



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI REMİNERALİZASYON AJANLARININ LAZER
VE OZON TEDAVİSİ İLE KOMBİNE KULLANIMININ
BAŞLANGIÇ ÇÜRÜKLERİNE ETKİSİNİN İN-VİTRO
OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Emine TAŞTAN

**SAMSUN
MART-2016**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
RESTORATİF DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI

**FARKLI REMİNERALİZASYON AJANLARININ LAZER
VE OZON TEDAVİSİ İLE KOMBİNE KULLANIMININ
BAŞLANGIÇ ÇÜRÜKLERİNE ETKİSİNİN İN-VİTRO
OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Emine TAŞTAN

Danışmanlar: Doç.Dr. Eda GÜLER

Yrd.Doç.Dr. Fatma AYTAÇ

**SAMSUN
MART-2016**

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmalarım süresince bana destek olan, bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bana yol gösteren doktora tez danışmanlarım Doç. Dr. Eda GÜLER'e ve Yrd. Doç. Dr. Fatma AYTAÇ'a,

Doktora eğitimim süresince büyük ilgi ve desteğini gördüğüm Ondokuz Mayıs Üniversitesi Restoratif Diş Tedavisi A.D'de görev yapan Prof. Dr. Ertan ERTAŞ'a, Prof. Dr. Bilinç BULUCU'ya, Yrd. Doç. Dr. Emel KARAMAN'a, Doç. Dr. Nihan GÖNÜLOL'a, Yrd. Doç. Dr. Fikret YILMAZ'a, Pedodonti A.D'de Doç. Dr. Emine Şen Tunç'a ve Gaziosmanpaşa Üniversitesi Restoratif Diş Tedavisi A.D'de görev yapan Doç. Dr. Emine Şirin KARAARSLAN'a ve Endodonti A.D'de Yrd. Doç. Dr. İsmail ÖZKOÇAK'a,

Tez süresince kimyasal solüsyonların hazırlanmasına olan katkısından dolayı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyokimya A.D'de görev yapan Yrd. Doç. Dr. Zeliha Cansel ÖZMEN'e ve Araş. Gör. Velid ÜNSAL'a,

Mikrosertlik cihazının kullanımında yardımları için Ordu Üniversitesi Restoratif Diş Tedavisi A.D'de Yrd. Doç. Dr. Ebru Uslu CENDER'e,

SEM ve EDX incelemelerdeki yardımlarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Karadeniz İleri Teknik Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Prof. Dr. Ömer ANDAÇ ve Sayın Yunus Gedik'e,

Çalışmamın istatistiksel sonuçlarını değerlendirmedeki yardımları için Gaziosmanpaşa Üniversitesi Biyoistatistik A.D'de Sayın Osman DEMİR'e,

Tez çalışmama olan katkısından dolayı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Asistanlık hayatım ve tez çalışmalarım sırasında yardım eden ve sabırla beni destekleyen sevgili eşim İbrahim'e, canım oğlum Enes Nail'e, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan annem ve babama sonsuz teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

ÖZET

FARKLI REMİNERALİZASYON AJANLARININ LAZER VE OZON TEDAVİSİ İLE KOMBİNE KULLANIMININ BAŞLANGIÇ ÇÜRÜKLERİNE ETKİSİNİN İN-VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

Amaç: Bu in vitro çalışmanın amacı başlangıç mine çürüğü olan dişler üzerinde florür, kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat (CPP-ACP), novamin ile lazer uygulaması ve ozon uygulamasının tek başına veya birlikte kullanımının remineralizasyon etkinliğini değerlendirmektir.

Materyal ve Metot: Bu amaçla sığır dişleri toplanarak başlangıç çürüğü elde edilmiştir. Her grupta 15 diş olacak şekilde 11 grup (florür, CPP-ACP, novamin, lazer, lazer+florür, lazer+CPP-ACP, lazer+novamin, ozon, ozon+florür, ozon+CPP-ACP, ozon+novamin) oluşturulmuştur. Tedavi etkinliği mikrosertlik ölçümü, taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri ve enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi (EDX) mineral analizi yapılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi tek yönlü ve üç yönlü varyans analizi kullanılarak yapılmıştır ($p<0,05$).

Bulgular: Mikrosertlik verileri karşılaştırıldığında en yüksek değer lazer+florür grubunda izlenirken en düşük ozon grubunda gözlenmiştir. EDX analiziyle kalsiyum (Ca) ve fosfat (P) oranları değerlendirildiğinde en yüksek Ca değeri lazer+novamin grubunda izlenirken, en yüksek P değeri novamin, lazer+CPP-ACP, lazer+novamin ve ozon+novamin gruplarında bulunmuştur. SEM değerlendirmesi sonucunda tüm grupların mine yüzeyleri sağlam ve demineralize örneğe göre morfolojik değişimler göstermiştir.

Sonuç: Çalışmamızın sonuçlarına göre Er:YAG lazer ve kombine remineralize edici ajan uygulaması, başlangıç çürüğünün remineralizasyonunda etkili bir metot olarak bulunmuştur. Ozon uygulamasının başlangıç çürüğünün remineralizasyonundaki etkinliği ileri çalışmalarla araştırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: demineralizasyon; lazer; mine; ozon; remineralizasyon

Emine TAŞTAN, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Mart 2016

ABSTRACT

AN IN-VITRO INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT REMINERALIZATION AGENTS COMBINED WITH LASER AND OZONE THERAPY ON THE INITIAL CARIES LESIONS

Aim: This in vitro study aimed to evaluate effectiveness of remineralization alone or combined use of fluoride, casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate (CPP-ACP), novamin, laser and ozone application on enamel initial caries.

Material and Method: For this purpose, bovine teeth were collected and obtained initial caries lesions. 11 groups (fluoride, CPP-ACP, novamin, laser, laser+fluoride, laser+CPP-ACP, laser+ novamin, ozone, ozone + fluoride, ozone + CPP-ACP, ozone + novamin) each group to be 15 teeth were established. Effectiveness of treatment was evaluated by micro-hardness measurement, scanning electron microscopy (SEM) images and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX). Statistical analysis of the resulting data was performed ($p < 0.05$).

Results: When compared microhardness data, the laser+fluoride group observed the highest value and the ozone group observed the lowest group. When compared the EDX analysis of calcium (Ca) and phosphate (P) ratio, the highest Ca value was observed in the laser+novamin group, the highest P value was observed in the novamin group, the laser+CPP-ACP group, the laser+novamin group and the ozone+novamin group. As a result of SEM evaluation, enamel surfaces of the entire groups showed morphological changes based on sound and demineralized sample.

Conclusion: According to our results, combined Er:YAG laser and remineralizing agents application was found to be an effective method for the remineralization of initial caries. Remineralization effectiveness of the application of ozone in the initial caries should be investigated in the future studies.

Keywords: demineralization; enamel; laser; ozone; remineralization

Emine TAŞTAN, Ph. D. Thesis

Ondokuz Mayıs University, Samsun, March 2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

A°	Angstrom
APF	Asitlendirilmiş Fosfat Florür (Acidulated Phosphate Fluoride)
Ca	Kalsiyum
CaF₂	Kalsiyum florid
CLSM	Konfokal taramalı elektron mikroskop
CPP-ACP	Kazein fosfopeptit amorf kalsiyum fosfat
EDX	Enerji Dağılımlı X Işını Spektroskopisi
Er,Cr:YSGG	Erbium, Chromium:Yttrium Scandium Gallium Garnet
Er:YAG	Erbium:Yttrium Aliminium Garnet
FDA	Food And Drug Administration
H	Hidrojen
HA	Hidroksiapatit
HCA	Hidroksi Karbonapatit
Hz	Hertz
L	Litre
LAZER	Radyasyonun uyarılmış emisyonu ışığın güçlendirilmesi
Mg	Magnezyum
mm	Milimetre
Na	Sodyum
NaF	Sodyum florid
Nd:YAG	Neodymium:Yttrium Aliminium Garnet
nm	Nanometre
OH	Hidroksil
P	Fosfat
pH	Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması
ppm	Milyonda bir birim
QLF	Kantitatif Lazer Floresans
S. Mutans	Streptococcus Mutans
S. Sobrinus	Streptococcus Sobrinus
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy)

TCP	Trikalsiyum fosfat (TriCalsiyum Phosphate)
TEM	Geçirmeli Elektron Mikroskop (Transfers Electron Microscopy)
µm	Mikrometre

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Minenin Yapısı.....	3
2.2. Çürük.....	4
2.2.1. Çürük Etyolojisi.....	4
2.2.2. Başlangıç Mine Çürüğü (White Spot Lezyon).....	6
2.3. Demineralizasyon.....	12
2.4. Remineralizasyon.....	14
2.5. Başlangıç Mine Çürüğünden Korunma Yöntemleri.....	15
2.5.1. Florür.....	16
2.5.2. Kazein Fosfopeptit - Amorf Kalsiyum Fosfat Nanokompleksi (CPP-ACP).....	21
2.5.3. Novamin (Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat, Biyoaktif Cam).....	26
2.5.4. Lazer Uygulamaları.....	31
2.5.5. Ozon Uygulamaları.....	41
2.6. Diş Minesi Yüzeylerinin İncelenmesi.....	49
2.6.1. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM).....	50
2.6.2. Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX).....	51
2.6.3. Mikrosertlik Ölçümü.....	52
3. MATERYAL METOT	53
3.1. Dişlerin Hazırlanması ve Saklanması.....	53
3.2. Dişlerin Kesilmesi ve Cilalanması.....	53
3.3. Başlangıç Mine Çürüğü Oluşturulması.....	55
3.3.1. Demineralizasyon Solüsyonunun Hazırlanması.....	55
3.4. Tedavi Gruplarında Kullanılan Remineralizasyon Ajanları.....	55
3.5. Örneklerin Gruplara Ayrılması ve Tedavilerin Uygulanması.....	57

3.6. Remineralizasyon Ajanlarının Etkinliğinin Değerlendirilmesi	60
3.6.1. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobu ile İncelenmesi ve Yüzey Analizlerinin Yapılması	60
3.6.2 Mikrosertlik Ölçümü.	62
3.7. İstatiksel Değerlendirme.....	62
4. BULGULAR.....	64
4.1. SEM Verileri ile Değerlendirme Bulguları.....	64
4.2. EDX Verileri ile Değerlendirme Bulguları.....	70
4.3. Sertlik Verileri ile Değerlendirme Bulguları.....	72
5. TARTIŞMA	78
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	120
KAYNAKLAR	122
ÖZGEÇMİŞ.....	154

1. GİRİŞ

Ağızdaki mikroflora ile konak biyolojisi arasındaki dengenin bozulmasıyla, karyojenik mikroorganizmaların fermente olabilen karbonhidratları kullanarak oluşturdukları organik asidin demineralizasyona sebep olmasıyla diş sert dokularındaki minerallerin çözünmesiyle çürük oluşur (Lenander-Lumikari ve Loimaranta, 2000).

Kavitasyon oluşmamış başlangıç mine lezyonlarında mine prizmaları içindeki orjinal kristal ağın büyük bölümü ve asitten etkilenmiş ancak tamamen yok olmamış kristalitler remineralizasyon için çekirdeklenme bölgesi olarak görev yapmaktadırlar. Remineralizasyon, önleyici tedavi ile restoratif tedavi arasındaki boşluğu kapatabilecek bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır (Gjorgievska ve ark., 2013). Tükürükteki kalsiyum ve fosfat iyonlarının çökmesi ile remineralizasyon süreci başlar, remineralizasyon ile başlangıç lezyonları geri döndürülebilir ve bu durumda mineyi daha sağlam bir duruma getirir (Roberson, 2006).

Başlangıç çürüklerinin remineralizasyonu amacıyla kullanılan çeşitli remineralizasyon ajanları bulunmaktadır. Florür bu amaçla en çok kullanılan ve uygulama sonrası kalsiyum florür (CaF_2) oluşturarak remineralizasyon etkinliği sağladığı rapor edilen bir ajandır (Retief ve ark., 1983). CPP-ACP, kazein fosfopeptidin Ca ve P'ı sabitleyerek etki ettiği bir ajandır ve diş minesini üzerinde remineralizasyon oluşturduğunu rapor eden birçok çalışma bulunmaktadır (Ambarkova ve ark., 2013; Peric ve ark., 2014).

Diğer bir ajan olan novamin, mine yüzeyinde yüksek konsantrasyonlarda Ca ve P birikimini sağlar ve doğal diş minerallerine kimyasal olarak benzer bir mineral olan hidroksikarbonat apatit (HCA) tabakası oluşturur. Bu partiküller diş yüzeyine bağlanarak mine ve dentinin remineralizasyonu sağlamaktadır (Azarpazhooh ve Limeback, 2008b; Mohanty ve ark., 2014).

Lazerin diş hekimliği uygulamasına girmesinden bu yana çürük önleme üzerine olan etkisi birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve sağlıklı diş dokularının korunmasında ve hastalıklı dokuların tamamının ortadan kaldırabilmesinde etkili olabileceği bildirilmiştir (Gutknecht ve ark., 2005; Elton ve ark., 2009). Yapılan çalışmalarda lazer ve asitlendirilmiş fosfat florür (APF) jelinin kombinasyonu tek başına lazer uygulamasına göre daha etkin bulunmuştur (Ana ve ark., 2012; Mathew ve ark., 2013). Lazer uygulaması ve CPP-ACP kombinasyonu yapılan çalışmalarla araştırılmıştır

(Heravi ve ark., 2014; Yassaei ve ark., 2014). Literatürde çürük önlemeye yönelik olarak lazer ve novamin kombine tedavi yönteminden bahseden bir çalışma henüz yoktur.

Ozon uygulamasının remineralizasyon etkinliği yapılan çalışmalarla araştırılmıştır (Holmes, 2003b; Abu-Salem, 2004; Baysan ve Lynch, 2004) ve çürük lezyonundaki proteinleri kaldırarak Ca, P ve flor iyonlarının çürük lezyonuna difüzyonu ile remineralizasyonu sağladığı rapor edilmiştir (Knezevic ve ark., 2007). Literatür incelendiğinde ozon ve florür ajanın kombine uygulanmasını araştıran çalışmalar bulunmasına rağmen (Duggal ve ark., 2012; Johansson ve ark., 2014; Tahmassebi ve ark., 2014), çürük önlemeye yönelik olarak ozon ve CPP-ACP ile ozon ve novamin kombine tedavi yöntemini araştıran çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmanın hipotezi, diş minesini üzerinde, lazer ve ozonun remineralizasyon ajanlarıyla kombine kullanımının bu ajanların remineralizasyon etkinliğini artırabileceğidir.

Çalışmamızın sonuçlarının günümüzde klinik kullanıma girmiş olan lazer ve ozon gibi modern sistemlerin, remineralizasyon ajanlarının etkinliğine katkısının değerlendirilmesine yardımcı olacağını ve konservatif diş hekimliğinde önemli bir yerde bulunan çürükten korunma stratejilerinin geliştirilmesi, toplum ağız-diş sağlığının iyileştirilmesi konusunda klinisyenlere ışık tutacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Minenin Yapısı

Mine dokusu, ameloblastlar tarafından üretilmekte ve kron tamamlandıktan sonra ameloblastların fonksiyonel yetenekleri kaybolmaktadır. Bu nedenle formasyon sonrası mine dokusu, kendiliğinden onarım özelliği göstermemektedir, yalnızca mineral kaybı ya da kazancı gözlenmektedir (Simmer ve Fincham, 1995; Hu ve ark., 2007).

Mine, dişi en dıştan koruyucu bir katman olarak çevreleyen vücudun en sert dokusudur ve insan vücudundaki bütün mineralize dokuların en yüksek yoğunluğa sahip olanıdır. Sert ve translusent yapıdaki bu kalsifiye doku dişin tüm kronunu örtmektedir. Ana bileşeni kalsiyum fosfat kompleksi olan hidroksiapatit (HA)'den oluşmuş bir matriks içinde yer alan kristalize poröz bir dokudur. İçerisinde sinir hücreleri olmadığı için etkilere duyarlı değildir (Bayındırlı, 1985).

Mine dokusu organik, inorganik kısım ve su bileşenlerinden oluşur. Organik kısım tüm minenin % 1-2'si kadardır ve en büyük bölümünü proteinler oluşturur, az oranda da glikoprotein ve lipit içerir (Bayındırlı, 1985; White, 1995; Banerjee ve Watson, 2011). İnorganik kısım diş minesinin yaklaşık % 96-98'ini oluşturur ve altıgen apatit kristalleri şeklinde düzenlenmiştir. Kristaller mine-dentin sınırından mine dış yüzüne kadar devamlılığını bozmadan uzanan prizmalar şeklindedir ve minenin morfolojik yapısını bu kristallerin dağılımı belirler. Kalınlıkları 400-1200 Angstrom (Å), uzunlukları 2000-10000 Å arasında değişir, 20-30 Å aralıklarla sıralanmışlardır. Kristallerin daha iri ve sık olmasından dolayı mine kimyasal yönden diğer sert dokulara kıyasla daha kararlı yapıdadır. Mine iyon değişimi açısından ancak yüzeyden difüzyona olanak tanır. Bu sebeple mine yüzeyinin kimyasal yapısı az da olsa iç kısımlardaki yapısından farklılıklar gösterir (Bayındırlı, 1985; White, 1995).

İnorganik yapıyı oluşturan HA ($\text{Ca}_{10}(\text{P})_6(\text{OH})_2$) kristallerinin % 90'ını kristal kalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{P})_2$) oluşturur, ayrıca yapıda karbonat (CO_3^{-2}), flor (F^-), magnezyum (Mg^{+2}) gibi iyonlar da vardır. Mine kristalleri tüm hidroksil apatit kristalleri gibi dinamik yapıdadır ve sürekli bir iyon değişimi söz konusudur (White, 1995).

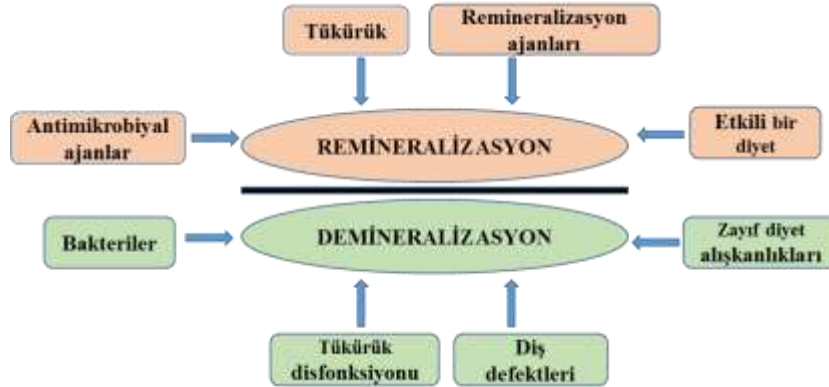
Minenin % 1-2 oranındaki su içeriğinin yaklaşık $\frac{1}{4}$ 'ü organik yapı ile birleşir, kalan bölümü ise mineral faz içinde kristallerin çevresinde bir su tabakası oluşturarak iyon difüzyonunda rol oynar (Koray, 1981b; Bayındırlı, 1985; White, 1995).

Mine, küçük asit molekülleri, kalsiyum, fosfat, florür gibi çeşitli iyonları ölçülebilir oranda yapısına alacak kadar poröz yapıda olması nedeniyle demineralizasyon ve remineralizasyon potansiyeli gösteren bir doku olma özelliği taşımaktadır (Ramirez Rozzi, 1998).

2.2. Çürük

2.2.1. Çürük Etyolojisi

Diş çürüğü; konağa ait faktörler, diş plağı ve diyet etkileşimini içeren multifaktöriyel bir hastalık olarak tanımlanır (Elliott, 1997; Zero, 1999). Ağızdaki mikroflora ile konak biyolojisi arasındaki dengenin bozulmasıyla, karyojenik mikroorganizmaların fermente olabilen karbonhidratları kullanarak oluşturdukları organik asidin demineralizasyona sebep olmasıyla diş sert dokularındaki minerallerin çözünmesiyle çürük oluşur (Lenander-Lumikari ve Loimaranta, 2000). Oral kavite, demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsünün sürekli devam ettiği aktif bir ortamdır (Rao ve Malhotra, 2011) (Şekil 1).



