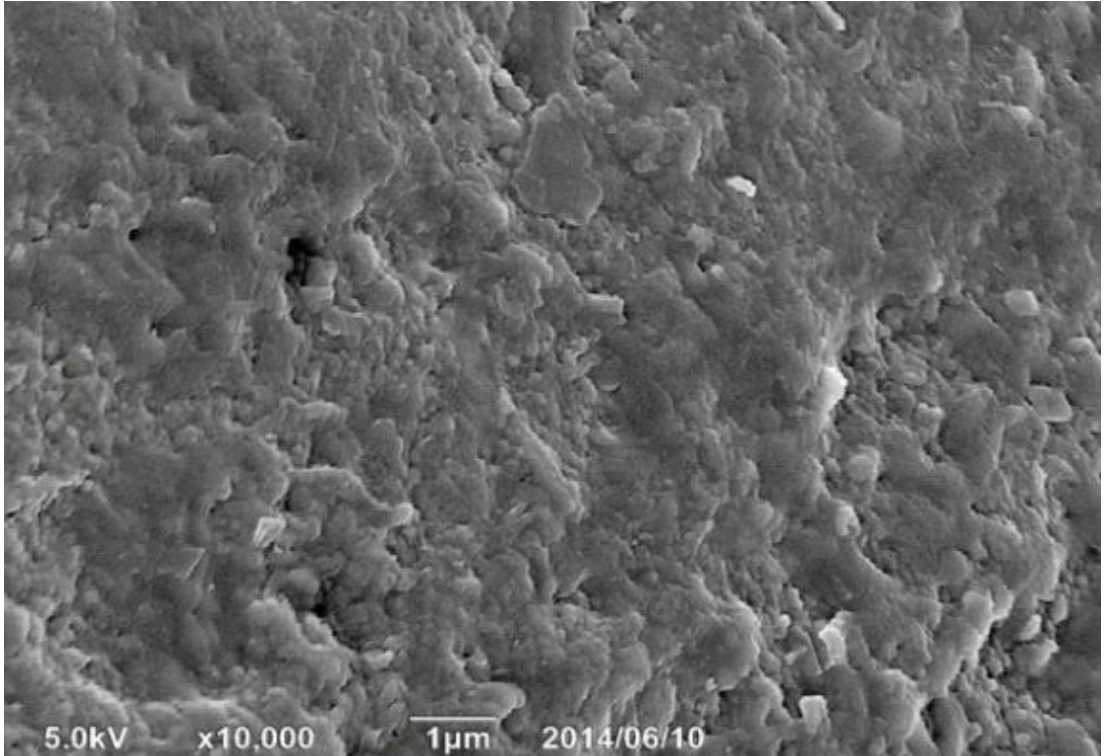
Oluşan yüzey tabakası Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme ajanları ve Yapay Tükürük uygulamaları sonrası oluşan yüzey tabakasına göre daha homojen ve düzgün olduğu görülmüştür. Yeni oluşan remineralizasyon yüzeyindeki globüler yapılar küçük ve büyük büyütmelerde net olarak görülebilmektedir. Bu yapı diğer gruplarla kıyaslandığında daha homojen ve tüm yüzeye yayılmış şekilde görülebilmektedir.



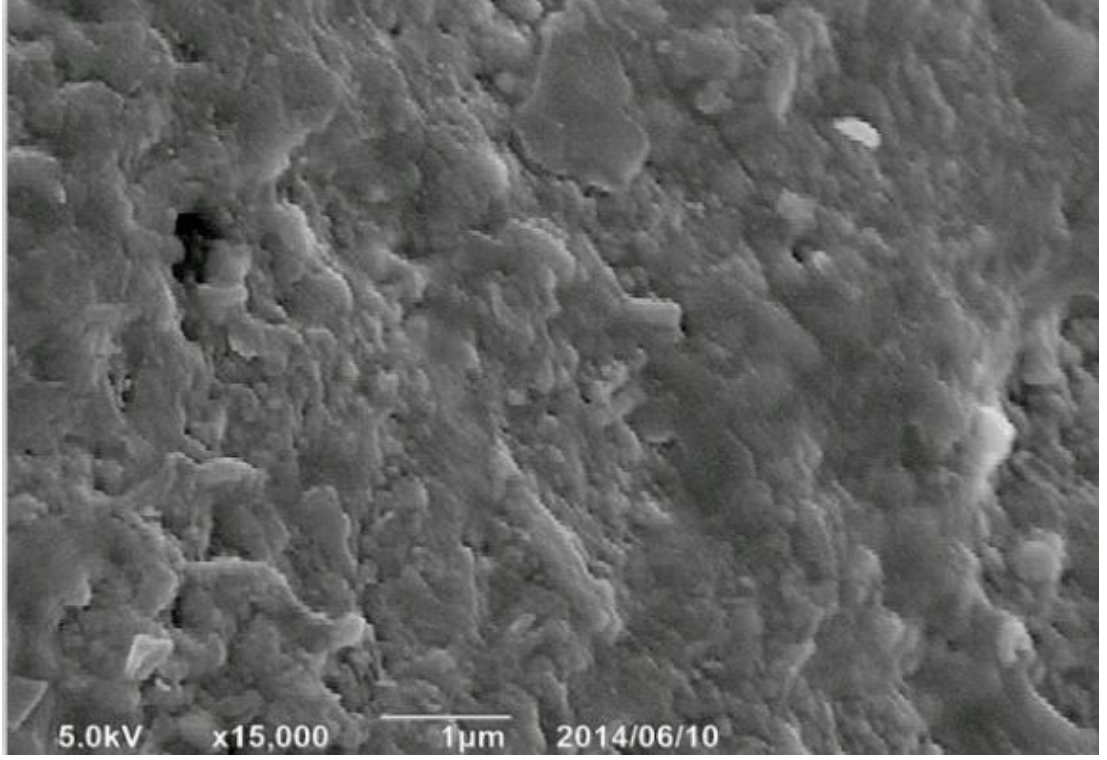
Resim 51. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



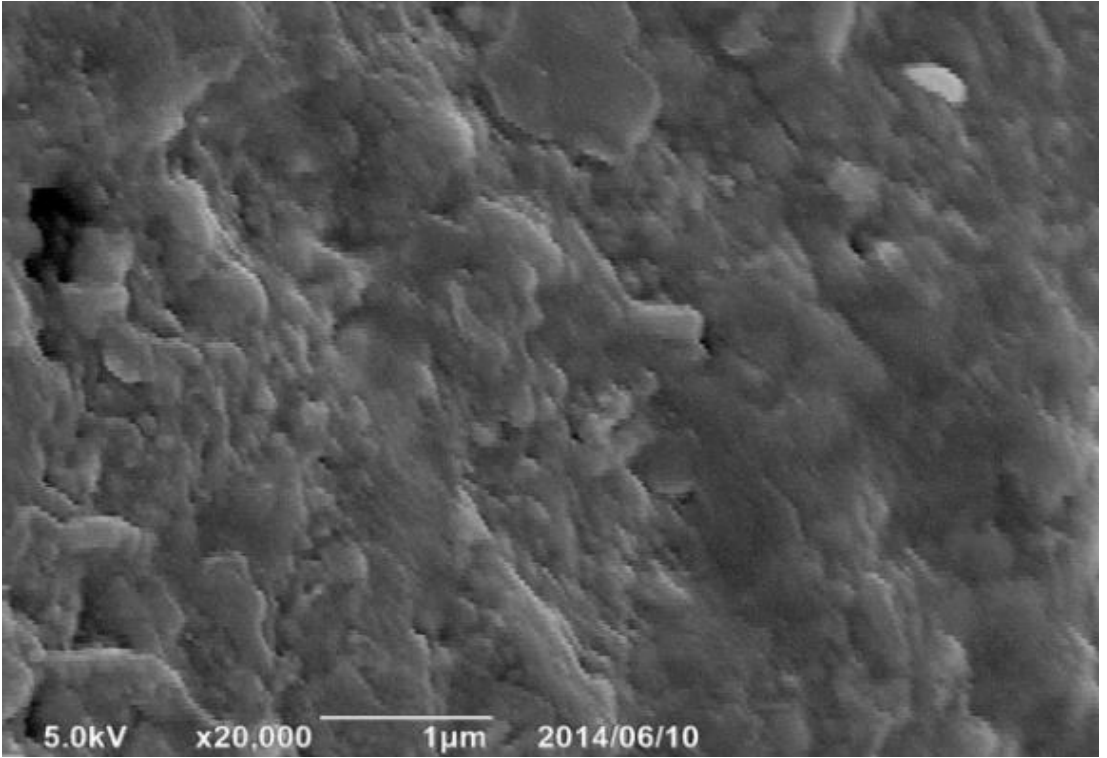
Resim 52. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



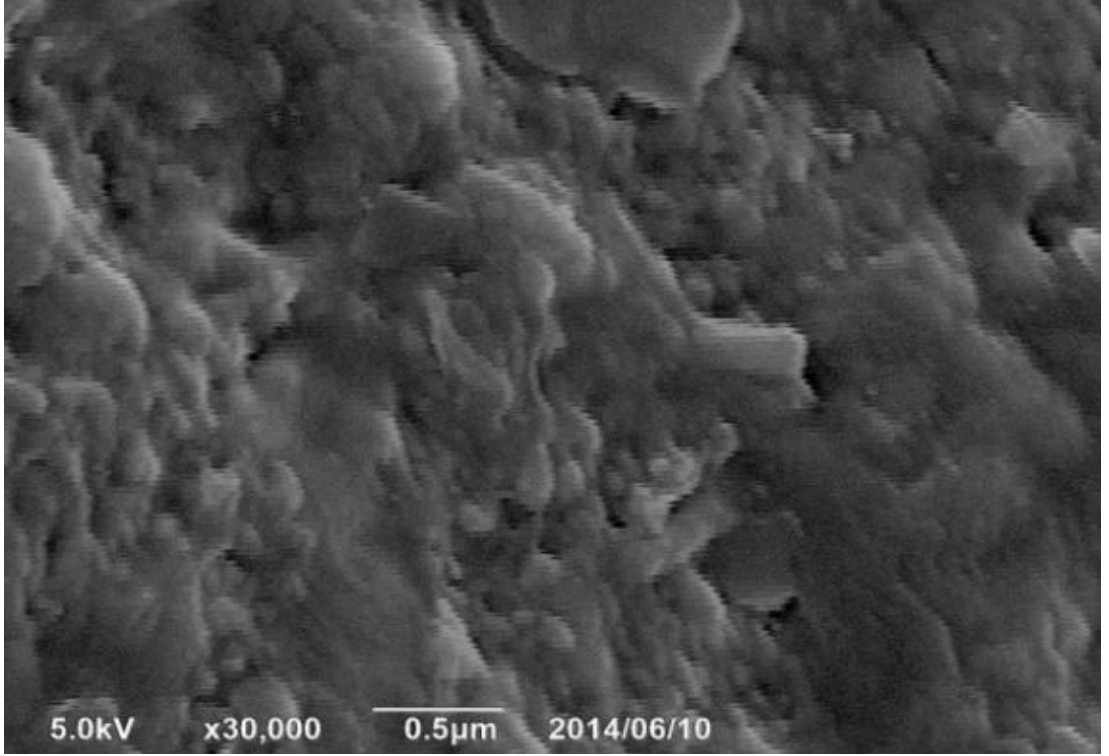
Resim 53. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 54. pH d6ngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 55. pH d6ngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



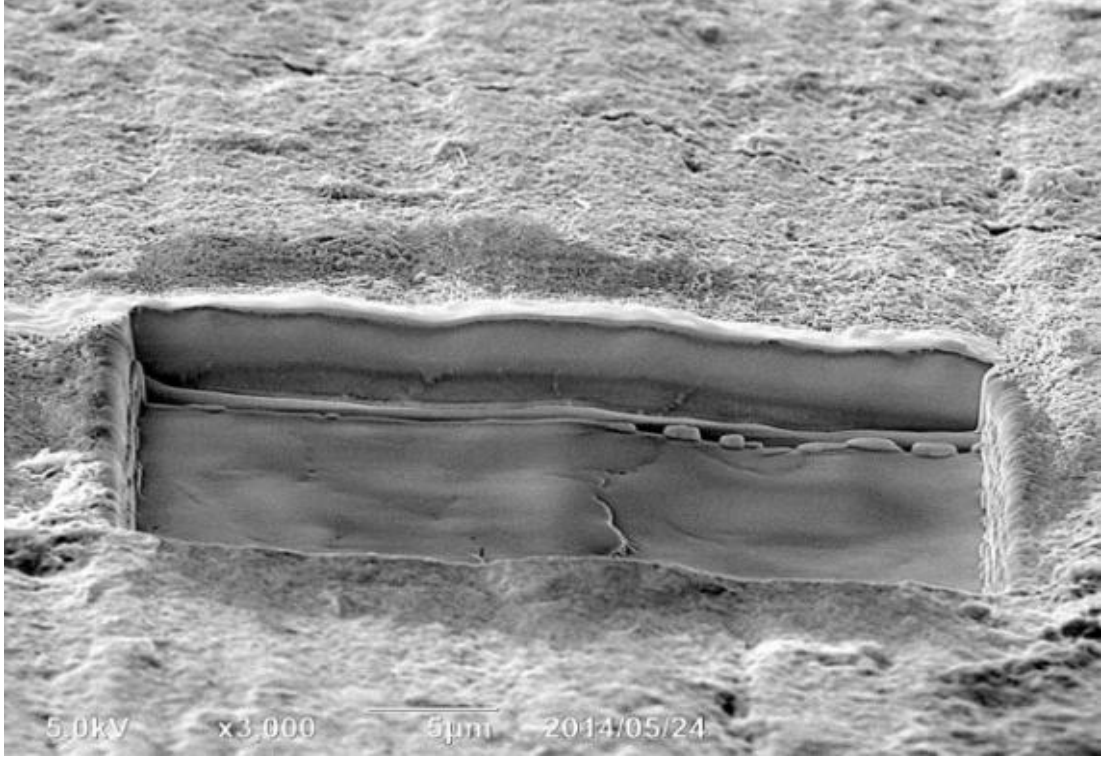
Resim 56. pH d6ngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü

6.3.6.pH D6ngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine yüzeylerinde ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi

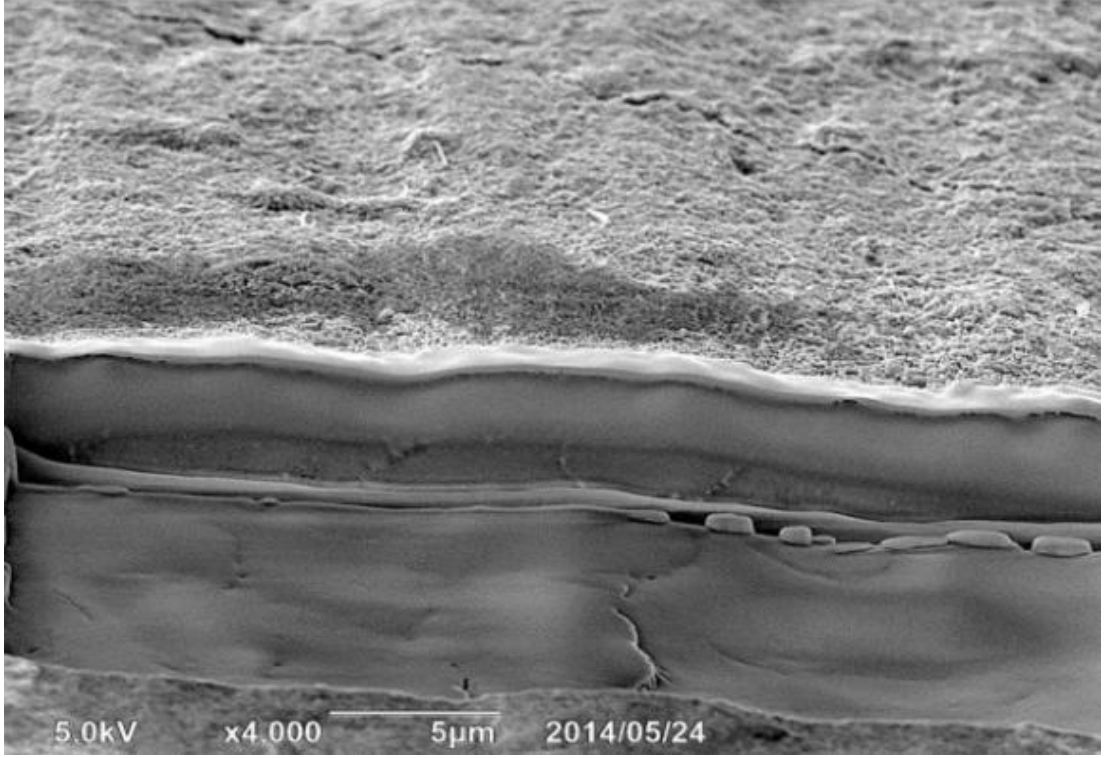
pH d6ngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine örneklerinde;

- Başlangıç mine lezyonu sonrası mine alt yüzeyinde oluşan p6r6z yapının tamamen kaybolduğu g6r6lmüştür.
- Demineralizasyon sonrası mine alt yüzeyinde oluşan boşlukların tamamen tıkanığı g6r6lmüştür.
- Mine alt yüzeyinde SEM örneklerine benzer homojen ve düzenli remineralizasyon tabakasının oluştuğu gözlemiştir (Resim 57, 58, 59, 60).

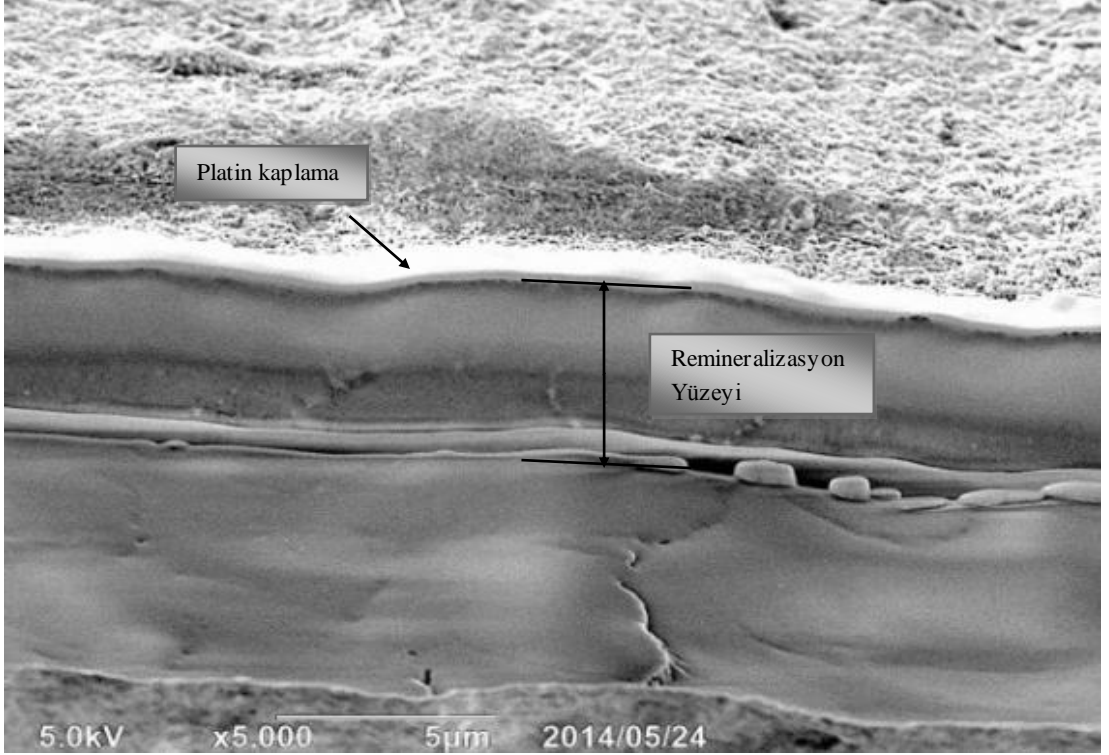
Oluşan mine alt yüzey tabakasının Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme ajanları ve Yapay Tükürük uygulamaları sonrası oluşan mine alt yüzey tabakasına göre daha homojen ve düzgün olduğu görülmüştür. Diğer gruplarla kıyaslandığında daha homojen ve tüm alt yüzeye yayılmış remineralizasyon şeklinde görülebilmektedir.



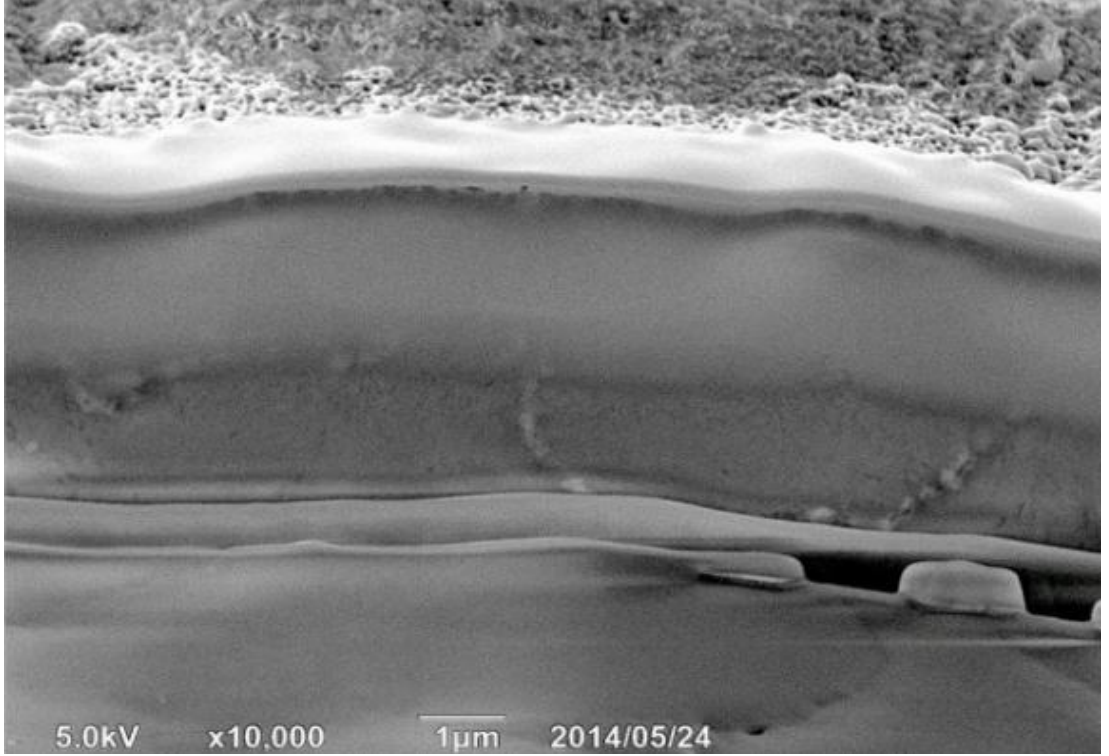
Resim 57. pH döngüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 3000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 58. pH dögüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 4000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 59. pH dögüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



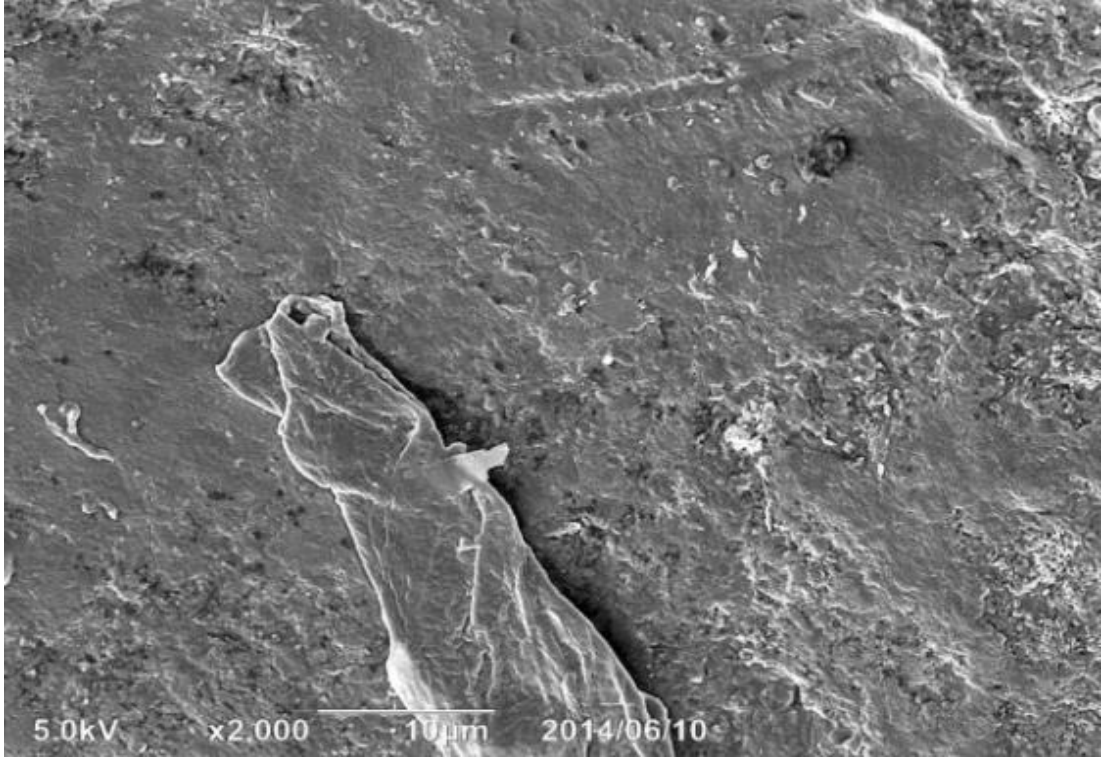
Şekil 6.Resim 60. pH dögüsü ile MI Paste Plus uygulanan mine alt yüzeyinin 10 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü

6.3.7.pH dögüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeylerine ait SEM görüntülerinin değerlendirilmesi

ph dögüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine örneklerinde;

- Başlangıç mine lezyonu sonrası yüzeyde oluşan pöröz yapının tamamen kaybolduğu görölmüştür.
- Demineralizasyon sonrası oluşan interprizmatik boşlukların tıkanığı görölmüştür.
- Mine de çukurcuklar gözlenmemiştir.
- Diş yüzeyinde MI Paste uygulaması sonrasında görülen daha ince ve pürüzlü bir film tabakası oluşturduğu görölmüştür.
- Remineralizasyonun yoğun çökeltmeler şeklinde olduğu gözlenmiştir.
- Homojen ve düzenli remineralizasyon tabakasının olduğu gözlenmiştir (Resim 61, 62, 63, 64, 65, 66).

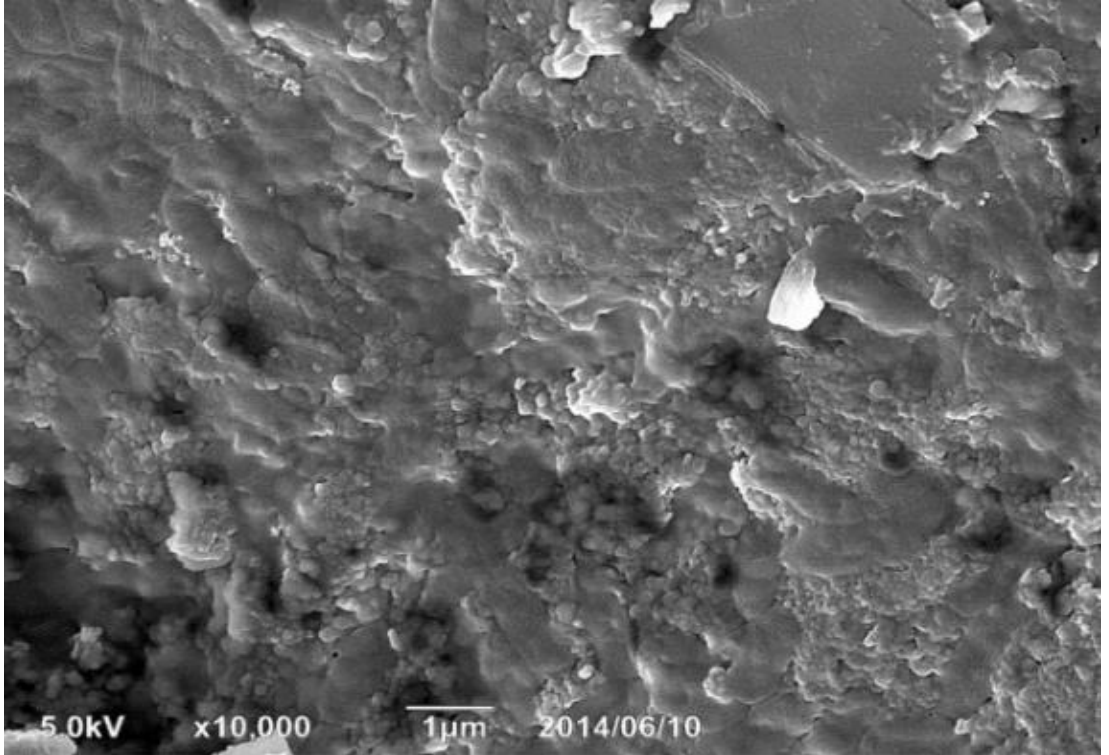
Oluşan yüzey tabakasının Clinpro Tooth Creme'e uygulaması sonrası oluşan yüzeye göre daha homojen ve düzgün, MI Paste Plus ve Yapay Tükürük uygulamaları sonrası oluşan yüzeye göre daha az homojen olduğu görülmüştür. Yeni oluşan remineralizasyon yüzeyindeki globüler yapılar küçük ve büyük büyütmelelerde net olarak görülebilmektedir.