Şekil 1. Demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsü (Rao ve Malhotra'dan, 2011)

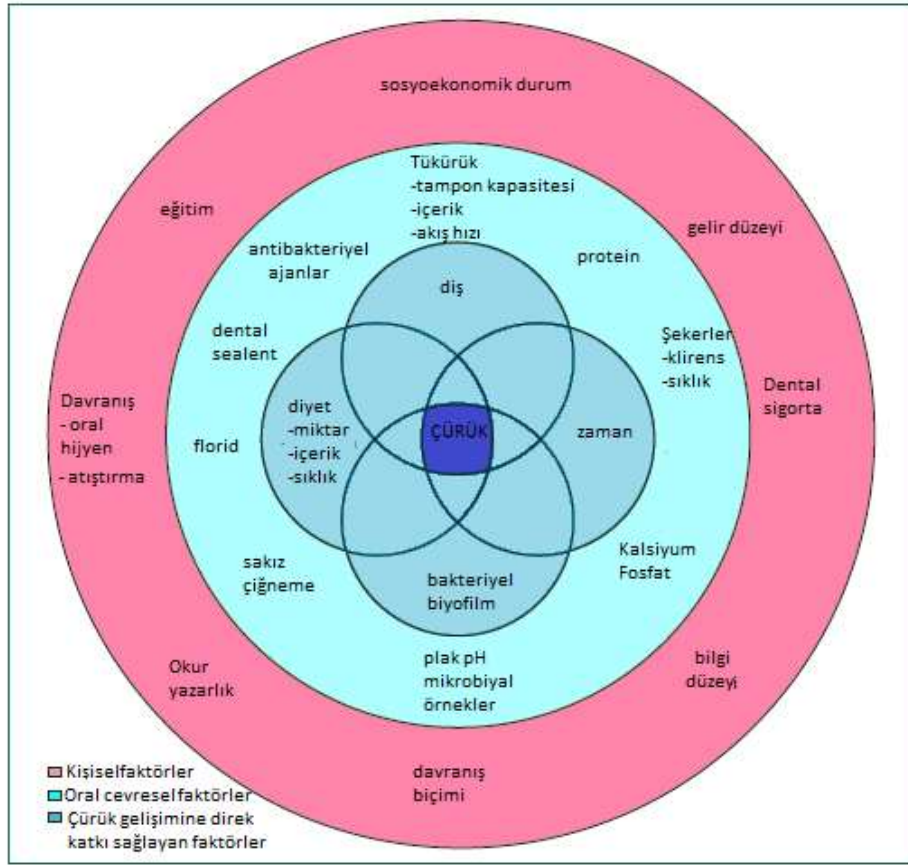
Diş çürüğünün etyolojisinde; konak (diş), asidojenik potansiyele sahip mikroflora, patojenik bakteriler için uygun substrat (karbonhidrat) ve zaman olmak üzere 4 ana faktör rol oynamaktadır (Duggal ve Curson, 2003) ve diş çürüklerinin oluşumu için bu dört faktörün aynı anda bir arada bulunması gerekmektedir (Tanzer, 1995; Zero, 1999). Keyes, çürük oluşumunu şematik olarak göstermiş ve Keyes halkaları adı verilen diyagramı oluşturmuştur (Keyes, 1944; Tanzer, 1995).

Modern çürük kavramı biyolojik faktörlerin yanında çevresel, sosyal ve psikolojik faktörleri de içermektedir. Çürük oluşum sürecinde ve oluşan çürüğün şiddetinin

belirlenmesinde mikrobiyal, genetik, immünolojik, çevresel faktörler ve davranış farklılıkları rol oynar (Murdoch-Kinch ve Mclean, 2003).

Koruyucu ve patolojik faktörler, kişilerin neden çürükleri olduğunun ve ilerleyen süreçte neden çürük oluşma riski altında olduğunun belirlenmesinde önemlidir. Çürük oluşum sürecinde patolojik faktörlerle koruyucu faktörler arasındaki dinamik dengenin bozulduğu bildirilmektedir (Domejean ve ark., 2011). Çürükten koruyucu faktörler, tükürük komponentleri ve tükürük akışı, antibakteriyel ajanlar, florür, kalsiyum ve fosfat iyonlarının varlığı olarak belirtilirken; patolojik faktörler, karyojenik bakterilerin varlığı, fermente olabilen karbonhidratlar ve tükürük disfonksiyonu olarak bildirilmiştir. Konağa ilişkin faktörler; dişin morfolojisi ve konumunun plak retansiyonuna elverişli olması, dişin kimyasal elemanlarının aside dirençli olmayışı, tükürük özelliklerinin mikrobiyal adezyona zemin hazırlaması, tükürükteki yetersiz tamponlama kapasitesi, tükürükteki antibakteriyel elemanların yetersizliği, yetersiz remineralizasyon, fermente olabilen karbonhidratlar, plak ve asidojenik mikrororganizmalar ve zaman olarak sıralanabilir (Featherstone, 2006).

Risk faktörleri ve koruyucu faktörler arasındaki denge, diş dokularındaki mineral değişiminin demineralizasyon ya da remineralizasyon yönünde olmasını belirlemektedir. Bireyin çürük riski, birçok faktöre bağlı olduğu için zamanla çürük riski değişebilmektedir. Çürük riski, özel sağlık bakımına ihtiyaç duyulması, immünolojik faktörler, genetik faktörler, kişinin yaşam tarzı, davranışsal faktörlerden (zayıf oral hijyen, rafine karbonhidratların sık tüketilmesi, şeker içeren oral ilaçların sık kullanımı) etkilenmektedir. Çürük riski ile ilişkili diğer faktörler; eğitim düzeyi, sağlık sigorta kapsamı, yoksulluk, yoksunluk veya sosyal statü, dental sealentlerin kullanımı, ortodontik aparejlerin kullanımı, uyumsuz protezler vs. olarak sıralanabilir. Ayrıca çürük hikayesine sahip çocuklar, bakıcıları veya kardeşleri çok sayıda çürüğe sahip ise yüksek riskli çürük grubunda düşünülmektedir (Selwitz ve ark., 2007) (Şekil 2).



Şekil 2. Çürük gelişimine katkı sağlayan risk faktörleri (Selwitz ve ark.'dan, 2007)

2.2.2. Başlangıç Mine Çürüğü (White Spot Lezyon)

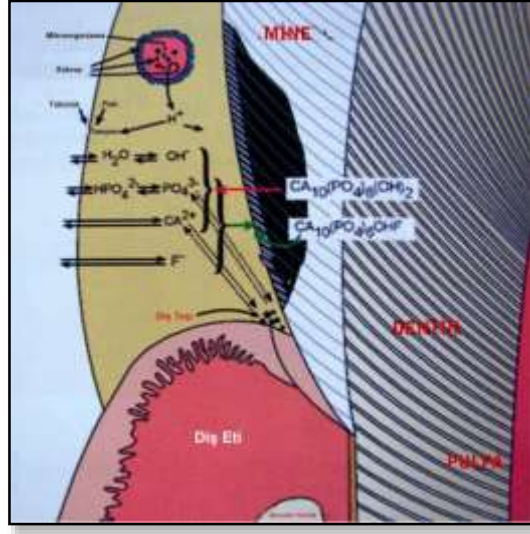
Diş çürüğü, son 30 yılda belirgin bir azalma göstermesine rağmen çocuklar ve yetişkinlerde hala önemli bir hastalıktır (Featherstone, 1999; 2000). Bu yavaş ilerleyen çürük oluşumu, tedavi edilmezse kronik enfeksiyona dönüşerek, sonucunda diş kaybı ve alveoler kemik kaybına yol açar (Thylstrup ve Fejerskov, 1994).

Diş çürüğü ile ilgili yapılan çoğu çalışma W. D. Miller tarafından 1890 yılında öne sürülen bugün çürük etyolojisinde yaygın olarak asidojenik teori olarak bilinen kemoparasitik teoriyi desteklemektedir. Çürük oluşumunun temel özellikleri şunlardır (Welbury ve ark., 2005).

1. Diş yüzeyindeki plak oluşumu sonrası mikroorganizmalar tarafından fermente olabilen karbonhidratlardan organik asit oluşturulur,

2. Hızlı asit oluşumu ile yüzey pH değerinin kritik pH'sının altına düşmesiyle mine yüzeyinde çözümler başlar, ve pH, kritik pH olan 5,5'ten düşük olduğunda, dişte

bulunan kalsiyum ve fosfat gibi mineraller tamponlamayı sağlamak için plağın içine doğru hareket eder (Axelsson, 1999), (Şekil 3).



Şekil 3. Başlangıç çürüğünde demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsü
(Axelsson'dan, 1999)

3. Plak mikroorganizmaları için karbonhidratlar mevcut olmadığında, plak içindeki pH, asitlerin ve bakteri metabolizmalarının dışarıya difüzyonu ile yükselir ve plak nötralleşir. Bunun sonucunda minede remineralizasyon oluşabilir,

4. Diş çürükleri ancak demineralizasyon remineralizasyondan büyük olduğunda ilerler. Demineralizasyon ve remineralizasyon dengesinin sağlanması, çürük lezyonlarının dinamiğini anlamak ve ondan korunmak için çok önemlidir (Welbury ve ark., 2005).

Minde yeni başlamış çürüğün remineralize olabileceği klinik olarak kanıtlanmıştır. Kavite oluşmamış mine lezyonlarında, mine prizmaları orijinal kristal yapısını korur. Tükürükteki kalsiyum ve fosfat iyonlarının çökmesi ile remineralizasyon süreci başlar, remineralizasyon ile başlangıç lezyonları geri döndürülebilir ve bu durumda mineyi daha sağlam bir duruma getirir (Roberson, 2006).

Dental plaktaki normal flora ve konakçı arasındaki hassas dengenin çeşitli nedenlerle bozulması sonucu, asidojenik bakteriler tarafından minde başlangıç demineralizasyonu gerçekleşmektedir. Normalde demineralizasyon ve remineralizasyon süreci belli bir denge içindedir. Demineralizasyonun sürekli olduğu durumlarda, diş sert dokularında bir yıkım başlar ve bu yıkım başlangıç çürüğü (incipient lezyon ya da white-

spot lezyon) olarak isimlendirilir (Thylstrup ve Fejerskov, 1986; Newburn, 1989; Hicks ve Flaitz, 1993).

Başlangıç aşamasındaki lezyonun ilerlemesine yönelik herhangi bir önlem alınmazsa çürük derinleşecek ve dentin yönünde gelişim göstermeye devam edecektir. Mine-dentin sınırına yaklaştığında lezyon lateral yönde yayılarak daha önce sağlam olan yüzey tabakanın kırılmasına ve böylece lezyonun klinik olarak tespit edilebilir kavitasyonlar haline gelmesine neden olmaktadır (Thylstrup ve ark., 1976; Margolis ve Moreno, 1990). Çeşitli araştırmacılar bir dişteki kavitasyonun bakteriyel infeksiyon anlamına geldiğinin bilinmesinin önemini bildirmiştir (Sturdevant ve ark., 2002).

Başlangıç çürüğü oluşumunun ilk haftasında yoğun mikrobiyal plakla beraber hava ile kurutma sonrası minede klinik olarak herhangi bir değişiklik gözlenmezken; yapısal olarak minenin dış yüzeyinde meydana gelen çözünmeler sonucunda, porözitenin arttığı ve mine iç yüzeyinin dış yüzeyine göre daha poröz bir yapı gösterdiği ve kristaller arası boşlukların genişlemeye başladığı gözlenmiştir (Roberson, 2006).

İkinci haftada mikrobiyal plak birikiminin artmasıyla dış hava ile kurutulduğunda minedeki değişiklikler gözle görülebilir hale gelir ve buna mine yüzeyinde çürük oluşumunun ilk klinik belirtisi olan 'beyaz-nokta lezyonu' denir (Featherstone, 1999). Başlangıç çürüğü veya White spot lezyon kurutulduğu zaman klinik olarak tebeşirimsi beyaz opak bir yüzey olarak görülmektedir. Bu dönemdeki lezyonun görüntüsü mat beyaz çizgiler veya yeşilimsi beyaz noktalar şeklindedir. Bu alanlar demineralizasyondan kaynaklanan aşırı yüzey altı porözitesi nedeniyle saydamlığını kaybeder (Roberson, 2006).

Yüzeyaltı çözünme ile serbest kalan kalsiyum ve fosfat iyonlarının mine yüzeyine çökmesiyle mine üst yüzeyindeki dokusal bütünlük bozulmamıştır. Bozulmamış yüzey bölgesinin histolojik görünümü çürüğün basit bir demineralizasyon süreci olmadığını, sürekli değişen demineralizasyon ve remineralizasyon süreci olduğunu göstermektedir. Sağlam mine dokusu translusent bir görünüm sergilerken, yüzeyaltı tabakanın kaybına bağlı olarak yıkım gerçekleşen mine dokusu beyaz opak bir görünüm kazanmaktadır. Lezyon bölgesinin onu çevreleyen sağlam dokuyla karşılaştırıldığında kırılma indeksi değişmiştir (Thylstrup ve ark., 1976; Zero, 1999).

Üçüncü ve dördüncü haftalardan sonra, klinik olarak diş hava ile kurutulmasa da opak-mat bir yüzey izlenir. Yapısal olarak incelendiğinde, kristaller arası difüzyon

kanallarının daha da genişlediği gözlenir. Yüzeyin altındaki demineralizasyon daha da belirgin hale gelir ve lezyon mine prizmaları boyunca ilerlemeye devam eder. Başlangıç çürüğünün ilerlemesine yönelik önlem alınmazsa dentine doğru ilerlemeye devam eder. Mine-dentin sınırına yaklaştığında lateral yönde yayılım göstererek sağlam olan yüzey tabakasının kırılmasına ve böylece lezyonun klinik olarak tespit edilebilir kavite haline gelmesine neden olur (Thylstrup ve ark., 1976).

Yüzey tabakası yüksek oranda mineralizasyon göstermesi ve farklı biyokimyasal kompozisyonu sayesinde asit ataklarına karşı daha yüksek direnç göstermektedir. Bu tabaka daha düşük oranda su ve karbonat ile yüksek oranda eser element (florür ve klorid gibi) içermektedir (Haikel ve ark., 1983).

Başlangıç lezyonu ilk aşamada serttir. Ancak zamanla poröz bir hal alır ve bu poröz alanlar renklenerek kahverengiye dönüşür (Ricketts ve ark., 2002). Başlangıç lezyonunda minenin % 50 mineral içeriği kaybolmuştur ve lezyonun yüzeyi sağlam mine dokusuyla kaplıdır (Featherstone, 2000; Aoba, 2004). Lezyon hidrate olduğu zaman poröz kısım su ile dolduğu ve saydamlaştığı için klinik olarak lezyon tespit edilemez. Yapılan araştırmalar sonucunda başlangıç mine çürüğünün yüzey demineralizasyonu ile ilgili şu sonuçlar elde edilmiştir;

- Bir mine çürüğünü örten yüzey tabakası porözdür, fakat hala mineral açısından zengindir.
- Çürüğün altındaki yüzeyde mineral yoğunluğu daha azdır.
- Yüzey morfolojisi sağlıklı mineden oldukça farklıdır (Newbrun, 1989; Symons ve ark., 1996).

Histolojik kesiti incelendiğinde, mine başlangıç lezyonun en erken mineral kaybının prizmaların merkezinde olduğu görülmektedir. Nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, bu bölgelerdeki düşük kristal yoğunluğunun dışarıdan asit ve proton difüzyonuna izin vermesi olarak düşünülmektedir (Tohda ve ark., 1987).

Işık mikroskobu ve polarizasyon mikroskobu altında yapılan incelemelerde, başlangıç mine lezyonun dört bölgeden oluştuğu gösterilmiştir. Bunlar; yüzey tabaka, karanlık tabaka, lezyon gövdesi ve saydam (transludent) tabakadır (Darling, 1961; Thylstrup ve Fejerskov, 1986; Roberson ve ark., 2002).

a) Yüzey tabaka

Bu tabaka neredeyse çürük ataklardan hiç etkilenmemiştir. Mine yüzeyinin hemen altında demineralize olmuş tabakanın üzerini örten bu tabaka sertlik bakımından sağlam mine yüzeyine benzerlik gösterir. Dental plaktaki kalsiyum ve fosfat iyonlarının, yüzey altında mine tabakasının çözünmesi ile açığa çıkan minenin bu kısmına çökmesi ile bütünlüğü bozulmamıştır (Kotsanos ve Darling, 1991; Borsatto ve ark., 2001). Tükürükle temasından dolayı hipermineralize olmuştur ve bitişik sağlam mine dokusuna oranla daha fazla konsantrasyonda florür iyonu içerir (Thylstrup ve Fejerskov, 1986; Roberson ve ark., 2002). Mevcut por yüzdesi lezyon gövdesine göre daha düşüktür (% 5'ten daha az). Porlar normal mine yapısındaki porlardan daha geniştir. Mine lezyonunun ilerleme gösterdiği durumlarda taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntülerinde bu tabakada konik şekilli defektler gözlenebilmektedir (Sturdevant ve ark., 2002). Bu yüzeyel mine tabakası, bir difüzyon ortamı oluşturarak minerallerin geçişine izin verir. Çözünen mine yapılarından kalsiyum, fosfat minerallerinin yüzeye göçü meydana gelir, aynı zamanda dışarıdan mine yüzeyine olan florür iyonlarının göçü ile yüzey tabakası asit ataklar karşısında daha dirençli hale gelir.

b) Lezyon Gövdesi

Lezyonun en geniş ve demineralizasyonun en fazla olduğu kısımdır. Yüzeyel tabaka ile karanlık tabaka arasında kalan bu tabaka lezyonun en büyük kısmını oluşturur ve ilerlemiş lezyonlarda radyografide izlenebilmektedir (Casamassimo ve ark., 2013). % 30-60 oranında mineral kaybı gözlenmektedir. En fazla por hacmine sahip olan bölgedir. Por hacmi periferde % 5 iken merkezde % 25'lere çıkmaktadır. Lezyon gövdesinde retzius çizgileri oldukça belirgindir. Çürüğün mine yüzeyine ilk penetrasyonu retzius çizgileri aracılığıyla olmaktadır ve çürük başlangıcı prizma çevresi ve retzius çizgileri boyunca olmaktadır. Porların genişliği bakteri penetrasyonu için yeterli genişlikte olursa bu alanlarda bakteriler bulunabilir (Thylstrup ve Fejerskov, 1986; Roberson ve ark., 2002). Bu durumda lezyon gövdesinde yapılan geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) ve SEM incelemelerinde mine prizmaları arasındaki bakteri istilası gözlenebilmektedir (Sturdevant ve ark., 2002). Bakteri plağı altında gelişen mine çürüğü, demineralizasyondaki artış ile beraber diş yüzeyindeki kristallerin çözünmesine ve yüzeyde mikro kraterlerin oluşmasına sebep olur. Mikroorganizmaların faaliyetleri ile

plak pH'sının azalması sonucu minedeki lezyon daha derin bölgelere ilerler ve organik yapının demineralizasyonu devam eder. Böylece çürük lezyonu dentine doğru yayılım gösterir (Koray, 1981a). Mine-dentin sınırına yaklaştığında lateral yönde yayılarak daha önceden sağlam olan yüzey tabakasının kırılmasına ve lezyonun klinik olarak tespit edilebilir kavitasyonlar haline gelmesine neden olurlar (Mellberg ve ark., 1983).

c) **Karanlık Tabaka**

Çürük gövdesinde geniş olan porlar bu tabakada mikropor halini almaktadır. Çok sayıdaki mikropor, incelemede kullanılan kinolin boyasının tutulumuna sebep olur. Polarize ışığı geçirmediği için görüntüsünden dolayı karanlık bölge olarak adlandırılır. Kristal yapıda demineralizasyon-remineralizasyona bağlı olarak kayıplar vardır. Buradaki demineralizasyon miktarı ve mineral kaybı, transparan bölgeye oranla daha fazla, lezyon gövdesinden ise daha azdır. Bu tabakada bulunan küçük porların hava veya buhar ile dolu olması bölgenin opak olmasını sağlar. Toplam por hacmi % 2-4 arasındadır (Thylstrup ve Fejerskov, 1986; Roberson ve ark., 2002). Daimi dişlerdeki mine lezyonlarının % 85-90'ında, süt dişlerinde ise % 85'inde bu tabaka gözlenir. Karanlık tabakanın genişliği çürüğün hızı, şiddeti ve minenin yapısal özelliklerine bağlıdır ve bu tabakanın gözlenmediği lezyonlarda çürük çok hızlı oluşmaktadır. Bu alanda kristalin yapıda kayıplar gözlenmektedir. Karanlık bölgede gözlemlenen demineralizasyon miktarı, yüzeyel tabakada görülen demineralizasyon miktarından fazla iken, lezyon gövdesindeki demineralizasyon miktarından daha azdır (Casamassimo ve ark., 2013).