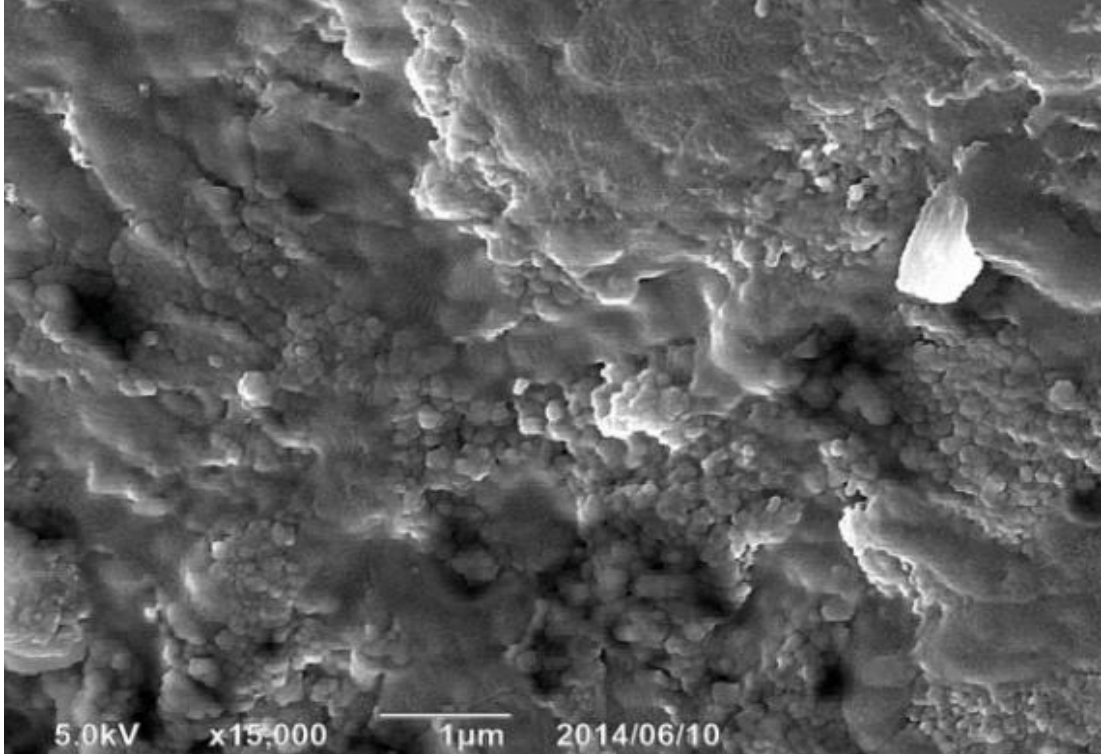
Resim 61. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



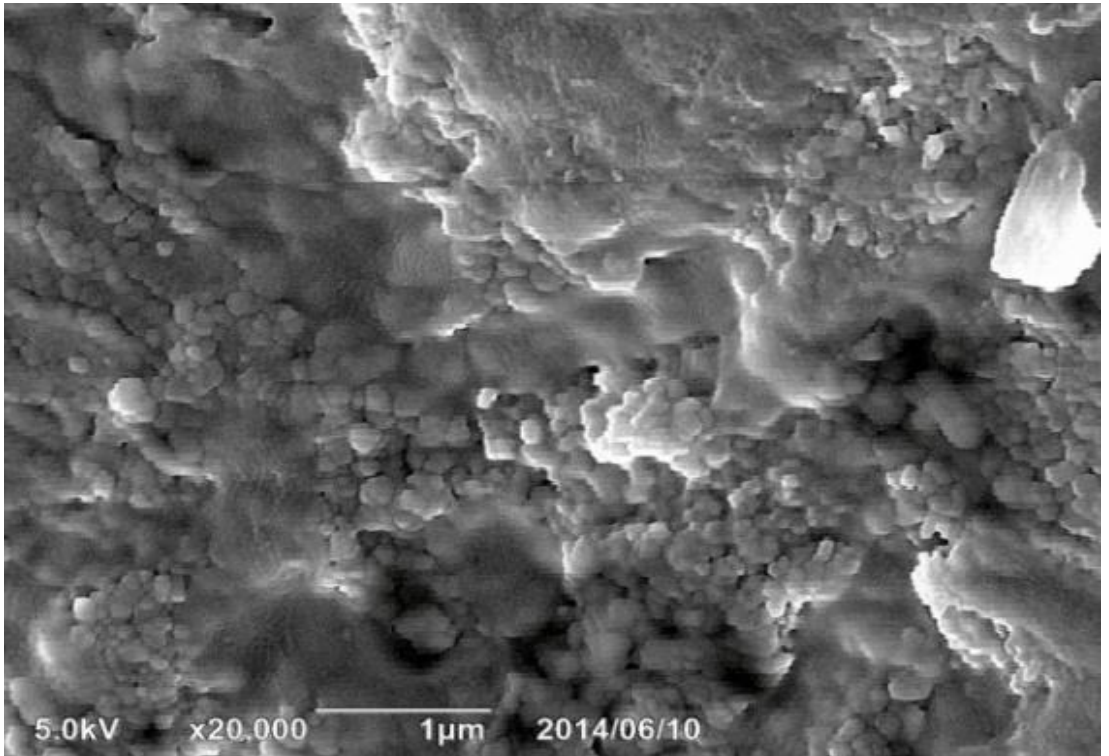
Resim 62. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



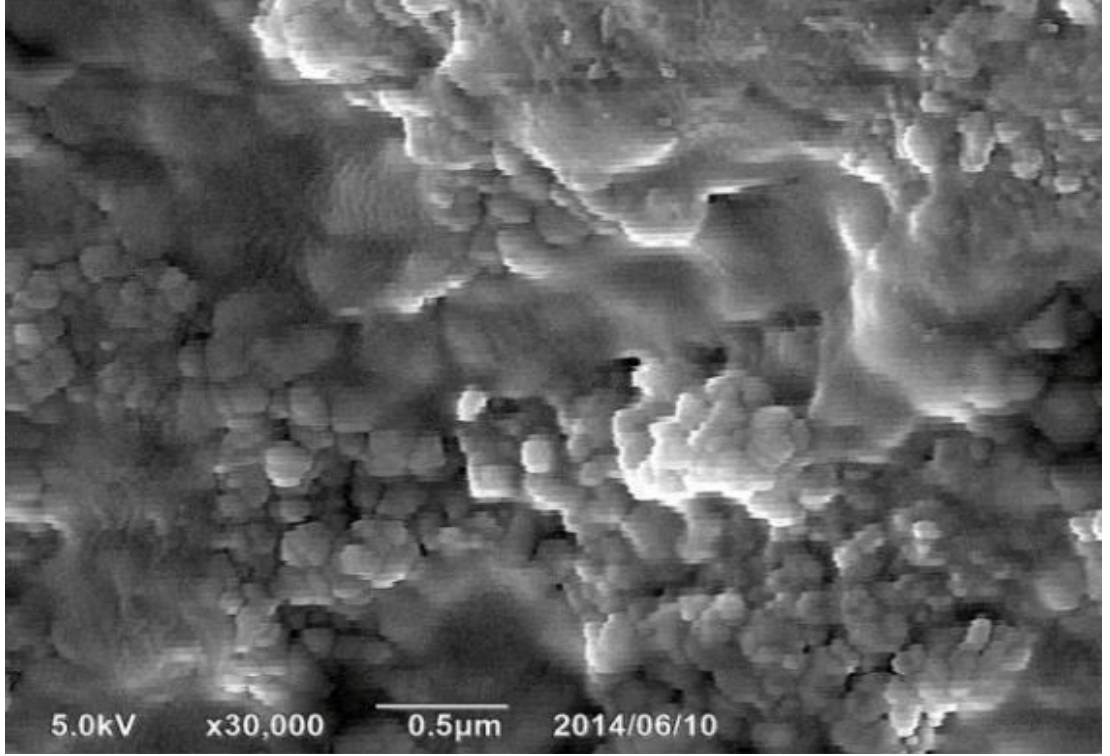
Resim 63. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 64. pH d6ngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 65. pH d6ngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



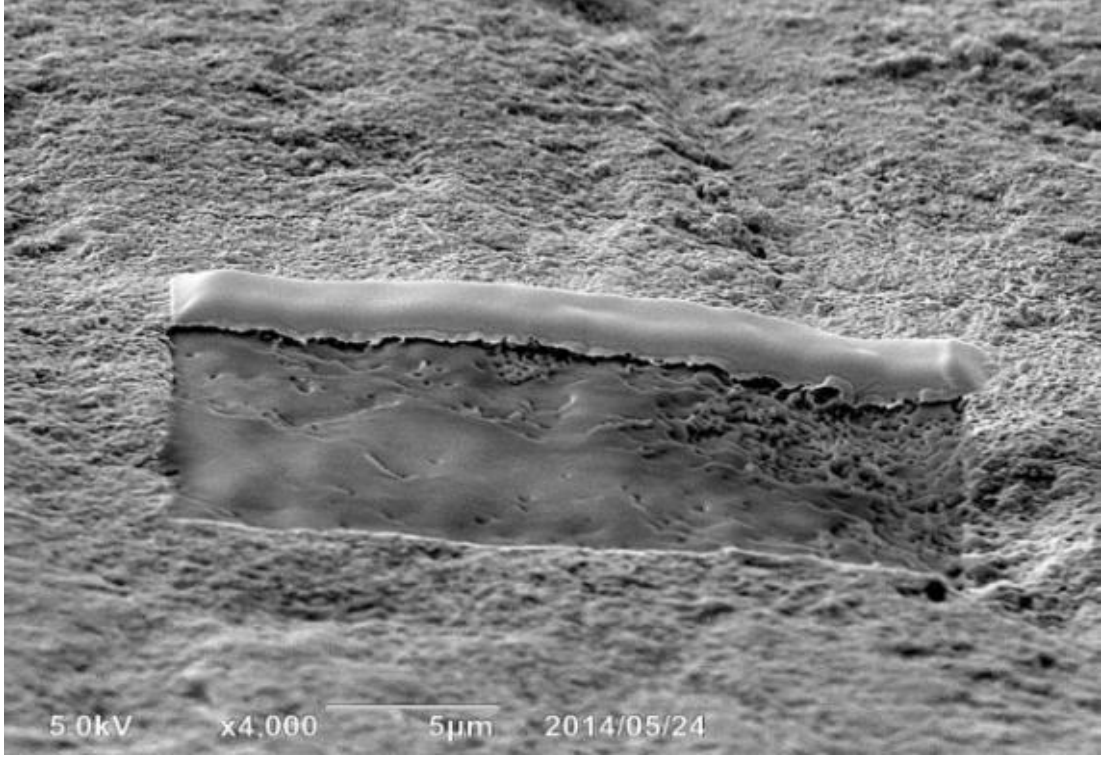
Resim 66. pH dögüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü

6.3.8.pH dögüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi

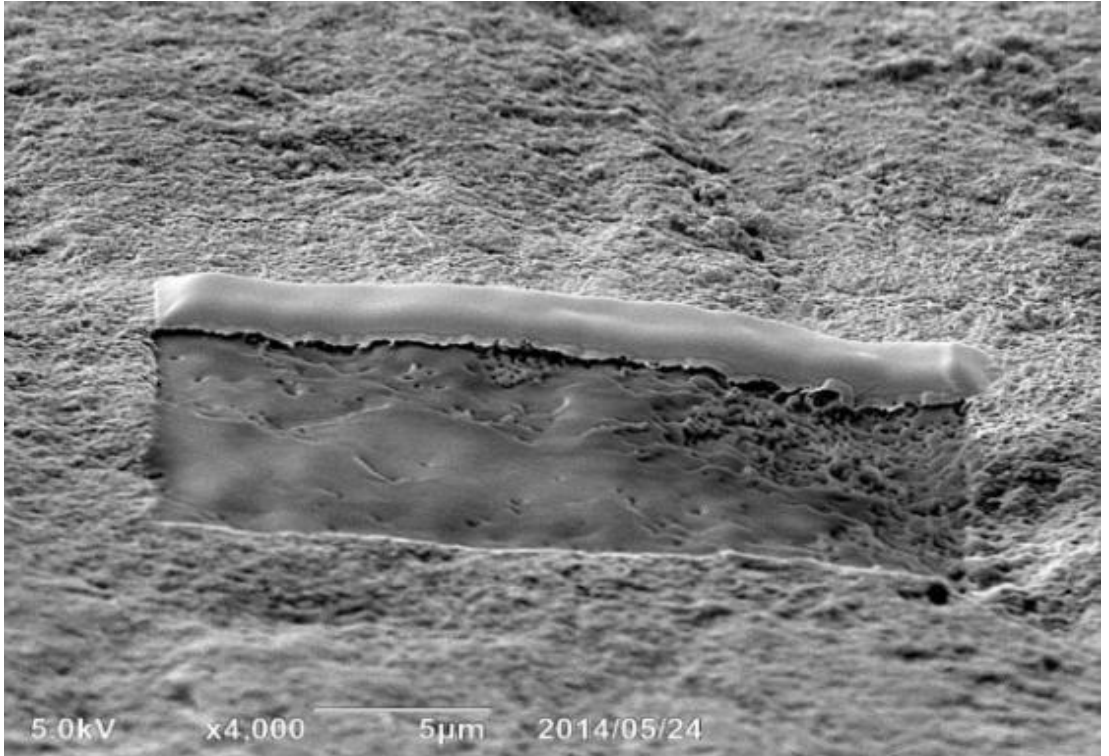
pH dögüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine örneklerinde;

- Başlangıç mine lezyonu sonrası mine alt yüzeyinde oluşan pöröz yapının kısmen kaybolduğu görölmüştür.
- Demineralizasyon sonrası mine alt yüzeyinde oluşan boşlukların kısmen tıkandığı görölmüştür.
- Mine alt yüzeyinde SEM örneklerine benzer homojen ve düzenli remineralizasyon tabakasının oluşmadığı gözlemiştir (Resim 67, 68, 69, 70).

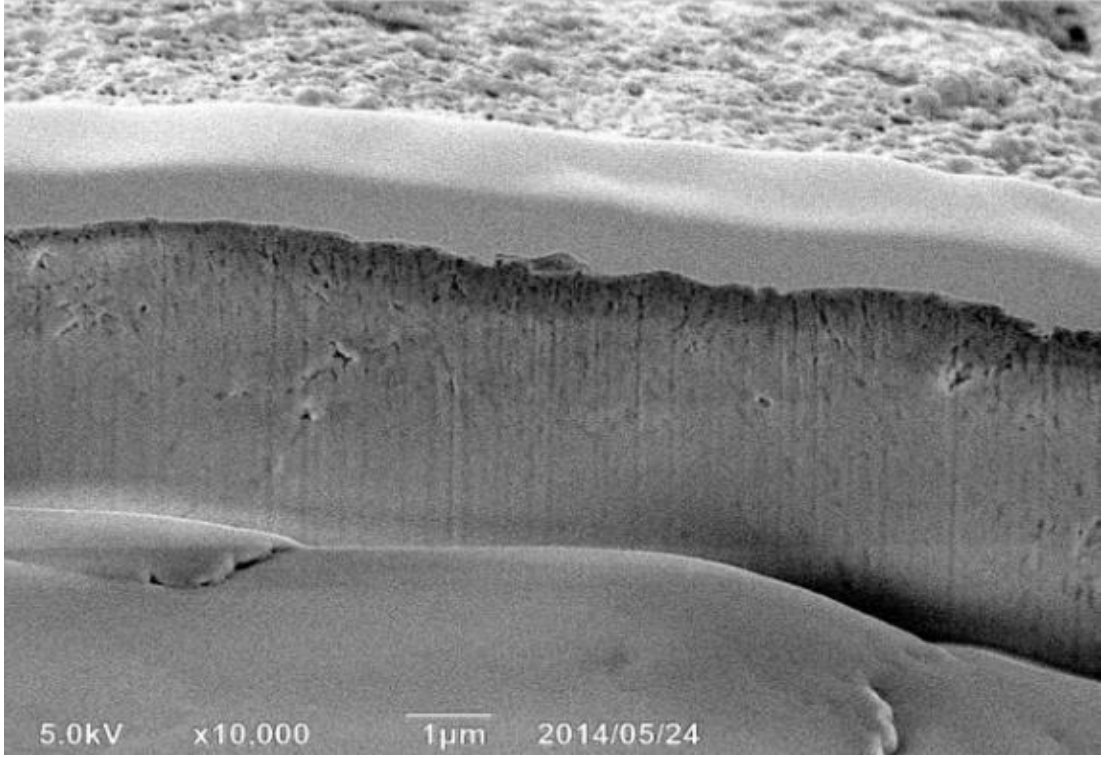
Oluşan mine alt yüzey tabakasının Clinpro Tooth Creme ajanı uygulaması sonrası oluşan mine alt yüzey tabakasına göre daha homojen ve düzgün olduğu, MI Paste Plus ve Yapay Tükürük uygulamaları sonrası oluşan mine alt yüzey tabakasına göre daha az homojen ve düzgün görölmüştür. Tüm alt yüzeye yayılmış bir remineralizasyon tabakasından söz edilememektedir.



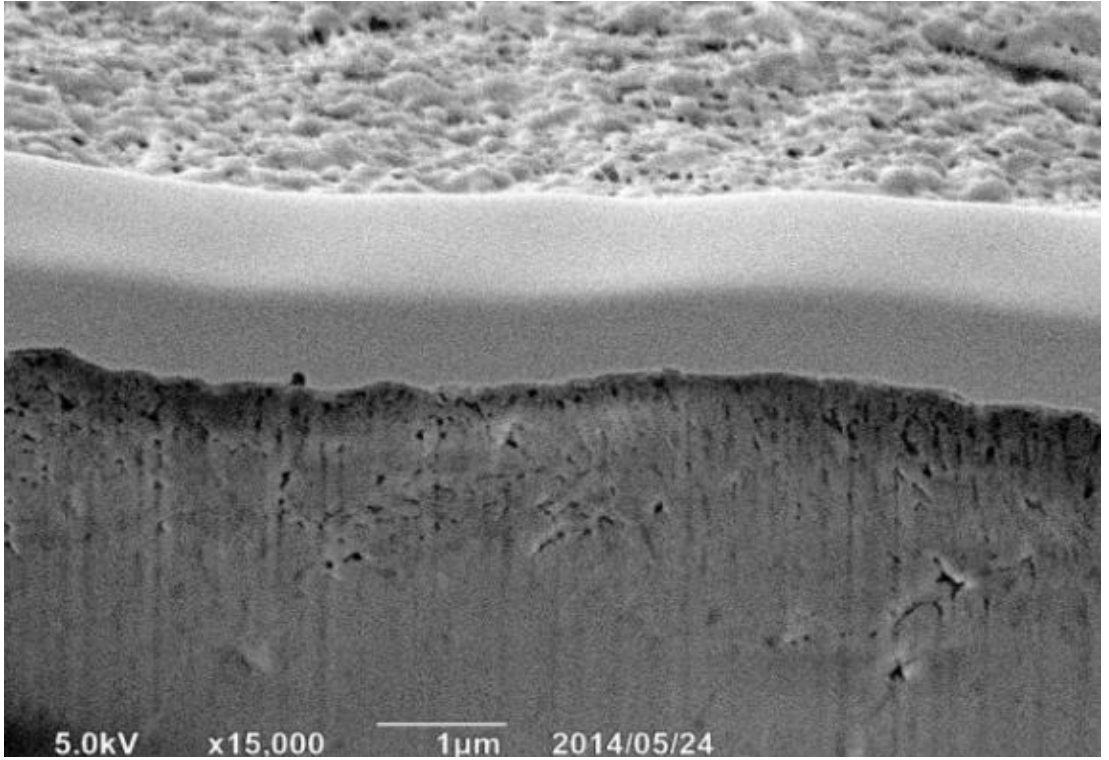
Resim 67. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 4000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 68. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 69. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 10 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



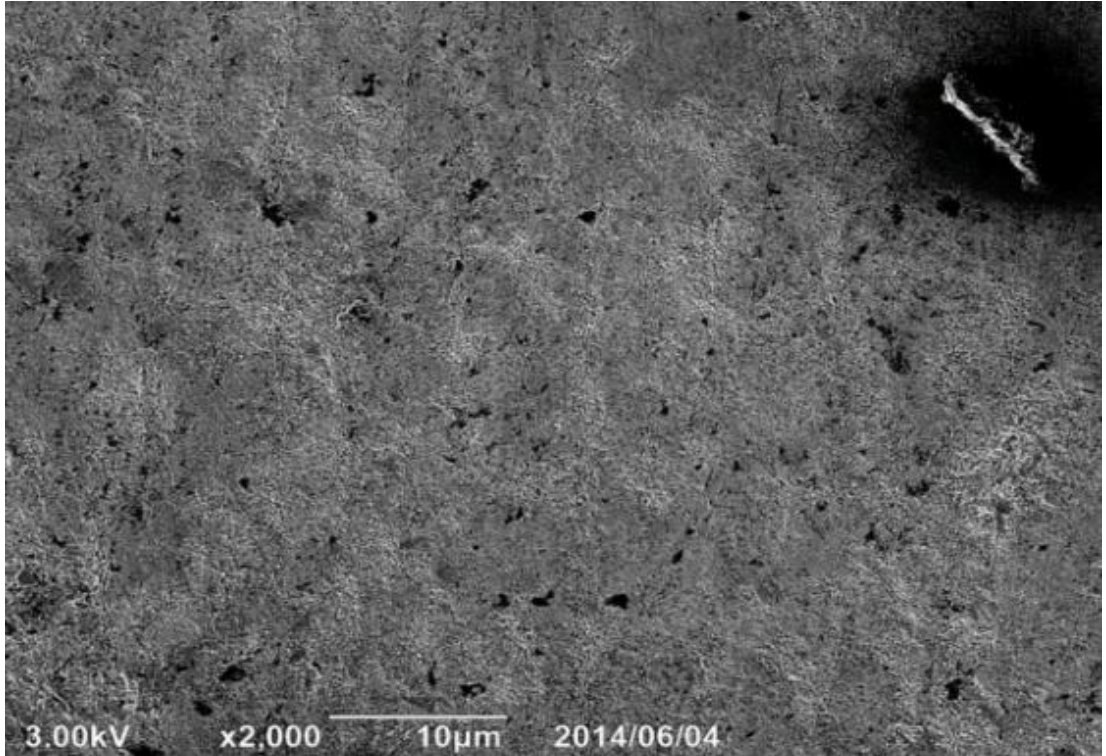
Resim 70. pH döngüsü ile Tooth Mousse uygulanan mine alt yüzeyinin 15 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü

6.3.9.pH d6ngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeylerine ait SEM görüntülerinin değerlendirilmesi

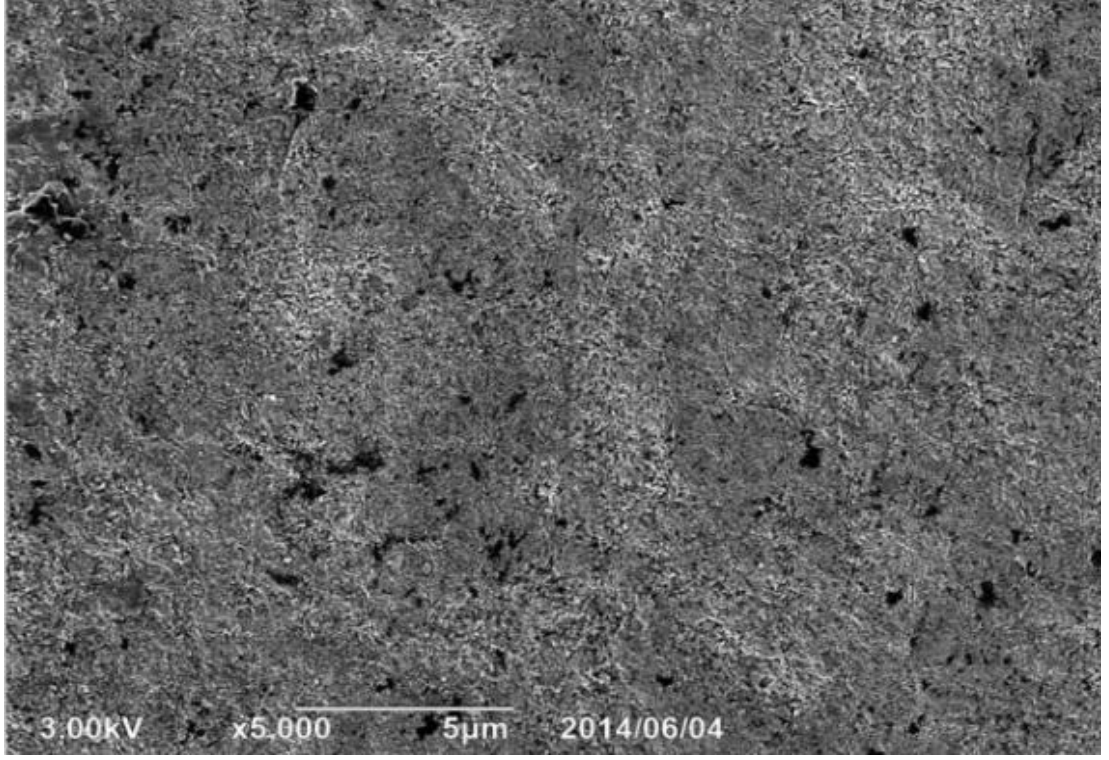
pH d6ngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine 6rneklerinde;

- Başlangıç mine lezyonu sonrası yüzeyde oluşan p6r6z yapının kısmen kaybolduğu g6r6lmüştür.
- Demineralizasyon sonrası oluşan interprizmatik boşlukların yer yer tıkanığı, açıkta kalan çukurcuklar olduğu g6r6lmüştür.
- Diş yüzeyinde herhangi bir film tabakası oluşmadığı g6r6lmüştür.
- Remineralizasyonu işaret eden 6kelmeler şeklinde olduğu g6zlenmiştir.
- Homojen ve d6zenli remineralizasyon tabakasından s6z edilememektedir (Resim 71, 72, 73, 74, 75, 76).

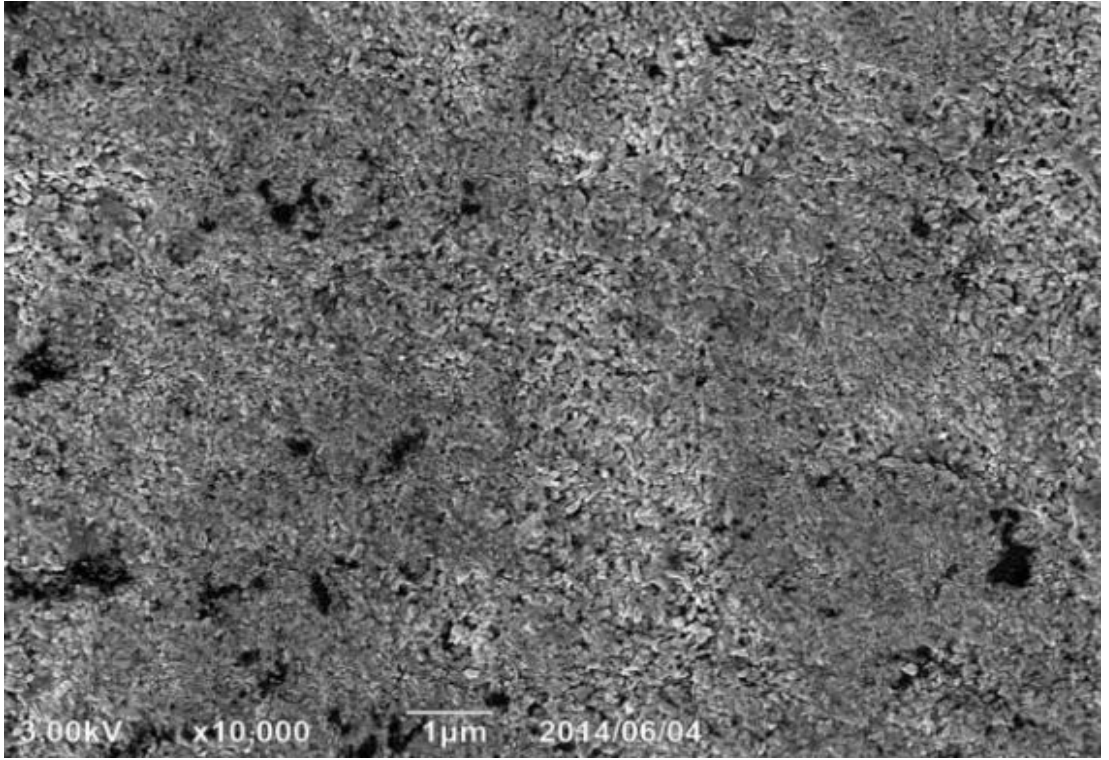
Oluşan yüzey tabakasının MI Paste Plus ve Tooth Mousse ajanları ile Yapay Tükürüğe göre daha az homojen ve pürüzlü olduğu g6r6lmüştür.