Karanlık tabakada birbirinden farklı boyutlarda boşlukların bulunması ve önceleri karanlık tabaka içermeyen lezyonların remineralizasyon sonrasında bu tabakayı göstermesi, bu tabakanın oluşumunda remineralizasyonun etkili olabileceğini düşündürmektedir (Kotsanos ve Darling, 1991). Kimi görüşlere göre karanlık alan geniş porlar içeren bir bölgeye iyon depolanmasıyla sonradan meydana gelmektedir (Sturdevant ve ark., 2002). Remineralizasyon çözültisine konulan bir dişte karanlık tabakanın lezyon gövdesi ile saydam tabaka arasında gözlendiği belirtilmiştir. Bu sebeple karanlık alanın boyutu yakın zamanda meydana gelmiş remineralizasyonun miktarı hakkında fikir verebilmektedir (Becker ve ark., 2002).

d) Transludent (Saydam) Tabaka

Çürük lezyonunun dentin dokusuna doğru ilerleyen kısmında, sağlam mineye komşu bölgede yer alır (Kotsanos ve Darling, 1991). Mine lezyonunun ilerleyebildiği en derin tabaka olarak karşımıza çıkmaktadır ve çürüğün ilerleme hattını göstermektedir. Çürük oluşumu sırasında mine prizmaları boyunca hidrojen iyonlarının geçişinin gerçekleştiği porlar bulunmaktadır. Transludent tabakanın boşluk oranı % 1'dir ve bu oran normal minenin 10 katı kadardır (Thylstrup ve Fejerskov, 1986; Roberson ve ark., 2002). Transludent tabaka, başlangıç mine lezyonu bulunan daimi dişlerin % 50'sinde, süt dişlerinin ise % 25'inde bulunduğu bildirilmiştir ve bu tabakada yaklaşık % 1'lik mineral kaybı söz konusudur (Kotsanos ve Darling, 1991). Mine çürüğü içerisine kinolin sıvısı perfüze edilerek polarize ışık mikroskobu altında incelendiğinde herhangi bir yapı gözlenmediğinden bu isim verilmiştir (Sturdevant ve ark., 2002).

2.3. Demineralizasyon

Demineralizasyon; bakteriyel plak içerisindeki mikroorganizmalar tarafından üretilen asitlerin etkisiyle ağız ortamının pH'sının düşmesi ile beraber diş sert dokularındaki özellikle Ca ve P minerallerinin çözünmesi veya iyonize olması durumudur (Elliott, 1997; Featherstone, 2000; 2004).

Demineralizasyonun başladığı kritik pH değeri bireysel farklılıklar göstermekle beraber 5,2 ile 5,5 değerleri arasındadır (Zero, 1999). Kritik pH değerine ulaşıldığında organik asitler kazanılmış pelikül yapısı boyunca mine yüzeyine difüze olmaktadır. Asit atakları ilk olarak inter-kristalin ve inter-prizmatik alanları etkilemektedir (Zero, 1999). Atomik düzeyde organik asit molekülleri kristal yapısındaki hassas alanlara difüze olarak, seçili alanlarda kalsiyum, fosfat ve karbonat kaybına sebep olmaktadır. Bu süreç laboratuvar çalışmalarında ortaya konmuştur (Featherstone, 2004). Demineralizasyon başlangıcı olan bu safhada daha az çözünebilir yapı gösteren dikalsiyum fosfat dihidrat ve florürlü HA yapısı mine dış yüzeyinde çökelmektedir. Bu süreç mine ve ağız ortamı arasında bir denge sağlanana kadar devam etmektedir. pH değeri asidik değerlerde kaldığı sürece demineralizasyon devam etmektedir (Margolis ve Moreno, 1990).

Demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki dengesizliği etkileyen faktörler ağız içi pH, tükürük, oral mikroorganizmalar, şeker alım sıklığı, florür ve diğer kimyasalların varlığıdır. Demineralizasyon ve remineralizasyon süreçlerinin her ikisi de

ağız içinde farklı ortamlarda fakat aynı zamanda meydana gelmektedir. Yüksek bakteriyel aktivite ve düşük pH dengenin demineralizasyon yönünde değişmesine neden olmaktadır (Ten Cate ve ark., 2003). Plak pH'sının düşüş ve yükseliş döngüsünün lezyon sıvısındaki pH'sını etkilemesi düşüktür. Ancak yüzey tabakası bozulduğunda ya da kaybolduğunda pH düşüşünün etkisi daha büyük olmaktadır (Ten Cate ve ark., 2003).

Streptococcus mutans (*S. mutans*), fermente edilebilen karbonhidratlardan hızlı bir şekilde asit üretebilme kabiliyeti sebebiyle başlangıç çürüklerinden en fazla sorumlu olan bakteridir. Yüksek sükrözli diyet alımıyla *S. mutans* popülasyonunun artacağı kabul edilmiştir (Rosen ve ark., 1984; Bowden ve Edwardsson, 1994). Diyet ile sükröz alımının bakteri plağı üzerine iki etkisi bulunmaktadır;

- Sükröz içerikli yiyeceklerin sık tüketilmesiyle *S. mutans* kolonizasyonu ve plağın çürük potansiyeli artar.

- Sükroza maruz kalan plak, sükrozu hızlı bir şekilde organik asitlere parçalar ve sonuç olarak pH'nın uzun süre düşük değerde kalmasına sebep olur (Jensen, 1999).

Ca ve P minerallerinin çözünürlükleri, Ca-P oranları ve ortamdaki pH'sına bağlı olarak farklılık gösterir. Kemik ve diş dokularında Ca ve P'lar HA şeklinde bulunur. HA, Ca ve P'ların nötral veya az asidik pH'da termodinamik olarak en stabil şeklidir. HA kendi kristal yapısına uyacak şekilde içinde florür, stronsiyum, selenyum, baryum gibi birçok yabancı iyon bulundurabilir, bu iyonlar HA kristalinin çözünürlüğünü etkiler. Bu iyonların tip ve konsantrasyonları, dokunun oluşumu esnasında ortamda bulunmalarına, bu sıradaki miktarlarına ve dokuların bu iyonları çökelme bölgesine geçirmesine bağlıdır. Bunlardan iki tanesi özel bir önem taşır: karbonat ve florür. Bu iki iyon, sürme öncesi diş yapısına fazla miktarda katılabilmektedirler (Ten Cate ve Van Loveren, 1999).

Diş minesinin yüzeyi, sürme döneminde poröz bir yapıdadır. Sürmeyi izleyen yıllarda bu yapı bir olgunlaşma süreci geçirmektedir, bu olayın ağız ortamındaki minerallerin ve florürün mine yüzeyine difüzyonu ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Minenin mineral yapısını oluşturan kristal yapıyı (inorganik matriks), protein, lipid ve sudan oluşan organik matriks çevrelemektedir. Bu yapısal özellikleri ile, minenin mikro poröz katı bir madde olduğu söylenebilir. Bu yapı sayesinde mine difüzyon yoluyla çeşitli iyonların geçişine olanak sağlamaktadır . (Featherstone ve ark., 1990; Ten Cate, 1990).

Sürmeden sonra diş yapısındaki mineraller, tükürük ve diş plağı ile ilişki içinde bulunur. Bu ilişki bazen minerallerin yararına bazen de zararına olacak çeşitli özellikler

ve yapılar içermektedir. Minerallerin çözünürlüğü ortam pH'sına bağlı olarak değişir. Düşük pH durumunda süper saturasyon düzeyinin korunması için çevre sıvılarda daha fazla Ca ve P varlığına gerek duyulur. Tükürük, plaktaki Ca ve P seviyesini destekleyebilir, ancak pH'sının 5.5'in altına düştüğü durumlarda mineral saturasyon düzeyinin altına düşer ve çözünme başlar (Ten Cate ve Van Loveren, 1999).

2.4. Remineralizasyon

Remineralizasyon, demineralizasyon sürecinde kaybedilen minerallerin tekrar diş yüzeyine depolanması olarak tanımlanmaktadır ve dinamik çürük oluşum sürecinin bir parçasıdır (Hicks ve ark., 2004a), mine tamiri ile eş anlamlı olarak kullanılabilir. Ağız ortamının pH'sı 5,5'ten yüksek olduğunda tükürük yapısında bulunan Ca ve P, F varlığının yardımıyla demineralizasyon süreci, hasar görmüş minenin kristal yapının remineralizasyonu ile yer değiştirebilir (Roberson, 2010). Bu yeni yapılanma florürlü HA ve fluorapatiti içermektedir ki bu kompozisyonlar orjinal yapıya göre asit ataklara karşı daha yüksek direnç göstermektedir (Selwitz ve ark., 2007).

Çürük etiyojisine yönelik uygulamaların yanı sıra çürük riskini azaltıcı yönde uygulanacak girişimlerin de genellikle minede beyaz bir nokta halinde başlayan demineralizasyonu durdurabileceği, minenin yeniden yapılanabileceği ve sonuç olarak remineralize olabileceği bilinmektedir (Featherstone, 2004; Sudjalim ve ark., 2006). Mine çürüğünün remineralize olabilmesi için, öncelikle yüzeyde herhangi bir kavite oluşmaması gerekmektedir. Kavite oluşmadığı beyaz mine lezyonlarında, mine prizmaları normal kristal yapılarını kaybetmemiştir. Mine yüzeyinin iyon geçişine izin vermesi sayesinde tükürükteki Ca ve P iyonları lezyonun yüzeyine çökelirler ve beyaz nokta lezyonlarının remineralizasyonuna neden olurlar (Sjogren ve ark., 1995; Shen ve ark., 2001).

Fizyolojik şartlarda tükürük ve biyofilm sıvısı, minenin mineral içeriğine göre doymuş konsantrasyonlarda Ca ve P içerir. Minenin mineral yapısını korumak için tükürük tarafından desteklenen bir doğal savunma mekanizması olarak bu iyonlar sürekli olarak mine yüzeyine ve kayıp mine alanlarına yeniden birikirler (Cury ve Tenuta, 2009). Başlangıç mine çürüğünün remineralizasyonu, biyofilm sıvısında bulunan Ca ve P ile ya da fırçalama ile biyofilmin uzaklaştırılmasından sonra Ca ve P iyonlarından aşırı doymun olan bir tükürük ile doğrudan sağlanmaktadır (Ten Cate ve ark., 2003; Cury ve Tenuta,

2009). Tükürüğün Ca ve P iyonlarından aşırı doymun hali mine remineralizasyonu için kalıcı bir fırsat sağlar ve karyojenik direncin dışı korumasına yardım eder (Roberson, 2010).

Remineralizasyon sürecinde, tükürükte bulunan Ca ve P iyonlarının yanı sıra bu iyonların yeniden çökmesinde katalizör etki gösterecek olan florür iyonunun da bulunması, önemli bir faktördür (Featherstone, 1999).

Tükürük akışı arttığında, tükürük komponentleri asitleri nötralize eder ve pH'yı yükseltir, demineralizasyon durur ve geriye döner. Tükürükteki Ca ve P oranı artar ve böylece bu mineraller dış yüzeyi üzerine çöklerler (Featherstone, 2000).

Lezyonun yüzey tabakası, altındaki lezyon gövdesini sadece demineralizasyondan değil remineralizasyondan da korumaktadır. Yavaş difüzyon sebebiyle lezyon sıvılarında önemli derecede aşırı bir doymunluk olmadığından lezyon gövdesinin remineralizasyonu sağlanamamaktadır. Lezyon gövdesi, yüzey tabakası kalktığında ya da plak kontrolü sağlandığında, tükürükten gelen Ca, P ve F iyonları rahatlıkla geçerek lezyon üzerine çökler ve böylece remineralize olabilir. Fakat yüzey tabakasının kaybıyla lezyon gövdesi, karyojenik asitlerin geçişine de açıktır ve sonuçta demineralizasyon sürecinin artması durumu göz önüne alınmalıdır (Ten Cate ve ark., 2003).

Demineralizasyon ve remineralizasyon dinamik birer süreç olarak karşımıza çıkmaktadır. Gün boyunca ağız içerisinde çok sayıda demineralizasyon ve remineralizasyon gözlenmektedir. Bu süreçler bir denge içinde gerçekleştiği sürece çürük oluşmamaktadır (Featherstone, 2000; 2008). Asit atakları arasında yeterli zaman olduğu takdirde remineralizasyon gerçekleşmekte ve demineralizasyonun etkileri geri dönüştürülebilmektedir (Garcia-Godoy ve Hicks, 2008).

2.5. Başlangıç Mine Çürüğünden Korunma Yöntemleri

Loesche (1986) yıllar önce 'yaşam boyunca uğraşmak durumunda kalınan belki de en pahalı enfeksiyonun, çürük ve dişeti hastalığı olduğunu' belirtmiştir (Loesche, 1986).

Birçok ülkede diş çürüğü prevalansı son 20-30 yıldır düşmesine rağmen özellikle yüksek çürük riskli popülasyonlarda halen büyük bir sorun oluşturmaktadır (Heravi ve ark., 2014). Diş çürüğünün azaltılabilmesi için çürük mikrobiyolojisi, biyofilm tabakası, demineralizasyon-remineralizasyon, florür uygulamaları, beslenme, tükürük, florür

salınımı yapan dental materyaller gibi konular üzerinde yoğunlaşmıştır ancak popülasyondaki çürük basamaklarını tamamen azaltmak mümkün olmamıştır (Winn ve ark., 1996).

Florürün içme suyuna eklenmesi kullanımı, florür içeren ürünlerin ve farklı remineralizasyon ajanların kullanımı, son yıllarda popülerite kazanan ozon ve lazer cihazlarının düz yüzey çürüklerinde ve başlangıç mine çürük lezyonlarında kullanımlarıyla çürüklerde azalmalar gözlenmektedir (Marinho ve ark., 2004; Ana ve ark., 2006; Featherstone ve Apel, 2007; Duggal ve ark., 2012; Chen ve ark., 2013); Tahmassebi ve ark., 2014).

Çürükten korunma girişimleri aşağıdaki yöntemleri içermektedir;

- Diş ile temas halindeki bakteri plağı içerisindeki mikroorganizmaların sayısını azaltmak (Newburn, 1989; Kara, 2011).
- Diyeti düzenlemek (Kara, 2011).
- Diş ile temas halindeki plağın diş üzerindeki kalış süresini azaltmak (Kara, 2011).
- Çevresel faktörlerin düzeltilmesi, bireyin eğitimi, bilgilendirilmesi ve ilgisini artırmak (Kara, 2011).
- Konak (diş) faktörünün çürüğe karşı direncinin artırılması: florür uygulanması (Marinho ve ark., 2004; Ferreira ve ark., 2005), CPP-ACP (Kazein Fosfo Peptit-Amorf Kalsiyum Fosfat) (Chen ve ark., 2013), novamin (Azarpazhooh ve Limeback, 2008b), son yıllarda ileri sürülen lazer uygulamaları (Liu ve ark., 2013a; Poosti ve ark., 2014) ve ozon uygulamaları (Duggal ve ark., 2012), kalsiyum karbonat (Huang ve ark., 2013), kalsiyum fosfat (Vanichvatana ve Auychai, 2013), nano-HA (Comar ve ark., 2013), teobromin (Amaechi ve ark., 2013) ve mine matriks türevleri (Jeong ve ark., 2011).

2.5.1. Florür

Florür, insan vücudu için yaşamsal değeri olan yedi eser elementten biri ve 2. periyot, 7A grubu (halojen) elementidir. Oda sıcaklığında soluk, sarı-yeşil renkte bir gaz halinde bulunur. Doğadaki en elektronegatif elementtir, iyon çapı küçük olduğu için aktif bir elementtir bu yüzden kolayca reaksiyona girer. Diğer atomlarla hızlı bir şekilde reaksiyona girdiği için doğada çok nadir olarak serbest halde bulunur, genellikle

inorganik florür bileşikleri halindedirler. En önemli florür bileşikleri, kalsiyum florür [(CaF₂); % 49 F] ve fluoroapatit [Ca₁₀F₂(P)₆; % 6,3 F] olmak üzere, florür genel olarak kriyolit (Na₃AlF₆), florosilikat (Na₂SiF₆) gibi formlarda minerallerde ve mika, hornblende, pegmatit gibi formlarda kayalarda bulunmaktadır (Mellberg ve Ripa, 1983; Newburn, 1989).

Toumba, diş hekimliği literatürüne florürün girişinin 1800'lü yıllara uzandığını bildirmiştir (Toumba, 1996). İlk defa Morichini (1803) dişlerin florür içerdiğini gözlemlemiş ve bunu takip eden yıllarda birçok araştırmacı dişlerdeki florür miktarının diş sağlığını olumlu yönde etkilediğini bildirmiştir (Ferreira ve ark., 2005; Nicolae ve ark., 2011; Lei ve ark., 2014). Florürün diş hekimliğinde kullanımı ilk olarak 19. yüzyılda başlamıştır. 1847 yılında Edhart, florürün diş minesini güçlendirdiğini, çürük ataklarına karşı dirençli hale getirdiğini belirterek ilk olarak florürün profilaktik rolünden bahsetmiştir. Florür tabletleri ise ilk olarak İngiltere'de potasyum florür formunda hazırlanmıştır. Bu tabletlerin özellikle diş değiştirme dönemindeki çocuklara ve hamile kadınlara verilmesi tavsiye edilmiştir (Tosun, 2002). 1896'da Dr. A. Denninger, koruyucu bir tabaka olan mine dokusunu güçlendirmek için florüre ihtiyaç duyulduğunu belirtmiştir. Florürün besinlerle de alınabileceğini ancak bunun yeterli olmayacağını, basit ve ucuz bir uygulama olarak günlük yemeklerle CaF₂'lü tablet alınmasının yeterli olabileceğini belirtmiştir (Tosun, 2002). Ülkemizde diş hekimliğinde florür iyonu konusunda ilk araştırma ve yayın 1955'te Prof. Dr. Pertev Ata tarafından Isparta'da yapılmıştır. Isparta'da içme sularındaki florür iyonu miktarı tespit edilerek, 10-18 yaşlarındaki çocukların dişlerini incelemiştir. Afyon ilindeki çocukları kontrol grubu olarak kullanmıştır. Çalışmada çürüğe karşı dirençli olabilen ancak lekeli mine olarak adlandırılan florozis vakalarından bahsedilmiştir (Bağlar, 2009).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından, DMF (çürük, çekilmiş diş, dolgu) indeksi kullanılarak birçok ülkede diş sağlığı durumu incelendiğinde, beslenme alışkanlıklarının değişmesi ile artan diş sağlığı sorunlarının, koruyucu diş hekimliği uygulamalarına ağırlık verilerek çözülmesi önerilmiştir. Diş çürüklerini önlemek için içme suyuna florür ilavesi en önemli halk sağlığı başarılarından biri olarak kabul edilir. 20. yüzyılın ilk yarısında ABD'de suların florlanması ile diş çürüklerinin % 50 oranında azaldığının gösterilmesi diş çürüklerinden korunmada, florürün önemini ortaya koymuştur (Konig, 1993; Kunzel, 1993).

Florür, diş sağlığı açısından optimal düzeylerde alınması gereken bir elementtir. Ancak diş çürüklerindeki düşüş ile eş zamanlı olarak, florüre maruz kalmanın bir yan etkisi olarak florozis prevalansında bir artış olmuştur. Dental florozis dünya çapında son derece yaygın olmaya devam etmektedir (Everett, 2011).

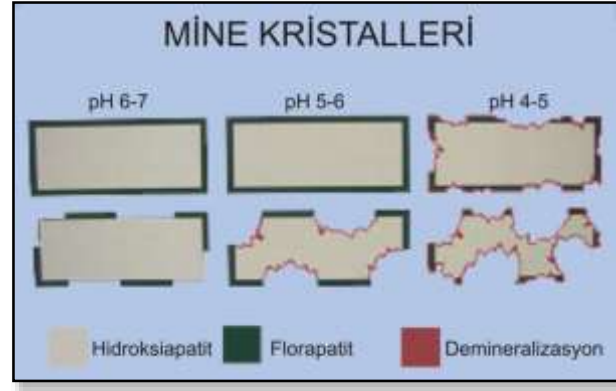
Düzenli olarak florür kullanımının, başlangıç çürük lezyonlarının ilerlemesini durdurarak ve remineralizasyonunu sağlayarak çürük önleyici etkisinin olduğu belirtilmiştir (Takagi ve ark., 2000; Ferreira ve ark., 2005). Florür alımıyla çürük sıklığının azalması arasındaki ilişki birçok in vivo ve in vitro çalışmalar ile açıklanmaya çalışılmıştır (Ten Cate ve Duijsters, 1983a; Dawes ve Weatherell, 1990; Groeneveld ve ark., 1990; Ten Cate, 1990; Larsen ve Jensen, 1994; Rose ve ark., 1997b).

Florür çürük engelleyici etkisini;

- Mineral yapının çözünürlüğünü azaltarak
- Mineral yapının çözünürlüğünü engelleyerek
- Plak bakterileri tarafından asit üretimini engelleyerek ve
- Remineralizasyonu arttırarak gösterir (Arends ve Christoffersen, 1990; Ogaard, 1990; Shellis ve Duckworth, 1994; Hellwig ve Lussi, 2001).

Florür iyonları hidroksi gruplarıyla veya çözülmüş HA ile yer değiştirebilir. Böylece minenin HA yapısına katılarak florürlenmiş apatit veya CaF_2 benzeri mineral oluşturur (Amaechi ve ark., 2012). CaF_2 çürük atakları esnasında pH seviyesi düştüğünde florür iyonu salmak için bir depo görevi görmektedir ve dişin remineralizasyonuna katkı sağlamaktadır. Farklı pH'larda CaF_2 'ün çözünme oranı fosfat ve proteinler tarafından kontrol edilmektedir (Ogaard, 1990; Ten Cate ve ark., 2003). Florür günümüzde çürük oluşumunu engelleyen en etkin ajan olma özelliğini sürdürmektedir (Rehder Neto ve ark., 2009).

Laboratuvar çalışmalarında tükürük ve plak sıvısında düşük florür seviyesi varlığında çürük atağı boyunca minenin demineralizasyon oranının düştüğü ve başlangıç çürük lezyonlarının remineralize olduğu gösterilmiştir (Jorgensen ve ark., 1989). Karyojenik değişimler sırasında hem kristal yüzeyin florür konsantrasyonunun hem de çözülmüş fazdaki florür konsantrasyonunun önemi büyüktür. Çözünme oranını azaltmak için florürlenmiş kristal yüzeyleri çok önemlidir, fakat yüzeyin florürlenmesi korunmalıdır. Eğer korunmazsa kristal yüzeydeki çözünme devam edecektir (Axelsson, 1999) (Şekil 4).



Şekil 4. Mine kristallerinin şematik olarak çözünmesi (Axelsson'dan, 1999)

Tükürük içinde yüksek konsantrasyonda bulunan Ca ve P iyonları, remineralizasyon sürecinde önemli rol oynamaktadır (Selwitz ve ark., 2007). Topikal florür uygulamasının, remineralizasyon sürecini diş yüzeyine tutunarak ve Ca iyonlarını etkileyerek hızlandırdığı bildirilmiştir (Kusano ve ark., 2011). Florür iyonu asit üretimini engelleyerek tükürük pH'sını nötr hale getirir. Böylece tükürükteki Ca ve P iyonları $CaPO_4$ bileşiği şeklinde diş yüzeyine çökelerek remineralizasyonun oluşmasını sağlar (Featherstone, 1999; 2000).

Yapılan araştırmalar HA'nın florür ve hidrojen iyonu varlığında 3 tip ana reaksiyon oluşturduğunu göstermiştir (De Crousaz ve ark., 1985; Fabien ve ark., 1996).

1. $Ca_{10}(P)_6(OH)_2 + H_2P = Ca_{10}(P)_6F_2 + 2OH^-$
2. $Ca_{10}(P)_6(OH)_2 + H_2P = 10CaF_2 + 6(P)^{-3} + 2OH^-$
3. $Ca_{10}(P)_6(OH)_2 + H_2P = 6CaHP + 2H_2O + 4Ca$

Florür konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda 1 no'lu reaksiyon, yüksek olduğu durumlarda 2 ve 3 no'lu reaksiyon meydana geldiği belirtilmiştir. Florür iyonunun, minenin organik yapısına yüksek oranda bağlanabildiği bildirilmiştir. Florür iyonunun % 30 oranında apatit yapıya bu yolla giriş yaptığı belirtilmiştir (De Crousaz ve ark., 1985).

Mineye sistemik florür uygulamaları sonucunda florür iyonu dişin kristal yapısına girer ve hidroksil iyonu ile yer değiştirerek asitler karşısında daha az çözünen florapatit kristalini ($Ca_{10}(P)_6F_2$) oluşturur. Mine çürüğü oluşumu sırasında ortamdaki asidin etkisiyle fosfatlar serbest iyonlar haline gelirler ve pH'nın düşmesi nedeniyle oluşan protonları bağlayıcı bir etki gösterirler. Bu olay sırasında ortamda bulunan Ca iyonlarının florür iyonlarına bağlanması kolaylaşır ve bu şekilde HA yapı florapatit şekline dönüşür

(Ishikawa ve Eanes, 1993; Takagi ve ark., 2000). Stabil olan florapatit yapının HA yapıya oranla asitler karşısında daha az çözünür olduğu ve mine çözünürlüğüne karşı oluşan en kuvvetli yapı olduğu bildirilmiştir (Christoffersen ve ark., 1995; Featherstone, 2000).

Florürün çürük gelişiminin engellenmesinde diğer bir önemli etkisi de, plakta bulunan bakterilerin asit üretimini inhibe etmesidir (Dawes ve ark., 1965). Florür başta enolaz enzimi olmak üzere fosfoglukonatoz, süksinik dehidrogenaz, fosfogliseromutaz, fosfataz, pirofosfataz, pirofosforilaz, asetil kolinesteraz, aldoz, gliseraldehit-3 fosfat-dehidrogenaz, peroksidaz gibi glikoliz ve şeker taşınmasında yer alan birçok enzimi inhibe ederek bakterilerin asit üretimini engeller. Enolaz, glikolitik reaksiyon zincirinde şekerin taşınması için önemli olan fosfoenolpiruvat oluşumu sırasında kullanılmaktadır (Hamilton ve Bowden, 1996).

Florür iyonize formda iken hücre duvarını geçemez ancak hücre duvarı etrafında bulunur. Asit üretimiyle birlikte ortama hidrojen iyonları girerek hidrojenflorür oluşur. Florür bu formda hücre duvarından içeri hızlı bir şekilde girerek bakteri bütünlüğünün bozulmasına neden olur, glikoz yıkımına engel olur ve şekerin aside dönüşümünü engeller. Mine yüzey enerjisini düşürerek ve bakteri yüzeyinde yük değişikliği yaparak bakterilerin mine yüzeyine yapışmalarını azaltır (Featherstone, 1999; 2000).

Florür tedavi yöntemleri uygulanma şekillerine göre sistemik ve topikal olmak üzere 2 şekildedir. Sistemik uygulamalar; içme sularının florlanması, sofraya tuzlarına florür eklenmesi, multi vitamin florür kombinasyonları, florür içeren pastil, damla ve tabletlerden oluşmaktadır (Ellwood ve Fejerskov, 2003). Topikal uygulamalar ise jeller ve solüsyonlar, profeksi patları, vernikler, florür içeren simanlar ve restoratif materyaller, yavaş salınım apareyleri, gargaralar, diş macunları, florürlü sakızlar ve diş iplerini içermektedir (Ellwood ve Fejerskov, 2003; Featherstone, 2004).

Çürük oluşumunun engellenmesinde hem mine yüzeyindeki hem de diş plağındaki florür miktarı önemlidir. Uzun yıllar boyunca sistemik yolla alınan florürün, gelişmekte olan mineyi kuvvetlendirerek, çürük inhibe edici etkiyi sağladığına inanılmaktaydı. Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda florürün az miktarda ve sürekli olarak diş plağında ve tükürükte bulunmasının daha etkili olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 1994; Rose ve ark., 1997a).

Thylstrup (1990) sistemik olarak alınan florürün diş çürüğünü önlemedeki etkisinin düşünüleneye göre çok daha az olduğunu bildirmiştir. Topikal florür uygulamaları

başarılı bir şekilde etki göstermekte ve minenin mineral kaybını engellemektedir. Düşük pH'larda mine çözünse bile ortamda düşük konsantrasyonlarda florürün bulunmasıyla bunlar tekrar floropatit şeklinde mineye çökmekte ve bu olay mineral kaybını engellemektedir (Ten Cate ve Duijsters, 1983b; Li ve ark., 1994).

Yapılan çalışmalarda minede florürün düşük dozlarda bulunmasının, yüksek dozlara oranla daha etkili olmasının nedeninin solüsyon aşırı doymun olduğunda çökme nedeniyle florürün etkisini gösterememesi olarak bildirilmiştir (Gibbs ve ark., 1995). Florür yüksek konsantrasyonlarda uyguladığında hemen yüzeye çökmekte ve yüzeyin aşırı remineralize olması nedeniyle florür alt tabakalara inmemektedir. Bu yüzden topikal uygulamalarda florürün daha az konsantrasyonlarda sık sık uygulanması mineral dengenin daha iyi korunmasını sağlamaktadır (Ishikawa ve Eanes, 1993).

2.5.2. Kazein Fosfopeptit - Amorf Kalsiyum Fosfat Nanokompleksi (CPP-ACP)

Alternatif bir remineralizasyon teknolojisi olarak süt kazeininden elde edilen fosfopeptidler kullanılmaktadır. Florürlerin, ortamda Ca ve P iyonlarının varlığında etki göstermesi ve doz aşımı sonucunda florozis oluşumuna sebep olması nedeniyle alternatif bir ürün kullanımı gündeme getirilmiştir (Zhang ve ark., 2011; Kusano ve ark., 2011).

İnsanlar için gerekli aminoasitleri ve organik nitrojeni içeren bir gıda grubu olan süt ve süt ürünleri, aynı zamanda içerisindeki Ca, P, kazein ve lipit gibi faktörler sayesinde çürük önleyici etkiye de sahiptir (Reynolds ve ark., 2003; Aimutis, 2004). Sütün, dental plaktaki bakteriler ve çürük oluşumu üzerindeki etkileri incelendiğinde, bakteri sayısında anlamlı bir değişiklik göstermediği, ancak çürük sıklığını azalttığı gözlemlenmiştir. Bunun sütün içindeki kazein proteinlerinin diş bağlanması sonrasında bakterilerin etkilerinin azalmasıyla meydana geldiği bildirilmiştir. Kazein içeren bir ürün olan peynirin; tükürük akış hızını, ağız ortamının pH'sını ve plak Ca konsantrasyonunu artırarak çürük oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Ayrıca peynirin tükürük salgısı olmadığı durumlarda bile, içindeki fosfoproteinlerin diş yüzeyine bağlanması ve bakteri kolonizasyonunu engellemesiyle çürük oluşumunu önlediği gösterilmiştir (Çetin ve ark., 2011).

Fermente süt ürünlerinden biri olan yoğurdun pH'sı, sütün fermentasyonu ile yoğurt oluşması sırasında laktik asit oluşması sebebiyle 4,7-4,9 arasındadır ve saklanması

durumunda yoğurt içindeki laktik asit miktarı artarak pH 3'e kadar düşer. Buna rağmen çalışmalarda yoğurdun karyojenitesinin incelendiğinde düşük karyojenik etkinliğe sahip olduğu gösterilmiş ve bu etkinin de içerisindeki kazein, Ca, P, proteinler ve lipitlere bağlı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Çetin ve ark., 2011).

Süt ve süt ürünlerinin çürük önleyici etkilerini gösterebilmeleri için çok büyük miktarlarda tüketilmeleri gerekmektedir. Bu sebeple, çürüğü önlemek amacıyla sütün içerisindeki koruyucu faktörleri ayırarak kişisel oral bakım ürünleri içerisinde kullanmaya yönelik çalışmalar yapılmıştır (Aimutis, 2004).

Kazein fosfoproteini insan sütü de dahil olmak üzere hayvansal sütlerin tümünde bulunmaktadır. Kazeinler süt içinde 30-300 nm çapında partiküller halinde yaklaşık % 80 oranında bulunmaktadır. Doğal haldeki kazein partikülleri yüksek oranda Ca ve P, daha az oranda magnezyum ve sitrat içerirler ve genellikle kazeinatfosfat ve kalsiyumfosfokazeinat partikülleri olarak adlandırılırlar (Aimutis, 2004; Çetin ve ark., 2011).

Süt kazeinleri, nötral ve alkalın şartlar altında Ca ve CaP iyonlarını stabilize eder ve onları yeni doğan için kullanılabilir hale getirir. Kazeinlerin triptik sindirimi fosforil-seril kümeleri içeren N-terminal kutup bölgelerinden fosfopeptitleri getirir. Bu fosfoseril kümelerinin kazein ve kazein misilleri oluşumuna yol açan Ca ve CaP arasındaki etkileşimden sorumlu olduğu öne sürülmüştür (Cross ve ark., 2005).

CPP'ler, seçici çökeltme metodu kullanılarak kazeinin tripsin enzimi ile parçalanması sonucunda elde edilmiştir (Reynolds ve ark., 1994). CPP'ler, kalsiyum fosfatı CPP-amorf kalsiyum fosfat (ACP) kompleksi şeklinde stabilize etme yeteneğine sahiptir (Uzer ve ark., 2011). CPP, ACP'nin etrafını sarmakta, nükleasyon ve faz transformasyonu için gerekli olan boyuta ulaşmasını engellemektedir (Morgan ve ark., 2008). Kazein fosfopeptidleri içerdikleri fosfoseril uzantılar boyunca ACP'yi küçük kümeler halinde bağlarlar, böylece CPP-ACP nanokompleksi meydana gelmektedir (Reynolds, 1998).

Amorf yapıdaki kalsiyum fosfat (ACP), kalsiyum ve fosfat iyonlarının birbirine yarar sağlayacak şekilde bağlanmasına imkan vermektedir. İyonlar remineralizasyonu çoğaltır ve asit ataklarına karşı dış yüzeylerinde deminerilizasyonu azaltırlar. Ama bu iyonların küme şeklindeki kristal yapılarının uygun olmaması sebebiyle dış dokularına iyi bağlanma gösteremezler (Reynolds ve ark., 2003).

CPP-ACP, karyojenik döngü boyunca diş minesinin kaybettiği mineralin tekrar kazanılması için büyük bir rezervuar sağlar. Plağın dişe yakın bölümünde artan iyon süper saturasyonu bu bölgeyi daha dirençli hale getirir. CPP, her bir molekülüne 24 Ca ve 16 P bağlanmış şekilde bulunur (Reynolds, 1998). CPP, amorf kalsiyum fosfatı lokalize ederek dişin mineral doyunluğunu devam ettirmesini sağlamaktadır. CPP-ACP, asit etkisine maruz kaldığında ortama ACP salınımı olur. Ortama salınan Ca ve CaP iyonları, asidik ortamı tamponlayarak plak pH'sını dengeleyerek demineralizasyonu önleyip remineralizasyonu artırır (Reynolds, 1997). CPP-ACP, solüsyon halinde, farelerin, patojensiz *Streptococcus Sobrinus* (*S. Sobrinus*) ile enfekte edilmiş molar dişlerinde çürük aktivitesini azalttığı göstermiştir (Reynolds ve ark., 1995).

CPP-ACP'nin çürük önleyici etkisi 3 farklı mekanizmayla açıklanmaktadır;

* Dental plağın yapısına katılarak plağın Ca ve CaP iyon seviyesini anlamlı bir şekilde arttırmaktadır. Bu mekanizma demineralizasyonun önlenmesinde ideal bir mekanizmadır. Çünkü plak Ca ve P seviyesiyle çürük oluşumu arasında ters bir ilişki mevcuttur.

* Aynı zamanda diş yüzeyine lokalize olan CPP-ACP plaktaki serbest Ca ve CaP'ı da bağlayarak diş yüzeyini aşırı doyun hale getirmektedir ve böylece demineralizasyonu önleyip remineralizasyonu arttırmaktadır.

* Ayrıca plaktaki bakteri hücrelerinin yüzeylerine bağlanarak diş üzerinde kolonize olmalarını da engellemektedir (Ardu ve ark., 2007; Çetin ve ark., 2011).

Diş yüzeyine uygulandığında CPP-ACP; biyofilme, dental plağa, bakterilere, HA'ya ve yumuşak dokulara bağlanarak Ca ve CaP rezervuarı olarak görev yapar (Arunachalem ve Raja, 2010).

Günümüzde CPP-ACP, topikal etkisinden yararlanmak için diş macunu, solüsyon, şekersiz sakız, gargara, pastil, pat, sprej, spor içecekleri ve restoratif materyal gibi çeşitli ürünlerin içerisine katılarak piyasaya sunulmuştur (Pai ve ark., 2008; Çetin ve ark., 2011). Erken çocukluk çürüklerinin önlenmesinde kazein içeren kremlerin de kullanılabileceği bildirilmiştir (Reynolds, 1998).

CPP-ACP'in önemli bir avantajı florürlü diş macunları gibi evde kullanılabilmesidir. Piyasada "Tooth Mousse, MI Paste" (GC America Inc) olarak bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda CPP-ACP'nin demineralizasyonu inhibe ederken, remineralizasyonu arttırdığını gösterilmiştir (Reynolds, 1997; Shen ve ark., 2001; Iijima

ve ark., 2004; Rahiotis ve Vougiouklakis, 2007; Cochrane ve ark., 2008; Reynolds, 2009; Hamba ve ark., 2011; Jayarajan ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2011)

Shen ve ark. (2001) yaptıkları in-situ çalışmada CPP-ACP içeren sakızların mine yüzey altı lezyonlarının remineralizasyonuna etkisini araştırmışlardır. Kontrol grubu olarak CPP-ACP içermeyen (sorbitol ve xylitol içeren) sakızlar kullanılmıştır. Sonuç olarak sorbitol ve xylitol içeren sakızlarda tükürük akışını stimule etmede ve mine remineralizasyonunda önemli bir farklılık gözlenmezken, CPP-ACP içeren sakızlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, mine remineralizasyonunda önemli bir artış tespit edilmiştir.

Hedge ve Moany (2012) yaptıkları çalışmada, CPP-ACP patının remineralizasyon kapasitesini SEM ve Enerji Dağılımlı X Işını Spektroskopisi (EDX) yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Sonuç olarak, CPP-ACP patı yapay olarak oluşturulmuş başlangıç çürük lezyonları üzerinde uygulama süresi ile doğru orantılı olarak remineralizasyon sağlayıcı etki göstermiştir.

Iijima Y ve ark. (2004), CPP -ACP içeren sakızların remineralize ettiği yüzey altı lezyonlarının asit direncini araştırdıkları çalışmalarında, demineralize yüzey altı lezyonu içeren mine örnekleri hareketli palatal aperey ile ağız ortamına yerleştirilmiştir. CPP-ACP içeren ve içermeyen sakızın kullanıldığı iki gruba da 14 gün boyunca günde 4 kez 20 dk süreyle sakız çiğnetilmiştir. Çalışmanın sonucunda CPP-ACP içeren sakızları çiğneyen bireylerde remineralize minenin, asit değişikliğine daha dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan in-situ bir çalışmada, % 1'lik CPP-ACP solüsyonunun günde iki kez uygulanmasının minedeki mineral kaybını % 51 ± 19 oranında azalttığı, plak Ca seviyesini % 144 oranında inorganik fosfat seviyesini ise % 160 oranında arttırdığı gözlenmiştir (Reynolds, 1987).