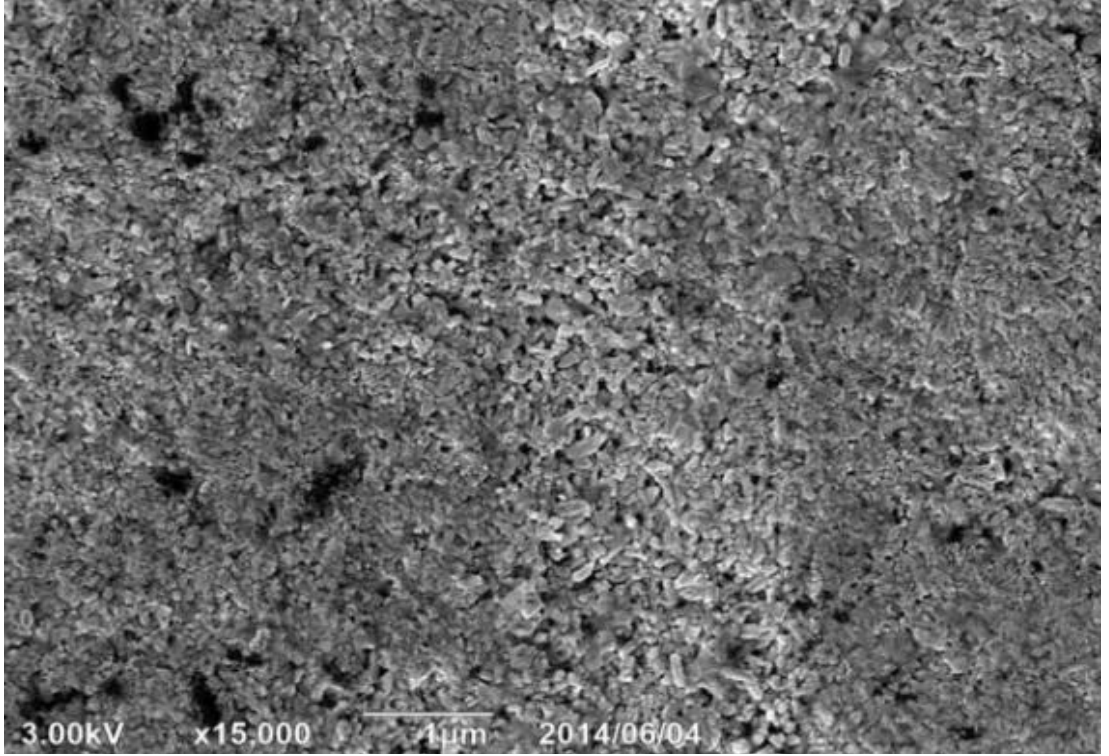
Resim 71. pH d6ngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



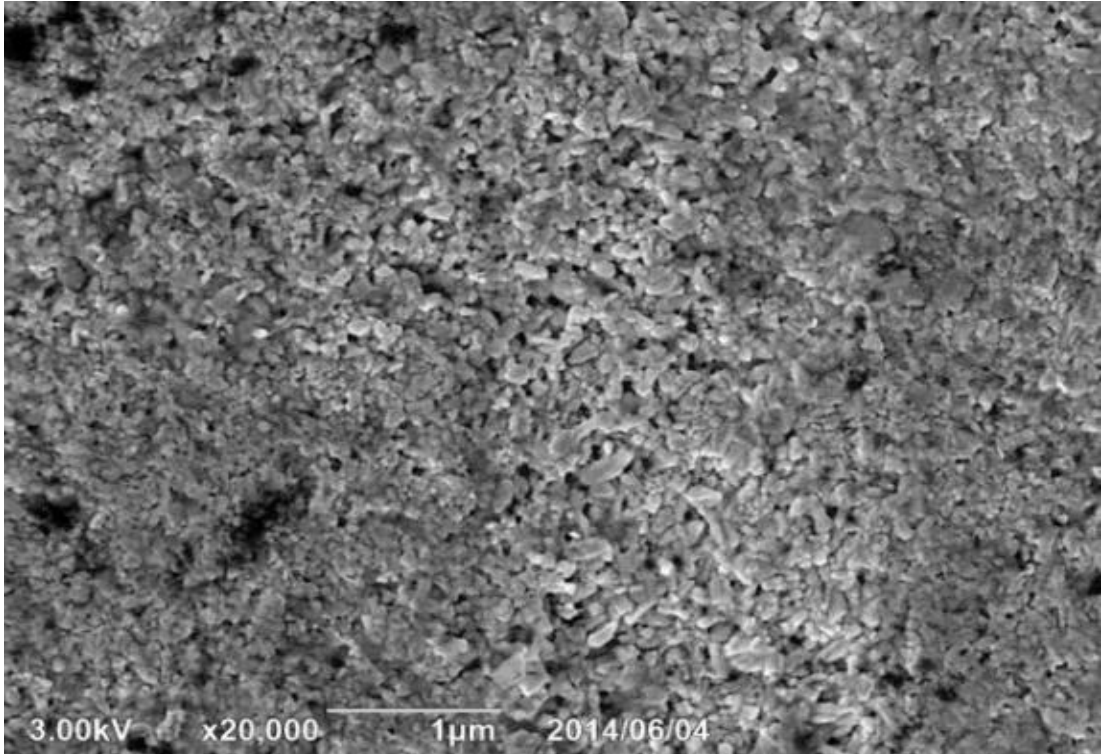
Resim 72. pH d6ngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



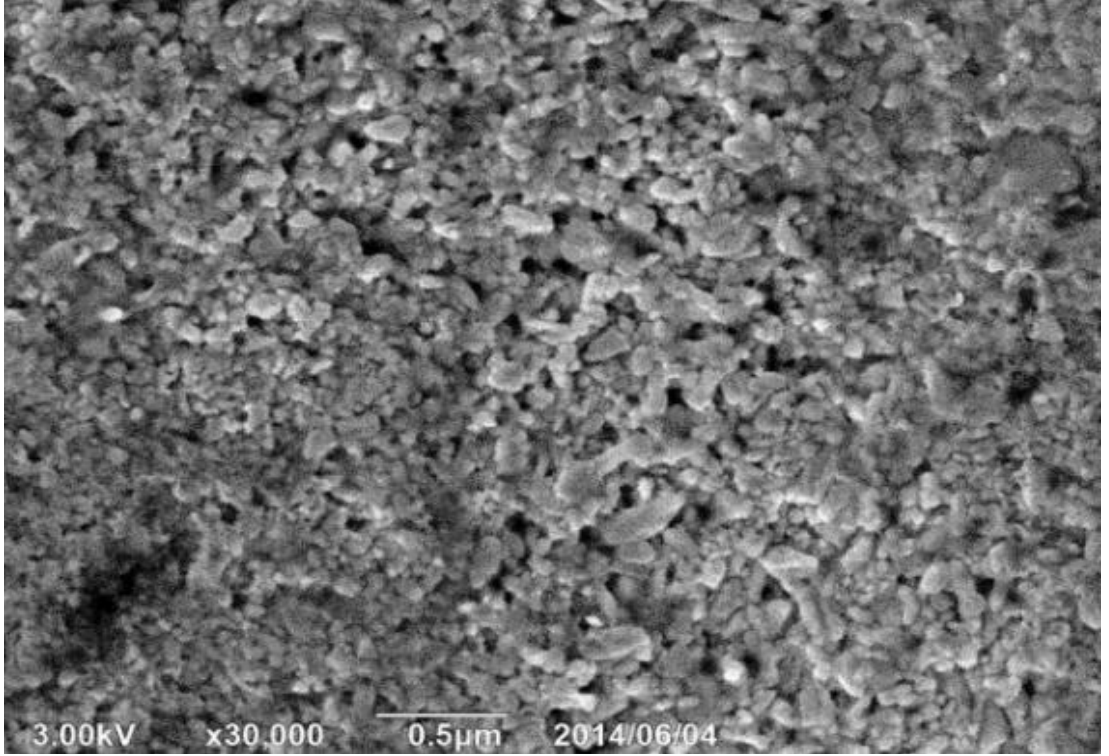
Resim 73. pH d6ngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 74. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 75. pH döngüsü ile Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 20 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



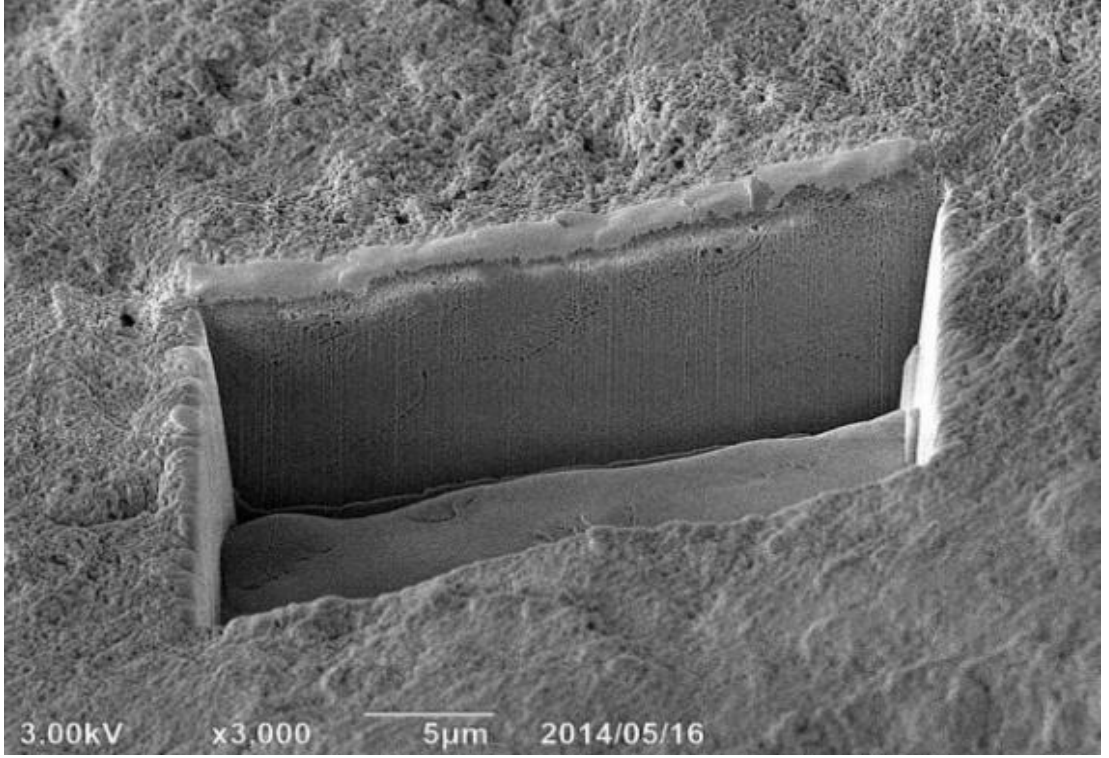
Resim 76. pH döngüsü ile Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinin 30 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü

6.3.10.pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi

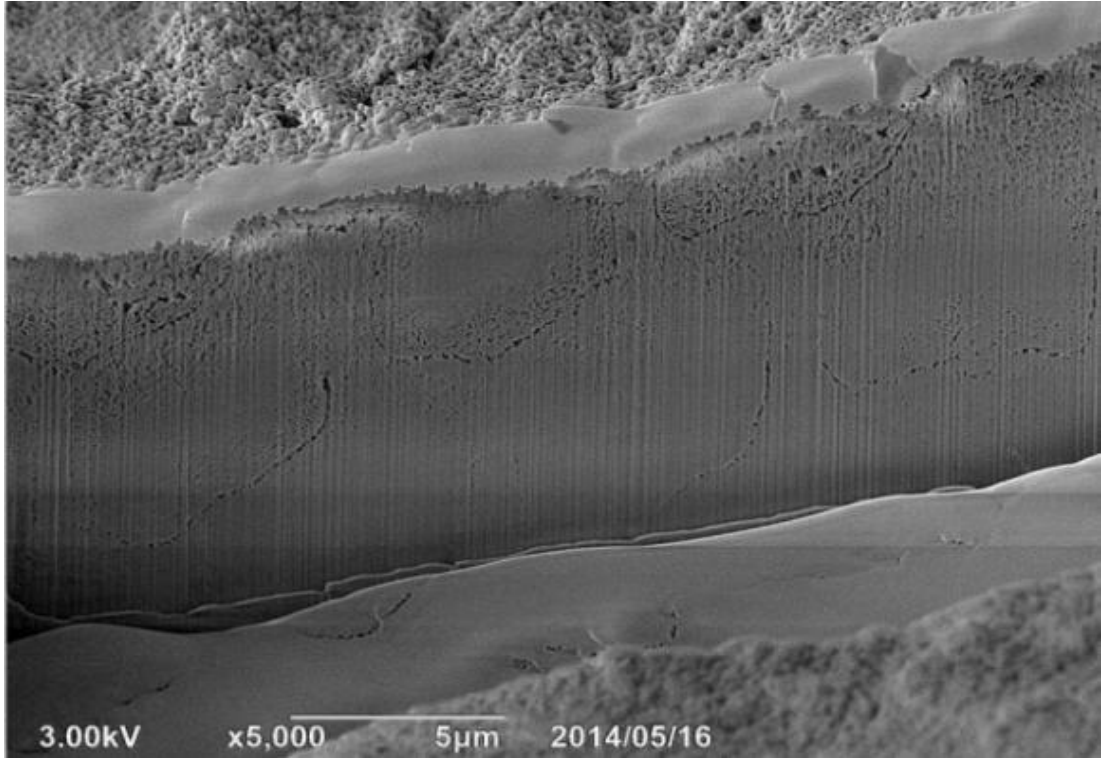
pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine örneklerinde;

- Başlangıç mine lezyonu sonrası mine alt yüzeyinde oluşan pöröz yapının kısmen kaybolduğu görülmüştür.
- Demineralizasyon sonrası mine alt yüzeyinde oluşan boşlukların kısmen tıkanıdığı görülmüştür.
- Mine alt yüzeyinde SEM örneklerine benzer homojen olmayan ve düzensiz remineralizasyon tabakasının olduğu gözlemlenmiştir (Resim 77, 78, 79, 80).

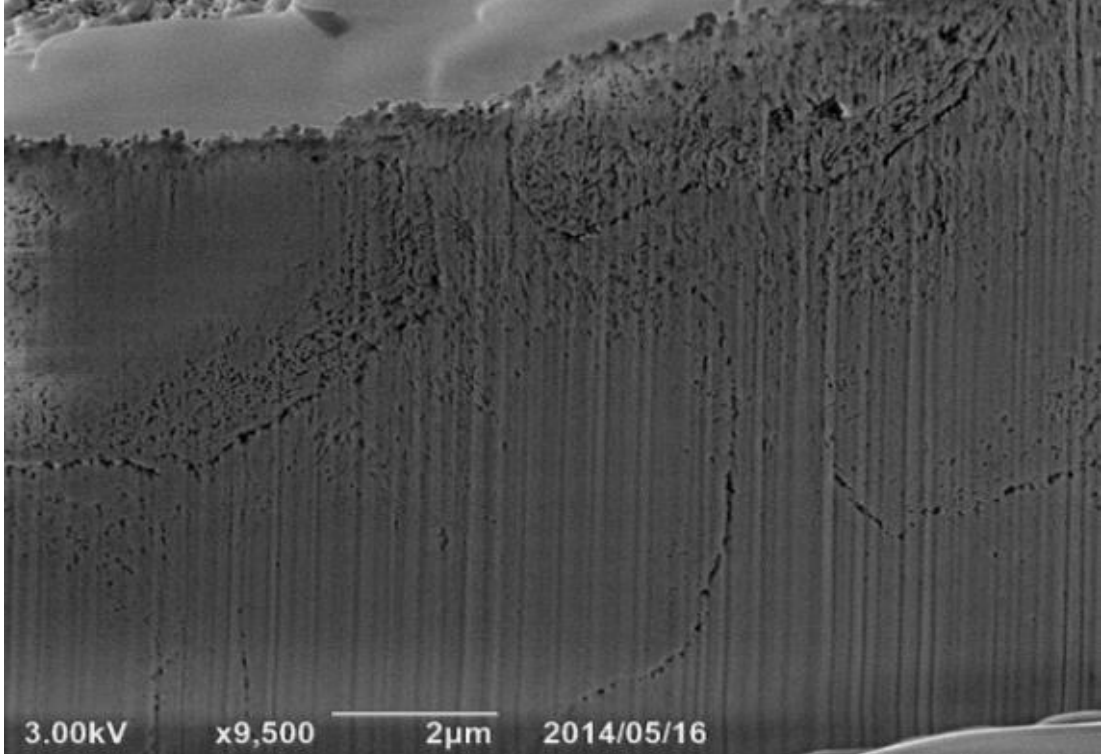
Oluşan mine alt yüzey tabakasının MI Paste Plus ve Tooth Mousse ajanları ile Yapay Tükürük uygulamaları sonrası oluşan mine alt yüzey tabakasına göre homojen olmayan ve pürüzlü olduğu görülmüştür. Tüm alt yüzeye yayılmış bir remineralizasyon tabakasından söz edilememektedir.



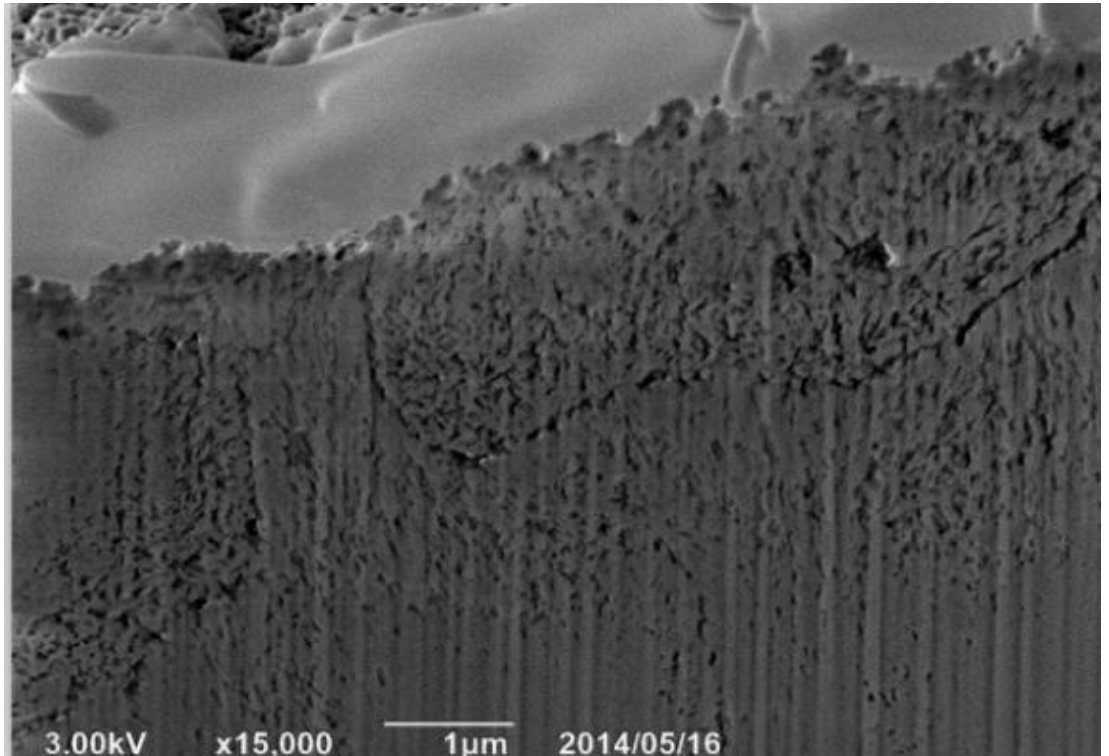
Resim 77. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 3000x(A) büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 78. pH döngüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 79. pH dögüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 9500x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



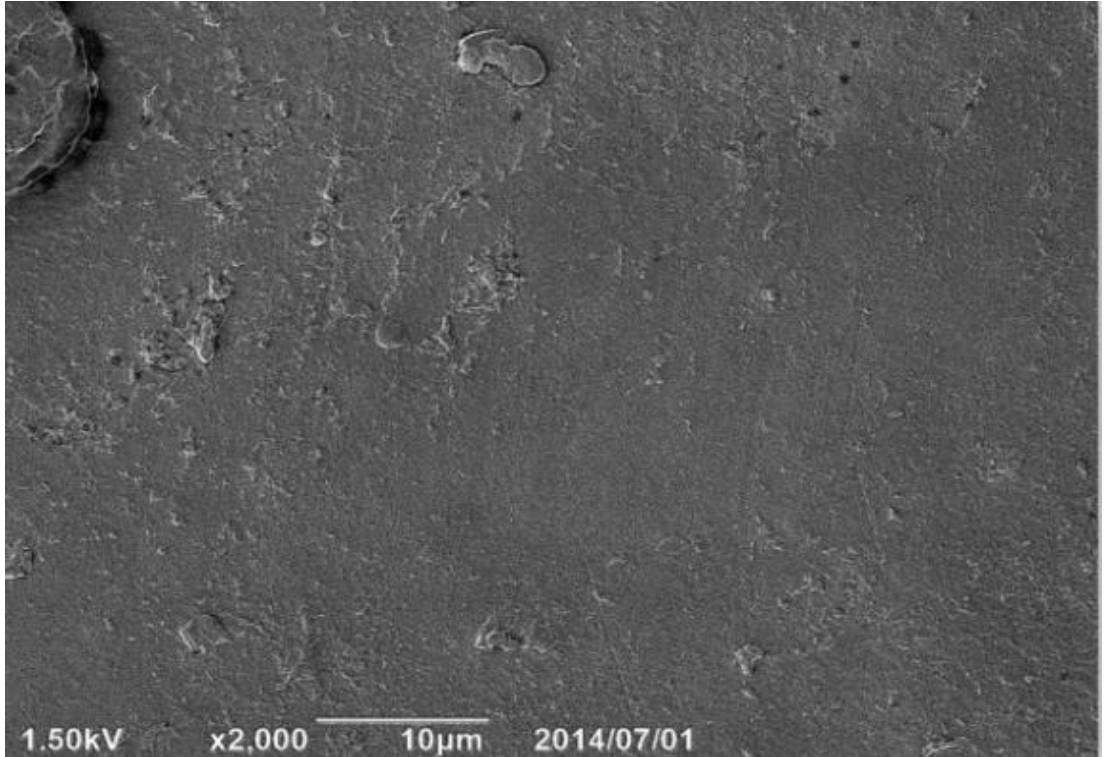
Resim 80. pH dögüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulanan mine alt yüzeyinin 15000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü

6.3.11.pH döngüsü ile Yapay Tükürük mine yüzeylerine ait SEM görüntülerinin değerlendirilmesi

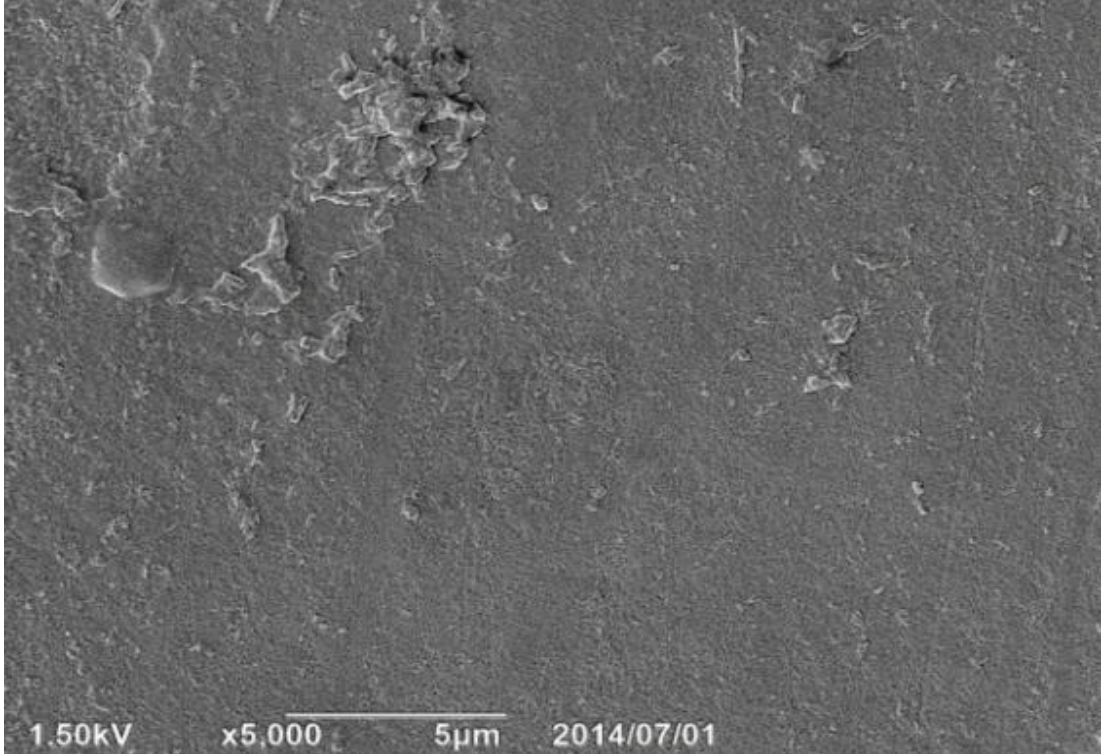
pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine örneklerinde;

- Başlangıç mine lezyonu sonrası yüzeyde oluşan pöröz yapının tamamen kaybolduğu görülmüştür.
- Demineralizasyon sonrası oluşan interprizmatik boşlukların tıkanıp görülmüştür.
- Mine de çukurcuklar gözlenmemiştir.
- Diş yüzeyinde pürüzlü bir film tabakası oluşturduğu görülmüştür.
- Remineralizasyonun yoğun çökelmeler şeklinde olduğu gözlenmiştir.
- Homojen ve düzenli remineralizasyon tabakasının oluştuğu gözlemiştir (Resim 81, 82, 83, 84, 85, 86).

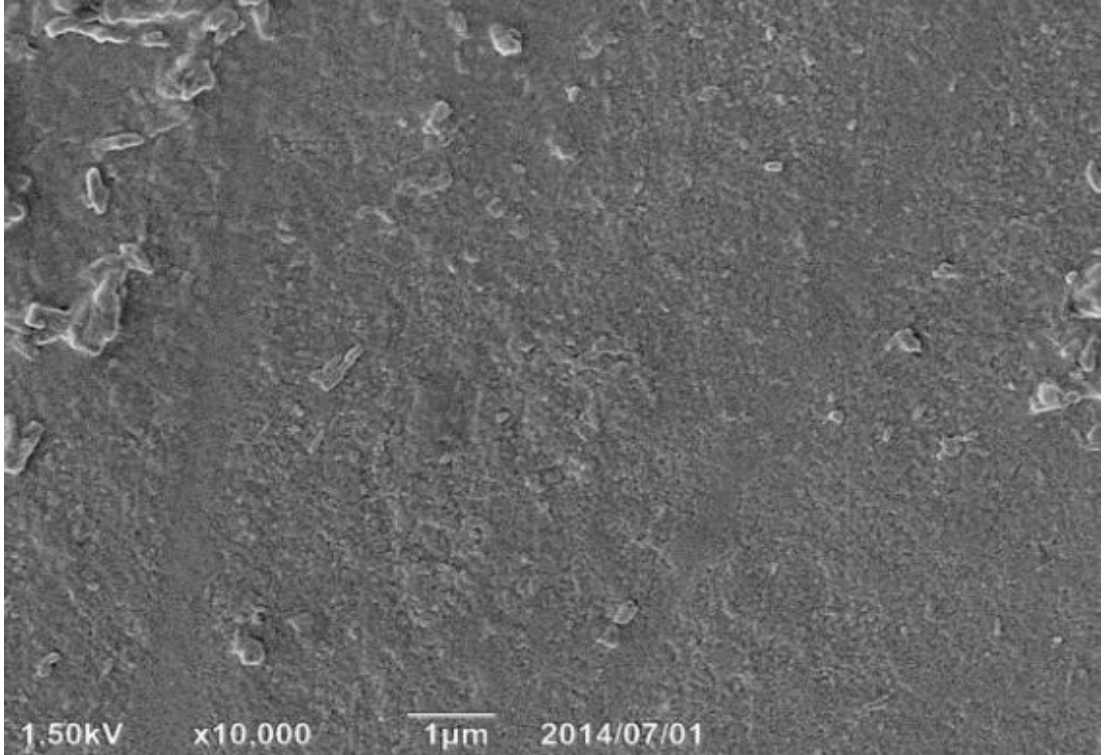
Oluşan yüzey tabakası Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme ajanlarına göre daha homojen ve düzgün olduğu, MI Paste Plus uygulaması sonrasında göre daha az homojen ve düzgün olduğu görülmüştür.



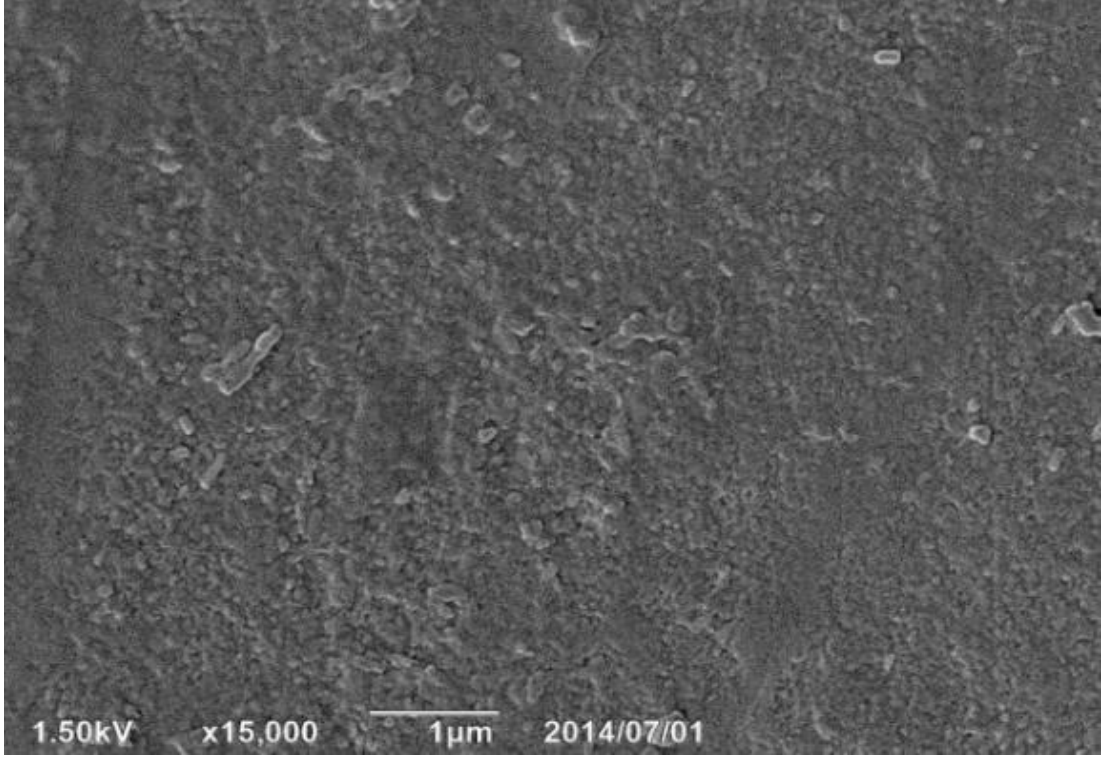
Resim 81. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 2000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



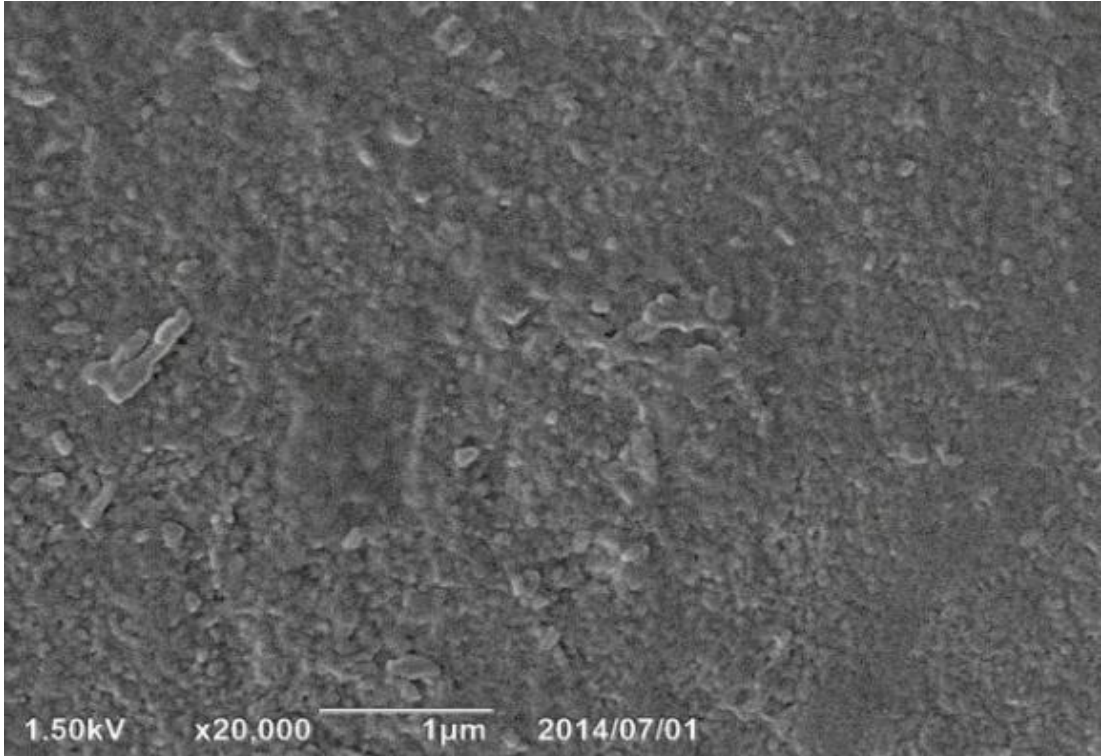
Resim 82. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 5000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