S. sobrinus'la enfekte ratlarda yapılan bir çalışmada ise günde iki kez CPP-ACP solüsyonu uygulanmasının çürük aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir. S. Sobrinus seviyesinde bir değişiklik olmazken, % 0,1'lik CPP-ACP solüsyonu düz yüzey çürüklerini % 14 oranında, % 1'lik CPP-ACP solüsyonu ise % 55 oranında azaltmıştır. Bu çalışmaların sonucunda CPP-ACP solüsyonunun etkisinin topikal olarak ortaya çıktığı ve doza bağlı olarak arttığı sonucuna varılmıştır (Reynolds ve ark., 1995).

Reynolds ve ark. (1997), yaptıkları çalışmalarında CPP-stabilize kalsiyum fosfat solüsyonlarının üçüncü molar dişlerde yüzeyaltı lezyonlarını remineralize ettiğini rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar CPP-ACP'in diş yüzeyinde lokalize olması suretiyle plak pH'sını tamponladığını, demineralizasyonu önleyerek remineralizasyonu arttırdığını göstermektedir (Reynolds, 1998).

Reynolds ve Wong (1983) yaptıkları bir çalışmada da kazein ile tedavi edilen mine disklerine *S. mutans*'ın bağlanmasının azaldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu etkiyi, plakta bulunan Ca ve CaP'ın bakterilerin dişe tutunmasını engellediği şeklinde açıklamaktadırlar. Schupbach ve ark. (1996), in vitro koşullar altında CPP ile tedavinin, *S. mutans* ve *S. sobrinus* gibi karyojenik bakterilerin diş yüzeyine tutunmasında belirgin bir düşüş sağladığını göstermişlerdir.

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).

CPP-ACP içeren patla yapılan bir çalışmada günde 2 kez mine üzerine % 1 CPP-ACP uygulamasının ultrasonik cihazlar kullanarak ölçümü sonucunda mine demineralizasyonunu engellendiği gösterilmiştir (Yamaguchi ve ark., 2006). Bir çalışmada, mine üzerine günde 2 kez % 1'lik CPP-ACP içeren pat uygulanmasının sonuçları SEM görüntüleri karşılaştırılarak incelendiğinde, bu patın mine demineralizasyonunu engellediği rapor edilmiştir (Oshiro ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmada, CPP-ACP içerikli patın remineralizasyon üzerine etkisini SEM ve kantitatif lazer floresans (QLF) kullanılarak incelenmişlerdir. Demineralize mine örneklerine 14 gün boyunca CPP-ACP içerikli pat uygulandığında kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde remineralizasyonun arttığı gösterilmiştir (Pai ve ark., 2008).

Rahiotis ve Vougiouklakis (2007), CPP-ACP ajanının dentinin demineralizasyonu ve remineralizasyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. Örneklerin yüzey analizi mikro multiple reflektans infrared spectroscopy (micro MIR-FTIR) ile yapılmıştır. 40 dentin örneği 4 gruba ayrılarak, 1. gruba CPP-ACP uygulanırken 2. gruba herhangi bir ajan kullanılmamış ve bu iki grup 7 gün demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. 3. gruba CPP-ACP uygulanırken 4. gruba herhangi bir ajan kullanılmamış ve bu iki grup 7 gün yapay tükürük solüsyonunda bekletilmiştir. Sonuç olarak CPP-ACP

içeren ajan uygulanan dişler diğerlerine göre daha düşük demineralizasyon, daha yüksek remineralizasyon göstermiştir.

Brochner ve ark. (2011), ortodontik tedavi sonrası görülen beyaz lezyonların CPP-ACP ile tedavisini araştırmışlardır. Çalışmaya 60 adolesan katılmış ve 2 gruba ayrılmıştır. Çalışma grubundaki bireylere günde 1 kez CPP-ACP uygulanmıştır. Kontrol grubundaki bireylere dişleri standart florürlü diş macunu ile fırçalanmıştır. Çalışmanın sonunda başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında beyaz lezyonlarda istatistiksel olarak anlamlı bir gerileme görülmüştür. Ancak gruplar arasında farklılık bulunmamıştır. Lezyonların ortalama alanının CPP-ACP'de % 58, florür grubunda ise % 26 azaldığı görülmüştür.

Topaloğlu (2009)'nun CPP-ACP içerikli patın mine demineralizasyonu üzerine etkisini incelediği tez çalışmasında, çekilmiş daimi ve süt azı dişleri kullanılmıştır. Birinci grupta pH siklusu ile mine demineralizasyonu oluşturulurken diğer gruplarda demineralize örnekler CCP-ACP içerikli pat, CCP-ACP içerikli pat ve diş macunu beraber ve sadece diş macunu uygulanmıştır. EDX analizi ve SEM görüntüleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, mine demineralizasyonunu önlemede en etkili yöntemin, CCP-ACP içerikli pat ile birlikte sodyum florür içerikli diş macununun birlikte kullanılması olduğu, ayrıca tek başlarına kullanıldıklarında mine demineralizasyonu üzerinde aynı etkiye sahip oldukları bulunmuştur.

Aras ve Sütlaş (2011), florür ilave edilmiş CPP-ACPF ile florürlü sütün başlangıç mine lezyonlarının tedavisine etkinliği mikrosertlik, İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometre (ICP-MS) ve İyon Kromatografi (IC), DIAGNOdent, SEM ve EDX yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, başlangıç çürük lezyonlarının tedavisinde CPP-ACPF içerikli preparatların minenin remineralizasyonunda florür tedavisine göre daha etkin olduğu bulunmuştur.

2.5.3. Novamin (Kalsiyum Sodyum Fosfosilikat, Biyoaktif Cam)

1969 tarihinde Hench biyoaktif camları keşfetmiştir, bu keşifle beraber biyomateryallerin fonksiyonlarının sınırları genişlemiştir. Biyoaktif cam silika, Ca, sodyum ve fosfattan oluşan çok elementli inorganik bir bileşendir. Tüm bu elementler vücutta doğal olarak bulunmaktadır. Biyoaktif camlar biyouyumludur ve dokulara kimyasal bağlanma eğilimindedirler (Hench ve West, 1996).

Kalsiyum sodyum fosfosilikat (novamin) biyoaktif bir camdır, yüksek oranda biyouyumluluk özelliği göstermektedir. İlk olarak kemik-rejeneratif materyal olarak geliştirilmiştir (Hench ve Andersson, 1993).

Diş hekimliğinde kullanım alanı bulan biyoaktif camlar, biyomateryal olarak adlandırılan malzeme grubunda yer almaktadır. Biyomateryaller; metallere, seramikler, polimerler ve kompozitler olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır. Biyomateryallerin önemli bir bölümünü oluşturan seramikler doku ile etkileşimlerine göre: eylemsiz seramikler, biyodegradable seramikler ve biyoaktif seramikler olarak 3 grupta incelenmektedir (Evcin, 2007).

Biyoaktif seramikler sınıfına giren biyoaktif camların karakteristik özelliği, yüzeyinin dokular ile bağ oluşumunu sağlayan, biyoaktif “hidroksikarbonapatı” (HCA) tabakasından oluşmasıdır. Bu özellik sayesinde, biyoaktif camlar çevre sert dokuya ve bazı hallerde yumuşak dokuya kimyasal olarak bağlanabilmektedir (Andersson ve Kangasniemi, 1991; Ceyhan ve ark., 2007).

Biyoaktif camlar, aynı zamanda enzimatik faaliyetler gösterir, üç boyutlu vasküler yapı oluşumunu destekler, kemik dokudaki mezenkimal hücrelerin farklılaşmasına yardımcı olur ve kemik doku ile organik bağlarla bağlanırlar (Kumar, 2009).

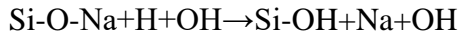
Standart biyoaktif cam formülü genel olarak 45S5 olarak bilinmektedir ve Food And Drug Administration (FDA) tarafından onaylanmıştır. Bu form ağırlık olarak % 45 SiO₂, % 24.5 Na₂O ve CaO ve % 6 P₂O₅ içermektedir. Materyal modifiye edilirken P₂O₅ bileşeni sabit tutulur, SiO₂ bileşeni çeşitlendirilir. Materyal üretilirken silika oranının ağırlıkça % 60’ın altında tutulması ve CaO/ P₂O₅ oranının yüksek tutulması, materyalin yüksek reaktif özellikte bir yüzeye sahip olmasını sağlamaktadır (Alauddin, 2004). Ayrıca üretim süreci sonrasında cam partiküllerinin boyutları nano seviyelere düşürülerek partiküllerin reaktifliğinin artırılması amaçlanmaktadır. Biyoaktif camların partikül boyutlarının nano seviyelere düşürülmesiyle, materyalin performansı artırılır aynı zamanda materyale yeni uygulama alanları kazandırılmaktadır. Cam partiküllerinin yüzeyinden hem daha hızlı iyon salınımı hem de yüksek protein adsorpsiyonu gerçekleştirilerek biyoaktivitenin artırılması amaçlanmaktadır (Kumar, 2009).

Biyoaktif camlar, vücut sıvılarıyla etkileşime girerek hidroksikarbonat apatit birikimini sağlar, bu mineral kimyasal olarak doğal diş minerallerine benzemektedir (Andersson ve Kangasniemi,1991; Hench ve Andersson, 1993). Ayrıca osteokondüktif

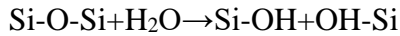
özelliğindedir ve yüzeyde iyon salınımı yoluyla apatit tabakası oluşturarak kemik dokuya kimyasal olarak bağlanır. Bu sebeple dişhekimliğinde remineralizasyon sağlayan ajanlar olarak kullanılmaları üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Burwell ve ark., 2009).

Hench, biyoaktif cam ile insan vücudu arasında oluşan kimyasal bağlantının aşamalarını saptamıştır. Biyoaktif cam vücutta doğal olarak bulunan (silika, Ca, Na, P) elementlerden meydana gelmiş çok bileşenli inorganik bir alaşımdır. Biyoaktif cam biyouyumluluk özelliği ve aynı zamanda vücutla kimyasal bağlantı gösterebilirliği nedeniyle tercih edilmektedir. 30 yılı aşkındır süren çalışmalarda biyoaktif camın vücutla kurduğu kimyasal bağın aşamaları ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Biyoaktif cam materyali uygulanır uygulanmaz yüzeyel reaksiyonlar başlamaktadır. Bu reaksiyonlar 3 ana fazda incelenebilmektedir: katyonların erimesi ve değişimi, SiO₂ dağılımı, Ca ve P'ın çökerek apatit tabakası oluşturması. Cam yüzey reaksiyonları 5 önemli aşama içermektedir (Alauddin, 2004).

1. Cam yüzeyindeki Na ve K iyonlarının hızlı bir şekilde vücut sıvılarındaki H ve H₃O ile yer değiştirmesi oldukça hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir.



2. Sodyum, cam yüzeyinden arkasında silikadan zengin bir tabaka bırakarak çözünür, sodyum kaybı lokalize olarak silika ağının bozulmasına neden olur. Si-O-Si yapısındaki bağların kırılmasıyla Si(OH)₄ formundaki çözünebilir silikanın cam yüzeyinden vücut sıvılarına kaybı ve cam ile vücut sıvıları ara yüzeyinde Si-OH formasyonu gerçekleşir. Hench biyoaktif cam yüzeyinden çözünebilir silika kaybının, kemik oluşturan hücrelerin proliferasyonunu stimüle ettiğini iddia etmiştir.



3. Cam yüzeyinde SiO₂ den zengin tabakanın repolimerizasyonu meydana gelir. Bu tabaka kalsiyum fosfat tabakanın oluşumunda kalıp olarak görev yapar. Bu aşamadan sonra cam yüzeyinde amorf kalsiyum fosfat tabakasının formasyonu gerçekleşir.

4. Ca ve (P)₃ gruplarının SiO₂ zengin tabakayı geçip bu tabaka dışında CaO-P₂O₅ den zengin film tabakayı oluşturması ve bu tabakaya vücut sıvılarından çözünebilir Ca ve P katılımı gerçekleşir.

5. CaO-P₂O₅ film tabakasının kristalizasyonu (Vücut sıvılarından OH⁻, CO₃ ya da F⁻ anyonlarının vücut sıvılarından bu tabakaya katılımı) meydana gelir. Sonuçta hidroksil, karbonat ve fluorapatit gruplarının formasyonu gerçekleşir.

Bu aşamalara; proteinler ve diğer biyolojik komponentlerin adsorbsiyonu katılır, bu karbonize HA yapının biyolojik karakterini oluşturmaktadır. Yaklaşık 3-6 saatte (in vitro olarak), kalsiyum fosfat tabakası hidroksikarbonat apatit (HCA) tabakasına kristalize olmaktadır, bu tabaka “bağlanma tabakası” olarak adlandırılmaktadır. Bu yüzey kimyasal ve yapısal olarak doğal kemikteki mineral faza eşdeğer özellik göstermektedir ve vücut dokuları bu yapıya direkt olarak bağlanabilmektedir. Tepkime devam ederken bağlanma tabakası yaklaşık 100-150 µm kalınlığa ulaşmaktadır (Nicolodi ve ark., 2004).

Novaminin Dişhekimliğinde Kullanımı

Novaminin vücut sıvılarıyla olan reaksiyonları hakkında birçok araştırma yapılmış olmasına karşın, materyalin dentin tübüllerindeki sıvıyla olan reaksiyonları hakkında çok az bilgi bulunmaktadır (Auregan ve Bogue, 2015).

Efflandt ve ark. (2002)'nin yaptığı in-vivo çalışmada distile su ile novamin tozu karıştırılarak bir pat elde edilmiştir. Nitel sonuçlar; uygulanan patın, dentin tübüllerindeki sıvıyla kimyasal teması halinde, kimyasal değişiklikler ve/veya mineralizasyon reaksiyonu yoluyla, doğal doku ile yapısal bütünlük sağladığını göstermiştir. Bu çalışmada in vivo dentin ortamında novaminin kimyasal olarak değiştiği ortaya konulmuştur. Sonuçlar, novaminin muhtemel bir dolgu materyali olarak kullanılabilmesi konusunda umut vermektedir. Çalışmalar, novaminin implant dışındaki diğer dental uygulamalar için uygun özellikler gösterebileceğini ortaya koymuştur.

Efflandt ve ark. (2001) tarafından yapılan bir başka çalışmada yapay tükürük ortamında, vücut ısısında novaminin apatit tabakası oluşturabildiği gözlenmiştir.

Araştırmacılar, novamin kompozisyonlarının çürükten sorumlu mikroorganizmalar üzerinde anlamlı bir anti-mikrobiyal etki sahibi olduğunu gözlemlemiştir. Özellikle endodontik diş hekimliğinde en önemli hususlardan biri enfekte dokuların dezenfeksiyonudur. Antimikrobiyal özelliğinden dolayı novaminin topikal endodontik dezenfeksiyon ajanı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda novamin yüksek oranda iyon salınımı yoluyla lokal pH değerinde değişim sağlayarak antibakteriyel etki göstermektedir. Bu özelliğinden dolayı antikaryojenik etki sağladığı düşünülmektedir (Stoor ve ark., 1998; Allan ve ark., 2001).

Küçük partiküllü (< 90µm) novaminin bir diş macunu ile kombine edildiğinde, kalsiyum sodyum fosfosilikat partikülleri dentin yüzeyinde çökelir ve mekanik olarak dentin tübüllerini tıkayabilir. Böylece klinik olarak diş hassasiyetini azaltabildiği ve erken dönem çürük lezyonlarında daha yüksek derecede remineralizasyon sağladığı sonucuna varılmıştır (Burwell ve ark., 2009).

Novamin içerikli bir diş macunu kullanılarak yapılan bir çalışmada diş macunun dişeti dokusu üzerinde terapötik etki gösterdiği gözlenmiştir (Tai ve ark., 2006). Novaminin cerrahi operasyonlar ve travmaya bağlı olarak oluşan enflamatuvar yanıtı ve makrofaj aktivitesini minimize ettiği düşünülmektedir (Sudağidan, 2001).

Novaminin Remineralizasyon Özelliği

Novaminler osteokondüktif özelliktedir ve yüzeyde iyon salınımı yoluyla apatit tabakası oluşturarak kemik dokuya kimyasal olarak bağlanabilmektedir. Buradan yola çıkarak novaminin dişhekimliğinde remineralizasyon sağlayan ajanlar olarak kullanılmaları üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Kumar, 2009; Diamanti ve ark., 2010; Gjorgievska ve Nicholson, 2010; Mehta ve ark., 2014). Sepulveda ve ark. (2002) partikül boyutunun iyon salınımı üzerinde önemli olduğunu belirtmişlerdir. Vollenweider ve ark. (2007), 45S5 (Bioglass) kompozisyonunun nano-partiküllü ile mikro-partiküllü formunun remineralizan potansiyeli karşılaştırmışlardır. Sonuçta, nano-partiküllü novaminin göreceli olarak remineralizasyon oranının daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu da nano-partiküllü materyalin çevreye daha fazla iyon salınımı yapmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, nano-partiküllü novamin remineralizasyon için daha etkili bir Ca ve silika kaynağı olarak düşünülebilmektedir.

Çalışmalarda, mikro-partiküllü novaminin in vitro olarak dentin disk yüzeylerinde mineralizasyonu arttırdığı gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre, dentin dokusunun remineralizasyonunda novaminlerin kullanılabileceği ve dentin mineralizasyonunu sağlayan restoratif materyallerin yapısına doldurucu komponent olarak novaminlerin katılabileceğini gündeme gelmiştir (Efflandt ve ark., 2001b; Forsback ve ark., 2004). Ancak mikro-partiküllü novaminlerin reaksiyon zamanlarının göreceli olarak uzun olması klinikte kullanımını kısıtlamaktadır (Kumar, 2009).

Yapılan çalışmalarda, novamin eklenmiş cam iyonomer siman kullanımı dentin remineralizasyonuna yardımcı olmuş ve iyon alışverişi yoluyla diş yüzeyine bağlanmasını desteklemiştir (Yli-Urpo ve ark., 2004).

Yapılan in vitro bir çalışmada, CPP-ACP ve novamin içerikli diş macunlarının mine remineralizasyonu sağladığı, novaminin mine remineralizasyonu etkisinin daha fazla olduğu gösterilmiştir. Her iki materyal de mine yüzeyinde depolanma göstermiş, novamin uygulanan örneklerde daha düzenli ve daha büyük depolanma alanları oluşmuştur. Mikroskopik olarak, sıkı bir şekilde mineye bağlanmış olan iyon-zengin bir tabaka gözlenmiştir. Cam materyalin vücut sıvılarıyla karşılaştığında gösterdiği bu kimyasal reaksiyon, HCA tabakasının oluşumuyla sonlanmaktadır (Gjorgievska ve Nicholson, 2010).

Novamin içerikli bir diş macununun dentin geçirgenliği ve remineralizasyonu üzerine etkisinin incelendiği in vitro bir çalışmada, novamin içerikli macun uygulamasının dentin geçirgenliğini azalttığı ortaya konulmuştur. EDX analizi yoluyla incelendiğinde novamin uygulamasının mineral içeriğinde artış sağladığı ayrıca asit ataklarına karşı direnç geliştirdiği gözlenmiştir (Wang ve ark., 2011).

2.5.4. Lazer Uygulamaları

Lazer Işığının Özellikleri

LASER, İngilizce “Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” kelimelerinin baş harflerinden oluşan bir kısaltmadır. “Radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi” anlamına gelmektedir (Kara, 2011).

Lazerin başlangıcı Einstein’ın 1917 yılında yayınladığı “İzafiyet Teorisi”ne dayanmaktadır (Einstein, 1917; Fuller, 1997). Einstein’ın bu teorilerini temel alarak 1958’de Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation (MASER) tanımlanmıştır (Ishikawa ve ark., 2003). 1960’da Theodore Harold Maiman ilk lazer aygıtını hazırlamıştır. İlk sert doku lazerleri 1990’lı yıllarda geliştirilmiş ve diş hekimliğinde ilk olarak 1997 yılında kullanılmaya başlanmıştır (Coluzzi, 2004).