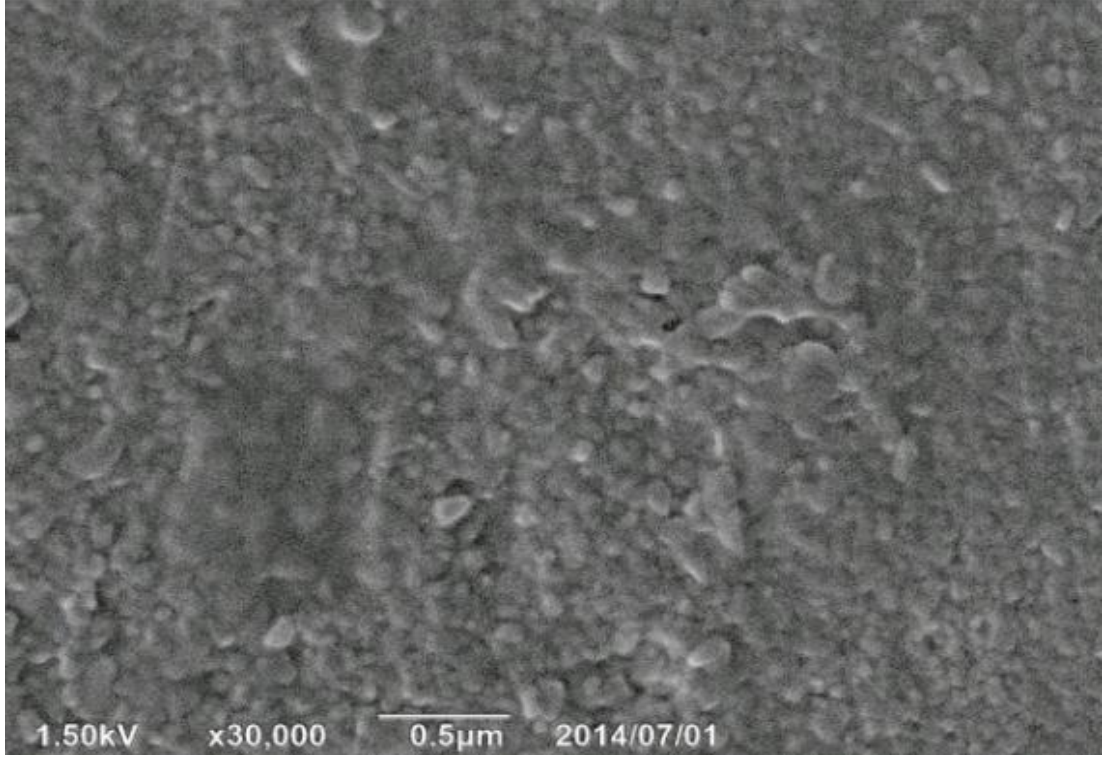
Resim 83. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 10 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 84. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 15 000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 85. pH siklüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 20000x büyütmede SEM-SE görüntüsü



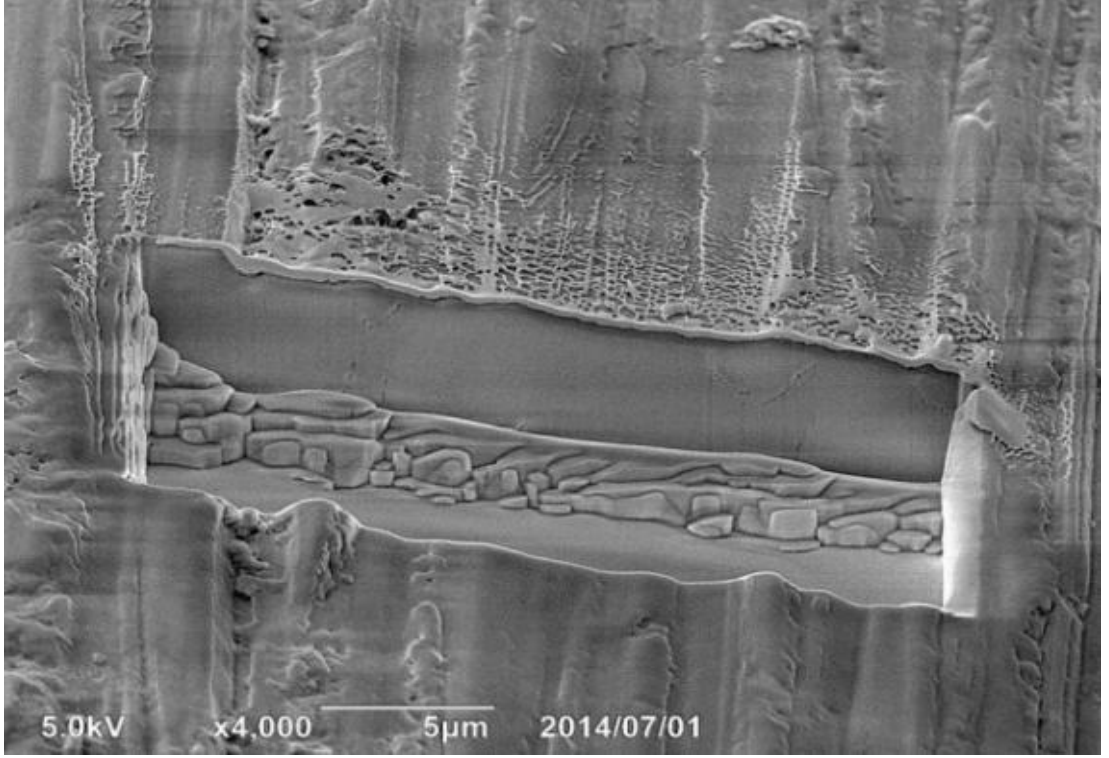
Resim 86. pH siklusu ile Yapay Tükürük uygulanan mine yüzeyinin 30000x büyütmede SEM-SE görüntüsü

6.3.12.pH Döngüsü ile Yapay Tükürük mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kesitlere ait SEM-SE görüntülerinin değerlendirilmesi

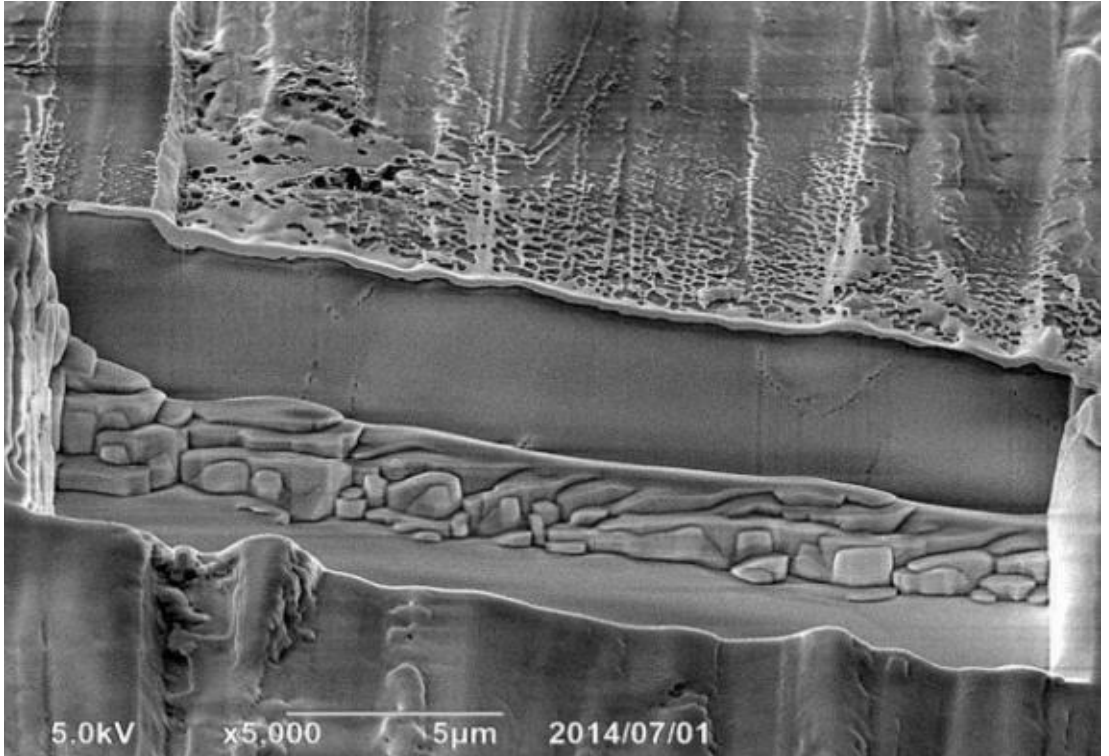
pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine örneklerinde;

- Başlangıç mine lezyonu sonrası mine alt yüzeyinde oluşan pöröz yapının kısmen kaybolduğu görülmüştür.
- Demineralizasyon sonrası mine alt yüzeyinde oluşan boşlukların kısmen tıkandığı görülmüştür.
- Mine alt yüzeyinde SEM örneklerine benzer homojen ve düzenli remineralizasyon tabakasının oluştuğu gözlemiştir (Resim 87, 88, 89, 90).

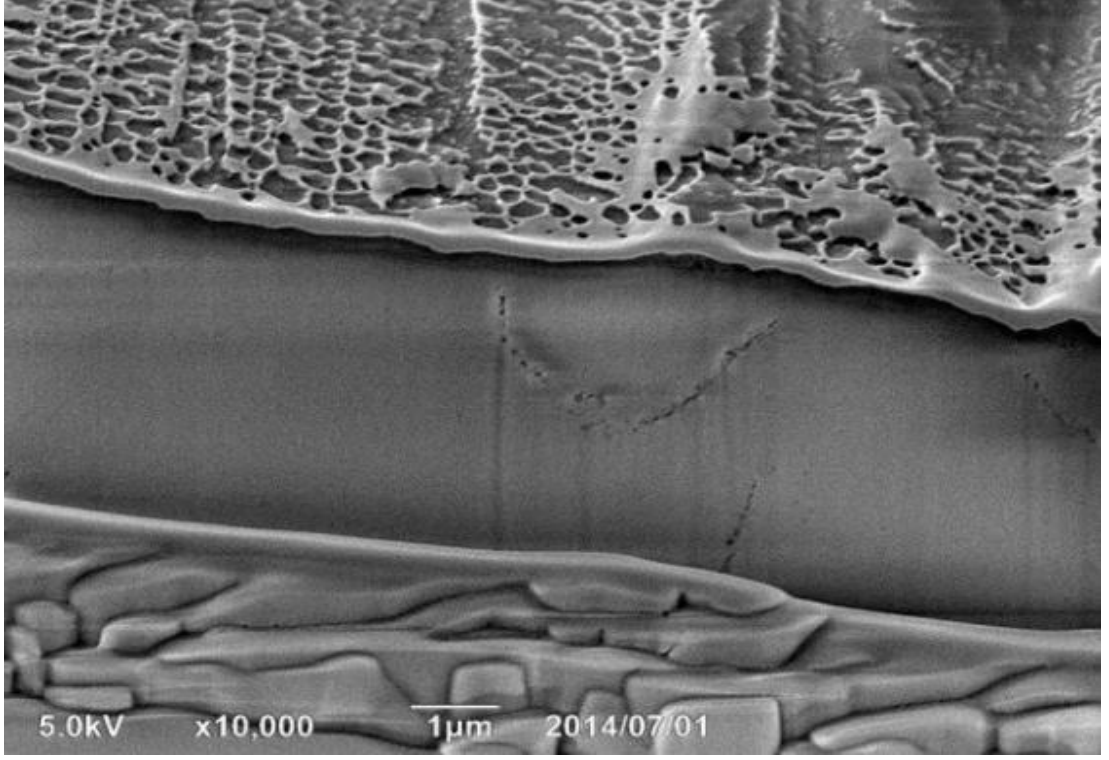
Oluşan mine alt yüzey tabakasının Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme uygulamaları sonrası oluşan mine alt yüzey tabakasına göre homojen ve pürüzsüz olduğu, MI Paste Plus uygulaması sonrası oluşan mine alt yüzey tabakasına göre daha az homojen ve pürüzsüz olduğu görülmüştür. Tüm alt yüzeye yayılmış bir remineralizasyon tabakasından söz edilebilmektedir.



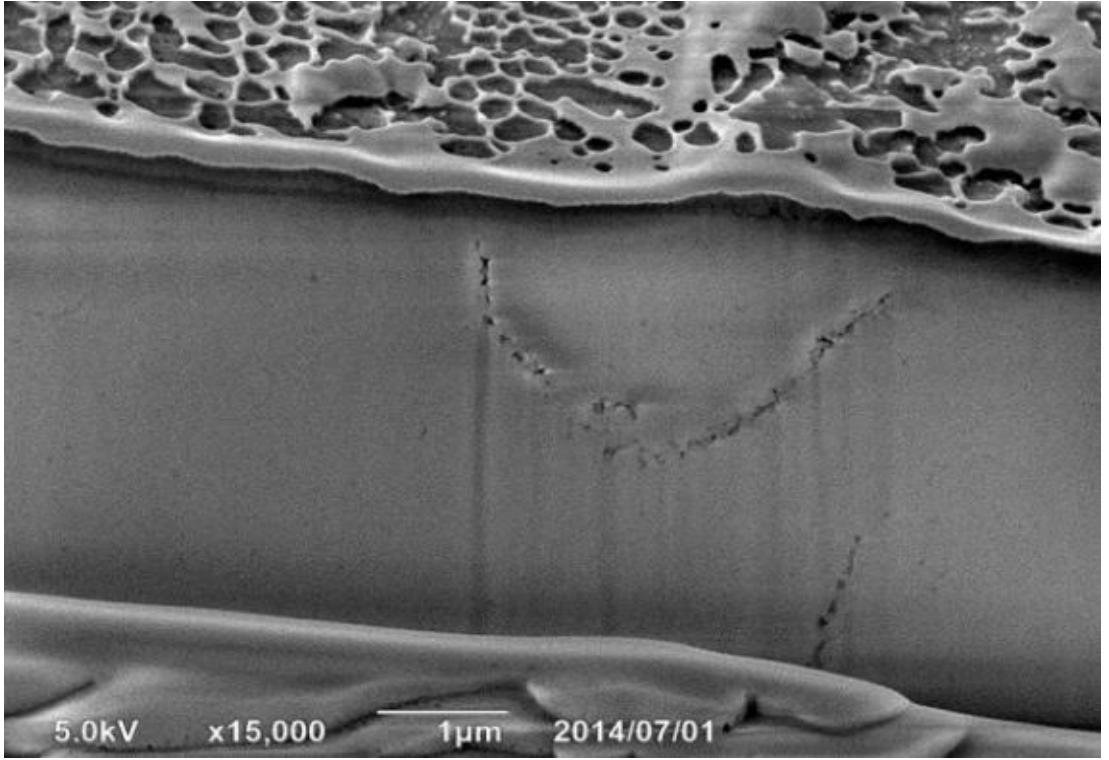
Resim 87. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 4000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



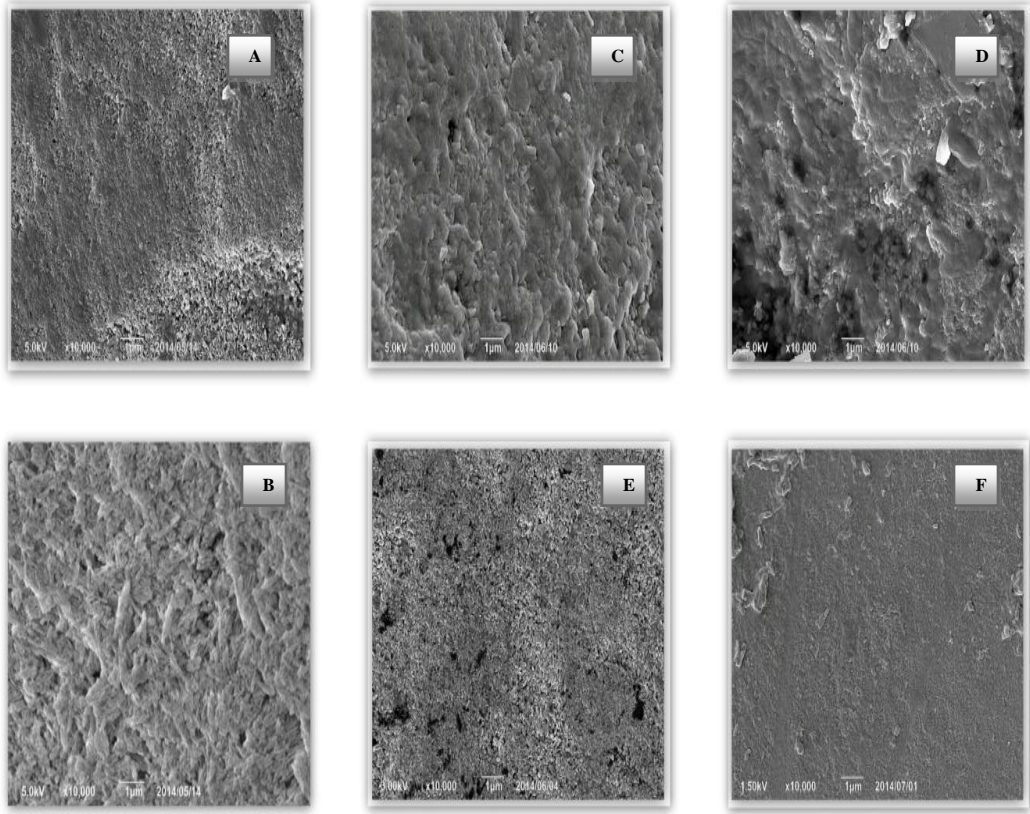
Resim 88. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 5000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



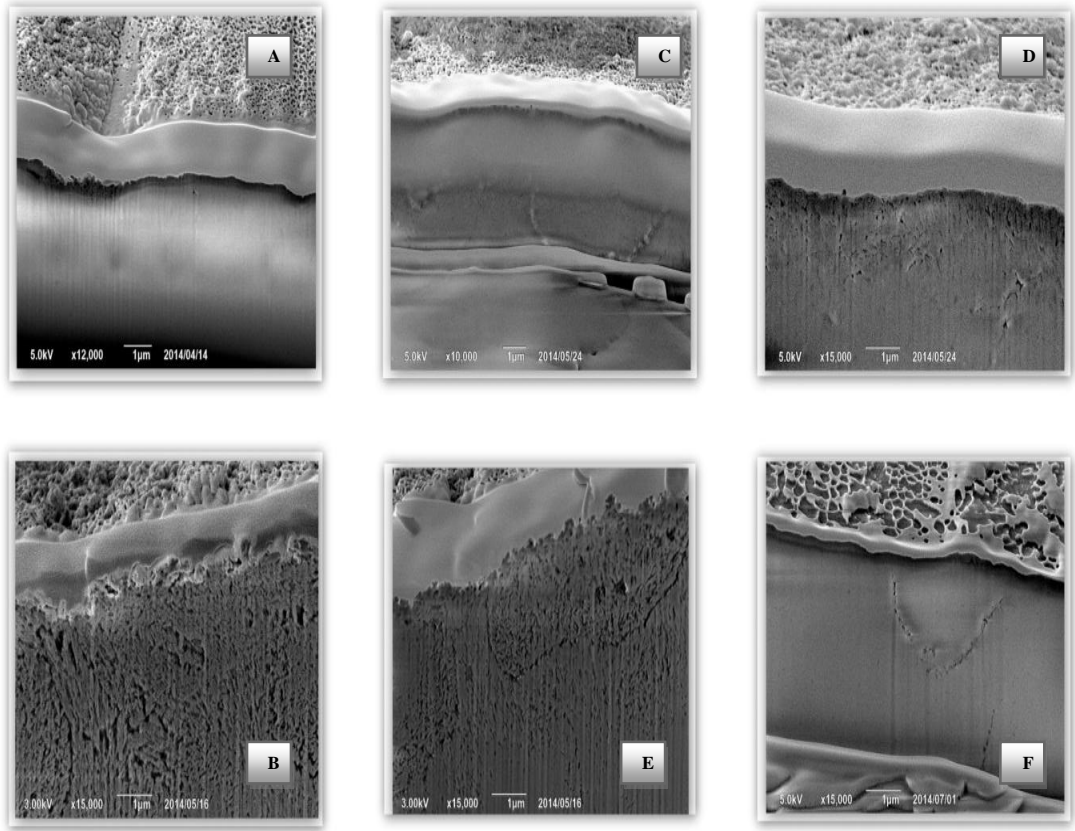
Resim 89. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 10 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 90. pH döngüsü ile Yapay Tükürük uygulanan mine alt yüzeyinin 15 000x büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü



Resim 91. Sağlam mine yüzeyinin 10 000x(A) büyütmede SEM-SE görüntüsü, Başlangıç mine lezyonunun 10 000x(B), pH dögüsü ile MI Paste Plus uygulamasının 10 000x(C), pH dögüsü ile Tooth Mousse uygulamasının 10000x(D), pH dögüsü ile Clinpro Tooth Creme uygulamasının 10000x(E) ve pH dögüsü ile YapayTükürük uygulamasının 10000x(F) büyütmede SEM-SE görüntüsü



Resim 92. Sağlam mine alt yüzeyinin 12 000x(A) büyütmelede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü, Başlangıç mine lezyonununun15 000x(B), pH dögüsü ile MI Paste Plus uygulamasınının 10 000x(C), Tooth Mousse uygulamasınının 15 000x(D), Clinpro Tooth Creme uygulamasınının 15000x(E) ve pH dögüsü ile YapayTükürük uygulamasınının 15000x(F) büyütmede FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntüsü

7. TARTIŞMA

Mine yüzeyinde çürük oluşumunun ilk belirtisi beyaz nokta lezyonu ya da başlangıç çürük lezyonu olarak adlandırılmaktadır. Başlangıç çürük lezyonları, çürük gelişiminin ilk veya en erken dönemi olarak tanımlanmaktadır. (Roberson ve ark, 2011, Jones ve Fried, 2006; Sawyer ve Donly, 2004). Son yıllarda Koruyucu Diş Hekimliğinin özellikle üzerinde durduğu konulardan biri de başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu ile sağlıklı durumuna kavuşabilmesidir. Bu amaçla sürekli yeni çalışmalar, yöntemler ve materyaller kullanılmakta ve geliştirilmektedir. Araştırmamızda da CPP-ACP içeren çeşitli remineralizasyon ajanlarının etkinliklerinin son yıllarda Diş hekimliği araştırmalarında kullanılmaya başlanılan fakat yüksek maliyetleri nedeniyle çok fazla yaygınlaşamayan çeşitli nanoteknolojik yöntemler kullanılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yapay çürük lezyonu oluşturularak çeşitli CPP-ACP içeren patların remineralizasyon etkinliğinin incelendiği pek çok çalışma olmakla (Huang ve ark, 2011; Patil ve ark, 2013; Faller ve ark, 2010) birlikte başlangıç mine lezyonu üzerine CPP-ACP içerikli remineralizasyon ajanlarının etkilerinin Raman Spektroskopisi, EDS analizi ve FIB/SEM ile görüntülediğini ve yüzey özelliklerinin karşılaştırıldığı çalışmaların bulunmaması nedeniyle, bu tez çalışması, bu konuda ilk özgün çalışma olma niteliğindedir.

7.1. Gereç ve Yöntemin Tartışılması

Çalışmada kullanılacak olan çekilmiş dişlerin araştırmaya başlanıncaya kadar geçen sürede dehidrate olmasını önlemek amacıyla çeşitli solüsyonlar içinde tutulması önerilmektedir. Saklama solüsyonları çalışma sonucunu etkilememesi açısından önem taşımaktadır. Distile su ve salin bu amaçla kullanılan solüsyonlardan bazılarıdır. Saklama ortamında mikroorganizmaların üremesini engellemek amacıyla etanol, formol, timol, sodyum hipoklorit, glutaraldehit gibi antimikrobiyal kimyasal maddeler ilave edilebilmektedir (Tosun ve ark, 2005).

Formaldehit solüsyonunun timol solüsyonuna göre minenin demineralizasyona olan direncini arttırabileceği rapor edilmiştir (Moura ve ark, 2004). Bu nedenle yaptığımız tez çalışmasında da çekilen dişler deney süresine kadar %0,1 timol içeren deiyonize su içerisinde bekletilmiştir (Mathias ve ark, 2011; Souza-Gabriel ve ark, 2010; Jayarajan ve ark, 2011; Vilchis ve ark, 2007).

Yapay çürük lezyonu oluşturularak çeşitli preparatların remineralizasyon etkilerinin incelendiği in-vitro çalışmalarda en az 5 ve en fazla 10 dişin kullanıldığı görülmektedir (Stodt ve Attin, 2004; Thaveesangpanich ve ark, 2005). Çalışmamızda da her grup için 10 örnek kullanılması planlanmıştır.

Mine örneklerinin demineralizasyonu ten Cate ve Arends ile Viera ve ark.'nın çalışmalarında kullandıkları demineralizasyon solüsyonu ile aynı içerikte olacak şekilde hazırlanmıştır (ten Cate ve Arends, 1978, Viera ve ark, 2005).

Mine yüzeyinde başlangıç çürük lezyonlarına benzer demineralizasyon alanları oluşturmak için belirtilen süreler her çalışma da farklı olarak gösterilmiştir (Jayarajan ve ark, 2011; Maas ve ark, 2013). Yaptığımız pilot çalışma ile hazırlanan mine örnekleri 24, 48 ve 72 saat ile 1 haftalık süreler boyunca demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş ve Raman Spektroskopisi, EDS ölçümleri ve FIB/SEM analizi gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler sonucunda 24 saatlik süre ile yapılan demineralizasyonun mine yüzeylerinde çok az miktarda yıkım yarattığı tespit edilirken, 48 ve 72 saatlik ve 1 haftalık sürelerde meydana gelen demineralizasyonlarda belirgin farklılıklar bulunmamıştır. Bu nedenle ten Cate ve Arends ile Viera ve ark. yaptıkları çalışmalar örnek alınarak, yapay çürük lezyonu oluşturmak amacıyla mine örnekleri 48 saat süre ile 30 ml'lik demineralizasyon solüsyonu bulunan kaplarda tutulmuştur. 48 saatlik süre sonrasında planlanan ölçümler yapılmıştır (ten Cate ve Arends, 1978, Viera ve ark, 2005).

pH döngü modeli, demineralizasyon ve remineralizasyon çalışmalarında bir materyalin etkinliği hakkında daha gerçekçi sonuçlar elde edilmesini sağlayan bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Valinoti, 2011; Jham, 2010).

Ağız ortamının fizyolojik koşullarında uzun sürelerde meydana gelen doğal süreçleri ve dinamik koşulları stimule edilebilmesi, uygulama süresinin kısa olması ve demineralizasyonda oluşturulan yapay çürüğün mine başlangıç lezyonlarına benzerlik göstermesi nedeniyle tercih edilmektedir. Döngü sürecinde asidik ve tükürük benzeri solüsyonların, remineralize edici özelliği araştırılan ürünlerin uygulanmasıyla zaman içinde mine yapısında meydana gelen değişimler değerlendirilebilmektedir (Nassur ve ark, 2013; Al-Shaker ve ark, 2014).

Yapay çürük lezyonu oluşturulması sonrasında ağız ortamındaki gün boyu değişen pH değişikliklerini taklit etmek amacıyla Viera ve arkadaşları. (2005) tarafından önerilen 7 günlük pH döngü modeli kullanılmıştır. İlk beş gün örnekler 37 °C'de karıştırmadan demineralizasyon solüsyonunda 6 saat (30 ml her örnek grup için) ve remineralizasyon solüsyonunda 18 saat (30 ml her örnek grubu için) bekletilmiştir. Son iki gün örnekler sadece remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir (Viera ve ark, 2005; ten Cate ve Arends, 1978).

CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanları Viera ve ark., Carvalho ve ark. ile Maas ve ark.'nın yaptıkları çalışmalara benzer şekilde günde iki defa, demineralizasyon öncesi ve sonrasında küçük bir fırça yardımıyla 4 dakika uygulanmıştır. Fazla remineralizasyon ajanı uzaklaştırılarak, örnekler 5 saniye deiyonize su ile yıkanarak demineralizasyon ya da remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. Bu işlem her grup için günde iki kez tekrarlanmıştır (Viera ve ark, 2008; Carvalho ve ark, 2014; Maas ve ark, 2013).

7.2.Bulguların Tartışılması

7.2.1.Raman spektroskopisi ölçümleri sonrası elde edilen bulgularının tartışılması

Tez çalışmamızda mine örneklerinin başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası Raman spektroskopisi ile yapılan ölçüm sonuçları benzer çalışmaların bulguları ile tartışılmıştır.

Tramini ve ark. Raman spektroskopi kullanarak yaptıkları in vitro çalışmada laktik asidin mine ve dentin üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Boyuna yapılan kesitler ile dişin yan yüzeyinde belirledikleri farklı noktalarda ölçümler yapmışlardır. Mine için 963 cm^{-1} bantındaki ölçümü dikkate almışlardır. Dentin için ise organik ve inorganik yapıya göre 980 ile 3000 cm^{-1} bant aralığındaki değerler dikkate alınmıştır. Dentin dokusunun farklı bölgelerinde yapılan ölçümlerde laktik asitin bu bölgelere özel etkileşimi ve bu bölgelerin farklı derecede asit direnci sağladığını belirlemişlerdir. Dentin demineralizasyonunun 7 günlük süreç sonunda görülebildiği ve 21 günlük demineralizasyon sonrasında maksimum seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Mine dentin sınırı asit ataklarına karşı dirençli bir bölge oluşturmaktadır. Yapılan çalışma sonucunda asit ataklarının ilk gününde tüm diş yüzeyinde özellikle mine yüzeyine doğru asit ataklarına karşı direnç oluştuğunu belirtmişlerdir. Raman spektroskopisi sayesinde dental yapıların kıyaslanabileceğini ve olabilecek her türlü mineralizasyon değişikliğinin tespit edilebileceğini belirtmişlerdir (Tramini ve ark, 2000).

Raman spektroskopisi ile başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasında mine yüzeylerindeki farklılıklar incelendiğinde çalışmamızda Raman spektralarının yoğunluk farkı ile mine yüzeyindeki değişiklikler tespit edilebilmiştir.

Tsuda ve Arends çalışmalarında diş çürüklerini tespit için 10x büyütmedeki Raman mikroskoplarının yeterli olabileceği belirtilmişken (Tsuda ve Arends, 1993), ilerleyen çalışmalar daha yüksek büyütmede daha doğru veriler alındığını ortaya koymuştur. 40x, 50x ve 100x gibi büyütmelerde daha doğru sonuçlar elde edilebildiğini, sağlam ve çürük yüzeyler arasında bant yoğunluğunun daha net görülebildiğini belirtmişlerdir. (Bremard ve ark, 1985; Ko ve ark, 2008; He ve Swai, 2009). Bizim çalışmamızda da Raman spektroskopisi değerlerini toplanırken x50 büyütmeden faydalanılmıştır.

Ko ve ark., Karan ve ark., Miyazaki ve ark. yaptıkları çalışmalarda Raman spektroskopisi ölçümleri öncesinde Raman spektrumlarını standartize etmişlerdir. Silikonun pik değeri 520 cm^{-1} olması ve bunun standart değer olarak kabul görmesi nedeniyle ölçümler öncesinde Raman spektroskopisi ölçümlerinin doğruluğunun tespit için silikon ile standardizasyon yapmışlardır (Ko ve ark, 2008; Karan ve ark, 2009; Miyazaki, 2003). Bizim çalışmamızda da Raman spektroskopisi ölçümlerinin doğruluğunun tespit için silikon ile standardizasyon yapılmıştır.

Kinoshita ve ark. 785 nm dalga boyunda merkezi dalga boyu 1400 cm^{-1} olarak ayarladıkları Raman spektroskopisi ölçümlerini kullanarak yaptıkları çalışmada sağlam mine yüzeyinde Raman spektroskopisi değerini 960 cm^{-1} de güçlü bir titreşim şeklinde bulmuşlardır (Kinoshita ve ark, 2008).

Wentrup-Byrne ve ark. yaptıkları çalışmada minenin farklı tabakalarından Raman spektroskopisi ölçümleri yapmışlar ve elde ettikleri pik değerlerine göre minenin haritasını çıkarmaya çalışmışlardır. Minenin farklı noktalarında yaptıkları ölçümlerde hidroksiapatit belirteci 960 cm^{-1} değerini sürekli tespit edebilmişlerdir. (Wentrup-Byrne ve ark, 1997).

Mohanty ve ark. Raman spektroskopisi kullanarak başlangıç çürük lezyonlarının büyümesinin karakterizasyon analizini yapmışlardır. Fosfat iyonunun farklı dört titreşimsel modunun bulunduğunu belirtmişlerdir. Demineralizasyonda bütün fosfat piklerini tespit etmişler ve bütün fosfat piklerinin demineralizasyon derecesine göre anlamlı bulmuşlardır. hidroksiapatit içerisindeki P-O bağlarının gerilimini gösteren 960 cm^{-1} etrafında yer alan fosfat pikinin hidroksiapatit molekülü içerisindeki değiştirilemeyen fosfat ve oksijen bağı ile ilgili titreşimsel enerjiyi gösterdiğini belirtmişler ve bu güçlü fosfat pikinin lezyonları tanımlamak için en etkili pik olduğunu belirtmişlerdir. Raman spektroskopisinin başlangıç çürük lezyonlarının tayininde sensitivite ve spesiviteye sahip olduğunu fakat incelenen yüzey tabakasının mineral bakımından yoğun olmasının analizi daha karışık hale getirebileceğini belirtmişlerdir (Mohanty ve ark, 2013). Bizim yaptığımız çalışmada da benzer ölçüm değer aralıklarında sağlam mine yüzeyine ait Raman spektroskopi değerlerinde hidroksiapatit belirteci 960 cm^{-1} olarak sürekli tespit edilmiştir

Ko ve ark. yaptıkları çalışmada sağlam ve çürük mine yüzeyleri arasında Raman spektroskopi ölçümü yapıp, hidroksiapatitin pik değeri olan 960 cm^{-1} ile kıyaslamışlardır. 960 cm^{-1} pik değerlerinin sağlam mine yüzeylerinde, çürük mine yüzeylerine göre daha yüksek yoğunlukta olduğunu ve bu azalmanın hidroksiapatit yapısındaki bozulmaya bağlı olduğunu bulmuşlardır (Ko ve ark, 2008).

Alex ve ark. yaptıkları çalışmada Raman spektroskopisi ile mine yüzeylerindeki başlangıç çürüğü oluşumunu araştırmışlar. Çürük oluşumunu görülen dişlerde Raman spektroskopi yoğunluğunu 960 cm^{-1} de başlangıç değerine göre azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir (Alex ve ark, 2006).

Kinoshita ve ark. Raman spektroskopisi kullanarak sağlam ve çürük mine örneklerini inceledikleri çalışmada iki farklı noktadan 960 cm^{-1} tepe noktası olacak şekilde ölçüm yapmışlardır. Hidroksiapatit belirteci 960 cm^{-1} değerinin sağlam minede çürük mineye göre daha yüksek, daha güçlü bir değerde olduğunu yapılan yoğunluk ölçümüne bağlı olarak belirtmişlerdir. (Kinoshita ve ark, 2008).

Gilchrist ve ark. yaptıkları çalışmada sağlam ve erozyona uğramış mine yüzeylerindeki değişimleri Raman spektroskopisi ile incelemişler ve yüzeyde meydana gelen değişim kıyaslamalarını 960 cm^{-1} Raman pik değerine göre kıyaslamışlardır. Farklı noktalardan aldıkları ölçümlerde 960 cm^{-1} Raman pik değerinin görülüp görülmediğini kontrol etmişlerdir. Sağlam ve erozyona uğramış mine yüzeyleri arasındaki farklılıkları ise SEM ile değerlendirmişlerdir. SEM ile yaptıkları analizde sağlam ve erozyona uğramış mine yüzeyleri arasında belirgin fark görülmesine rağmen, erozyona uğramış ya da sağlam mine yüzeylerinin her yerinde 960 cm^{-1} Raman pik değerini elde etmişlerdir. Fakat elde ettikleri Raman spektroskopi ölçümlerinde pik değerleri doğru noktada oluşmasına rağmen, değere bağlı yoğunluğun farklı olduklarını ve erozyona uğramış yüzeylerde bu değer başlangıç değerine göre yoğunluğunun düşük olduğunu belirtmişlerdir (Gilchrist ve ark, 2007)

Çalışmamızda da başlangıç Raman spektroskopisi ölçümleri ile demineralizasyon sonrası ölçümler arasında farklılık bulunmaktadır. Demineralizasyon sonrasındaki ölçümlerin yoğunluk değeri, başlangıç yoğunluk değerlerine göre azalma göstermiştir. Hidroksiapatit belirteci 960 cm^{-1} değeri sağlam mine yüzeylerinde her noktada tespit edilmiş, yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeylerine göre yoğunluk olarak daha yüksek ve güçlü bir değerde çıkmıştır.

Tsuda ve ark. APF uygulaması sonrasında mine yüzeyinde meydana gelen kalsiyum florürü belirlemek Raman spektroskopisi ile araştırmışlardır. SEM ile kalsiyum florür oluşumunu ile mine yüzeyinde meydana gelen değişimleri belirlemişler. Ayrıca Raman spektroskopisi ile yüzeyde oluşan kalsiyum florürün saf mı yoksa kalsiyum florüre benzeyen yapıda bir oluşum mu olup olmadığını tespit etmeye çalışmışlardır. Flor uygulanmamış mine yüzeyinde 322 cm^{-1} bantında kalsiyum florür pikini görmüşlerdir. Fakat çok düşük dalga boyunda yer alması ve arka plandaki titreşimlerden ötürü çok net tespit edilememektedir. Potasyum hidroksit uygulaması sonrası kalsiyum florürün piki tespit edilememiştir. Mine tabakasının kenar kısımlarında kalsiyum florür tespit edilebilirken, mine tabakasının kalınlaşması ve floresensin artması nedeniyle kalsiyum florür ana sinyalden ayrılmadığında tespit edilememiştir. Potasyum hidroksit uygulaması sonrasında kalsiyum florürün görülmediği belirtilmiştir (Tsuda ve ark, 1993).

Tsuda ve Arends yaptıkları çalışmada kalsiyum florür belirlemede standart yöntemin potasyum hidroksit solüsyonu ile olduğunu belirtmişlerdir. Fakat florun türüne ve incelenen bölge farklılıklarına göre bu metodun yetersizlikleri olduğunu belirtmişlerdir. Raman spektroskopisinin kalsiyum florürü belirleyebileceğini fakat düşük oranda hassasiyetle belirleyebildiği için hazırlanacak mine örneğinin ince ve kama gibi ince uçlu bir örnek olması gerektiğini belirtmişlerdir (Tsuda ve Arends, 1997) Yaptığımız çalışmada da mine örnekleri ince boyutlarda hazırlanmıştır. Buna rağmen tüm Raman spektrumlarında kalsiyum florür sürekli tespit edilememiştir. Mine tabakasının kalınlığının homojen olmasına rağmen yeterli incelikte olması kalsiyum florür tespitinde önem taşımaktadır.

7.2.2. EDS analizi sonrası elde edilen bulgularının tartışılması

Tez çalışmamızda başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasındaki mine örneklerindeki EDS analizi elemental dağılım ile elde edilen sonuçlar benzer çalışmalarla tartışılmıştır.

Yoshimura ve Suda, minedeki hidroksiapatitin ideal Ca/P molar oranının 1,66, Legeros ise bu oranın 1,63 olduğunu belirtmiştir. Her iki araştırmacı da hidroksiapatit yapısında meydana gelen çözümler sonucu bu oranın azalacağı belirtmişlerdir (Legeros, 1994; Yoshimura ve Suda, 1994). Çalışmamızda da sağlam mine yüzeylerinde hiçbir işlem yapmadan önce yaptığımız EDS ölçümlerimizde Ca/P molar oranı 1,68 ile 1,6 arasında bulunmuştur.

Yoshimura ve Suda, Legeros ve Bakan yaptıkları çalışmalarında yapısal çözümler sonucunda hidroksiapatitin farklı fazlarının oluştuğunu ve ideal Ca/P molar oranının da düştüğünü belirtmişlerdir. Bu değişim sonrasında yüzeyin ya da içeriğin ideal hidroksiapatitten uzaklaştığını belirtmişlerdir (Yoshimura ve Suda, 1994; Legeros, 1994; Bakan, 2011).

Thanatvarakorn ve ark. yaptıkları çalışma sonucunda EDS hesaplamalarında ortaya çıkan Ca/P molar oranının hidroksiapatit yapısı bozulup ortokalsiyumfosfat yapısına döndüğünde 1,60'ın altına düştüğünü belirtmişlerdir. Yapısal bütünlüğün tamamen bozulduğu durumlarda ise bu oranın 1,5-1,33 arasındaki değerlerini gösterebildiğini belirtmişlerdir (Thanatvarakorn ve ark, 2012).

Arsecularatne ve Hoffman yaptıkları çalışmada demineralizasyona uğramış mine yüzeyini EDS ile incelemişlerdir. Demineralizasyon sonrasında Ca/P molar oranının başlangıç değerine göre düştüğünü belirtmişlerdir (Arsecularatne ve Hoffman, 2014).

Çalışmamızda demineralizasyon sonrasında yaptığımız EDS analizlerinde Ca/P molar oranı 1,52 ile 1,43 arasında bulunmuştur. Demineralizasyon sonrasında hidroksiapatit tabakasındaki bozulmaya bağlı olarak Ca/P molar oranı düşmüştür.

Gjorgievska ve ark. farklı flor içeriğine sahip diş macunlarının mine yüzeyindeki remineralizasyon potansiyellerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, demineralizasyon sonrasında uygulanan macunların etkilerini EDS analizi ile yapmışlardır. Demineralizasyon sonrasında mine yüzeylerindeki EDS analizlerinde Ca ve P değerlerinde yüzdesel ve oransal bir azalma olduğunu ve remineralizasyon sonrasında kullanılan ajana göre bu değerlerde belirli oranlarda artış olduğunu belirtmişlerdir (Gjorgievska ve ark, 2013).

Kwon ve ark. Nd:YAG lazer ile pürüzlendirilmiş mine yüzeylerindeki değişimi X-ray difraksiyon analizi, EDS, Raman spektroskopisi ve lazer konfokal taramalı mikroskopu ile incelemişlerdir. Mine yüzeyini iki bölgeye ayırmışlar ve bir yüzey lazer ile pürüzlendirilmiş yüzey olarak belirlenirken diğer yüzey %37'lik fosforik asit ile pürüzlendirilmiş ve kontrol bölgesi olarak incelenmiştir. EDS analizleri sonucunda işlem yapılmamış mine yüzeydeki Ca/P oranına göre, %37'lik fosforik asitle pürüzlendirilmiş mine yüzeyindeki Ca/P oranında az miktarda düşüş görülürken, Nd:YAG lazer uygulaması yapılan yüzeydeki Ca/P oranında başlangıç durumuna göre hafif bir artış görülmüştür. Uygulamalar öncesi ve sonrasındaki Ca/P oranındaki fark ise belirgin bulunmuştur (Kwon ve ark, 2003).

Zheng ve ark. yaptıkları çalışmada silikon karbit kağıtlarla zımparalanmış mine sitrik asit içersine atılmış ve Tooth Mousse grubunun remineralizasyonuna bakmışlar. EDS analiz sonuçlarında kalsiyum ve fosfat değerlerinin erozyonda düştüğünü bununda düşük mineral seviyelerini ifade ettiğini belirtmişlerdir. Remineralizasyon sonrasında kalsiyum ve fosfat değerlerinin daha yüksek ve güçlü olduğunu belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmamızda da kalsiyum ve fosfat değerleri demineralizasyon sonrasında başlangıç değerlerine göre düşüş göstermiştir. Remineralizasyon sonrasında da bu oranlar yükselmiştir (Zheng ve ark, 2013).

Gjorgievska ve ark, Kwon ve ark ve Zheng ve ark EDS analizleri sonucunda Ca/P yüzdesel oranı inceleyerek çalışmalarını yapmışlardır. Bizim çalışmamızda da EDS analizleri sonrasında Ca/P molar oranı dikkate alınarak yapılan analizde demineralizasyon sonrasında Ca/P molar oranında azalma, remineralizasyon sonrasında bu değerlerde artış tespit edilmiştir. Çalışmamızın sonuçları Gjorgievska ve ark, Kwon ve ark ve Zheng ve ark.'larının çalışmalarının Ca/P oranları ile benzerlik göstermektedir (Kwon ve ark, 2003; Gjorgievska ve ark, 2013;Zheng ve ark, 2013).

Sathe ve ark. MI Paste Plus, Remin+, % 1,23'lük APF'nin remineralizasyon etkilerini inceledikleri çalışmalarında EDS analizleri sonucunda demineralizasyon sonrası Ca ve P değerlerinin başlangıç değerlerine göre düştüğünü ve remineralizasyon sonrasında bu değerlerin yükseldiğini belirtmişlerdir (Sathe ve ark, 2014).

Narayana ve ark. yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeyleri üzerinde biyoaktif cam içerikli ürünün (Novamin), MI Paste Plus ve Tooth Mousse uygulamaları ile meydana gelen elementel değişiklikleri EDS kullanarak karşılaştırmışlardır. EDS analizleri sonrasında tüm gruplar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak başarılı bulunmuş, MI Paste Plus grubu ile Novamin karşılaştırıldığında belirli bir fark tespit olmadığı tespit edilmiştir. (Narayana ve ark, 2014).

Bizim çalışmamızda da EDS analizlerinde demineralizasyon sonrasında Ca ve P değerlerindeki düşüş MI Paste Plus ve Tooth Mousse uygulamaları ile meydana getirilen remineralizasyon sonrasında artış göstererek benzer şekilde sonuçlanmıştır. Sathe ve ark. yaptıkları çalışmanın sonuçlarına benzer bir sonuç elde edilmiştir. EDS analizleri sonrasında Clinpro Tooth Creme grubu hariç tüm gruplar kontrol grubuna göre remineralizasyon etkisini değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç Narayana ve ark. yaptıkları çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Hegde ve Moany yaptıkları çalışmada Tooth Mousse'un mine yüzey altı lezyonlarının remineralizasyonu üzerindeki etkinliğini SEM-EDX analiz yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Mine örnekleri 4 günlük demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş ve yapay çürük lezyonları oluşturulmuştur. Daha sonra günde 2 kez CPP-ACP ajanı uygulanmış ve yapay tükürük içerisinde bekletilmiştir. 7, 14, 21, 28, ve 35. günlerde SEM-EDX analizi yapılarak mineral içeriğindeki değişiklik değerlendirilmiştir. SEM-EDX analizlerinde Ca/P ağırlık yüzdesinin oranı kullanmışlardır. Ortalama Ca/P ağırlık oranı başlangıçta ortalama 2 iken, demineralizasyon sonrası 1,47 ile 1,52 değerlerine düşmüştür. Ca/P ağırlık oranı remineralizasyon sonrasında 35. gün sonunda 1,47-1,53 ortalama değerlerinden 1,93 ortalama değerine yükselmiştir. Bu çalışmadan elde edilen verilere göre Ca/P oranı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (Hedge ve Moany, 2012).

Topaloğlu yaptığı çalışmada hem daimi diş hem de süt dişi mine örneklerine 4 dk. süre ile CPP-ACP içeren pat (Tooth Mousse) uygulanması yapmış ve herhangi bir tedavi uygulanmayan kontrol grubu ile pat uygulanan grup arasında Ca/P oranındaki değişimleri karşılaştırmıştır. Tooth Mousse uygulanmasının herhangi bir tedavi uygulanmayan kontrol grubuna göre Ca/P yüzdesel oranını anlamlı derecede arttırdığı ve mine demineralizasyonunu önlediği tespit edilmiştir. (Topaloğlu, 2009).

Hegde ve Moany başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon işlemleri sonrasında EDS analizleri sonucunda Ca/P ağırlık oranını Topaloğlu ise Ca/P yüzdesel oranını çalışmalarında kullanmışlardır. Çalışmada da başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasında EDS analizlerinde Ca/P molar oranını kullandık. Başlangıçta Ca/P molar oran ortalaması 1,64 iken, demineralizasyon sonrasında bu oran ortalaması 1,52'e düşmüştür. Tooth Mousse uygulaması ile remineralizasyon sonrasında Ca/P molar oranı 2,08'e yükselmiştir. Çalışmamız sonucunda Clinpro Tooth Creme grubu hariç, diğer gruplar kontrol grubuyla kıyaslandığında remineralizasyon sonrası EDS analizleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Farklı oranlar incelense de çalışmanın sonuçları Hedge ve Moany ve Topaloğlu'nun çalışmasına benzer şekilde çıkmıştır.

Zhou ve ark. başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon işlemleri sonrasında Elektron Mikroprob ile kimyasal analizlerini yapmışlar ve Ca/P molar oranındaki değişimleri incelemişlerdir. Yaptığımız çalışmada kimyasal analiz için EDS kullanılmış ve başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasında EDS analizlerinde Ca/P molar oranını kullanılmıştır. Tooth Mousse grubu için başlangıçta ortalama Ca/P molar oranı 1,64 iken, demineralizasyon sonrasında bu oran ortalaması 1,52'e düşmüştür. Tooth Mousse uygulaması ile remineralizasyon sonrasında Ca/P molar oranı 2,08'e yükselmiştir (Zhou ve ark, 2014).

Zhou ve ark. yaptıkları çalışma ile tez çalışmamız sonucunda farklı cihazlarla Ca/P molar oranı incelenmiş olsa da, çalışmamız sonuçları Tooth Mousse grubunda Zhou ve ark. çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bizim çalışmamızda Ca/P molar oranındaki artış remineralizasyon sonrasında daha yüksek değerlere çıkmıştır.

Bar-Hillel ark. başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasında EDS analizlerinde Ca/P molar oranını kullanmışlardır. Yaptığımız çalışmada kimyasal analiz için EDS kullanılmış ve başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasında EDS analizlerinde Ca/P molar oranını kullanılmıştır. Çalışmamızda Tooth Mousse grubu için başlangıçta ortalama Ca/P molar oranı 1,64 iken, demineralizasyon sonrasında bu oran ortalaması 1,52'e düşmüştür. Tooth Mousse uygulaması ile remineralizasyon sonrasında ortalama Ca/P molar oranı 2,08'e yükselmiştir. Remineralizasyon işlemi sonrasında Tooth Mousse grubu başarılı sonuçlar vermesine rağmen MI Paste Plus grubu daha başarılı sonuçlar vermiştir. Çalışmamızın sonuçları Bar-Hillel ark. yaptıkları çalışma ile benzer sonuçlar göstermektedir (Bar-Hillel ve ark, 2012).

8.1.3. SEM analizi sonrasında elde edilen bulgularının tartışılması

SEM dış sert dokularının rezorpsiyonunun in vitro olarak ölçülmesinde kullanılan ilk tekniktir ve günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik ile numune yüzeyine elektron dağıtılır ve alınan sinyal ile yüzey topografyası ve bileşimi hakkında bilgi sağlanır. SEM ile farklı derinliklere sahip numunelerin tamamına odaklanarak yüksek çözünürlüklü 3 boyutlu görüntüler elde edilebilir (Field ve ark, 2010).

FIB; SEM ile entegre bir sistem olup; SEM ile yüksek ayrıntı ile inceleme yapılabilmesine olanak sağlamaktadır. SEM, elektronlar ile ölçüm sağlarken FIB, hem elektron hem de iyonlar yardımıyla ölçüm sağlamaktadır (Drobne, 2013). Araştırmamızda mine örnekleri başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon aşamalarında FIB/SEM cihazı ile incelenmiş ve elde edilen sonuçlar benzer çalışmalarla tartışılmıştır.

Kim ve ark. ile Zhou ve ark. yaptıkları çalışmada sağlam mine yüzeyinin SEM görüntüsü rod yapısı düzgün sıralanmış, mine kristalleri homojen ve düzgün yapıya sahip olarak belirtilmiştir (Kim ve ark, 2012; Zhou ve ark, 2012).

Sathyakumar ve ark. yaptıkları çalışmada SEM analizlerinde başlangıç mine yüzeyinin düzgün ve pürüzsüz olduğu gösterilmiştir (Sathyakumar ve ark, 2011).

Çalışmamızda da başlangıç mine örneklerinde SEM analizleri sonrasında mine yüzeylerinde rod yapısı düzgün sıralanmış, mine kristalleri homojen ve düzgün yapıya sahip olarak belirlenmiştir.

Kim ve ark. ile Zhang ve ark. yaptıkları çalışmada mine yüzeyinde başlangıç çürükleri oluşturarak SEM analizleri ile mine yüzeylerini incelemiştir. Demineralize mine de farklı rod genişlikleri ve organize olmayan rod görüntüsü olduğunu ayrıca bazı mine kristallerinin birleştiğini, mine yüzeyinin düz olmayıp, çukurcuklar olduğunu belirtmişler (Kim ve ark, 2012; Zhang ve ark, 2011).

Elkassas ve Arafa yaptıkları çalışmada farklı kalsiyum fosfat ve flor sistemlerinin mine remineralizasyonuna etkisini SEM ile incelemişlerdir. Demineralizasyon sonrasında SEM analizlerinde mine yüzeylerinin bütünlüklerinin bozulduğu ve prizmalar arası kristallerin çözülmüş ve poröz bir yapının oluştuğunu belirtmişlerdir (Elkassas ve Arafa, 2014).

Gjorgievska ve ark. farklı içerikte olan diş macunlarının yapay çürük oluşturulmuş mine yüzeylerindeki remineralizasyon potansiyellerini karşılaştırdıkları çalışmalarında demineralizasyon sonrasında, uygulanan macunların mine yüzeylerindeki remineralizasyon etkilerini SEM ile incelemişlerdir. Demineralizasyon sonrasında SEM incelemelerinde mine yüzeylerinde poröz bir yüzey oluştuğunu belirtmişlerdir (Gjorgievska ve ark, 2013).

Topaloğlu yaptığı çalışmada hem daimi diş hem de süt dişi mine örneklerine 4 dk. süre ile Tooth Mousse uygulanması yapmış ve herhangi bir tedavi uygulanmayan kontrol grubu ile mine yüzeylerindeki değişimleri de SEM ile karşılaştırmıştır. Demineralizasyon sonrasında elde edilen SEM görüntülerini değerlendirdiğinde hem süt dişlerinin hem de daimi dişlerde mine prizmalarının bütünlüğünün bozulduğu, prizma korlarının çözüldüğü belirtmişlerdir (Topaloğlu, 2009). Yaptığımız çalışmada demineralizasyon sonrasında mine yüzeylerinde poröz ve çukurcuklu yüzey görüntüsü tespit edilmiş ve analiz sonuçlarımız Kim ve ark., Zhang ve ark., Elkassas ve Arafa, Topaloğlu ve Gjorgievska ve ark.'nın çalışma sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

Nicolae ve Amariei, üç farklı sodyum florür solüsyonunun topikal uygulanması sonrasında mine yüzeyinde kalsiyum ve flor iyonlarının analitik ve morfolojik değişimlerini değerlendirdikleri çalışmalarında morfolojik değişimleri SEM ve iyon değişimlerini EDS ile ölçmüşlerdir. Remineralizasyon sonrasında mine yüzeyinde solüsyonun flor içeriğine bağlı olarak farklı boyut ve şekillerde, amorf, globüler yapılar görmüşlerdir. Bu globüler yapıların mine yüzeyini tamamen örtmediğini belirtmişlerdir. Flor içeriği fazla olan solüsyon uygulamalarında yüzeyde meydana gelen birikimin daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Düşük konsantrasyonda flor içeriği olan solüsyon uygulamasından sonra yüzeyde görülen globüler yapının daha az ama daha büyük görüldüğünü belirtmişlerdir (Nicolae ve Amariei, 2011).

Çalışmamızda da Nicolae ve Amariei'nin çalışmalarına benzer olarak sadece MI Paste Plus grubunda mine yüzeyinde globüler yapılar tespit edilmiştir.

Kim ve ark. demineralize olmuş mine yüzeyine %2,26'lık flor-polivinil alkol bantının uygulanmasının mine remineralizasyonu üzerine etkisini mikrosertlik ve SEM ile incelemişlerdir. Flor-polivinil alkol bantının etkisini flor verniği ve MI Paste Plus ile kıyaslamışlardır. 7 günlük pH döngüsü sonrasında yaptıkları SEM analizlerinde MI Paste Plus grubunda mine yüzeyinde düzensiz remineralizasyon tabakasının oluştuğunu belirtmişlerdir. Ayrıca mine yüzeyinde farklı yapılarda kristaller oluştuğunu ve bazı boşlukların görüldüğünü belirtmişlerdir. Mine kristallerinin farklı genişliklerde düzensiz olarak sıralandığını ve bazılarının birleştiğini ayrıca belirgin şekilde kristaller arası boşlukların görüldüğünü belirtmişlerdir. (Kim ve ark, 2012).

Oshiro ve ark. ile Pai ve ark. MI Paste Plus'ın mine yüzeyine etkisini değerlendirdikleri iki ayrı SEM çalışmasında mine yüzeyinde homojen bir remineralizasyon tabakasının oluştuğunu ve bu tabakanın demineralizasyona karşı direnci arttırdığını belirtmişlerdir (Oshiro ve ark, 2007; Pai ve ark, 2008).

Yaptığımız çalışmada MI Paste Plus uygulaması sonrasında SEM analizlerinde mine yüzeyindeki poröz yapının tamamen kaybolduğu, demineralizasyon sonrası meydana gelen interprizmatik boşlukların tamamen tıklandığı ve yoğun çökelmeler şeklinde homojen remineralizasyon tabakasının oluştuğu gözlenmiştir. Çalışmamız sonucunda MI Paste Plus grubunun remineralizasyon etkisi Kim ve ark. yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermezken, Oshiro ve ark. ile Pai ve ark yaptıkları çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Elkassas ve Arafa yaptıkları çalışmada farklı kalsiyum fosfat ve flor sistemlerinin (Clinpro White vernik, Varnish XT, MI Paste Plus) mine remineralizasyonuna etkisini SEM ile incelemişlerdir. Kalsiyum fosfat ve flor içerikli ajanların yapay tükürüğe göre remineralizasyonda başarılı olduğunu belirtmişlerdir. Clinpro White Varnish grubunda remineralizasyon sonrasında SEM görüntülerinde interprizmatik boşlukların tamamen kapandığı ve mine kristallerinin tekrar birleşmesiyle homojen remineralizasyon tabakasının oluştuğunu belirtmişlerdir. MI Paste Plus grubunda ise mine kristallerinin tekrar oluşması ile demineralizasyon sonrası oluşan tabakanın örtüldüğü ve rodlar arası boşlukların tıklandığının görüldüğünü belirtmişlerdir. Clinpro White Varnish en iyi remineralizasyon ve asit direnci gösterdiğini ve yüksek miktarda flor içeriğine sahip olması nedeniyle MI Paste Plus grubuna göre daha başarılı remineralizasyon karakteri gösterdiğini belirtmişlerdir (Elkassas ve Arafa, 2014).

Clinpro Tooth Creme ajanı gibi TCF içeriğine sahip Clinpro White Varnish grubu, MI Paste Plus grubuna göre remineralizasyonda başarılı olmasına rağmen, çalışmamız sonucunda MI Paste Plus en etkili remineralizasyonu göstermiştir. Çalışmamızın sonucu Elkassas ve Arafa'nın yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermemektedir.

Topaloğlu yaptığı çalışmada demineralizasyon sonrasında hem daimi diş hem de süt dişi mine örneklerine 4 dk. süre ile CPP-ACP içeren pat (Tooth Mousse) uygulanarak mine yüzeylerindeki değişimler SEM ile incelemiş mine morfolojisinde hafif değişiklikler olduğu, az sayıda prizmada çözünme meydana geldiği gösterilmiştir. (Topaloğlu, 2009).

Zhang ve ark. Tooth Mousse ve sodyum florürün başlangıç rk lezyonlarındaki remineralizasyon etkisini süt dişlerinde inceledikleri çalışmalarında, incelemelerini SEM ve mikrosertlik ile yapmışlardır. Remineralizasyon sonrasında SEM analizlerinde Tooth mousse uygulanan grupta mine yüzeyinde düzenli şekilde yüzeyi kaplamış, homojen yapıda amorf kristaller ve partiküller görüldüğünü ve kristaller arası boşlukların görülmediğini belirtmişlerdir. Yapay tükürük grubuyla kıyaslandığında yapay tükürüğe göre biraz daha iyi bir remineralizasyon görüldüğü ama yapay tükürük ile remineralizasyonun farklı olmadığı belirtilmişlerdir. Tooth Mousse'un sodyum florür göre ise remineralizasyonunun daha az miktarda etkili olduğunu belirtmişlerdir (Zhang ve ark, 2011).

Zhou ve ark. beş farklı ajanın (Clinpro XT vernik, F verniği, Tooth Mousse, Fuji 3 ve cam poliakonat siman) remineralizasyon etkilerini araştırdıklarını çalışmalarında, remineralizasyon sonrasında hayvan mine yüzeyi üzerinde oluşturulan remineralizasyonun etkisini QLF, mikrosertlik, SEM ve 3B yüzey topografisi ile ölçmüşlerdir. SEM incelemeleri sonucunda sadece flor verniği grubunda remineralizasyon sonrasında kalsiyum florürün mine yüzeyinde görüldüğü ve düzgün yüzeyli bir remineralizasyon tabakasının oluştuğunu, diğer gruplarda ise yeni oluşan remineralizasyon tabakasının keskin kenarlı düzensiz yapıda bir tabaka olduğunu belirtmişlerdir. Tooth Mousse'un flor salınımı yapan diğer ajanlarla kıyaslamasında CPP-ACP içeriğinin remineralizasyonda belirgin bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (Zhou ve ark, 2012).

Poggio ve ark. mine ve dentinde meydana gelen erozyonun Tooth Mousse ile önlenmesini araştırdıkları çalışmalarında, SEM ile yapılan incelemelerde Tooth Mousse uygulaması sonrasında erozyona uğramış mine yüzeyinde sıralı globüler yapıda homojen ve sıkı kalın bir remineralizasyon tabakası oluştuğunu belirtmişlerdir (Poggio ve ark, 2013).

Zheng ve ark. yaptıkları çalışmada SEM görüntülerinde Tooth Mousse'un mine yüzeyinde minerallerin tekrar birikmesine olanak sağladığını ve erozyon sonrasında ise mine yapısında hafif çözümlerin görülmesini ve mine yüzeyinde gerçekleşen çözünmenin tamamen kapanmadığını belirtmişlerdir. (Zheng ve ark, 2013).