Lazer ışığı, normal ışıklardan farklı olarak, tek renkli ve paraleldir. Lazer ışığını oluşturan fotonlar aynı fazdadır. Lazer ışığının spesifik bir rengi vardır. Işık yoğunluğu fazladır. Üretilen ışık tek renkte ve aynı dalga boyundadır. Paralellik lazer kavitesinden yayılan ışığın boyut ve tipini tanımlar. Yayılan dalgaların paralel olması sebebiyle

ışıkların sapma olasılığı çok düşüktür. Lazer ışığı etrafa dağılmadığından hedeflenen noktaya odaklanmayı sağlar. Lazer cihazından üretilen tüm ışık dalgalarının aynı fazda olması, dalgaların tüm tepe ve taban noktaları eşit olduğunu gösterir (Wintner ve Strassl, 2006).

Tıpta ve diş hekimliğinde kullanılan esas özelliği tek renkli olmasıdır. Lazer ışığı kullanılırken çevre doku tahribatının minimum düzeyde tutulabilmektedir. Buna lazerin doku selektif özelliği denilmektedir. Lazer ışığı rengi, elde edildiği maddeye bağlı olarak değişmektedir. Diş hekimliği uygulamalarında lazer sisteminin hedefi, çevre dokuya zarar vermeksizin selektif olarak pulse atımlarıyla dokunun düzenlenmesidir (Coluzzi, 2004).

Lazer sistemleri kullanılırken seçilmiş dokuya uygun çalışmak için bazı parametrelerin bilinmesi gerekmektedir (Meister, 2007; Kara, 2011).

1- Dalga boyu (Wavelength): Dokuda hasar vermeden çalışabilmek için dokuya uyumlu olan dalga boyu seçilmelidir. Dalga boyu uygulanacak dokunun absorpsiyon, saçılma ve yansıma katsayısına uygun olmalıdır.

2- Enerji yoğunluğu (Energy Density, Fluence): Enerji yoğunluğu birim alandaki enerji miktarıdır. Lazer sistemlerinde enerji yoğunluğu J/cm² cinsinden belirtilmektedir.

3- Güç yoğunluğu (Power Density): Bir lazer atımının enerji yoğunluğu, pulse enerjisi ve enerjinin çıktığı alan üzerinden tanımlanır. Lazer ışığının spot alanı ile gücü ters orantılıdır; spot alan küçüldükçe lazerin gücü artar.

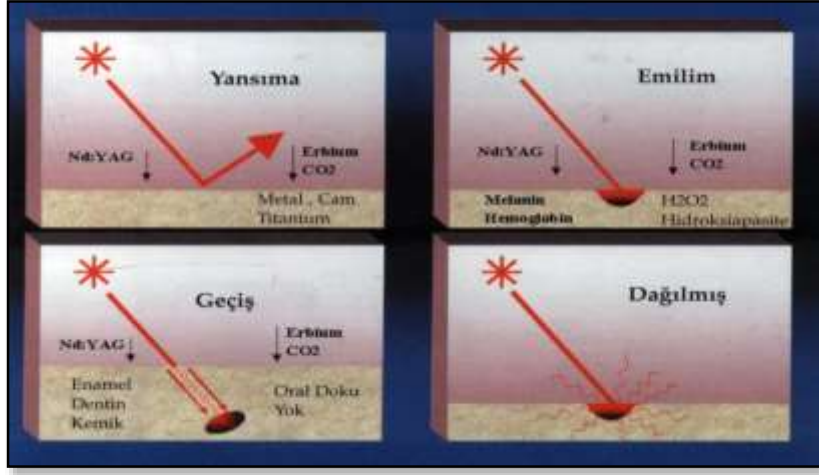
4- Frekans (Pulse Repetition Rate): Lazerin saniyedeki atım sayısı olarak tanımlanır. Birimi Hertz (hz)'dir.

5- Atım süresi (Pulse Duration, Pulse Width): Bir atımın emisyonu için geçen süredir. Atım süresi ne kadar kısaysa lazer ışığı o kadar güçlü demektir ve böylece dokunun termal ısınması engellenmiş olur.

6- Işığın çapı (Beam Diameter): Birim alandaki watt ya da joule cinsinden bulunan enerji yoğunluğundaki foton yoğunluğu olarak tanımlanır. Dokunun üzerindeki hedef alınan alan ile ilgidir.

Lazerlerin Etki Mekanizması

Lazer organik dokuya çarptığında absorpsiyon, paralel transmisyon, dağılmış transmisyon, paralel refleksiyon, dağılmış refleksiyon ya da saçılma olayları görülür (Wittschier, 2004; Meister, 2007; Kara, 2011) (Şekil 5).



Şekil 5. Doku üzerinde ışın reaksiyonları (Wittschier'den, 2004)

1-) Emilim (absorpsiyon): Işık enerjisi, serbest su moleküllerinin, proteinlerin, pigmentlerin ve diğer makro moleküllerin varlığına bağlı olarak uygulanan doku tarafından absorbe edilerek ısı gibi farklı formlara çevrilir. Absorbe edilen ışık doku içerisinde ani ısı artışına neden olarak dokuda fototermal etki yapar böylece lazerin etkinliği ortaya çıkmış olur (Coluzzi, 2004).

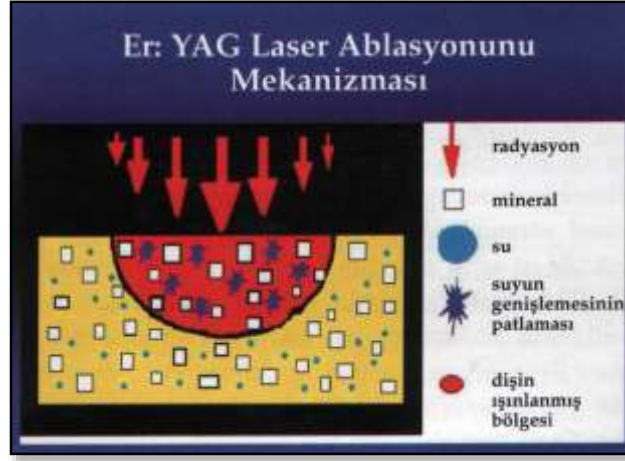
2-) Geçiş (transmisyon): Lazer ışığı dağılarak veya dağılmadan doku içerisinden geçerek derin dokulara ilerleyebilir. Bu etki lazerin dalga boyuna bağlı olarak değişir. Dalganın yayılmasının doğrultusu ve enerjisi geçiş sırasında değişmez (Meister, 2007).

3-) Yansıma (refleksiyon): Lazerin uygulandığı dokunun lazer ışığını yansıtması olarak tanımlanır. Mineden lazer ışığının yansıması, dentin veya diş etinden daha fazladır. Yansımada dalga boyu veya fotonun enerjisi değişmeden sadece yönü değişir (Meister, 2007).

4-) Saçılma (scatle): Dokuya uygulanan lazer ışığının doku içinde hedeflenen alana değil de etrafa saçılarak yayılmasıdır. Emilimle saçılma ters orantılıdır. Saçılmanın açısı ya da miktarı, dalga boyunun ve partiküllerin boyutuna bağlı olarak değişir (Meister, 2007).

Lazer Sert Doku Mekanizması

Diş sert dokularında HA kristalinde bulunan hidroksil iyonu, interkristalin boşluklarda bulunan su molekülleri ve hidroksil grupları lazer uygulanmasıyla yüklendikleri enerji ile hızla buharlaşmaya çalışırken mikro patlamalar oluşmaktadır. Dokular arasındaki bağları çözen bu patlamalar ile birlikte ablasyon gerçekleşmektedir (Şekil 6).



Şekil 6. Dental sert doku ablasyon mekanizması (Wittschier'den, 2004)

Dental ablasyon, diş yüzeyinden buharlaşma, kopma yoluyla doku kaybı olarak tanımlanmaktadır (Coluzzi, 2004). Ablasyon sonrası mine ve dentin yüzeylerinde boşluklar oluşur. Su spreyi ile su kullanılarak, kurumunun önüne geçilir, dental doku soğutulur, ablasyon hızlandırılır ve yan etkiler azaltılır. Ablasyon sırasında oluşan küçük ısı artışları diş tarafından tolere edebilir. Yapılan klinik çalışmalarda, pulpa odasındaki olası ısı artışının çok düşük olduğu ve herhangi bir tehlike oluşturmadığı bildirilmiştir (Goodis ve ark., 2004; Ana ve ark., 2007; Kilinc ve ark., 2009).

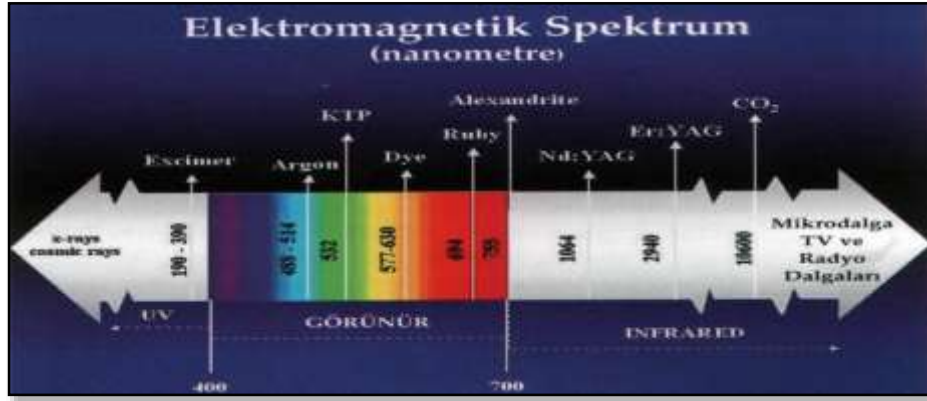
Özellikle pulpaya yakın bölgelerde lazer kullanımı sırasında pulse sayısının azaltılmasıyla ısı artışının önüne geçilebilir. Sert dokuda lazer uygulamalarında etkili bir kullanım sağlamak için, ışığın dalga boyu doku tarafından absorbe edilebilecek şekilde ayarlanmalıdır. Örneğin; minede HA'nın maksimum miktarda ışığı absorbe edeceği dalga boyundaki lazer ışığı kullanılmalıdır (Aoki ve ark., 2004).

Diş Hekimliğinde Kullanılan Lazer Tipleri

Lazerler, elde edildikleri maddelerin adlarıyla anılmaktadır. Lazer cihazları yumuşak ve sert doku uygulamalarında rutin olarak kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde

kullanılan başlıca lazer sistemleri; argon lazerler, CO₂ lazerler, yarı iletken diyet lazerler, erbiyum lazerler ve Nd:YAG lazerlerdir (Ayçiçek ve ark., 2010).

Diş hekimliğinde kullanılan lazer tipleri ve dalga boyları Şekil 7’de gösterilmiştir (Gutknecht, 2007).



Şekil 7. Elektromagnetik spektrum (Wittschier'den, 2004)

a) Karbondioksit (CO₂) Lazer

CO₂ lazer suya yüksek miktarda afinite göstermektedir, böylece sıg bir penetrasyon derinliğiyle hızlı bir yumuşak doku kaldırma ve hemostaz sağlamaktadır. Lazerler arasında en yüksek absorpsiyona sahiptir (Fujiyama ve ark., 2008). CO₂ lazerlerin dezavantajı, göreceli olarak büyük boyuta sahip olması, pahalı olması ve sert doku için yıkıcı etkilere yol açmasıdır (Verma ve ark., 2012).

b) Neodymium Yttrium Aluminum Garnet Lazer (Nd:YAG lazer)

Nd:YAG lazer pigmente dokular tarafından yüksek oranda absorbe edilir, iyi bir hemostaz sağlayarak dental yumuşak dokuların kesme ve koagülasyonunda kullanılan etkili bir cerrahi lazer çeşididir. Cerrahi uygulamalarına ek olarak (Fornaini ve ark., 2007), periodontal hastalıkların kontrolünde cerrahi olmayan sulkular debridman (Aoki ve ark., 2008) ve lazer yardımcı yeni ataşman prosedürü Laser Assisted New Attachment Procedure'nde (Slot ve ark., 2009) Nd:YAG lazer kullanılmaktadır (Verma ve ark., 2012).

c) Diyot Lazer

Diyot lazer; dalga boyları 810 nm ila 980 nm arasında değişen, alüminyum, galyum, arsenit ve bazen indiyumdan meydana gelen katı bir yarı iletkenidir. Diyot lazer primer olarak doku pigmenti (melanin) ve hemoglobin tarafından absorbe edilirken, mine içerisindeki su ve HA tarafından çok az absorbe edilir. Diyot lazerler, estetik gingival kontürlleme, yumuşak doku gömülü dişleri açığa çıkarma, iltihaplı ve hipertrofik dokunun kaldırılması, frenotomi ve aftöz ve herpetik lezyonların fotostimülasyonunda kullanılmaktadır (Hilgers ve Tracey, 2004; Verma ve ark., 2012).

d) Erbiyum Lazer

Erbium:Yttrium Aliminium Garnet (Er:YAG) lazer kullanımı, FDA tarafından 1997 yılında çürük temizleme, kavite preparasyonu ve adezyon öncesi mine ve dentin modifikasyonu gibi sert doku tedavilerinde, 1999 yılında yumuşak doku cerrahisinde ve 2004 yılında kemik cerrahisinde kabul edilmiştir (Aoki ve ark., 2004).

Erbiyum lazerler, Er,Cr:YSGG (yttrium scandium gallium garnet) lazer ve Er:YAG (yttrium aluminum garnet) lazer olarak 2 çeşittir. Erbiyum lazerler, HA'ya yüksek afinite ve suya yüksek absorpsiyun gösterir. Su tarafından en iyi absorbe edilen lazerdir. Suya absorpsiyon katsayısı CO₂ ve Nd:YAG lazerden çok daha fazladır (Van As, 2004). Bu yüzden dental sert dokuların tedavisinde bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır (Harashima ve ark., 2005). Sert doku prosedürlerine ek olarak, erbiyum lazerler dental yumuşak dokuların su içeriği sebebiyle yumuşak doku ablasyonunda da kullanılmaktadır (Ishikawa ve ark., 2008).

Er:YAG lazer kullanımı ile hedef ve çevre dokularda minimal ısınma meydana gelir, koagülasyon nekrozu azalır, skar oluşması önlenir, yara iyileşmesi hızlanır ve anestezi ihtiyacı azalır (Kuru ve Yılmaz, 2002).

Sert doku işlemlerinde kullanılırken bir miktar ısı oluşabilir, ancak su ile soğutma sağlandığında bu problem ortadan kalkmıştır (Featherstone ve Fried, 2001). Er:YAG lazer enerjisi, su molekülleri ve hidroz organik bileşenler tarafından absorbe edilir, ısı etkisi sebebiyle de 'fototermal buharlaşma' adı verilen buharlaşma meydana gelir (Watanabe ve ark., 1996). Ancak sert doku prosedürlerinde, su buharı doku içindeki internal basıncının artmasına neden olur ve mikroexplozyon denilen patlayıcı genişlemeler meydana gelir (Aoki ve ark., 2004). Bu dinamik etkiler mekanik doku

kollapsına neden olur ve termomekanik veya fotomekanik ablasyon ile sonuçlanır (Watanabe ve ark., 1996). Mikropatlamalar çevre dokulardaki hücreler üzerinde yüksek bir basınç oluşturarak dokuların ablasyonunu sağlarlar (Ivanenko ve ark., 2005).

Diş hekimliğinde kullanılan lazer tipleri ve dokuya çarptığı zaman gösterdiği fiziksel değişimler Tablo 1’de özetlenmektedir (Coluzzi, 2003).

Tablo 1. Diş hekimliğinde kullanılan lazer tipleri (Coluzzi’den, 2003)

Lazer çeşitleri	Absorbsiyon katsayısı	Penetrasyon derinliği	Optik penetrasyon derinliği	Etkilediği doku çeşidi	Biyolojik dokular tarafından emilimi
Nd:YAG (1064 nm)	1 cm ⁻¹	10000 µm	Yüksek	Yumuşak	Pigmente dokularda (melanin, hemoglobin)
Diode (810-940 nm)	1 cm ⁻¹	3500 µm	Yüksek	Yumuşak	Pigmente dokularda (melanin, hemoglobin)
CO₂ (10600 nm)	800 cm ⁻¹	12 µm	Düşük	Yumuşak	Su ve HA
Er:YAG (2940 nm)	800 cm ⁻¹	12 µm	Düşük	Sert ve yumuşak	Su ve HA
Er,Cr:YSGG (2780 nm)	400 cm ⁻¹	25 µm	Düşük	Sert ve yumuşak	Su ve HA

Başlangıç Mine Çürüğünün Engellenmesinde Lazer Uygulanmasının Etkileri

Diş hekimliğinde lazer ışığının, sağlıklı diş dokularının korunmasında ve hastalıklı dokuların tamamının ortadan kaldırabilmesinde etkili olabileceği bildirilmiştir (Gutknecht ve ark., 2005). Lazer kullanımı minenin asit direncini artırmış ve florür ile birlikte kullanıldığında minenin çözünürlüğünü anlamlı derecede azaltmıştır. Bu amaçla Nd:YAG, CO₂, Cr:YSGG, Er:YAG, Argon, Ruby ve Ho:YAG lazer gibi farklı dalga boyunda lazerler kullanılmış ve lazer kullanımının minenin yüzeyaltı demineralizasyon oranını azalttığı görülmüştür (Ana ve ark., 2006).

Çürük önlemek amacıyla kullanılacak lazer ışığının enerjisi ve etkisinin, minimal yan etkiyle mekanik hasar da olmadan mineral yapıyı faydalı bir şekilde değiştirmesi istenir (Featherstone ve Apel, 2007). Lazer yüzey sıcaklığı 800 °C ve üzerinde 1200 °C’ye kadar mineralleri eritme ve değiştirme özelliğine sahiptir (McCormack ve ark.,

1995; Fried ve ark., 1997). 400 °C ve üzerindeki sıcaklıkta minede bulunan karbonat ayrışmaya başlar ve karbonatlanmış HA'dan daha düşük çözünürlüğe sahip olan bir HA formu meydana gelir (Legeros, 1991).

Lazerin çürük önleme üzerine olan etkisi birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Featherstone ve ark., 1998; Kantorowitz ve ark., 1998; Nammour ve ark., 2005; Elton ve ark., 2009). Morioka ve ark. (1984) araştırmalarında, yüksek güçteki Nd-YAG lazer ışığının, diş çürüğü gelişiminin kontrol altına alınmasında etkili olduğunu belirlemişlerdir. Powell ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada, argon lazer ışınının diş çürüğü gelişiminin kontrol altına alınmasında etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Sognaes ve Stern (1965) araştırmalarında, lazer ışınının mine yüzeyini asitlere dirençli bir yüzey haline getirdiğini ilk defa ortaya koymuştur.

Lazerin çürük önleyici etkisi birkaç mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlardan birincisi mine yüzeyinin mikroyapısal elemanlarının fiziksel olarak birleşmesi ile minenin kimyasal ajanlara karşı geçirgenliğinin azalması olarak bildirilmiştir (Stern ve Sognaes, 1972). Lazer uygulamayla mine kristallerinin erimesi, kaynaşması ve rekristalize olması ile minenin çözünürlüğünün ve bu şekilde de mine geçirgenliğinin azalması ikinci teori olarak belirtilmiştir (Stern ve ark., 1972; Nelson ve ark., 1986). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise su ve karbonat içeriğinin azalması, hidroksil iyon içeriğinin artması, pirofosfat oluşumu ve proteinlerin çözülmesi yoluyla minenin ultramikroskopik yapısında meydana gelen değişimlerin minenin çözünürlüğünü azaltabileceği belirtilmiştir (Featherstone ve Nelson, 1987).

Ayrıca lazer uygulanmasının HA kristallerinin şekil ve yapısında değişiklik oluşturabileceği ve prizmatik yapının kaybına sebep olabileceği bildirilmiştir (Stern ve ark., 1972; Ferreira ve ark., 1989). Lazer ışığı, HA kristallerinde erime ve kaynaşmaya neden olarak mine yüzeyinin asitlere direncini arttırmaktadır (Klein ve ark., 2005; Steiner-Oliveira ve ark., 2006).

Liu ve Hsu (2007) Er-YAG lazerin çürük önleme üzerine etkisini değerlendirdikleri bir çalışmada, lazerin karbonatı azalttığı ayrıca organik yapıyı modifiye ettiği için çürük önleyici özelliği olduğunu ileri sürmüşlerdir. Cecchini ve ark. (2005) Er-YAG lazerin çeşitli parametrelerini incelemişler ve düşük enerji seviyelerinin mine çözünürlüğünü azalttığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlara göre sert dokuda lazer uygulaması sonrası ısı artışıyla;

- Mine ve dentinin erimesi,
- Karbonat bağının ayrılması,
- Kristal yapı değişir,
- Florürle desteklendiği zaman daha fazla asit direnci oluşur (Westerman ve ark., 2006).

CO₂ lazer kullanılarak çürük proflaksisi üzerine yapılan araştırmadaki sonuçlar şu şekildedir (Rodrigues ve ark., 2004).

1. Diş minesini spesifik dalga boylu ve enerji yoğunluklu lazer ile ışınlandığında, minerallerin asit reaktivitesi azalır ve HA kristalleri değişir.
2. Lazerler, florür ile kombine kullanıldığı zaman çürük önlemedeki etkisi florür veya lazerin tek başlarına olan etkisinden daha fazladır.
3. Lazer ve florür kombine kullanıldığı zaman gereken lazer enerji yoğunluğu ve florür seviyesi azalır.
4. Eğer bu lazer teknolojisi klinikte yaygın bir şekilde kullanılabilirse, lazer ile çürük önleme umut vermektedir.

Yamamoto ve Ooya (1974), Nd:YAG lazerin, mine yüzey yapısında değişiklikler meydana getirerek demineralizasyonu azalttığı ve mine çürüğünü azalttığı sonucuna varmışlardır. Argon lazerin 25-100 J/cm²'lik enerjisiyle mine yüzeyindeki demineralizasyonu azalttığı ve bu enerji yoğunluğunun pulpa ve çevre mine dokusuna zarar vermediği rapor edilmiştir (Powell ve ark., 1993).

Mine çözünürlüğünün azalmasında lazer ve florür sinerjik etki göstermektedir. Lazer uygulamasından önce ya da sonra topikal florür uygulaması diş dokuları tarafından florür alınma oranını artırır ve asidik solüsyonlarda çözünme miktarını azaltmaktadır. Bu sinerjik etki lazerin minenin normalde 5,5 olan kritik pH değerini 4,8'e düşürmesi ile açıklanmaktadır. Yani diş minesinin çözünmesini başlatmak için organik asit konsantrasyonunun beş kat artması gerekmektedir (Fox ve ark., 1992a; 1992b). Oho ve Morioka (1990) bu durumu lazerin minede mikroboşluklar oluşturması ve bu mikroboşlukları florür iyonlarının doldurması şeklinde açıklamaktadır. Ayrıca lazer uygulanmış mine yüzeyinin lazer uygulanmamış mineye göre florür iyonlarını daha uzun süre tuttuğu rapor edilmiştir (Delbem ve ark., 2003).

Yapılan bir çalışmada argon lazer ve % 0,5'lik topikal florür uygulanan gruptaki lezyon derinliği, argon lazerin tek başına veya hiç uygulanmadığı gruba göre anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur (Hicks ve ark., 2004b). Bir diğer çalışmada, mine

yüzeyine argon lazer uygulandıktan sonra florür uygulanan grupta 6 ay sonraki florür tutulum oranı, florürün tek başına uygulandığı grupla karşılaştırıldığında 400 kat daha fazla olduğu bulunmuştur (Nammour ve ark., 2005).

Harazaki ve ark. (2001), Nd:YAG lazer kullanarak yaptıkları çalışmada, lazer uygulamasının; çürük gelişimini inhibe ettiği, mine yüzeyinin kristalizasyonunu değiştirerek asitlere karşı direncini ve remineralizasyonunu desteklediği, Nd-YAG lazerin APF solüsyonu ile kombine şekilde uygulanmasının çürük gelişiminin önlenmesinde daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Süt ve sürekli dişlerde, argon lazer bir remineralizasyon ajanıyla kombine uygulandığında, tek başına lazer uygulamasına göre lezyon derinliğinde önemli derecede azalma gözlenmektedir (Westerman ve ark., 2006). Topikal florür uygulaması sonrası diod lazer kullanımının, minenin florür alımını arttırdığı ve asit ataklarına karşı dayanıklılık kazandırdığı gözlenmiştir (Vitale ve ark., 2011). İn vitro ve in situ çalışmalarda CO₂ lazerin yüzey altı mine demineralizasyonunu azalttığı ve florür uygulamalarıyla birlikte kullanıldığında bu etkisinin arttığı gösterilmiştir (Uzer ve ark., 2011). Mathew ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, APF jelin, Er:YAG veya CO₂ lazerin mine demineralizasyonunu azalttığı, lazerler florürle beraber kullanıldığında bu etkinin daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Chen ve Huang (2009), başlangıç çürük lezyonlarının CO₂ lazer, Nd:YAG lazer ve APF uygulamaları sonucu aside direncini değerlendirdikleri in vitro çalışmalarında, tüm uygulamalar aside direnci arttırmıştır. Her iki lazer arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ve lazer veya lazerle APF'nin kombine şekilde kullanılması tek başına APF uygulamasıyla kıyaslandığında daha etkili bulunmuştur. Liu ve ark. (2013a), lazer ve florür beraber uygulanmasının lazer ve florürün tek başına kullanılmasına göre mine demineralizasyonunu daha fazla engellediğini bildirmiştir. Aksine, Santaella ve ark. (2004), yaptığı çalışmada florür vernik uygulamasının minenin demineralizasyona direncini diode lazere göre daha fazla artırdığı bildirilmiştir. Azevedo ve ark. (2012), Nd:YAG lazerin tek başına veya florür ile kombine uygulanmasının, tek başına florür jel uygulamasıyla aynı etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda lazer kullanımı geleneksel yöntemlerin getirdiği ağrı, ses, titreşim ve bunlara bağlı korku gibi olumsuz faktörleri ortadan kaldırmaktadır böylece özellikle çocuk diş hekimliğinde önemli avantajlar sağlamaktadır (Denbesten ve ark., 2001; Kotlow, 2008).

2.5.5. Ozon Uygulamaları

Ozon Gazının Özellikleri

1785 yılında Van Marum elektrostatik makinasının yanında elektrik kıvılcımları oluşurken tuhaf bir koku fark etmiştir. Cruickshank, 1801 yılında suyun elektrolizi sırasında anot terminalinden aynı kokunun geldiğini gözlemlemiştir. İlk defa 1840 yılında, Christian Freidrich Shoenbein isimli Alman kimyager bu kokuyu veren gazı tespit etmiş ve Yunanca'da 'koklamak' veya 'tanrının nefesi' anlamına gelen OZONE adını vermiştir (Leeds, 1880).

Oda sıcaklığında açık mavi renkli bir gaz olarak bulunur, kendine has bir kokusu vardır ve havadaki konsantrasyonu 2 milyonda bir (ppm) iken atmosferin özellikle üst tabakalarında oldukça bol bulunur (Özler ve ark., 2009). Ozon (O_3), doğada gaz halinde bulunan, üç oksijen atomundan oluşan ve atmosferik oksijenden (O_2) daha yüksek enerjiye sahip moleküler ağırlığı 48 g/mol olan bir gazdır (Azarpazhooh ve Limeback, 2008a; Nogales ve ark., 2008). Ozon, aktif atomik oksijen (O^{+2}) ile O_2 'nin birleşmesinden meydana gelir (Bocci ve Paulesu, 1990; Bocci, 2004).

Ozon tek başına bir oksijen radikali olmamakla birlikte, oksidan molekül olarak sınıflandırılır. Bu oksidan yapı, kanda bulunan lipo-protein, lenfosit, monosit, granülosit, platelet ve eritrosit gibi yapılarla reaksiyona girerek, antioksidan sistemlerin aktive olmasını ve antioksidan enzimlerin üretilmesini sağlar. Ozon uygulamaları; hücre enerjisini arttırıcı, oksijen metabolizmasını arttırıcı, bağışıklık sistemini kuvvetlendirici ve antioksidan etkileri nedeniyle tıp alanında geniş kullanım alanına sahiptir (Bocci, 1996b; 1998; Valacchi ve Bocci, 2000; Lynch, 2004).

Ozon uygulaması tedavi amacı ile doğru dozaj ve konsantrasyonda kullanılırsa, güvenli, etkili ve yan etkisi olmayan bir yöntemdir. Ancak önerilen seviyenin üzerine çıkıldığında sitotoksik etki yaparak hemoliz meydana getirdiği ve özellikle solunum sistemi için oldukça toksik bir molekül olduğu bildirilmiştir. Birleşmiş Milletler Mesleki Güvenlik ve Sağlık İdaresi terapötik amaçla ozon kullanımının güvenlik limitlerini 0.06ppm 8saat/gün; 0.3ppm 15dakika/5-7gün olarak belirlemiştir (Millar ve Hodson, 2007).

Ozon Gazının Medikal Olarak Kullanılması

Son yıllarda ozonun tıp ve diş hekimliği alanında faydalı bir terapötik ajan olduğuna dair verilerin artmasıyla kullanım alanı gün geçtikçe genişlemekte ve birçok ülkede alternatif tedavi prosedürü olarak kabul görmektedir (Lynch ve Baysan, 2001; Grootveld ve ark., 2004; Lynch, 2004; Nagayoshi ve ark., 2004b).

Ozon gazı Birinci Dünya Savaşı sırasında Alman askeri birliklerinde, post-travmatik gangren, enfekte yaralar, hardal gazı yanıkları ve fistüllerin tedavisinde uygulanmıştır (Grootveld ve ark., 2004; Azarpazhooh ve Limeback, 2008a). Ozon, tedavi amacı ile ilk defa, Lender tarafından 1870'de kanı temizlemek amacıyla kullanılmıştır. Günümüzde ozon 16 ülkede farklı tedavi protokolünde kullanılmaktadır (Grootveld ve ark., 2004).

Ozon uygulaması ile çok sayıda hastalık tedavi edilebilmektedir, bunlar; aşırı kan lipit seviyesi, aşırı ürik asit seviyesi, kan dolaşım problemi, kan şekeri dengesi, baş dönmesi atağı, migren, tinnitus, uyku problemi, virüs, bakteri, mantar kaynaklı kronik ve akut enfeksiyon, felç tedavisi, artroz, kas/eklem romatizması, siyatik, kanserde destek tedavi, göz kan damarı problemi, akne, egzema, cilt hastalığı, astım, alerji, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, diyare, immün sistem bozuklukları olarak belirtilmektedir. Ozon ayrıca optik nöropati, glukom, sentral retina damar tıkanıklığında, dejeneratif retina hastalıklarında, kuvvetli ve kronik bakteri, viral ve mantar enfeksiyonlarında, dermatolojide, iskemik hastalıklarda, ortopedik hastalıklarda, yaşa bağlı mokuler dejenerasyonlarda, akciğer hastalıklarında, böbrek hastalıklarında, hematoloji ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (Bocci, 1992; Bocci ve ark., 1993; Bocci, 1996a; 1996b).

Ozon kan bileşenleri ile reaksiyona girerek oksijen metabolizmasını pozitif yönde etkiler. Hücre enerjisi, immün sistem ve antioksidan savunma mekanizmasını olumlu olarak etkiler, uygulandığı bölgede micro kan dolaşımını artırır (Azarpazhooh ve Limeback, 2008a). Yapılan çalışmalarda insan kanına belli konsantrasyondaki ozon uygulaması sonucunda immün sistemin aktive olduğu ve ilgili hücrelerin sayısında belirgin artışlar saptandığı rapor edilmiştir. Ama etkinin toksik değil teröpatik olması için uygulamanın mutlaka doğru konsantrasyon ve doğru zaman aralıklarıyla yapılması gerektiği vurgulanmaktadır (Bocci, 1994; 1999).

Ozon Gazının Diş Hekimliğinde Kullanımı

Ozon gazının diş hekimliğinde kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir:

- Başlangıç çürük lezyonlarında,
- Dentine kadar etkilenmiş derin çürük lezyonlarında pulpal enfeksiyonların önlenmesinde,
- Kök kanal tedavisinde kanal dezenfeksiyonunda,
- Restorasyon öncesi açılmış kavitenin dezenfeksiyonunda,
- Servikal hassasiyet olan dişlerin tedavisinde,
- Fissür örtücü yerleştirilmeden önce,
- Diş beyazlatmada,
- Çürük lezyonların tedavisinde atravmatik restoratif teknikle beraber kombine olarak,
- Gingivitiste, yıkıcı sülfür bileşiklerinin periodontal inaktivasyonunda,
- Biofilm tabakasının yok edilmesi ve diş üniti su dağıtım sistemlerinin sterilizasyonunda,
- % 99 oranında, çürük oluşumundan sorumlu bütün mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılmaktadır (Nagayoshi ve ark., 2004b).

Tıp ve Diş hekimliğinde en çok tercih edilen jeneratör tipi Corona-Discharge esaslı Ozon Jeneratörleridir. Bu tip jeneratörler, sabit elektrik akımı sayesinde elektronların hızlanmasını sağlamak ve kinetik enerjiyi arttırmaktadır. Bu kinetik enerji oksijen molekülündeki oksijen-oksijen çift bağını parçalamaktadır. Ortama salınan iki oksijen atomu; diğer oksijen molekülü ile reaksiyona girerek ozon gazı (O₃) oluşmaktadır (Nogales ve ark., 2008).

Ozi-Cure® (Centurion, Güney Afrika), Ozonytron® (Mymed, Almanya), HealOzone® (CurOzone ABD, Kavo Almanya), OzonytronX-Biozonix® (Mymed, Almanya), Cytozon® (Hansler, Almanya), Ozonasan (Fa. Hänslar), Neo Ozone Water-S® (KORM Electronics, Japonya), Sander Ozonizer (Eltze®, Almanya) diş hekimliğinde kullanılan ozon jeneratörleridir.

Ozon gazının diş hekimliği pratiğinde tedavi amaçlı kullanımını sağlayan ve in-vitro ve in-vivo çalışmalar sonucunda geliştirilen ilk cihaz HealOzone'dur (Kavo, Almanya) (Lynch, 2004). HealOzone tedavi prosedürü; ozon gazının çürük lezyonuna direkt olarak uygulanması, ardından remineralizasyon solüsyonunun uygulanması ve diş macunu, ağız gargarası ve ağız spreyinden oluşan hasta kitinin kullanımı aşamalarını içermektedir (Abu-Naba'a, 2003).

HealOzone (Kavo, Almanya) 2100 ppm, % 0,052 ve havadaki oranı 13,3 ml/sn konsantrasyonda ozon üretmektedir. Sistem oluşturduğu ozonu tedavi sahasına, el aletine takılan dişi vakumlayarak kavrayan silikon tek kullanımlık başlıklar aracılığı ile göndermektedir. Vakumlama işlemi gerçekleşmediği takdirde, sistem çalışmaya başlamamakta ve ozon üretimi yapmamaktadır (Megighiam ve ark., 2003b; Lynch, 2004; Millar ve Hodson, 2007).

Diş hekimliğinde ozon kullanımına yönelik olarak geliştirilen bir diğer cihaz Ozicure/Ozonytron (Biozonix, Almanya), daha düşük konsantrasyonlarda ozon üreten, vakumlama yapan ya da kavrayıcı kontrollü bir yapı olmadan tedavi sahasına doğrudan ozonu gönderen bir sistemdir (Megighiam ve ark., 2003b; Millar ve Hodson, 2007).

Diş hekimliğinde ozon, ilk olarak 1933'te Zürihli diş hekimi Dr. E.A. Fisch (1899-1966) tarafından; kronik periodontal enfeksiyonları ve enfekte yara yüzeylerini tedavi etmek amacıyla ozonlanmış su olarak sıvı formda kullanılmıştır (Yamayoshi ve Tatsumi, 1993; Azarpazhooh ve Limeback, 2008a; Loncar ve ark., 2009).

Antimikrobiyal bir ajan olarak kullanılan ozonun, hastane ve diş hekimliği kliniklerinde çalışma alanlarının dezenfeksiyonu amacıyla kullanımı önerilmektedir. Brunel ve ark. (1965) yaptıkları çalışmada, ozonun endodontik aletlerin sterilizasyonunda kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Haimovici ve ark. (1970) yaptıkları çalışmada, ozonun kök kanal tedavisi sırasında kanalların dezenfeksiyonunda kullanılabileceğini belirlemişlerdir. Ouzimi ve ark. (1998) yaptığı in-vitro çalışmada, ozon gazının diş protezlerinin dezenfeksiyonunda kullanılabileceği ve ozon gazının antimikrobiyal etkisinin ozonlu sudan daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Ayrıca yapılan birkaç çalışmada, ozon gingivitis tedavisinde kullanılmıştır. Brauner (1991) yaptığı çalışmada, ozonu yetişkin hastalarda gingivitisin tedavisinde kullanmıştır. Filippi (1997), ozonun çekim sonrası hemostatik ajan olarak da kullanılabileceğini gözlemlemiştir.

Ozon kullanımı diş hekimi korkusu olan hastalarda oldukça iyi bir tedavi seçeneğidir. Diş tedavilerini reddeden ve korkan her yaş grubundan çok sayıda hastanın ozon uygulamasına merak ve ilgi gösterdiği ve ozon tedavisini tolere edebildiği belirtilmiştir (Lynch, 2004). Dahnhardt ve ark. (2006) 2-10 yaş arası kaygılı çocukların ve ailelerinin ozon tedavisi öncesi ve sonrası davranışlarını analiz ettiklerinde, % 75 çocuğun diş hekimine gelmeden önce korkulu ve tedirgin oldukları, ozon tedavisi

sonrasında ise korkularının azaldığı ve tüm çocukların diğer randevuya daha rahat geldikleri belirlenmiştir. Al Shorman ve ark. (2002) yaptığı çalışmada, pit ve fissür çürüklerinin ozon tedavisi öncesi ve sonrasında hastaların davranışlarını değerlendirdiklerinde, hastaların tedaviyi kabulü ve bakış açılarının olumlu yönde değiştiği belirtilmiştir.

Diş plağındaki çürükten sorumlu bakterilerin sayısının azaltılması veya çürük oluşumunun önlenmesi ve tedavi edilmesinde birçok koruyucu tedavi yöntemleri bulunmaktadır (Johansson ve ark., 2009). Çürük yapıcı bakterilerin sayısının azaltılmasında kullanılan antibakteriyel, antiviral ve antifungal özellikte alternatif non-invaziv bir ajan olarak ozon yer almaktadır (Baysan ve ark., 2000; Millar ve Hodson, 2007; Muller ve ark., 2007b; Bezirtzoglou ve ark., 2008; Johansson ve ark., 2009). Diş hekimliğinde ozon kullanımı, diğer geleneksel çürük temizleme ve antimikrobiyal ajanlara kıyasla uygulanması çok daha kolay ve hızlı bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir (Bocci, 2004; Nagayoshi ve ark., 2004a; Lynch, 2008).

Ozon gaz halinde veya su ile karıştırılmış şekilde, bakteri, mantar, protozoa ve virüsler üzerine güçlü ve etkili bir antimikrobiyal ajandır (Azarpazhooh ve Limeback, 2008a). Ozon, patojenik mikroorganizmaların çoğalmasını önleyerek, nötralize ederek veya hücre duvarını yıkıma uğratarak dezenfeksiyonu sağlar (Baysan ve ark., 2000; Nagayoshi ve ark., 2004a; Ocaktan, 2005; Polydorou ve ark., 2006; Muller ve ark., 2007b; Azarpazhooh ve Limeback, 2008a; Bezirtzoglou ve ark., 2008).