Bizim çalışmamızda da yapılan SEM incelemelerinde Tooth Mousse uygulanan grupta remineralizasyon sonrasında demineralizasyon ile oluşan interprizmatik boşlukların tıkanmış görülmüş ve yoğun çökelmeler şeklinde homojen remineralizasyon olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları Zhang ve ark. ile Poggio ve ark. nın yaptığı çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Sathyakumar ve ark. yaptıkları çalışmada erozyon sonrası, Tooth Mousse, MI Paste Plus ve Clinpro Tooth Creme ajanlarının mine yüzeyindeki remineralizasyona etkilerini araştırmışlardır. Erozyon sonrası ajanlar 3 dk boyunca uygulanmış ve SEM ile analizleri mine yüzeylerindeki değişimlerin değerlendirilmesi yapılmıştır. Erozyon sonrasında Tooth Mousse uygulanan mine yüzeyinde yeniden kristal oluşumu gözlenmiş fakat bu oluşum tamamlanmamış şekilde düzensiz bir görüntü oluşturmuştur. MI Paste Plus uygulanan mine yüzeyinde homojen yapıda iyi bir remineralizasyon tabakası oluştuğu görülmüştür. Clinpro Tooth Creme uygulanan mine yüzeyinde başlangıç mine örneğine benzer şekilde homojen ve düz yüzey morfolojisi tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda Clinpro Tooth Creme ajanının daha başarılı görünmesine rağmen, diğer ajanlarla kıyaslama yapılan yeterli çalışma olmadığı için kesin bir başarıdan söz edilememiştir (Sathyakumar ve ark, 2011).

Bizim çalışmamızda da yapılan SEM incelemelerinde Tooth Mousse ve MI Paste Plus uygulanan gruplarda remineralizasyon sonrasında demineralizasyon ile oluşan interprizmatik boşlukların tıkanıp görülmüş ve yoğun çökelmeler şeklinde homojen remineralizasyon olduğu gözlenmiştir. MI Paste Plus grubunda daha kaliteli bir remineralizasyon tabakası olduğu gözlemlenmiştir. Clinpro Tooth Creme grubunda ise demineralizasyon sonrasında SEM analizleri sonucunda interprizmatik boşlukların yer yer açıkta kaldığı ve homojen olmayan düzensiz bir remineralizasyon tabakası belirlenmiştir. MI Paste Plus Sathyakumar ve ark. yaptıkları çalışma sonuçları ile benzerlik gösterirken, Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme gruplarının remineralizasyon etkisi Sathyakumar ve ark. yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermemektedir. Araştırmamızın sonucunda MI Paste Plus grubu, diğer gruplara göre remineralizasyonda daha etkili bulunmuştur.

Jayarajan ve ark. demineralizasyon sonrasında oluşturulan yapay çürük yüzeylerine Tooth Mousse ve MI Paste Plus uygulaması ile remineralizasyon değişimlerini SEM ile incelemişlerdir. 1000x büyütmede MI Paste Plus grubunda diğer gruplara göre mine yüzeyinde mine rodlarının ve prizmatik yapının daha görülebilir olduğunu, 2000x büyütmede ise poroz defektlerde kalsiyum birikiminin daha belirgin olduğunu belirtmişler. Tooth Mousse grubunda interprizmatik yapıların görülebildiği ve 1000x ve 2000x büyütmelerde porozitelerin ve remineralizasyon alanlarının görülebildiğini belirtmişlerdir. Yapay Tükürük grubunda 1000x büyütmede sağlam mine yüzeyinde poroz defektlerin görüldüğü, mine rodlarının ise belirgin olmadığını belirtmişlerdir. 2000x gibi daha büyük büyütmelerde ise porozitelerin daha belirgin olduğunu ve porozitelerin etrafında mineralizasyon alanlarının görülebildiğini Tooth Mousse ile Yapay Tükürük grupları arasında SEM görüntüleri açısından benzer kalitede remineralize alan görüntüsü elde etmişlerdir (Jayarajan ve ark, 2011).

Çalışmamızda da MI Paste Plus, Tooth Mousse ile Yapay Tükürük gruplarında SEM analizlerinde benzer görüntüler elde edilerek remineralizasyonda en başarılı grup MI Paste Plus olarak belirlenmiştir.

Florun koruyucu etkisi genelde diş yüzeyinde kalsiyum florür tabakası oluşturmasına bağlanır. Bu tabaka flor rezervuarı olarak hareket eder. Asit atağı sırasında kalsiyum florür bileşiğinden flor salınımı olur ve floroapatit ya da florohidroksiapatit oluşumu gerçekleşir. Kalsiyum florür tabakası asit atağı sırasında mine yüzeyine asitin oluşmasını engelleyen mekanik bir bariyer, mineral rezervuarı rolüyle tamponlama ya da asitten hidrojen iyonlarının a zaltılması Şeklinde görev alır (Badr ve ark, 2010).

CPP-ACP'nin koruyucu etkisi ise demineralizasyonu engelleyen ve remineralizasyonu arttıran nötral iyonları sağlayan bir rezervuar görevi görmesinden kaynaklanır. Kalsiyum ve fosfat remineralizasyon işlemine sağlayan temel taşlar olup, tükürük içerisinde bulunurlar. CPP-ACP kompleksi ağız ortamında kalsiyum ve fosfat iyonlarının tamamlayıcı kaynağı olarak tanımlanmıştır. Amorf kalsiyum fosfat biyolojik olarak aktiftir ve kalsiyum ve fosfat iyonları salarak diş yüzeyinin kalsiyum ve fosfata doygunluk seviyesini sağlar. Asit atağı sonrasında mine yüzeyinde yüzeyel granüler yapıların görülmesi mine yüzeyinde oluşmuş remineralize mine kristallerini simgeler (Badr ve ark, 2010).

Flor ile CPP-ACP'nin kombinasyonu sayesinde her ikisinin de koruyucu etkisinden de faydalanılmış olunur (Badr ve ark, 2010).

Somasundaram ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada CPP-ACP içeren patların mine remineralizasyonu üzerindeki etkinliğini kontrol grubu ile florlu diş macunu ile kıyaslarak araştırmışlardır. CPP-ACP içeren pat olarak MI Paste Plus kullanılmış ve bu pat ile tedavi edilen mine yüzeyinde, florlu diş macunu ve kontrol grubuna göre lezyon derinliğinin daha az olduğunu rapor etmişlerdir (Somasundaram ve ark, 2013).

Çalışmamızda MI Paste Plus grubunun en etkili remineralizasyon göstermesinden dolayı, CPP-ACP içeren patların tek başlarına etkilerinin dişında flor ilavesi ile daha etkili sonuçlar verebileceği gösterilmiştir.

8.1.4. FIB/SEM analizi sonrasında elde edilen bulgularının tartışılması

FIB incelemeleri Drobne ile Hoshi ve ark.'nın yaptığı çalışmalarda olduğu gibi inceleme öncesinde yüzeyin platin ile kaplanması ve incelemeyi kesim alıp inceleme esnasında elektron ve iyon demeleri aynı noktayı görecektir şekilde ayarlanmış ve paralel çalışmaları sağlanmıştır. Öncelikle yüksek akımlı galyum iyonları yüzeyde aşındırma için kullanılmış ve düşük akımlı galyum iyonları ise detayları ortaya çıkarmak ve cilalamak için kullanılmıştır. Yaptığımız çalışmada da FIB uygulamaları aynı şekilde yapılmıştır (Drobne, 2013; Hoshi ve ark, 2001).

Cristina ve Amariei yaptıkları in vitro çalışmada, üç farklı topikal sodyum florür solüsyonunu mine yüzeylerine uygulayarak, mine yüzeyindeki morfolojik değişimleri FIB/SEM analizi ile kanıtlamayı amaçlamışlardır. Çalışmaları sonucunda demineralizasyon sonrasında FIB ile açılan kesitsel alanın SE ile alınan görüntülerde mine alt yüzeyinde düzensiz bir demineralizasyon yüzeyi tespit etmişlerdir (Cristina ve Amariei, 2011).

Arsecularatne ve Hoffman yaptıkları çalışmada tek bir diş yüzeyi için sağlam mine yüzeyi ve demineralizasyona uğramış mine alt yüzeyini FIB-SEM ile incelemişler. Demineralizasyon sonrası yüzey altındaki por yapılarında bozulmalar tespit etmişlerdir (Arsecularatne ve Hoffman, 2014).

Çalışmamızda demineralizasyon sonrasında mine alt yüzeyinin FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntülerinde yoğun poroziteler görülmüş ve yoğun demineralize bir tabaka tespit edilmiştir. Cristina ve Amariei ve Arsecularatne ve Hoffman'ın çalışmalarına benzer bir görüntü elde edilmiştir (Arsecularatne ve Hoffman, 2014, Cristina ve Amariei, 2011).

Cristina ve Amariei yaptıkları in vitro çalışmada, üç farklı topikal sodyum florür solüsyonunu mine yüzeylerine uygulayarak, mine yüzeyindeki morfolojik değişimleri FIB/SEM analizi ile kanıtlamayı amaçlamışlardır. Remineralizasyon sonucunda FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntülerinde globüler yapıyı bütün örneklerde tespit etmişler. Amorf, kristalize ve globüler yapıların büyüklüğünü flor konsantrasyonlarına bağlamışlar. Konsantrasyon arttıkça yoğunluğun arttığını belirtmişler. Bu yapıların bütün mine alt yüzeyini kaplamadıklarını belirtmişler (Cristina ve Amariei, 2011).

Arsecularatne ve Hoffman yaptıkları çalışmada tek bir diş yüzeyi için sağlam mine yüzeyi ve demineralizasyona uğramış mine yüzeyini FIB-SEM ile incelemişler. Asit atakları sonrasında porlarda meydana gelen bozulmaların remineralizasyon sonrasında yapısal bütünlüklerini tekrar oluşturarak, yüzey altındaki bölgede iyileşmeler olduğunu belirtmişlerdir. Küçük porların ve apatit kristallerinin remineralize olduğunu belirtmişlerdir (Arsecularatne ve Hoffman, 2014).

Araştırmamızda da demineralizasyon sonrasında yüzey altındaki bölgede meydana gelen demineralize alan, remineralizasyon sonrasında iyileşme göstermiştir. Porların ve apatit kristallerinin remineralize olduğunu tespit edilmiştir. Kullanılan ajanın etkisine göre bu bölgede oluşan remineralizasyon kalitesi de değişmiştir. MI Paste Plus grubunda mine alt yüzeyinin FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntülerinde SEM görüntülerine benzer homojen ve düzenli remineralizasyon tabakasının oluştuğu gözlemiştir. Diğer gruplarla kıyaslandığında daha homojen ve tüm alt yüzeye yayılmış remineralizasyon şeklinde görülebilmektedir.

Demineralizasyon ve Remineralizasyon sonrası FIB ile açılan kesitsel alanın SE görüntülerin incelendiği ve farklı büyütmelemlerle elde edilen görüntülerin karşılaştırıldığı çalışma sayısının az olması nedeniyle mine alt yüzeyindeki değişiklikler sadece gruplar arasında karşılaştırılabilmektedir.

Ağız ortamında pH değerinin düşmesiyle beraber meydana gelen demineralizasyon, pH değerinin tekrar yükselmesi ve ortamda bulunan iyonların mine üzerine tekrar çökmesi ile iyileşir ve bu iyileşmeye remineralizasyon adı verilir. Ağız ortamının pH değerinin yükselmesini sağlayan materyallerden en çok bilineni florudur. Flor, ortamdaki kalsiyum ve fosfatın yüzeye çökmesini sağlar ve hidroksiapatit yapıya etki ederek florohidroksiapatit gibi demineralizasyona daha dirençli bir yapı oluşturur. Florozis riski nedeniyle araştırmacılar kazein içerikli ürünlere yönelmişler ve CPP-ACP içerikli ürünlerin remineralizasyon etkisi incelenmiştir (Goswami ve ark, 2012).

Araştırmamızda başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası incelenecek mine yüzeyi ve mine yüzey tabakasının alt bölgelerindeki değişimleri, mine yüzeyinin kimyasal bağ karakterizasyonu ve mine yüzeyinde meydana gelen elemental değişimleri belirlemek amacıyla nanoteknolojik sistemler kullanılarak remineralizasyon sonrası değişimler değerlendirilmesi ve kıyaslanması amaçlanmıştır.

Bu amaçla işlem öncesi fiziksel olarak ön hazırlık gerektirmeyen, mine ve dentin yüzeylerde meydana gelen demineralizasyon ve erozyon işlemlerinde kullanılan ve incelenen örnek yüzeyinde yıkım yaratmayan bir yöntem olan Raman Spektroskopi tekniği kullanılarak başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mine yüzeylerinde meydana gelen değişimlerin kimyasal bağlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda başlangıç, demineralizasyon sonrası ve remineralizasyon sonrası mine yüzeyinde azalan ya da biriken Ca ve P elementlerinin molar oranını elde ederek incelemeyi sağlayan ve incelenen yüzeydeki tüm elemental değişimlerin SEM ile bağlantılı bir şekilde ölçüldüğü ve tespit edildiği EDS tekniği kullanılmıştır.

Bu iki teknikle beraber mine yüzeyinde meydana gelen değişimleri göstermek amacıyla SEM tekniği ve mine yüzeyinin alt tabakasındaki değişimleri göstermek amacıyla FIB tekniği kullanılmıştır. SEM, diş örnekleri incelemek için sıklıkla kullanılan bir yöntem olmasına rağmen FIB tekniği genellikle mühendislik

alanlarında sert ve seramik malzemelerin incelemede ya da TEM örneği hazırlamada bir ön basamak amacıyla kullanılmaktadır. FIB sisteminin avantajı çok sert ve kırılğan yüzeylerde rahatlıkla çalışmaya imkan vermesidir.

Çift iyon demetli sistemler sayesinde FIB ile SEM teknikleri tek bir sistemde kullanılabilir hale gelmiştir. FIB ile ilgili diş hekimliği alanında seramik örnekler, implant materyalleri ve dentin gibi düz ya da düzleştirilmiş yüzeye sahip örneklerin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. FIB tekniğinin avantajı çok sert ve kırılğan yüzeylerde yüzeye zarar vermeden çok küçük boyutlarda incelenecek bölgede rahatlıkla çalışmaya imkan vermesidir. Mikrotomi gibi yapısal hasar verme imkanı olan tekniklere göre avantaj sağlamaktadır. Fakat FIB tekniği ile inceleme esnasında, çok tecrübeli ve bu alanda uzmanlaşmış bir kullanıcı ile çalışılmazsa incelenen bölge üzerinde ısınma, yüzey ve yüzey altı yapıda bozulma gibi problemler ortaya çıkacaktır. Bu da incelenen yüzeyde artefaktların oluşmasına neden olacaktır. FIB konusunda uzmanlaşmış kullanıcı sayısının az olması ve mine yüzeyinin yapısal farklılığın çok çeşitli olması nedeniyle mine yüzeyi ile ilgili FIB tekniği çalışma sayısı çok azdır.

Araştırmamızda yapay çürük lezyonu oluşturulan mine yüzeylerine pH döngüsü ile MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme uygulanarak başlangıç, demineralizasyon ve remineralizasyon sonrasında Raman spektroskopisi, EDS ve FIB/SEM teknikleri ile mine yüzeyleri incelenmiştir. Araştırmamızda demineralizasyon sonrasında pH döngüsü ile uygulanan MI Paste Plus'ın tüm tekniklerle yapılan ölçümlerde en etkili remineralizasyon ajanı olduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda yeni yer almaya başlayan TCP içerikli Clinpro Tooth Creme'in ise remineralizasyon etkinliği çok zayıf görülmüştür. Bu sonucun elde edilmesinin nedeni ACP ile TCP'nin ağız ortamında bulunma süresine bağlı olarak farklı remineralizasyon etkisi göstermesinden kaynaklanmış olabilir.

ACP kristal olmayan yapıya sahiptir ve sistematik yapısı olmadığı için diğer kristal kalsiyum fosfatlara göre daha fazla çözünebilir ve daha fazla reaktiftir. Bu nedenle ACP çok hızlı çözünür ve demineralize yüzeye çok hızlı çöker. Ağız ortamında ACP stabil değildir çünkü ACP'nin dış yüzeyine çökmesini sağlayacak kalsiyum ve fosfat iletimi aynı anda olmamaktadır. TCP ise kalsiyum fosfatın çözünemeyen kristalin formudur ve dişteki apatik kristal fosfata benzer yapıdadır. TCP tükürük ile dış yüzeyine ulaştığında koruyucu tabaka kalsiyum ve fosfatı açığa çıkarır. TCP ve ACP gruplarındaki fark kalsiyum ve fosfat iyonlarının pH döngüsü süresindeki farklı orandaki iletimleridir.

Araştırmamız; demineralizasyon sonrası pH döngüsü ile uygulanan CPP-ACP içerikli remineralizasyon ajanlarının, mine yüzeyinde kimyasal etkileşiminin, elementsel değişimini, incelenen yüzey ve yüzey altı değişikliklerini tek bir çalışmada göstermesi açısından önemlidir. Bu araştırma ile mine yüzeyinde FIB tekniğinin rahatlıkla kullanılacağı, ve FIB ile diğer tekniklere göre daha detaylı görüntüler elde edilebileceği gösterilmiştir. Tüm bu tekniklerin birlikte kullanılması ile mine ve dentin ile ilgili daha hassas ve detaylı bilgi elde edilebileceği ve koruyucu diş hekimliğinde yeni geliştirilen remineralizasyon ajanlarının etkilerinin daha detaylı olarak incelenebileceği gösterilmiştir. İlerleyen zaman içerisinde dişhekimliği alanında bu nanoteknolojik cihazların kullanıldığı daha fazla çalışma yapılması ile bu tekniklerin kullanımı yaygınlaşacaktır.

8.SONUÇLAR

Çekilmiş insan büyük azı dişlerinin mine yüzeylerinde oluşturulan yapay çürük lezyonuna MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme, Yapay Tükürük pH döngüsü ile uygulanarak Raman spektroskopisi ve EDS değerlerinin karşılaştırıldığı; FIB/SEM görüntülerinin değerlendirildiği araştırmamızın sonuçları:

1. MI Paste Plus, Tooth Mousse ve Clinpro Tooth Creme ajanlarının Başlangıç, Demineralizasyon sonrası ve Remineralizasyon sonrası Raman spektroskopisi yoğunluk değerlendirmeleri istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).
2. Remineralizasyon sonrası Raman spektroskopisi ölçümleri yoğunluk değerlendirmelerinde MI Paste Plus, Tooth Mousse, Clinpro Tooth Creme ve Yapay tükürük grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0,001$).
3. Raman spektroskopisi değerleri ikili karşılaştırmalarında pH döngüsü ile uygulanan MI Paste Plus grubu ile Clinpro Tooth Creme grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir. ($p<0,002$). Raman spektroskopisi değerlerinde diğer materyallerin ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p<0,001$).
4. pH döngüsü ile yapılan remineralizasyon sonrasında elde edilen Raman spektroskopisi değerleri MI Paste Plus ve Yapay Tükürük gruplarında başlangıç mine değerlerine yaklaştığı fakat Clinpro Tooth Creme grubunun demineralizasyon sonrasında iyileşme göstermediği belirlenmiştir.

5. MI Paste Plus ile yapılan remineralizasyon sonrasında elde edilen Raman spektroskopi sonuçları başlangıç değerine göre en iyi remineralizasyon etkinliğini göstermiştir. Clinpro Tooth Creme grubu ise remineralizasyon sonrasında başlangıç değerine göre en düşük remineralizasyon etkinliğini göstermiştir.
6. Başlangıç EDS analizleri sonrasında elde edilen Ca/P molar oranları tüm gruplar için belirlenen oranlarda bulunmuş olup her grup için belirlenen mine yüzeyleri sağlam yüzeyler olarak tespit edilmiştir (Ca/P molar oranları 1,60 ile 1,69 arasında bulunmuştur).
7. Demineralizasyon sonrasında EDS analizleri sonrasında elde edilen Ca/P molar oranları tüm gruplarla düşüş göstermiş olup, her grupta demineralizasyon görülebilmektedir Ca/P molar oranları 1,43 ile 1,55 arasında bulunmuştur.
8. EDS analizleri sonrasında tüm gruplarda başlangıç ile remineralizasyon ve demineralizasyon ile remineralizasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p < 0,001$).
9. EDS analizleri sonrasında MI Paste Plus grubunda başlangıç değerleri ile demineralizasyon sonrası değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiş olup, diğer gruplarda başlangıç ile demineralizasyon sonrası değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$).
10. Tüm gruplarda EDS analizleri sonrasında Ca/P molar değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p < 0,001$).
11. MI Paste Plus ile Yapay Tükürük grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur ($p = 0,143$). MI Paste Plus ile Clinpro Tooth

Creme grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (p=0,029).

12. Tooth Mousse ile Yapay Tükürük grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (p=0,004). Tooth Mousse ile Clinpro Tooth Creme grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. (p=0,002).

13. Clinpro Tooth Creme ile Yapay Tükürük grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (p=0,061).

14. Başlangıçta yapılan FIB/SEM incelemelerinde tüm gruplarda mine örneklerinin yüzeyleri ile mine alt yüzeylerinde sırayla dizilmiş rod yapısı ve yüzeyde mine kristallerinin homojen sıralanışı görülürken çatlak ve/ veya mikro çatlaklar görülmemiştir. Tüm gruplarda iyi ve homojen bir yüzey gözlenmiştir.

15. Demineralizasyon sonrası yapılan FIB/SEM incelemelerinde tüm gruplarda mine örneklerinin yüzeyleri ile mine alt yüzeylerinde yaygın ve yoğun poroziteler gözlenmiştir. Tüm gruplarda iyi ve homojen demineralizasyon gözlenmiştir.

16. pH döngüsü ile uygulanan remineralizasyon ajanları sonrasında SEM görüntüleri değerlendirildiğinde MI Paste Plus grubunda diğer gruplarla kıyaslandığında daha homojen ve tüm yüzeye yayılmış remineralizasyon gözlenmiştir. Clinpro Tooth Creme grubunda gerçekleşen remineralizasyon daha az homojen ve pürüzlü gözlenmiştir.

17. pH döngüsü ile uygulanan remineralizasyon ajanları sonrasında mine yüzeylerinde FIB ile oluşturulan yan kestiler ait SEM-SE görüntüleri değerlendirildiğinde MI Paste Plus grubunda diğer gruplarla kıyaslandığında daha homojen ve tüm alt yüzeye yayılmış remineralizasyon gözlenmiştir.

Clinpro Tooth Creme grubunda gerekleŒen remineralizasyon homojen olmayan ve pürüzlü gözlenmiŒ ve mine alt yüzeyinin tüm alanlarında remineralizasyon gözlenememiŒtir.

18. Clinpro Tooth Creme grubu tüm ölçümlerde remineralizasyon etkinliği açısından en düşük değerleri vermiŒtir.

19. 900 ppm Flor ilaveli CPP-ACP kompleksi olan MI Paste Plus, yüksek remineralizasyon eğilimi göstermiŒ ve daha baŒarılı olduğu görölmüŒtür.

KAYNAKLAR

Adebayo OA, Burrow MF, Tyas MJ. An SEM evaluation of conditioned and bonded enamel following carbamide peroxide bleaching and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) treatment, J Dent. 2009; 297 – 306.

Agematsu H, Sawada T, Watanabe H, Yanagisawa T, Ide Y. Immuno-scanning electron microscope characterization of large tubules in human deciduous dentin. Anat Rec. 1997;248: 339-345.

Agrawal N, Shashikiran ND, Singla S, Ravi KS, Kulkarni VK. Atomic force microscopic comparison of remineralization with casein-phosphopeptide amorphous calcium phosphate paste, acidulated phosphate fluoride gel and iron supplement in primary and permanent teeth: An in-vitro study, Contemp Clin Dent. 2014; 5: 75–80.

Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. J. Nutr. 2004;134: 989-995.

Akarsu S. Okluzal Çürük Teşhisinde Kullanılan Lazer Floresan Sisteminin Etkinliğinin Geleneksel Yöntemlerle İn Vivo olarak Karşılaştırılması On Dokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2006, Samsun (Danışman: Prof. Dr. Hülya Köprülü).

Akıncı T. Yerel florid uygulamalarında çeşitli yöntemler ve bu yöntemlerin klinik uygulamalar yönünden karşılaştırılması. İ.Ü. Diş Hek. Fak. Derg. 1995; 29: 223-226.

Akkurt MD, Polat GG, Altun C, Başak F, Beyaz Nokta Lezyonları, ADO Klinik Bilimler Dergisi, Cilt: 4, Sayı: 2, 2010 Sayfa: 536-544.

Aktören O. Dişhekimliğinde florid. Dergi 2003; 89: 30-31.

Al Zraikat AH, Palamara JE, Messer HH, Burrow MF, Reynolds EC. The incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass ionomer cement. *Dent Mater.* 2011; 27: 235–243.

Alex C-T. Ko, Choo-Smith LP, Hewko M, Sowa MG. Detection of early dental caries using polarized Raman spectroscopy, *Optics Express*, 2006; 14: 203-215.

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.* 2004; 97: 393-397.

Al-Shaker SA, Nayif MM, Al-Sabawi NA. Microhardness of Artificially Demineralized Enamel treated with Different Regimes of ACP-CPP and Fluoride Agents, *International Journal of Enhanced Research in Science Technology & Engineering.* 2014;3: 102-107.

Altenburger MJ, Schirrmeyer JF, Wrbas KT, Hellwig E. Remineralization of artificial interproximal carious lesions using a fluoride mouthrinse. *Am J Dent* 2007; 20: 385-389.

Aminzadeh A, Atousa K, Khosravy K. Infra-red and Raman Spectroscopic Studies of Infected and Affected Dentine, *Iran. J. Chem. & Chem. Eng.* 2002; 21, 87-90.

Aminzadeh, A, Shahabi S, Walsh, LJ. Raman spectroscopic studies of CO₂ laser-irradiated human dental enamel. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 1999; 55: 1303-1308.

Anderson P, Elliott JC, Bose U, Jones SJ. A comparison of the mineral content of enamel and dentine in human premolars and enamel pearls measured by X-ray microtomography, *Arch. of Oral Bio.* 1996; 41: 281–290.

Andersson A, Skold-Larsson K, Hallgren A, Petersson LG, Twetman S. Effect of a dental cream containing amorphous cream phosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. *Oral Health Prev Dent* 2007;5: 229-233.

Anttonen V, Seppa L, Hausen H. Clinical Study of Use of the Laser Fluorescence Device Diagnodent for Detection of Occlusal Caries in Children. *Car Res.* 2003; 37: 17-23.

Anttonen V, Seppa L, Hausen H. A follow-Up Study of The Use of Diagnodent for Monitoring Fissure Caries in Children. *Com Dent Oral Epidemiol.* 2004; 32: 312-318.

Ardu S, Castioni NV, Benbachir N, Krejci I. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence International.* 2007; 38: 633-636.

Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques, *J Dent. Res.* 1992; 71: 924-928.

Arends J, Christoffersen J. The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res* 1986; 1: 2-11.

Arnold WH, Cerman M, Neuhaus K, Gaengler P. Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Arch. Oral Bio.* 2003; 48: 467-473.

Arsecularatne JA, Hoffman M. An in vitro study of the microstructure, composition and nanoindentation mechanical properties of remineralizing human dental enamel. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2014; 47: 1-13.

Arthur RA, Cury AA, Graner RO, Rosalen PL, Vale GC, Paes Leme AF, Cury JA, Tabchoury CP. Genotypic and phenotypic analysis of *S. mutans* isolated from dental biofilms formed in-vivo under high cariogenic conditions. *Braz Dent J.* 2011; 22: 267-274.

Arthur RA, Tabchoury CP, Mattos-Graner Rde O, Del Bel Cury AA, Paes Leme AF, Vale GC, Cury JA. Genotypic diversity of *S. mutans* in dental biofilm formed in situ under sugar stress exposure. *Braz Dent J.* 2007; 18: 185- 191.

Attrill P, Ashley F. Occlusal Caries Detection in Primary Teeth: A Comparison of Diagnodent with Conventional Methods. *British Dental Journal.* 2001; 190: 440–443.

Axelsson P. Development of Carious Lesions In: Diagnosis and risk Prediction of Dental caries, Vol 2, Karlstad, Sweden, Quintessence Publishing Co, Inc, Chicago, Berlin, London, Tokyo, Paris, Barcelona, Sao Paulo, Moscow, Praque Warsaw. 2001;181-204.

Babay N. SEM study on the effect of two different demineralization methods with saturated tetracycline hydrochloride on diseased root surfaces. *J Contemp Dent Pract.* 2001; 15: 25-35.

Badr SBY, Ibrahim MA. Protective effect of three different fluoride pretreatments on artificially induced dental erosion in primary and permanent teeth. *J Am Sci.* 2010; 6: 442-451.

Bahrololbomi Z, Musavi SA, Kabudan M. in vitro evaluation of the efficacy of laser fluorescence (DIAGnodent) to detect demineralization and remineralization of smooth enamel lesions, *J Con Dent.* 2013; 16: 362-366.

Bakan F. Biyomedikal uygulamalar için nano boyutlu hidroksiapatit üretimi ve karakterizasyonu. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2011,

Erzurum (Danışman: Prof. Dr. Hanifi Sara Balakrishnan M, Simmonds RS, Tagg JR. Dental caries is a preventable infectious disease. *Aust Dent J.* 2000; 45: 235-245.

Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent.* 2004; 32: 591-602.

Bar-Hillel R, Feuerstein O, Tickotsky N, Shapira J, Moskovitz M. Effects of Amorphous Calcium Phosphate Stabilized by Casein Phosphopeptides on Enamel De- and Remineralization in Primary Teeth: An In Vitro Study. *Journal of Dentistry for Children.* 2012; 79: 9-12.

Bath-Balogh M, Fehrenbach MJ. *Illustrated Dental Embriology, Histology And Anatomy*, Philadelphia, WB Saunders Co, 1997.

Bavetta LA, McClure FJ. Protein factors and experimental rat caries. *J Nutr.* 1957; 63: 107-117.

Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 2005; 33: 248-255.

Berkovitz BK, Robinson S, Moxham BJ, Patel D. Ultrastructural quantification of collagen fibrils in the central region of the articular disc of the temporomandibular joint of the cat and the guinea pig. *Arch Oral Biol.* 1992; 37: 479-481.

Besinis A, Noort RV, Martin N. Remineralization potential of fully demineralized dentin infiltrated with silica and hydroxyapatite nanoparticles, *Dent Mat.* 2014; 1-14.

Besinis A, van Noort R, Marti N. Remineralization potential of fully demineralized dentin infiltrated with silica and hydroxyapatite nanoparticles, *D Mat.* 2014; 2288: 1-14.

Bilgin G. Başlangıç mine çürüklerinin remineralizasyonlarının çeşitli materyallerle incelenmesi ve yeni bir çürük teşhis metodu ile değerlendirilmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2012, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Funda Yanıkoğlu).

Blaney JR, Tucker WH. The Evanston Dental Caries Study. II. Purpose and mechanism of the study. *J Dent Res.* 1948; 27: 279–286.

Bluteau G, Luder H.U, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *Eur Cell Mater*,2008; 16: 1-9.

Bonucci E. Ultrastructural organic-inorganic relationships in calcified tissues: cartilage and bone vs. enamel. *Connect Tissue Res.* 1995; 1-3: 157-162.

Borczyk D, Piatowska D, Krzeminski Z. An in vitro study of affected dentin as a risk factor for the development of secondary caries. *Caries Res* 2006; 1: 47- 51.

Borges BC, Souza-Junior EJ, da Costa G. Effect of dentin pre-treatment with a casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) paste on dentin bond strength in tridimensional cavities. *Acta Odontol Scand.* 2012; 71: 271–277.

Bowden GHW. The microbial ecology of dental caries. *Microbial Ecology in Health and Disease.* 2000; 12: 138-148.

Bowen WH. Interpretation and use of microbiological findings in dental caries. *Oral Microbiol Immunol* 1986; 1: 82-86.

Braga MM, Morais CC, Nakama RCS, Leamari VM, Siqueira WL, Mendes FM. In vitro performance of methods of approximal caries detection in primary molars *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108: 35-41.

Bremard C, Dhamelin court P, Laureynes J, Turrell G. The effect of high-numerical-aperture objectives on polarization measurements in micro-Raman spectrometry. *Appl Spectrosc.* 1985; 39: 1036-1039.

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.* 2003a; 16: 77-81.

Breschi L, Gobbi P, Falconi M, Ruggeri A Jr, Mazzotti G, Di Lenarda R, Prati C. Effect of dentinal pretreatments on coronal dentin primary carious lesions: a field emission SEM study. *Clin Oral Investig.* 2003b; 7: 140-147.

Buzalaf MAR, Hannas AR, Magalhae AC, Rios D, Honorios 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.* 2010;18: 316-334.

Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J.* 2003;48: 240-243.

Cai F, Shen P, Walker GD, Reynolds C, Yuan Y, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res.* 2010; 89: 1187- 1197.

Carlstrom D. Polarization Microscopy of dental enamel with reference to incipient carious lesions. *Adv Oral Biol* 1964; 42: 255-296.

Carvalho FG, Vieira BR, Santos RL, Carlo HL, Lopes PQ, De Lima BASG. In Vitro Effects of Nano-hydroxyapatite Paste on Initial Enamel Carious Lesions, *Ped Dent.* 2014; 36: 85-89.

Caulfield PW, Li Y, Dasanayake A. Dental caries: an infectious and transmissible disease. *Compend Contin Educ Dent.* 2005; 26: 10-16.

Cengiz T. Endodonti. Baris yayınları fakulteler kitapevi. İzmir, 1996.

Chawla N, Messer LB, Adams GG, Manton DJ. An in vitro Comparison of Detection Methods for Approximal Carious Lesions in Primary Molars, Caries Res. 2012; 46: 161–169.

Cheng L, Zhang K, Weir MD, Melo MA, Zhou X, Xu HH. Nanotechnology strategies for antibacterial and remineralizing composites and adhesives to tackle dental caries. Nanomedicine, 2015; 10: 627-41.

Chow LC. Tooth bound fluoride and dental caries. J Dent. Car. 1990; 69: 595-600.

Christofferson J, Christofferson MR, Arends J, Leonardson ES. Formation of phosphate containing calcium fluoride at the expense of enamel, hydroxiapatite, fluorapatite. Car Res.1995; 29: 223-230.

Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel Subsurface Lesion Remineralisation with Casein Phosphopeptide Stabilised Solutions of Calcium, Phosphate and Fluoride. Caries Res. 2008; 42: 88-97.

Cochrane NJ, Zero DT, Reynolds EC. Remineralization Models, ADR 2012; 24: 129-132.

Coutinho E, Jarmarab T, Svahn F, Neves AA, Verlindenc B, Van Meerbeeka B, Engqvistb H. Ultrastructural characterization of tooth–biomaterial interfaces prepared with broad and focused ion beams. Dent. Mat. 2009; 25: 1325–1337.

Coutinho E, Cardoso MV, Fernandes CP, Neves AA, Gouvea CVD, Van Landuyt KL, De Munck J, Van Meerbeek B. Nanoleakage Distribution at Adhesive-Dentin Interfaces in 3D. J Dent Res. 2011; 90: 1019-1025.

Cross KJ, Hug NL, Bicknell W, Reynolds EC. Cation dependent structural features of beta casein, J Biochem. 2001; 356: 277-286.

Cross KJ, Huq NL, Stanton DP, Sum M, Reynolds EC. NMR studies of a novel calcium, phosphate and fluoride delivery vehicle- α (S1)-casein stabilized amorphous calcium fluoride phosphate nanocomplexes. Biomat. 2004; 25: 5061-5069.

Cruz R, Rolla G, Ogaard B. Formation of fluoride on enamel in vitro after exposure to fluoridated mouthrinses. Acta Odontol Scand 1991; 49: 329–334.

Cury JA, Tenuta LM. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions Braz Oral Res. 2009; 23: 23-30.

Cury JA. Fluoride therapy. Advanced operative dentistry. 1993; 31: 43-67.

Çakır FY, Gürkan S, Attar N. Microbiology of Dental Caries. Hacettepe Diş Hek Fak Der. 2010;34: 78-91.

Çelik EU, Yazkan B, Katırcı G, Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisi. J Dent Fac Atatürk Uni, 2011;1: 48-56.

Çetin B, Avşar A, Ulusoy A. Kazein içerikli besinler ve dental J Dent Fac Atatürk Uni. 2011; 21: 24-31.

Dawes C, Weatherell JA. Kinetics of fluoride in the oral fluids. Journal of Dental Research, 1990; 69: 638-644.

Dayangaç B. Kompozit rezin restorasyonlar. Günes kitabevi Ltd. Sti. 2000, Ankara.

de Aza PN, Guitia'n F, Santos C, Vibrational Properties of Calcium Phosphate Compounds. 1997; 9: 916-922.

de Long R, Douglas WH. An artificial oral environment for testing dental materials. IEEE Trans Biomed Eng. 1991; 4: 339-345.

Dehring KA, Crane NJ, Smukler AR, McHugh JB, Roessler BJ, Morris MD. *Applies Spectroscopy*. 2006;60: 1134- 1141.

Diana M, Katrine D, Svante T, Kirstine KM. Detection of Non-Cavitated Occlusal Caries with Impedance Spectroscopy and Laser Fluorescence: an In Vitro Study. *Open Dentistry*. 2014; 8: 28–32.

Dickinson ME, Wolf KV, Mana AB. Nanomechanical and chemical characterization of incipient in vitro carious lesions in human dental enamel. *Arc Oral Bio*, 2007; 52: 753–760.

Dijkman GE, Arends J. Secondary caries in situ around fluoride-releasing lightcuring composites: a quantitative model investigation on four materials with a fluoride content between 0 and 26 vol%. *Caries Res* 1992; 5: 351-357.

Dodds MW, Johnson DA, Yek CK. Health benefits of saliva: a review. *J Dent*. 2005; 33: 223-233.

Dodds MWJ, Wefel JS. The developing carious lesion. In: Haris NO, Christen AG, editors. *Primary preventive dentistry* 4th edition. Appleton & Lange Stamford, Connecticut, 1995.

Donly KJ. Enamel and dentin demineralization inhibition of fluoride-releasing materials. *Am J Dent* 1994; 5: 275-278.

Drobne D. 3d Imaging of Cells and Tissues by Focused Ion Beam/Scanning Electron Microscopy (Fib/Sem) Nanoimaging: Methods and Protocols, *Methods in Molecular Biology*, 2013; 950: 275-292.

Dumitrescu AL, Ionescu N. Study on the normal and pathologic structures of the hard dental tissues using the scanning electron microscope. *Rom J Morphol Embryol* 1996; 1-2: 123-130.

Earl JS, Leary RK, Perrin J, Brydson R, Harrington JP, Markowitz K, Milne SJ. Characterization of dentine structure in three dimensions using FIB-SEM. *J Micr.* 2010; 240: 1–5.

Elbek Ç, Sabah E. Dişhekimliğinde florid uygulamaları-II. Topikal florid uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Dis Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 2001; 28, 233-238.

Elkassas D, Arafa A, Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *J dent.* 2014; 42: 466– 474.

Elliott JC. Structure, crystal chemistry and density of enamel apatites. *Ciba Found Symp* 1997; (205): 54-6.

Ellwood R, Fejerskov O. Clinical use of flouride. In: *Dental Caries, First Edition*, Ed(s), Fejerskov O., Kidd E.A.M., Blackwell munsgaard, Australia, 2003, 203-216.

Ercan E, Bağlar S, Çolak H. Diş hekimliğinde topikal fluorür uygulama metotları. *Cumhuriyet Dental Journal* 2010; 13: 27-33.

Eric CJ. The association between CarieScan Pro readings and histologic depth of caries in non cavitated occlusal lesion in vitro. MS (Master of Science) thesis, University of Iowa, 2013.

Erickson RL, Glasspoole EA. Model investigations of caries inhibition by fluoride-releasing dental materials. *Adv Dent Res* 1995; 3: 315-323.

Evcin Ö. Lazer Floresan Yöntemi ile Farklı Çürük Tespit Yöntemlerinin Okluzal Çürüklerin Tanısı Yönünden Karşılaştırılması E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 2009,İzmir(Danışman: Prof. Dr. Ferit Özata).

Faller RV, Eversole S, Yan J. Anticaries potential of a stabilized stannous-containing sodium fluoride dentifrice. *Am J Dent* 2010; 23: 32-38.

Farooq I, Moheet IA, Imran Z, Farooq U, A review of novel dental caries preventive material: Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP–ACP) complex, King Saud University. *J Dent Sci.* 2013; 4: 47–51.

Featherstone JDB, O'Reilly MM, Shariati M, Brugler S. Enhancement of remineralisation in vitro and in vivo; in Leach SA (ed): *Factors Relating to Demineralisation and Remineralisation of the Teeth.* Oxford, IRL Press, 1986;23–34.

Fejerskov O, Thylstrup A. Chapter 6; *Clinical and Pathological Features of Dental Caries* In: Fejerskov O, Thylstrup A. *Textbook Of Clinical Cariology, Second Edition.* Munksgaard 1994; 111-157.

Featherstone JD, Glena R, Shariati M, Shields CP. Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res.* 1990; 69: 620-625.

Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res.* 1981; 1: 109-114.

Featherstone JD, Rodgers BE. Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 1981; 5(15): 377-385.

Featherstone JD, Zero DT. An in situ model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *J Dent Res.* 1992; 71: 804-810.

Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process, *Aus J Dent.* 2008; 53: 286-291.

Featherstone JD. Fluoride, remineralization and root caries. *Am J Dent.* 1994; 5: 271-274.

Featherstone JD. Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dnt Mater,* 1996; 12: 194-197.

Featherstone JD. The continuum of dental caries, evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004; 83: 39–42.

Featherstone JDB. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1999; 27: 31-40.

Featherstone JDB. Remineralization, the natural caries repair process. The need for new approaches. *Adv Dent Res.* 2009; 21: 4-7.

Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc.* 2000; 131: 887-889.

Fejerskov O, Kidd EA. *Dental Caries. The Disease and Its Clinical Management,* Copenhagen: Munksgaard, 2008; 210-215.

Fejerskov, 1997, Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997; 25: 5-12.

Field J, Waterhouse P, German M. Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *J Dent.* 2010; 38: 182-190.

Filho ACBC, Sanches RP, O Martin AB, Santo AME, Soares LES. *Microsc Res Techniq.* 2011; 74: 839–844.

Francis AP, Chris L, Kuo-Yih TT. 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 Invest.* 2014; 18: 737-744.

García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139: 25- 34.

Geddes DA. Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Res.* 1975; 9: 98-109.

Gilchrist F, Santini A, Harley K, Deery C, The use of micro-Raman spectroscopy to differentiate between sound and eroded primary enamel, *Int. J. Paed Dent* 2007; 17: 274–280.

Giannuzzi LA, Stevie FA, “Introduction to Focused Ion Beams”, Springer, 2004.

Gibbs CD, Atherton SE, Huntington E, Lurch CH, Duckworth RM. Effect of low levels of fluoride on calcium uptake by demineralized human enamel. *Arc. Oral Bio.* 1995; 40, 879-881.

Gjorgievska ES, Nicholson JW, Slipper JJ, Stevanovic MM, Remineralization of Demineralized Enamel by Toothpastes: A Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive X-Ray Analysis, and Three-Dimensional Stereo-Micrographic Study, *Microsc. Microanal.* 2013; 19: 587–595.

Gonzalez EH, Yap AU, Hsu SC. Demineralization inhibition of direct toothcolored restorative materials. *Oper Dent.* 2004; 5: 578-585.

González-Cabeaz C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, Stookey GK. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. *Car Res.* 1998; 32: 385-392.

González-Cabezas C. The chemistry of caries: Remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin North Am.* 2010; 54: 469-478.

Goodhew P, Humphreys J, Beanland R. *Electron microscopy and analysis*, 3rd edition. Taylor & Francis group, 2001.

Goswami M, Saha S, Chaitra TR Latest developments in non-fluoridated remineralizing Technologies. *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.* 2012; 30: 2-6.

Görken FN, Erdem AP, İkikarakaya G, Sepet E, Nano Hidroksiapatitli diş macunlarının mine remineralizasyonu üzerine etkileri, *İstanbul Üniversitesi Diş Hek Fak Der*, 2013; 47: 81-88.

Grenby TH, Mistry M. Dental caries from three different types of milk powders in rats in metered-feeding studies. *Car Res.* 1993;27: 214-218.

Grenby TH, Mistry M. Precise control of the frequency and amount of food provided for small laboratory animals by a new electronic metering technique used to evaluate the cariogenic potential of chocolate. *Car Res.* 1995; 29: 418-423.

Gwinnett AJ. Structure and composition of enamel. *Oper Dent.* 1992; 5: 10-17.

Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW, Jr., Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Arch Oral Biol.* 2001; 2: 173- 183.

Haris NO, Gorcia-Goday F. Introduction to Primary Preventive Dentistry. In: *Primary preventive Dentistry.* (6th ed.) New Jersey, Prentice Hall, 2004; 46-72.

Harorlı OT, Bayındır ZY, Yıldız M. Adeziv Diş Hekimliğinde Nanoleakage. *Atatürk Üni. Diş Hek Fak Derg.* 2004; 2: 67-73.

Harper DS, Osborn JC, Hefferren JJ, Clayton R. Cariostatic evaluation of cheeses with diverse physical and compositional characteristics. *Caries Res.* 1986; 20: 123-30.

Harper DS, Osborn, JC, Hefferren JJ, Clayton R. Modification of food cariogenicity in rats by mineral-rich concentrates from milk. *J Dent. Res.* 1997; 66: 42-45.

He L, Swain MV. Enamel-A functionally graded natural coating. *J Dent.* 2009; 37: 596– 603.

Hegde MN, Moany A. Remineralization of enamel subsurface lesions with casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: A quantitative energy dispersive X-ray analysis using scanning electron microscopy: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2012; 15: 61-67.

Hegde MN, Shetty S, Pardal D. Remineralization of enamel sub-surface lesion using casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) - a quantitative energy dispersive X-ray analysis. *J Conserv Dent.* 2007;10: 19-25.

Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J Clin Ped Dent.* 2004b; 28: 203-214.

Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. 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.* 2004a; 28: 119-124.

Holler BE, Friedl KH, Jung H, Hiller KA, Schmalz G. Fluoride uptake and distribution in enamel and dentin after application of different fluoride solutions. *Clin Oral Invest.* 2002; 6: 137-144.

Holt C, Timmins PA, Leaver JA. A core shell model of calcium fosfat by casein phosphopeptides, derived from sedimentation equbiliarium and small angle x-ray and neutron-scattering measuraments. *J Bioche.* 1998; 252: 73-78.

Hoshi K, Ejiri S, Probst W, Seybold V, Kamino T, Yaguchi T, Yamahira N, Ozawa H. Observation of human dentine by focused ion beam and energy-filtering transmission electron microscopy, *J Microscop* 2001;201: 44- 49.

Hoshi K, Ejiri S, Probst W, Seybold V, Kamino T, Yaguchi T, Yamahira N, Ozawa H, Observation of human dentine by focused ion beam and energy-filtering transmission electron microscopy, *J Microscop* 2001;201: 44- 49.

Houte JV. Role of Micro-organisms in Caries Etiology. *J Dent Res*, 1994; 73: 672-681, 1994.

Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Remineralization potentialn of nanohydroxyapatite on initial enamel lesions: An in vitro study. *Caries Res* 2011; 45: 460-468.

Hug N, Cross K, Tablo GH, Riley PF, Loganathan A, Reynolds EC. Nterminal sequence analyse of bovine dentin phosphophoryn after conversion of phosphoseryl to S-propylcysteinyl residues. *J Dent Res.* 2000; 72: 474-480.

Huth KC, Neuhaus KW, Gygax M, Bücher K, Crispin A, Paschos E, Hickel R, Lussi A, Clinical performance of a new laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions in permanent molars, *J Dent*, 2008; 36: 1033–1040.

Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptideamorphous calcium phosphate. *Caries Res.* 2004; 38: 551-556.

Iijima Y, Takagi J, Ruben J, Arends J. In vito Remineralization of in vivo and in vitro Formed Enamel Lesions. *Caries Res.* 1999; 33: 206-213.

Iijima Y, Takagi O. In situ acid resistance of in vivo formed white spot lesions. *Caries Res.* 2000; 34: 388-394.

Ishikawa K, Eanes ED. The hydrolysis of anhydrous dicalcium phosphate into hydroxiapatite. *J Dent Res.* 1993; 72: 474-480.

Itthagarun A, King NM, Yiu C, Dawes C. The effect of chewing gums containing calcium phosphates on the remineralization of artificial caries-like lesions in situ. *Caries Res.* 2005; 39: 251-254.

Jablonski-Momeni A, Heinzl-Gutenbrunner M, Klein SMC. In vivo performance of the VistaProof fluorescence-based camera for detection of occlusal lesions. *Clinical Oral Investigations.* 2014; 18: 1757-1762.

Jacobson APM, Strang R, Stephen KF. Effect of low fluoride levels in de/remineralizing solutions of a pH cycling model. *Car Res.* 1991; 25: 230- 231.

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.* 2011; 22: 77-82.

Jensen ME. Diet and dental caries. *Dental Clinics Of North America* 1999; 43: 615-633.

Jham AC. The efficacy of Novamin powered technology Oravive and TopexRenew, Crest and Prevident 5000 Plus in preventing enamel demineralization and white spot lesion formation. Theses and dissertations. University of Iowa, Iowa Research Online, 2010.

Jo SY, Chong HJ, Lee EH, Chang NY, Chae JM, Cho JH, Kim SC, Kang KH. Effects of various toothpastes on remineralization of white spot lesions. *Korean J Orthod* 2014; 44: 113-118.

Jones RS, Darling CL, Featherstone JD, Fried D. Remineralization of in vitro dental caries assessed with polarization-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2006; 1: 14-16.

Jones RS, Fried D. Remineralization of enamel caries can decrease optical reflectivity. *J Dent Res* 2006; 9: 804-808.

Karan K, Yao X, Xu C, Wang Y, Chemical profile of the dentin substrate in non-carious cervical lesions, *Dent Mat.* 2009; 25: 1205–1212.

Karlinsey RL, Mackey AC. Solid-state preparation and dental application of an organically modified calcium phosphate. *J Mater Sci.* 2009; 44: 346-349.

Karlinsey RL, Pfarrer AM. Fluoride Plus Functionalized β -TCP: A promising Combination For Robust Remineralization. *Adv Dent Res* 24(2) 2012.

Kashket S, DePaola DP. Cheese consumption and the development and progression of dental caries. *Nutrition Reviews.* 2002; 60: 97-103.

Keçik D, Çehreli SB, Sar Ç, Ünver B. Effect of acidulated phosphate fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate application on shear bond strength of orthodontic brackets. *The Angles Orthodontists* 2008;78: 129-133.

Keyes PH, Jordan HV. Factors influencing initiation, transmission and inhibition of dental caries. In: Harris RJ, ed. *Mechanisms of hard tissue destruction.* New York, Academic Press, 1963; 261-283.

Kielbassa AM, Muller J, Gernhardt CR. Closing the gap between oral hygiene and minimally invasive dentistry: a review on the resin infiltration technique of incipient (proximal) enamel lesions. *Quintessence Int,* 2009; 40: 663-681.

Kiener D, Motz C, Rester M, Jenko M, Dehm G. FIB damage of Cu and possible consequences for miniaturized mechanical tests”, Materials Science and Engineering A, 2007; 459: 262–272.

Kim MJ, Lee SH, Lee NY, Lee IH, Evaluation of the effect of PVA tape supplemented with 2.26% fluoride on enamel demineralization using microhardness assessment and scanning electron microscopy: In vitro study, AOB. 2012; 2841: 1-7.

Kinoshita H, Miyoshi N, Fukunaga Y, Ogawa T, Ogasawara T, Sano K, Functional mapping of carious enamel in human teeth with Raman microspectroscopy, J. Raman Spectrosc. 2008; 39: 655–660.

Ko AC-T, Hewko M, Sowa MG, Dong CS, Cleghorn B, Choo-Smith LP, Early dental caries detection using a fibre-optic coupled polarization-resolved Raman spectroscopic system, Opt Exp. 2008; 16: 9-11.

Koch G, Fejerskov O, Tyylstrup A. Fluoride in caries treatment-clinical implications In: Textbook of Clinical Cariology, Second Edition, Ed(s), Tyylstrup A., Fejerskov O., Munsgaard, Copenhagen, 1994; 259-278.

Konstantinos K, Orkoulas C, Kalonakis M , Analysis of bone composition with Raman spectroscopy. 2007:1-6.

Koray F. Diş çürükleri. Altın matbaacılık. İstanbul, 1981.

Korkmaz YN, Büyük SK, Yağcı A. Ortodontik Tedaviyle Oluşan Beyaz Lezyonları, Teşhis Yöntemleri ve Kantitatif Işık Etkili Floresans(QLF). Atatürk Üni. Diş Hek Fak Derg. 2014; 9: 146-153.

Korkut B, Tağtekin DA, Yanıkoğlu AÇ, Diş Çürüklerinin Erken Teşhisi ve Teşhiste Yeni Yöntemler: QLF, Diagnodent, Elektriksel İletkenlik ve Ultrasonik Sistem, EÜ Dişhek Fak Derg, 2011; 32: 55-67.

Kouchaji C. Comparison between a laser fluorescence device and visual examination in the detection of occlusal caries in children, *The Saudi Dental Journal*, 2012; 7: 1-6.

Koulourides T. Summary of session II: fluoride and the caries process. *J Dent Res*. 1990; 69: 558.

Krawczyk D, Błaszczak J, Borowicz J, Mielnik-Błaszczak M, Life style and risk of development of dental caries in a population of adolescents, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2014; 21: 576–580.

Krobicka A, Bowen WH, Pearson S, Young HA. The effects of cheese snacks on caries in desalivated rats. *J Dent Res*. 1987; 66: 1116- 1119.

Krol DM. Dental caries, oral health, and pediatricians. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*, 2003; 33: 253-270.

Kudiyirickal MG, Ivancaková R. Early enamel lesion part II. Histomorphology and prevention. *Acta Medica*. 2008; 51: 151-156.

Kumar VLN, Itthagaran A, King NM. The effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aus Dent J* 2008; 53: 34-40.

Küçükkesmen Ç, Sönmez H. Diş hekimliğinde florun, insan vücudu ve dişler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2008;15: 43-53.

Kwon YH, Oh-Won Kwon Oh-W, Kim H-II, Kim Kyo-Han. Nd: YAG Laser Ablation and Acid Resistance of Enamel. *Dental Materials Journal* 2003; 22: 404-411.

Kwon YH, Oh-Won Kwon Oh-W, Kim H-II, Kim Kyo-Han. Nd: YAG Laser Ablation and Acid Resistance of Enamel. *Dental Materials Journal* 2003; 22: 404-411.

Lammers PC, Borggreven JM, Driessens FC. Influence of fluoride and pH on in vitro remineralization of bovine enamel. *Caries Res.* 1992; 26: 8-13.

Larsen MJ, Jensen SJ. Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arc. Oral Biol.* 1994; 39: 23-27.

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.* 2010; 13: 42-46.

LeGeros RZ, Biological and synthetic apatites. In *Hydroxyapatite and related materials*, Ed PW Brown, B Constantz. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994; 3-28.

Lenz H. Electron microscopic investigations of the mineralization of dental enamel and of incipient enamel caries. *Arch Oral Biol* 1961; 4: 34-39.

Levine RS. Milk, flavoured milk products and caries. *British Dent J.* 2001; 14: 191-200.

Li C, Risnes S. SEM observations of Retzius lines and prism cross-striations in human dental enamel after different acid etching regimes. *Arch Oral Biol* 2004; 1: 45-52.

Li J, Nakagaki H, Tsuboi S, Kato S, Huang S, Mukai M, Robinson C, Strong M. Fluoride profiles in different surface of human enamels from a naturally fluoridated and non-fluoridated area. *Arch Oral Biol.* 1994; 39: 727-731.

Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in Human Dental Decay. *Microbiological Reviews*. 1986; 50: 353.

Loos J, van Duren JKJ, Morrissey F, Janssen RAJ. The use of the focused ion beam technique to prepare cross-sectional transmission electron microscopy specimen of polymer solar cells deposited on glass. *Polymer*, 2002; 43: 7493–7496.

Lussi A, Megert B, Longbottom C, Reich E, Francescut P. Clinical performance of a laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions. *Eur J Oral Sci*. 2001; 109: 14–19.

Lynch RJ, Mony U, Ten Cate JM. Effect of lesion characteristics and mineralizing solution type on enamel remineralization in vitro. *Caries Res*. 2007; 41: 257-62.

Maas JRS, Faraco I, Junior A, Lodi CS, Delbem ACB, Differences in loosely bound fluoride formation and anticaries effect of resin-based fluoride varnishes, *Int J Paed Dent* 2013; 23: 166–172.

Magalhães AC, Moron BM, Comar LP, Wiegand A, Buchalla W, Buzalaf MA. Comparison of cross-sectional hardness and transverse microradiography of artificial carious enamel lesions induced by different demineralising solutions/gels. *Caries Res*. 2010; 43: 474-83.

Mahmoud SH, Ahmed ME, Mahmoud KM, Grawish MeI- A, Zaher AR. Effects of phosphoric acid concentration and etching duration on enamel and dentin tissues of uremic patients receiving hemodialysis: an AFM study. *J Adhes Dent*;2012 14: 215–221.

Malkoç MA, Demir N, Ülker HE, Öğreten AT, Uzun İH. Yapıştırma Simanlarında Polimerizasyon Sonrası Oluşan Hava Kabarcığının Mikro-Bilgisayarlı Tomografi ile Değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri J Dental Sci*. 2015; 21: 10-17.

Mannerberg F. The incipient carious lesion as observed in shadowed replicas and ground sections of the same teeth. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 343-363.

Manton DJ, Walker GD, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesion in situ by the use of three commercially available sugar free gums. *Int J Ped Dent*. 2008; 18: 284-290.

Margolis HC, Moreno EC. Physicochemical perspective on the cariostatic mechanism of systemic and topical fluoride. *J Dent Res*. 1990; 69: 606-613.

Margolis HC, Varughese K, Moreno EC. Effect of fluoride on crystal growth of calcium apatites in the presence of a salivary inhibitor. *Calcif Tissue Int*. 1982; 34: 33-40.

Marinho VCC, Higgins JPT, Sheiham A, Logan S: Fluoride toothpaste for preventing dental caries in children and adolescents (review). *Cochrane Database Syst Rev* 2003.

Martinez AR, Abranches J, Kajfasz JK, Lemos JA, Characterization of the *Streptococcus sobrinus* acid stress response by interspecies microarrays and proteomics, *Mol Oral Microbiol*. 2010; 25: 331–342.

Mathias J, Sathyakumar S, Mahalaxmi S. Comparison of surface roughness after micro abrasion of enamel using two proprietary remineralization agents: An in-vitro study. *KDJ*. 2011;34: 390-393.

Matsui R, Cvitkovitch D, Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*, *Future Microbiol*. 2010; 5: 403–417.

Mayer J, Giannuzzi LA, Kamino T, Michael J. TEM sample preparation and FIB-induced damage, *MRS Bulletin*. 2007; 32: 400-407.

Meerbeek BV, Conn Jr. LJ, Duke ES, Schraub D, Ghafghaichi F. Demonstration of a focused ion-beam cross-sectioning technique for ultrastructural examination of resin-dentin interfaces. *Dent Mater.* 1995; 11: 87-92.

Melberg JR. Evaluation of topical fluoride preparations. *J Dent Res.* 1990; 69: 771-779.

Mellberg JR, Ripa LW. Formation of dental caries. In: *Fluoride in Preventive Dentistry. Theory and clinical applications.* Chicago, Quintessence Publishing Co, 1983; 15-40.

Meyer-Lueckel H, Tschoppe P, Kielbassa AM. Effect of various Ca^{+2}/PO concentrations of linseed-based saliva substitutes on enamel in vitro. *J Oral Rehabil* 2006; 10: 760-766.

Miura J, Kubo M, Nagashima T, Takeshige F, Ultra-structural observation of human enamel and dentin by ultra-high-voltage electron tomography and the focus ion beam technique, *J Elec Micros.* 2012; 61: 335–341.

Mohanty B, Dadlani D, Mahoney D, Mann AB. Characterizing and Identifying Incipient Carious Lesions in Dental Enamel Using Micro-Raman Spectroscopy. *Caries Res* 2013; 47: 27–33

Moura JS, Rodrigues LK, Del Bel Cury AA, Lima EM, Garcia RM. Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling. *J Appl Oral Sci.* 2004; 12: 205-208.

Moynihan PJ, Ferrier S, Jenkins GN. The cariostatic potential of cheese: cooked cheese- containing meals increase plaque calcium concentration. *Brit Dent J.* 1999; 187: 664-667.

Moynihan PJ. Foods and dietary factors that prevent dental caries. *Quint. Inter.* 2007; 38: 320-324.

Mundorff-Shrestha SA, Featherstone JD, Eisenberg AD, Cowles E, Curzon ME, Espeland MA, Shields CP. Cariogenic potential of foods. II. Relationship of food composition, plaque microbial counts, and salivary parameters to caries in the rat model. *Car Res.* 1994;28: 106-115.

Nallaa RK, Portera AE, Daraioc C, Minor AM, Radmilovicb V, Stachb EA, Tomsiaa AP, Ritchie RO. Ultrastructural examination of dentin using focused ion-beamcross-sectioning and transmission electron microscopy, *Micron.* 2005; 36: 672–680.

Narayana SS, Deepa VK, Ahamed S, Sathish ES, Meyappan R, Kumar S, Remineralization efficiency of bioactive glass on artificially induced carious lesion an in-vitro stud. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry,* 2014; 32: 19-25.

Nassur C, Alexandria AK, Pomarico L, Sousa VP, Cabral LM, Maia LC, Characterization of a new TiF₄ and b-cyclodextrin inclusion complex and its in vitro evaluation on inhibiting enamel demineralization, *Arch of Oral Biol.*2013; 58: 239 – 24.