Baysan ve ark. (2000) süt dişi kök yüzeyi çürüklerine ozon uyguladıkları in-vitro çalışmada, 10 sn. ozon uygulamasının *S. mutans* ve *S. Sobrinus* popülasyonunu azalttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca ozon tedavisinin oldukça etkili, hızlı, konservatif ve kolay bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan in-vivo ve in-vitro çalışmalarda, diş çürüklerinde görülen bakterilerin ozon ile azaldığı ve ozonize suyun diş plağındaki *S. mutans* sayısını azalttığı gösterilmiştir (Nagayoshi ve ark., 2004a; McComb, 2005; Baysan ve Beighton, 2007). 10 veya 20 sn. ozon uygulaması, diş çürüğüne sebep olan *S. Mutans*, *S. Sobrinus* ve laktobasiller üzerinde % 99 oranında öldürücü etkiye sahip olduğu ve bu sebeple başlangıç mine çürüklerinin tedavisinde kullanılabileceği belirtilmektedir (Knight ve ark., 2008). Baysan ve Beighton (2007), 40 sn. ozon gazı uygulamasının kavitasyon

oluşmamış okluzal çürük lezyonlarında demineralize dentin altındaki enfekte dentindeki mikroorganizma sayısını azaltmada başarısız olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ozon bakteri ve mantarların hücre duvarında yıkıma sebep olarak glikoproteinleri, glikolipitleri ve diğer aminoasitleri tutar, hücrenin enzimatik etkilerini engeller (Huth ve ark., 2006). Sonuç olarak; membran geçirgenliği artar ve devamında hücre canlılık fonksiyonlarının durdurmaya kadar uzanabilir. Bu etkiyle membranın geçirgenliği artar ve sonuç olarak, ozon molekülleri hızla hücreye girerek mikroorganizmaların ölümüne sebep olur (Holmes, 2003b; Azarpazhooh ve Limeback, 2008a).

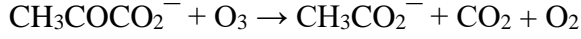
Ozon Uygulamasının Çürükler Üzerine Etkisi

Ozon çürük yapıcı bakteriler üzerine yani asit üreten bakterileri okside etme özelliğine sahiptir ve güçlü okside edici özelliği sayesinde çürük lezyonunu koruyan protein tabakayı ortadan kaldırdığı bildirilmiştir. Çürük lezyonunun bakteri popülasyonunu azaltarak ve pH seviyesini arttırarak metabolik dengenin remineralizasyon yönüne kaymasını sağlamaktadır. Böylece karyojenik bakterilerin remineralizasyon sonrası lezyon içerisine nüfuz etmesi engellenir ve çürük lezyonunda bakteri popülasyonu üzerine yok edici bir etki sağlar (Lynch, 1996; Lynch ve ark., 2001). Ozon ayrıca sistain, methoin, histidin gibi protein biomoleküllerine de saldırabilir (Holmes, 2003b; Huth ve ark., 2006). Biomolekülleri okside etmesi ile dental yıkımların önüne geçebilir.

Aynı zamanda remineralize diş dokusu, yeni asit ataklarına karşı daha dirençli hale gelmektedir. Ozonun çürük lezyonunun ilerlemesini durdurduğu ve florür varlığında remineralizasyona imkan sağladığı bildirilmiştir. Bu gelişmeyle, ozon uygulaması geleneksel restoratif tedaviyi engelleyebilir veya geciktirebilir (Lynch, 1996; Baysan ve Lynch, 2001; Lynch ve ark., 2001; Abu-Naba'a, 2003).

Ozon, kanıtlanmış güçlü antimikrobiyal etkisi, karyojenik mikroorganizmaları azaltıcı ve çürük lezyonundaki organik asitlere karşı yararlı oksidan özelliği ile diş çürüklerinin tedavisinde önemli bir yere sahiptir (Knezevic ve ark., 2007; Lynch, 2008). Birçok çalışma ozon uygulamasının kavite oluşmamış çürük lezyonlarında remineralizasyon sürecini başlattığını bildirmektedir (Abu-Naba'a ve ark., 2003b; 2003c; Holmes, 2003b; a; Abu-Salem, 2004; Baysan ve Lynch, 2004; Huth ve ark., 2005).

Bakteriler tarafından üretilen ve çürük lezyonunun ilerlemesinde etkili olan pürivik asit, ozon tarafından okside edildiğinde asetat ve karbondioksit oluşmaktadır (Abunaba'a ve ark., 2004).



Asetat, pürivik asite göre daha alkalen özelliğe sahiptir ve dekarboksilasyon reaksiyonu sonucunda oluşan alkalen ortam sayesinde, çürük lezyonu içerisine mineral birikimi kolaylaşmaktadır. Ozon tedavisi uygulaması sonrası ortam tükürükle temas ettiğinde, çürük lezyonu normal ağız içi bakteri popülasyonu ile tekrar kaplanmaktadır. Ancak bu ortamda bakteriler çürüğün ilerlemesine neden olan asidik ürünler oluşturamamaktadır. Tedavi; dişin mikrobiyal etkinliğe direncini arttırarak ve mikrobiyal etkinliği azaltarak sağlanmaktadır (Lynch, 1996; Baysan ve Lynch, 2001; Lynch ve ark., 2001; Knight ve ark., 2008). Ozon asidojenik ve asidürik mikroorganizmalardan oluşan mikrobiyal florayı normal kommensal ağız florasına çevirerek remineralizasyon sürecini sağlamaktadır (Knezevic ve ark., 2007).

Kavitasyon oluşmamış fissür çürüğü gözlenen dişlere 10 veya 40 sn. ozon uygulamasının etkinliği araştırılan, 3-12 ay takip edilen in-vivo çalışmalarda, mevcut çürük lezyonlarında remineralizasyonun gözlemlendiğini tespit edilmiştir. Ancak derin dentin çürüklerinde ozon tedavisinin etkilerinin daha iyi araştırılması gerektiği saptanmıştır (Abu-Naba'a, 2003; Abu-Naba'a ve ark., 2003a; Abu-Naba'a ve ark., 2003b).

Yapılan bir çalışmada başlangıç düzeyindeki fissür çürüğü olan dişlere 10, 20, 30 veya 40 sn. ozon uygulaması sonrası 4-12 ay takip edildiği çalışmada, DIAGNOdent değerlerine göre % 99 oranında remineralizasyon gerçekleştiğini rapor etmiştir (Holmes, 2003a).

Huth ve ark. (2005) kavitasyon oluşmamış başlangıç fissür çürüklü dişlere ozon uygulamasının etkinliğini değerlendirdikleri 1., 2., 3. ayda takip ettikleri çalışmada, deney grubundaki dişlere 40 sn. ozon uygulaması yapılmış, kontrol grubundaki dişlere ise hiçbir uygulama yapılmamıştır. Çalışmanın sonucu olarak, istatistiksel olarak anlamlı olarak çürük gelişiminin durduğunu ve remineralizasyonun gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

200 başlangıç düzeyinde pit ve fissür çürüğü gözlenen diş üzerinde, 10 saniye ozon uygulamasının hemen sonrası ve 1 aylık takibi yapılan bir çalışmada, lezyonların % 50'sinden fazlasında tedavinin hemen sonrasında DIAGNOdent değerlerinde azalma

saptandığını, 1. ayın sonunda bu oranın % 90 olduğunu (Megighiam ve ark., 2003a), 6 ay takip sonrası ozon ile tedavi edilen lezyonlarda % 85 oranında iyileşme gözlendiğini bildirmektedirler (Megighiam ve ark., 2003b).

Ortodontik tedavi gören, ağız hijyeninin yeterli olmadığı hastalarda, ortodontik braketler etrafında oluşan demineralize alanlara 8-14 haftada bir 10 sn. ozon tedavisi ile karyojenik bakteri tutulumu engellenerek demineralize alanların oluşumunun önlenebileceği belirtilmiştir (Lynch, 2004).

Mine yüzeyi bozulmuş, kavitasyon oluşmuş pit ve fissür çürüklerinde ya da kök yüzeyi çürüklerinde, yalnızca ozon uygulamasının yeterli olmadığı belirtilmiş, ozon uygulamasının ardından geleneksel yöntemlerle kavitenin uygun bir restoratif materyal ile restorasyonu önerilmektedir. En çok tercih edilen restoratif materyallerin, kompozit rezin ve CIS olduğu bildirilmiştir (Lynch, 2004).

Ozonun mine ve dentin yüzeylerinde kullanımına yönelik yapılan çalışmalar sonucunda araştırmacılar küçük ve kavitasyon oluşmamış lezyonlardaki antibakteriyal etkinin daha yüksek; geniş, kavitasyon oluşmuş, dentindeki ve diş etine yakın lezyonlardaki etkinin daha zayıf olduğunu rapor etmişlerdir (Baysan ve ark., 2000; Nogales ve ark., 2008). Baysan ve Lynch (2004) bu sonucu küçük ve kavitasyon oluşmamış çürük lezyonlarının daha az karyojenik mikroorganizma içerdiğini bildirerek açıklamışlardır.

Yürütülen çalışmalar sonucunda ozon gazının güçlü antibakteriyel özelliğinin yanı sıra diş hekimliği pratiğine kazandırmış olduğu diğer avantajın, güçlü okside edici özelliği sayesinde çürük lezyonundan etkilenen dokunun uzaklaştırılmadan, remineralizasyon döngüsünün desteklenebileceği şeklinde ifade edilmektedir (Holmes, 2003b).

Kavitasyon oluşmamış çürük lezyonlarındaki remineralizasyonun, ozon gazının güçlü okside edici özelliği sayesinde tüm mikroorganizma ve ürünlerini, lezyonu koruyan protein tabakayı ortadan kaldırarak ve sağlanan alkalen ortamda açık hale gelen dentin tübüllerine mineral yığılmasını kolaylaştırarak gerçekleştirdiği rapor edilmiştir. Böylece aktif lezyon inaktif hale gelmekte ve hipermineralize doku sonraki asit ataklarına karşı daha dirençli bir yapı kazanmaktadır (Baysan ve ark., 2000; Baysan ve Lynch, 2004; Lynch, 2004; Huth ve ark., 2005).

Atabek ve Öztaş (2011), yürüttükleri çalışmada kavitasyon oluşmamış fissür çürüklerinin remineralizasyonunda, ozon ve remineralize edici solüsyonun kombine kullanımının etkinliğini rapor etmişlerdir. Yürütülen in vivo araştırmada, 40 saniye ozon uygulamasının ardından remineralize edici solüsyon kullanımı ve ilave hasta kiti kullanımının etkinlikleri ayrı çalışma grupları oluşturularak karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. 6. ayın sonunda yalnızca ozon tedavisi uygulanan dişlerle ilave remineralize edici solüsyon kullanılan dişler arasında remineralizasyon dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşmamakla birlikte; ilave remineralize edici solüsyon uygulamasının remineralizasyon derecesini bir miktar arttırdığı saptanmıştır.

2.6. Diş Minesi Yüzeylerinin İncelenmesi

İn vitro çalışmalarda remineralize edici ajanların remineralizasyon etkinliğini değerlendirebilmek amacıyla, diş yapılarında ve lezyon derinliklerinde meydana gelen değişiklikleri inceleyen çeşitli analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Bunların en başında mikrosertlik ölçümü gelmektedir Ayrıca iyot geçirgenlik testi, polarize ışık mikroskobu, mikroradyografi, QLF yöntemi, enerji yayımlı X-ışını spektroskopisi (EDS), konfokal lazer mikroskobu, SEM ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak değerlendirilmektedir (Clasen ve Ogaard, 1999; Hicks ve ark., 2004a).

2.6.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Günümüzde çeşitli elektron mikroskopları bulunmakla birlikte diş hekimliğinde en çok kullanılan taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve geçirmeli elektron mikroskobu (TEM)'dir.

SEM, cisimlerin yüzeyini incelemek üzere geliştirilen ve örnekleri üç boyutlu inceleme imkanı sağlayan bir elektron mikroskobudur. Uygun bir saptırıcı düzenek, bir elektron demetinin incelenecek yüzeyi sürekli olarak taramasını sağlamaktadır. Yüzeye çarpan elektronlar ikincil elektronların fırlamasına sebep olur. Bu ikincil elektronlar, elektronların çarpmasıyla kısa süreli ani ışık parlamaları oluşturan kristale gönderilir. Kristalde ortaya çıkan parlamalar da bir lamba aracılığıyla elektrik sinyaline dönüştürülür ve başka bir lambanın ekranında incelenen yüzeyin yapısını gösteren bir görüntü elde edilir (Arnold ve ark., 2003; Önal ve ark., 2003).

SEM’de görüntü elde edilirken, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronlar örnek üzerine odaklanır, örnek yüzeyinde bu elektron demetinin taratılması sırasında elektron ve örneğe ait atomlar arasında oluşan etkileşim uygun algılayıcılarda toplanır ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekrana aktarılır. Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilir ve bu sinyaller bilgisayar monitörüne verilir (Bozatlıoğlu, 2012).

SEM, ayırım gücü, odak derinliği ve görüntü ve analizi birleştirme özelliği sayesinde özellikle diş hekimliğinde araştırmalarda yüksek oranda kullanılan bir cihaz haline gelmiştir. Aynı zamanda mikro işlemci ve bilgisayarların mikroskopla birlikte kullanılmaları cihaza kullanım kolaylığı sağlamıştır. Diğer yöntemlerle çok uzun süren ayrıntılı veri toplama ve toplanan veri üzerinde yapılan istatistiksel değerlendirmeler, bu yöntemle kısa bir zamanda ve otomatik olarak yapılabilmektedir. Böylece incelenen numunelerin yüzey özellikleri daha ayrıntılı ve daha kesin olarak görüntülenmesi sağlanmıştır (Agematsu ve ark., 1997; Babay, 2001; Al-Nazhan, 2004).

SEM’in diğer mikroskoplardan üstün olduğu en önemli özelliği odak derinliğidir. Özellikle topografik ayrıntıların görüntülenmesinde bu özellikten faydalanılmaktadır. Örneğin x1000 büyütmede optik mikroskobun odak derinliği yalnızca 0,1 µm iken SEM’de 30 µm dir (Hayat, 1978 ; Breschi ve ark., 1999; Babay, 2001).

Mine yüzeyinin topografik yapısını ve değişikliklerin ayrıntılı şekilde incelenmesini sağlayan SEM ilk kez 1965 yılında kullanılmıştır (Hayat, 1978). SEM ile yapılan yüzey analizinin çürük benzeri lezyonların değerlendirilmesinde güçlü bir metot olduğu belirtilmiştir (Arnold ve ark., 2003).

2.6.2. Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX)

Enerji yayımlı x-ışını analizleri (EDS, EDX, veya XEDS), yüzey altındaki kimyasal elementlerin konsantrasyonunu değerlendirerek bir numunenin element analizi veya kimyasal karakterizasyonu belirleyen spesifik bir yöntemdir. Genellikle mühendislik ve kimya alanında kullanılmaktadır, diş hekimliği alanında da birçok çalışmada kullanılmıştır (Massara ve ark., 2002; Arnold ve ark., 2007; Paradella ve ark., 2008; Gjorgievska ve ark., 2013; Mohanty ve ark., 2014). Bu sistemin karakterizasyon yetenekleri temel olarak büyük ölçüde her elementin X ışını spektrumunda tepe noktaları oluşumuna izin veren benzersiz atomik yapısından kaynaklanmaktadır (Goldstein, 2003).

EDX elementin atomik yapısının analizi için SEM ile bağlantılı olarak kullanılmaktadır, bu sistemle SEM ile yapısal analiz yaparken, EDX vasıtasıyla da element analizi yapılabilir. Örnek üzerine X ışını gönderilmesi ve geri emilen X ışını karakteristiklerinin ölçümü yoluyla materyallerin nicel ve nitel element analizi yapılmaktadır (Asaka ve ark., 2004). Çalışma prensibi, dış kaynaklardan gelen elektronlar ile materyalin atomları çarpıştığında X ışını fotonları formunda enerji yayılması şeklinde olmaktadır. Böylece o elementin X ışını karakteristiği oluşur. Numune, SEM elektron ışını ile bombardıman edildiğinde, elektronlar numune yüzeyinde atomlardan uzaklaştırılır. Oluşan elektron boşluğu daha yüksek halkalardaki elektronlar ile doldurulur ve bu iki elektron arasındaki enerji farklılığının dengelenmesi için X ışını yayılır. EDX X-ışını dedektörü, yayıldığı elementin karakteristiğini gösteren X ışınlarının enerjilerini ölçer. Enerji spektrumu ile tespit edilen X ışınlarının rölatif sayısı elde edilir ve nitel olarak değerlendirilir. Elementlerin kantitatif değerlendirmesi bilgisayar bazlı bir program kullanılarak yapılır (Hegde ve Moany, 2012).

Bu cihaz yardımıyla, örnek yüzeyine temas etmeden, katı, toz ve sıvı şeklindeki farklı türdeki materyallerin ölçümleri yapılabilmektedir (Asaka ve ark., 2004).

SEM-Enerji yayımlı X-ışını spektroskopisi (EDS) analizi demineralize mine ve dentini değerlendirmek için kullanılır. SEM-EDS kombinasyonu kullanılarak yapılan analiz yaklaşımı ile mine lezyonlarındaki demineralizasyon derinliği tam olarak ölçülebilir (Nakata ve ark., 2009).

EDX, element analizine ilaveten, yüzey hakkında da bilgi veren hassas bir yöntem olup, yüzeydeki kimyasal değişikliklerin görüntülenmesine de olanak sağlar. Çürükten etkilenmiş yüzeylerin değerlendirilmesinde kullanılabilir. EDX yöntemiyle, Ca ve P yüzdeleri elde edilir, ayrıca florürün ve diğer kimyasal elementlerin mine üzerine etkisi de ölçülebilir (Paradella ve ark., 2008).

2.6.3. Mikrosertlik Ölçümü

Mikrosertlik ölçümü, sert dokuların mineral içeriğini değerlendirmek için sıklıkla kullanılan ve başarılı bir yöntemdir. Mikrosertlik ölçme cihazı, cisimlerin yüzeylerine elmas bir uç ile belirli bir sürede belirli bir ağırlığın uygulanmasıyla yüzeyler üzerinde izlerin oluşturulması ve bu izlerin derinliklerinin değerlendirilmesi ile cismin sertlik değerinin belirlenmesini prensibine dayanan bir cihazdır (Featherstone ve ark., 1983).

Cihazın ucuna takılı olan elmas uçlu iğne, sertliği ölçülecek cismin içine belirli oranda kuvvet uygulayarak gömülür ve elmas ucun cismin farklı bölgelerinden elde ettiği penetrasyon derinlikleri ölçülür (Featherstone ve ark., 1983).

Diş hekimliğinde en çok kullanılan mikrosertlik cihazı Vickers veya Knoop ölçme cihazlarıdır. Vickers 1925 yılında İngiltere’de geliştirilmiştir. Bu yöntemde baskı elemanı olarak tepe açısı 136° olan elmas kare piramit kullanılır. Malzemeye bastırılan piramit ucun bıraktığı dörtgen izin köşegenleri ölçülerek hesaplanan ortalama köşegen uzunluğu formülde yerine konularak sertlik değerleri belirlenir. Knoop mikrosertlik cihazı, 1939 yılında National Bureau Standardı (USA) tarafından geliştirilmiştir. Knoop ucu, aynı yük kullanılarak yapılan Vickers sertlik ölçümleri ile karşılaştırıldığında daha derin izler bırakmaktadır (Kayalı ve ark., 1990; Smith, 1996).

Sertlik ölçümü Barcol sertlik ölçüm testi ile de yapılabilmektedir. Barcol testi, yay şeklinde, yüklenebilir ve sivri bir çelik ucun batma direncinin ölçümüyle sertlik değerlerinin elde edildiği bir yöntemdir. Örnek yüzeyi içine penetre olan ucun batma derinliği, sertlik değeri olarak mutlak Barcol sayılarına dönüştürülür. Barcol Impressor sertlik cihazı, 10 kilogram (kg)’lık sabit bir yük uygular. Örnekler, elle tutulan sertlik ölçerin batıcı ucunun altına yerleştirilir, cihazın üzerinde bulunan kadran göstergesi maksimuma varana kadar örneğe doğru basınç uygulanır ve gösterge 0 ve 100 arasında kalibre edilmiş bir skala üzerinde değer verir (Deliktaş, 2006). Taşınabilir olması ve ölçümlerin direkt gözlenebilir olması kolaylığından dolayı birçok çalışmada barcol yüzey sertlik ölçüm cihazı kullanılmıştır (Deliktaş ve Ulusoy, 2006).

3. MATERYAL METOT

3.1. Dişlerin Hazırlanması ve Saklanması

Bu çalışmaya yeni çekilmiş çürüksüz, kırık ve malformasyonu olmayan 165 adet sığır kesici dişi dahil edildi. Çürük lezyonu, renklenme, makroskobik çatlak ve abrazyon bulunan dişler çalışma dışında bırakıldı. Deney