Naumova EA, Niemann N, Aretz L, Arnold WH. Effects of different amine fluoride concentrations on enamel remineralization. *J Dent.* 2012; 40: 750-755.

Newbrun E. *Cariology* Third edition. Quintessence Publishing Co, Inc, 1989.

Nicolae CS, Amariei CI. Comparative Study Using Scanning Electron Microscopy and Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy to Assess Morphological Modifications to the Enamel Surface Produced by Three Sodium Fluoride Solutions *OHDM.* 2011; 10: 199-208.

Ogaard B, Rolla G, Dijkman T, Ruben J, Arends J. Effect of fluoride mouthrinsing on caries lesion development in shark enamel: an in situ caries model study. *Scand J Dent Res.* 1991; 99: 372–377.

Oliveira MAHM, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, Menezes FCH, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Microstructure and Mineral Composition of Dental Enamel of Permanent and Deciduous Teeth. *Mic. Res. Tech.* 2010; 73: 572–577.

O'Reilly MM, Featherstone JD. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987; 1: 33-40.

Orloff J, Utlaut M, Swanson L, “High Resolution Focused Ion Beams”, L., 2002, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, Ando S. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci.* 2007; 49: 115–120.

Önal B, Özata F, Diekwisch TGH. Diş sert dokularında taramalı elektron mikroskobu atlası. 2003, Ege Üniversitesi Basımevi. İzmir.

Özgünaltay G, Gökalp S. Ayranın mine demineralizasyonu üzerine etkisinin ağız içi çürük testi uygulanarak incelenmesi. *Hacettepe Üniversitesi Diş Hek Fak Der.* 1991; 15, 136-139.

Pacher P, Lex A, Proschek V, Etschmaier H, Tchernychova E, Sezen M, Scherf U, Grogger W, Trimmel G, Slugovc C, Zojer E. “Chemical control of local doping in organic thin-film transistors: from depletion to enhancement”. *Adv. Mater.* 2008; 9999: 1- 6.

Pai D, Bhat SS, Taranath A, Sargod S, Pai VM. 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 Ped Dent.* 2008;32: 201-206.

Panich M, Poolthong S. The effect of casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate and a cola soft drink on in vitro enamel hardness. *JADA* 2009; 140: 455-460.

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* 2013; 16: 116-120.

Paul S, Tandon S, Murthy K. Effect of fluoride dentifrices on salivary fluoride levels in children. *Ind J Dent Res.*1993; 4: 95-101.

Pearce EI, Moore AJ. Remineralization of softened bovine enamel following treatment of overlying plaque with a mineral-enriching solution. *J Dent Res.* 1985; 64: 416-421.

Pearce EI, Nelson DG. Microstructural features of carious human enamel imaged with back-scattered electrons. *J Dent Res.* 1989 68: 113-118.

Petti S, Cairella G, Tarsitani G. Rampant early childhood dental decay: an example from Italy. *J Pub Health Dent.* 2000; 60: 159-166.

Piesco NP, Simmerlink J. Histology of Enamel In: *Oral Development and Histology* Third edition, 2002; 9: 153-171.

Piekarz C, Ranjitekhar S, Hunt D and McIntyre J. An In vitro assessment of the role of tooth moasse in prevenfing wine erosion. *Aust Dent J* 2008; 53: 22-25.

Pitts NB. How Electrical Caries Detection and Monitoring With CarieScan Can Help Deliver Modern Caries Management. *Oral Health*. 2010; 100: 34-41.

Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel demineralization of a CPP-ACP paste: an AFM in vitro study. *J Dent*. 2009; 37: 949-954.

Poggio C, Lombardini M, Vigorelli P, Ceci M, Analysis of Dentin/Enamel Remineralization by a CPP-ACP Paste: AFM and SEM Study, *SCANNING VOL*. 2013; 9999: 1-9.

Pretty IA, Hall AF, Smith PW, Edgar WM, Higham SM, The intra- and inter-examiner reliability of quantitative light-induced fluorescence (QLF) analyses, *British Dental Journal* 2002; 193: 105-109.

Puppels GJ, Demul FFM, Otto C, Greve J, Robertnicoud M, Arndtjovin DJ, Jovin TM. Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman microspectroscopy. *Nature* 1990; 347: 301-303.

Puppels GJ, Garritsen HSP, Segersnolten GMJ, Demul FFM, Greve J. Raman microspectroscopic approach to the study of human granulocytes. *Biophys J*. 1991; 60: 1046-1056.

Queiroz CS, Hara AT, Leme FP, Cury JA. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz Dent J*. 2008; 19: 21-27.

Radford JR, Ballantyne HM, Nugent ZJ, Robertson M, Longbottom C, Pitts NB, Beighton D, Brailsford SR. Does social deprivation in 1,2,3 and 4-year-old Scottish infants influence the frequency isolation of caries-associated micro-organisms. *J of Dent*. 2001; 29: 325-332.

Ramalingam L, Messer LB, Reynolds EC. Adding casein phosphopeptideamorphous calcium phosphate to sports drinks to eliminate in vitro erosion. *Ped Dent.* 2005; 27: 61-67.

Reema SD, Lahiri PK, Roy SS, Review of casein phosphopeptides-amorphouse calcium phosphate, *Chi J Dent Res* 2014; 17: 7-14.

Rees J, Loyn T, Chadwick B. Pronamel and tooth mousse: an initial assessment of erosion prevention in vitro. *J Dent.* 2007; 35: 355-357.

Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. *Int Dent J.* 1999; 49: 15-26.

Reynolds E.C. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res.* 1997;76: 1587-1595.

Reynolds EC, Black CL. Confectionary composition and rat caries. *Car Res.* 1987a; 21: 538-545.

Reynolds EC, Black CL. Cariogenicity of a confection supplemented with sodium caseinate at a palatable level. *Car Res.* 1989; 23: 368-370.

Reynolds EC, Black CL. Reduction of cholate's cariogenicity by supplementation with sodium caseinate. *Caries Res.* 1987; 21: 445-451.

Reynolds EC, Black CL. Reduction of cholate's cariogenicity by supplementation with sodium caseinate. *Car Res,* 1987;21: 445-451.

Reynolds EC, Black CL. Reduction of cholate's cariogenicity by supplementation with sodium caseinate. *Car Res.* 1987b; 21: 445-451.

Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Walker GD, Morgan MV, Reynolds C. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2008; 87: 344-348.

Reynolds EC, Cai F., Shen P, Walker GD. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res*. 2003; 82: 206-211.

Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL et al. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res*. 1995; 74: 1272-1279.

Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res*. 1995; 74: 1272-1279.

Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res*. 1995;74: 1272-1279.

Reynolds EC, Del RA. Effect of casein and whey-protein solutions on caries experience and feeding patterns of the rat. *Arch Oral Biol*. 1984;29: 927-933.

Reynolds EC, Johnson IH. Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. *Arch Oral Biol*. 1981; 26: 445- 451.

Reynolds EC, Riley PF, Adamson N. A selective precipitation purification procedure for multiple phosphoserine-containing peptides and methods for their identification. *Analy Biochem*. 1994; 217: 277-284.

Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist*. 1998; 18: 8-16.

Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Special Care In Dentistry*. 1998;18: 8-16.

Reynolds EC. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate: The Scientific Evidence, *ADR*. 2009; 21: 25-29.

Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res*. 1997;76: 1587-1595.

Rezvani MB, Karimi M, Rasoolzade RA, Haghgoo R. Comparing the Effects of Whey Extract and Case in Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Enamel Microhardness. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*. 2015; 16: 49-53.

Ringelberg ML Tonascia JA. A regression model analysis of longitudinal dental caries data. *Commu Dent Oral Epidemio* 1976; 2: 70-76.

Risnes S. Growth tracks in dental enamel. *J Hum Evol*. 1998; 4-5: 331-350.

Roberson TM, Heyman HO, Swift EJ. Introduction to Art and Science of Operative Dentistry. (5th ed.) St.Louis, Mosby Co, 1001; 7-134.

Robinson C, Brookes SJ, Bonass WA, Shore RC, Kirkham J. Enamel maturation. *Ciba Found Symp* 1997; 205: 156-170.

Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Stafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol*. 2000; 11: 481-495.

Rodrigues JA, Hug I, Diniz MB, Lussi A, Performance of Fluorescence Methods, Radiographic Examination and ICDAS II on Occlusal Surfaces in vitro, *Caries Res* 2008; 42: 297-304.

Rolla G, Ogaard B. Studies on the solubility of calcium fluoride in human saliva. In: Leach SA, ed. Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. Oxford: IRL Press, 1986; 45-50.

Rose RK, Matthews SP, Hall RC. Investigation of Ca-binding sites on the surfaces of selected gram-positive oral organism. Arch. Oral BioL. 1997; 42: 595-599.

Rose RK, Turner SJ, Dipdin GH. Effect of ph and calcium concentration, calcium diffusion in streptococcal model plaque biofilms. Arch Oral Biol. 1997b; 42: 795-800.

Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. Arch Oral Biol. 2000; 45: 569-575.

Rosen S, Min DB, Harper DS, Harper WL, Beck EX, Beck FM. Effect of cheese, with and without sucrose, dental caries and recovery of streptococcus mutans in rats. J Dent Res. 1984; 63: 894-896.

Rosin-Grget K, Lincir I, Andrijanic A. In vitro fluoride uptake by enamel from different amine fluoride concentrations. CarRes. 2002; 36: 266-269.

Roth KK, Struss N, Ahrens G. Histologic verification of the reliability of clinical caries diagnoses. Dtsch Zahnarztl Z 1990; 12: 782-784.

Rudney JD. Saliva and dental plaque. Adv Dent Res. 2000; 14: 29-39.

Sanches RP, Otani C, Damiao AJ, Miyakawa W. AFM characterization of bovine enamel and dentine after acid-etching. Micron. 2009; 40: 502-506.

Sathe N, Chakradhar Raju RVS, Chandrasekhar V. Effect of Three Different Remineralizing Agents on Enamel Caries Formation– An in vitro Study. 2014;12: 45.

Sathyakumar S, Rajkumar K, Mahalaxmi S, Sundaram MK, Ragavi P, Brush away demineralization- An in vitro SEM study, *J Dent Sci.* 2011; 2: 186-190.

Sauer GR, Zunic WB, During JR, Wuthire RE, Fourier transform Raman spectroscopy of synthetic and biological calcium phosphates, *Calcid Tissue Int.* 1994; 54: 414-420.

Sawyer KK, Donly KJ. Remineralization effects of a sodium fluoride bioerodible gel. *Am J Dent* 2004; 4: 245-248.

Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM, Winston AE. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J Clin Dent* 1999; 1: 13-16.

Schroeder HE, Luder HU, Bosshardt DD. Morphological and labeling evidence supporting and extending a modern theory of tooth eruption. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 1992; 102: 20-31.

Schupbach P, Neeser JR, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res.* 1996;75: 1779-1788.

Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 6. 2007;369: 51-59.

Seppa L, Salmenkivi S, Hausen H. Salivary fluoride concentration in adults after different fluoride procedures. *Acta Odontologica Scandinavia.* 1997; 55: 84- 87.

Seremidi K, Lagouvardos P, Kavvadia K. Comparative In Vitro Validation of VistaProof and DIAGNOdent Pen for Occlusal Caries Detection in Permanent Teeth. *Operative Dentistry.* 2012; 37: 234-245.

Shaw JH. Effects of dietary composition on tooth decay in the albino rat. *Brit J Nutri,* 1950; 41: 13-24.

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*, 2001; 80: 2066-2070.

Silva MF, Burgss RC, Sandham HJ, Jenkins GN. Effect of water-soluble components of cheese on experimental caries in humans. *J Dent Res*. 1987; 66: 8-41.

Silverstone M, Johnson NW, Hardie JM, Williams R. *Dental caries: aetiology, pathology and prevention*. Hong Kong: The Mac Millan Press, 1981, p.71-97.

Silverstone LM, Hicks MJ, Featherstone MJ. Dynamic factors affecting Lesion initiation and progression in human dental enamel. Part I. The dynamic nature of enamel caries. *Quintessence Int*, 1988; 19: 773-785.

Silverstone LM. The structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev*. 1973; 3: 100- 160.

Silverstone M, Johnson NW, Hardie JM, Williams R. *Dental caries. Aetiology, pathology and prevention*. Hong Kong, The Mac Millan Press Ltd, 1981; 71-97.

Silverstone LM., Hicks MJ., Featherstone MJ. Dynamic Factors Affecting Lesion Initiation and Progression In Human Dental Enamel. Part I. The Dynamic Nature Of Enamel Caries. *Quintessence International*, 1998; 19: 683-711.

Simmelink JW, Abrigo SC. Crystal morphology and decalcification patterns compared in rat and human enamel and synthetic hydroxyapatite. *Adv Dent Res* 1989; 2: 241-248.

Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ* 2001; 9: 896-905.

Sjogren K, Birkhed D, Ruben J, Arends J. Effect of post-brushing water rinsing on caries-like lesions at approximal and buccal sites. *Caries Res*, 29: 337-342, 1995.

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 Orthodon.* 2007; 29: 157–160.

Soares LES, Filho ACBD. Protective Effect of Fluoride Varnish and Fluoride Gel on Enamel Erosion: Roughness, SEM-EDS, and m-EDXRF Studies. *Microsc Res Techniq.* 2015; 78: 240–248.

Somasundaram P, Vimala N, Mandke LG. Protective potential of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate containing paste on enamel surfaces. *J Conserv Dent.* 2013; 16: 152-156.

Sonju Clasen AB, Ogaard B, Duschner H, Ruben J, Sonju T. Caries Development in Fluoridated and Non-Fluoridated Deciduous and Permanent Enamel In-Situ Examined by Microradiography and Confocal Laser Scanning Microscopy. *Adv Dent Res.* 1997; 11: 442-447.

Sonju Clasen AB, Ogaard B. Experimental Intra-Oral Caries Models in Fluoride Research. *Acta Odontologica Scandinavia*, 1999; 57: 334-41.

Souza JF, Boldieri T, Diniz MB, Rodrigues JA, Lussi A, Cordeiro RCL, Traditional and novel methods for occlusal caries detection: performance on primary teeth, *Lasers Med Sci*, 10; 103-012.

Souza-Gabriel AE, Colucci V, Turssi CP, Serra MC, Corona SAMMicrohardness and SEM After CO₂ Laser Irradiation or Fluoride Treatment in Human and Bovine Enamel. *Mic Res Tech.*2010; 73: 1030–1035.

Srinivasan N, Kavitha M, Loganathan SC, Comparison of the remineralization potential of CPP–ACP and CPP–ACP with 900 ppm fluoride on eroded human enamel: An in situ study, *arch oral biol.* 2010; 55: 541–544.

Staninec M, Giles WS, Saiku JM, Hattori M. Caries penetration and cement thickness of three luting agents. *Int J Prosthodont* 1988; 3: 259-263.

Stodt T, Attin T. Bitewing examinations as a part of preventive dentistry-a review. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 2004; 9: 882-889.

Stookey GK, De Paola PF, Featherstone JDB, Fejerskov O, Möller IJ, Rotberg S, Stephen KW, Wefel JS. A critical review of the relative anticaries efficacy of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices. *Car Res*. 1993; 27: 337-360.

Stookey GK, Warrick JM, Miller LL, Greene AL. Animal caries models for evaluating fluoride dentifrices. *Adv Dent Res* 1995; 3: 198-207.

Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ. Prevention of white spot lesions in orthodontic practice: a contemporary review. *Aus Dent Jour*. 2006; 51: 284-289.

Sundstrom B, Zelander T, Lobo R. Some observations on the morphology of in vitro decalcified incipient enamel caries. *Odontol Revy* 1972; 1: 1-7.

Svejda J, Bures H. Variation in the prismatic arrangement of dental enamel surfaces. *Z Mikrosk Anat Forsch* 1974; 4: 681-689.

Tabari M, Rashed-Mohassel A, Bejeh-Mir AP, Gharekhani S, Assessment of Protective Effect of Amorphous Calcium Phosphate-Caseine Phosphopeptide and Silicone Oil against the Erosive Property of Iron Drop: An in-Vitro Investigation in Primary Teeth *Zahedan J Res Med Sci* 2014; 16: 10-14.

Tamime AY, Robinson RK. *Yoghurt Science and Technology*, Woodhead Publishing Limited, Second edition, 1999; 365-373.

Tantbirojn D, Huang A, Ericson MD, Poolthong S. Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste. *J Dent*. 2008; 36: 74-79.

Tatevossian, A. Fluoride in dental plaque and its effects. *J Dent Res.* 1990; 69: 645-652.

ten Cate JM Featherstone JD. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 3: 283-296.

ten Cate JM, Duijsters PPE. Influence of fluoride in solution on tooth enamel demineralization. Microradiographic data. *Car Res.* 1983; 17: 513- 519.

ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. dental caries. Copenhagen, Blackwell Munksgaard, 2003.

ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O. Chemical interactions between tooth and oral fluids. In: *Dental Caries, First Edition*, Ed(s), Fejerskov O., Kidd E. Blackwell munsgaard, Iowa, 2003; 49-69.

ten Cate JM, Shariati M, Featherstone JD. Enhancement of (salivary) remineralization by 'dipping' solutions. *Caries Res* 1985; 4: 335-341.

ten Cate JM, Timmer K, Shariati M, Featherstone JD. Effect of timing of fluoride treatment on enamel de- and remineralization in vitro: a pH-cycling study. *Caries Res* 1988; 1: 20-26.

ten Cate JM. In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res* 1994; 2: 125-133.

ten Cate JM. Remineralization of caries lesions extending into dentin. *J Dent Res.* 2001 80: 1407-1411.

ten Cate JM. Special emphasis on calcium fluoride mechanism in caries prevention. *Eur J Oral Sci.* 1997; 105: 461-465.

ten Cate JM, Arends J. Remineralization of Artificial Enamel Lesions in vitro. Determination of Activation Energy and Reaction Order. *Caries Res.* 1978; 12: 213-222.

Tenuta LMA, Cury JA. Fluoride: its role in dentistry. *Braz Oral Res.* 2010; 24: 9-17.

Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttiporn T, Ikeda M, Tagami J. In vitro evaluation of dentinal hydraulic conductance and tubule sealing by a novel calcium-phosphate desensitizer. *J Biomed Mater Res Part B* 2012:1-7.

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.* 2005b; 18: 212- 216.

Thaveesangpanich P, Itthagarun A, King NM, Wefel JS. The effects of child formula toothpastes on enamel caries using two in vitro pH-cycling models. *Int Dent J.* 2005a; 55: 217-23.

Thylstrup A, Fejerskov O, Larsen MJ. Polarized light microscopy of enamel structure in incisors from newborn infants. *Scand J Dent Res* 1976; 5: 243- 254.

Tiritoglu, M., Özgünaltay, G. (1992). Süt ve ayranın diş çürüğüne etkilerinin ratlarda incelenmesi. *Selçuk Üniversitesi Dis Hekimliği Fak Der.* 1992; 2: 5-11.

Topaloğlu B, Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat İçerikli Patın Mine Demineralizasyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009, Samsun, Danışman: Yrd. Doç. Dr. Aysun Avşar

Tosun, G., Şener, Y., Şengün, A. The Effect of Various Storage Solutions on The Bond Strength of Resin Composite to Enamel. *Hacettepe Diş Fak Der.* 2005; 29: 2-6.

Touger-Decker R, Loveren CV. Sugars and dental caries, *Am J Clin Nutr.* 2003; 78; 881-892.

Tramini P, Pelissier B, Valacarcel J, Bonnet B, Maury L. A Raman spectroscopic investigation of dentin and enamel structures modified by lactic acid. *Caries Res* 2000; 34: 233–240.

Tramini P, Pelissier B, Valcarcel J, Bonnet B, Maury L. A Raman Spectroscopic Investigation of Dentin and Enamel Structures Modified By Lactic Acid. *Caries Res.* 2000; 34: 233-240.

Tsanidis V, Koulourides T. An in vitro model for assessment of fluoride uptake from glass-ionomer cements by dentin and its effect on acid resistance. *J Dent Res* 1992; 71: 7-12.

Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent* 2007; 39: 430–437.

Tsuda H, Arends J. Orientational micro-Raman spectroscopy on hydroxyapatite single crystals and human enamel crystallites. *J Dent Res* 1994; 73: 1703–1710.

Tsuda H, Arends J. Detection and Quantification of Calcium Fluoride Using Micro-Raman Spectroscopy. *Caries Res.* 1993; 27: 249-257.

Tsuda H, Arends J. Raman Spectroscopy in Dental Research: A Short Review of Recent Studies. *Adv Dent Res* 1997; 11:539-547.

Tsuda H, Jongebloed WL, Stokroos I, Arends J. Combined Raman and SEM study on CaF₂ formed on/in by APF treatments. *Caries Res* 1993; 27: 445– 454.

Tsuda H, Reuben J, Arends J. Raman spectra of human dentin mineral. *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 123–131.

Tyagi S, Garg P, Sinha DJ, Singh UP, An update on remineralizing agents, *J Inter Dent*. 2013; 3: 151-158.

Uchic MD, Dimiduk DM, Florando JN, Nix WD. "Sample dimensions influence strength and crystal plasticity", *Science*, 2004; 305: 986-989.

Uchic MD, Holzer L, Inkson BJ, Principe E.L, Munroe P. "Three-dimensional microstructural characterization using Focused Ion Beam tomography", *MRS Bulletin*, 2007; 32: 408-416.

Uraz T, Günes T, Sezgin E, Koçak C, Atamer M, Alpar O, Yetismeyen A. *Süt ve Mamülleri teknolojisi*. Segem Yayınları, Ankara, 1981; 100-104.

Valinoti AC, Pierro VSS, Silva EM, Maia LC, in vitro alterations in dental enamel exposed to acidic Medicines, *International Journal of Paediatric Dentistry* 2011; 21: 141– 150.

van Leer B, Giannuzzi L.A. "Static vs. Dynamic FIB/SEM methods for 3D modeling", *Microsc. Microanal.*, 2007; 13: 1-2.

Venkateswarlu, P. Evaluation of analytical methods for fluorine in biological and related materials. *J Dent Res*. 1990; 69: 514-521; 556-557.

Vieira AEM, Delbem ACB, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res*. 2005; 39: 514-520.

Vilchis RJS, Hotta Y, Yamamoto K. Examination of enamel-adhesive interface with focused ion beam and scanning electron microscopy, *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2007; 131: 646-650.

Vogel GL, Zhang Z, Carey CM, Ly A, Chow LC, Proskin HM. Composition of plaque and saliva following a sucrose challenge and use of an alpha tricalcium-phosphate-containing chewing gum. *J Dent Res.* 1998; 77: 518-524.

Volkert CA, Minor AM. "Focused Ion Beam microscopy and micromachining", *MRS Bulletin*, 2007; 32: 389-395.

Wahab FK, Shellis RP, Elderton RJ. Effect of low fluoride concentration on formation of caries like lesions on human enamel in bacterial system, *Arc Oral Biol.* 1993; 38: 985-995.

Walker G, Cai F, Shen P et al. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dairy Res.* 2006; 73: 74-8.

Walker G, Cai F, Shen P, Reynolds C, Ward B, Fone C, Honda S, Koganei M, Oda M, Reynolds EC. Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added CPP-ACP. *J Dairy Res.* 2006; 73: 74-78.

Walker GD, Cai F, Shen P, Bailey DL, Yuan Y, Cochrane NJ, Reynolds EC. Consumption of milk with added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralizes enamel subsurface lesions in situ. *Aust Dent J* 2009; 54: 245-249.

Walsh LJ. Contemporary technologies for remineralization therapies: A review. *International Dentistry SA-Australasian edition.* 2009; 4: 4.

Wentrup-Byrne E, Armstrong CA, Armstrong RS, Collins BM, Fourier Transform Raman Microscopic Mapping of the Molecular Components in a Human Tooth, *J Raman Spectrosc.* 1997; 28: 151-158.

West NX, Joiner A, Enamel mineral loss, *Jdent.* 2014;42: 2–11.

White DJ. Use of synthetic polymer gels for artificial carious lesion preparation. *Caries Res* 1987; 3: 228-242.

Willmott NS, Wong FSL, Davis GR. An X-ray microtomography study on the mineral concentration of carious dentine removed during cavity preparation in deciduous molar, *Caries Res*, 2007, 41; 129-134.

Wu YQ, Arsecularatne JA, Hoffman M. Effect of Acidity Upon Attrition-Corrosion Of Human Dental Enamel. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2015;44: 23-34 .

Xu C, Yao X, Walker MP, Wang Y. Chemical/Molecular Structure of the Dentin–Enamel Junction is Dependent on the Intratooth Location, *Calcif Tissue Int*. 2009; 84: 221–228.

Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent*. 2006; 34: 230-236.

Yoneyama N, Morimoto H, Ye CX, Ashihara H, Mizuno K, Kato M, Substrate specificity of *N*-methyltransferase involved in purine alkaloids synthesis is dependent upon one amino acid residue of the enzyme, *Mol Genet Genomics*, 2006; 275: 125-135.

Yoshimura M, Suda H, Hydrothermal processing of hydroxyapatite: past, present, and future. In *Hydroxyapatite and related materials*, pp. 45–72. Ed PW Brown, B Constantz. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994.

Young DA FJ. Caries management by risk assessment, *Comm dent oral epidemiol*. 2012; 41; 53-63.

Yuanyuan Liu, Chin-Ying Stephen Hsu, Laser-induced compositional changes on enamel: A FT-Raman study, *J dent*. 2007; 35:226–230.

Zero DT. Dental caries process. *Dent Clin N Am.* 1999; 43: 635-664.

Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res* 1995; 3: 214-230.

Zhang Q, Zou J, Yang R, Zhou X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calciumphosphate creme on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int J Paed Den* 2011; 21: 374-381.

Zhang X, Li Y, Sun X, Kishen A, Deng X, Yang X, Wang H, Cong C, Wang Y, Wu M, Biomimetic remineralization of demineralized enamel with nano-complexes of phosphorylated chitosan and amorphous calcium phosphate, *J. Mat Sci.* 2014; 14: 5285-5292.

Zheng L, Zheng J, Zhang YF, Qian LM, Zhou ZR, Effect of CPP-ACP on the remineralization of acid-eroded human tooth enamel: nanomechanical properties and microtribological behaviour study, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 2013; 46.

Zhou C, Zhang D, Bai Y, Li S. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralization of primary teeth early enamel lesions. *J Dent.* 2014; 42: 21-29.

Zhou SL, Zhou J, Watanabe S, Watanabe K, Wena LY, Xuan K, In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on remineralization in an enamel erosion model. *J Dent.* 2012; 40: 255–263.

EK 1:

HastaBilgilendirmeFormu

Çalışmamız gönüllülük esasına dayanmaktadır. Katılımınızdan önce size araştırma hakkında bilgi vermek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılım kararınızı veriniz. Çalışmamıza katılmak zorunlu değildir. İstedığınız zaman bu çalışmadan çıkabilirsiniz. Çalışmamızda herhangi bir maddi ve manevi risk bulunmamaktadır. Yaptığımız Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat içeren Remineralizasyon Ajanlarının Etkilerinin Nanoteknolojik Teknikler ile Analizi ve Karşılaştırılması isimli çalışmamızda, remineralizasyon ajanlarının mine yüzeyi üzerindeki etkileri çekilmiş dişler üzerinde incelenecektir. Bu amaçla, endikasyonu uzman hekimler tarafından konulup çekilen dişiniz bu araştırmada kullanılacaktır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar bilimsel nitelikli yayınlarda ve dişhekimliği öğrencilerinin eğitimlerinde kullanılabilir. Bu amaç dışında kullanılmayacaktır ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size herhangi bir ek ödeme yapılmayacaktır.

Açıklama yapan araştırmacının:

Adı-Soyadı:

İmza

Tarih:

İletişim Bilgileri:

Telefon numarası:

E-posta adresi:

buraktki@gmail.com

EK 2:

HASTA ONAY FORMU

Araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum (veya bu metin bana okundu). Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu form ile ilgili soru soracak zaman ve fırsatım oldu. Tüm sorularım cevaplandı. Çekilen dişimin Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat içeren Remineralizasyon Ajanlarının Etkilerinin Nanoteknolojik Teknikler ile Analizi ve Karşılaştırılması isimli araştırmada kullanılacağını biliyorum. Bu koşullarla, söz konusu çalışmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum. **Tıbbi tarihçemi de içeren, kendim hakkımda verdiğim her türlü bilginin doğruluğunu da teyit ediyorum.**

Gönüllünün:

Adı-Soyadı

İmza

Adres:

Tel:

Tarih:

Gönüllü 18 yaşından küçük ise velisinin:

Adı-Soyadı

İmza

Görevi:

Tel:

Tarih:

Olur alma işlemine başından beri tanklık eden kuruluş görevlisinin:

Adı-Soyadı

İmza

Görevi:

Tel:

Tarih:

Açıklama yapan araştırmacının:

Adı-Soyadı:

İmza

Tarih:

İletişim Bilgileri:

Telefon numarası:

E-posta adresi:

buraktki@gmail.com

EK 3:



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

PROJENİN ADI: Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat içeren Remineralizasyon Ajanlarının Etkilerinin Nanoteknolojik Teknikler ile Analizi ve Karşılaştırılması
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Prof.Dr. Betül KARGÜL
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR: Burak KİTİKİ
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 08.10.2013-4

Sayın Prof.Dr. Betül KARGÜL

110 protokol nolu "Kazein Fosfopeptid Amorf Kalsiyum Fosfat içeren Remineralizasyon Ajanlarının Etkilerinin Nanoteknolojik Teknikler ile Analizi ve Karşılaştırılması" isimli projenin Enstitümüzün Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.

F. Arıcıoğlu

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Komisyon Başkanı

İnci Alıcan

Prof. Dr. İnci ALICAN

Serap Akyüz

Prof. Dr. Serap AKYÜZ

Levent Kabasakal

Doç. Dr. Levent KABASAKAL

Prof. Dr. Aysel PEHLİVAN

Nefise Bahçecik

Doç. Dr. Nefise BAHÇECİK

Hakkı Arıkan

Doç. Dr. Hakkı ARIKAN

Doç. Dr. Asım CİNGİ

Pınar Ay

Doç. Dr. Pınar AY

Yrd. Doç. Dr. Murat ÇEKİN

Tolga Güven

Yrd. Doç. Dr. Tolga GÜVEN

Yrd. Doç. Dr. Zübeyir SARI



Marmara Üniversitesi Göztepe
Kampusu Sağlık Bilimleri
Enstitüsü 34688 Kadıköy /
İSTANBUL

0 (216) 414 44 23/12 (Faks)
0 (216) 414 44 23

saglik.ogrenci@marmara.edu.tr
<http://saglik.marmara.edu.tr>

Ayrıntılı bilgi için:

ÖZGEÇMİŞ

Adı	BURAK	Soyadı	KITIKI
Doğum Yeri	HAKKARİ	Doğum Tarihi	1983
Uyruğu	T.C.	Tel	05077020683
E-mail	buraktki@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fak	2015
Lisans	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fak	2008
Lise	Aydın Süleyman Demirel Anadolu Lisesi	2001

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Doktora Öğrencisi	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	2010-2015

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu

YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
74								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	74		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi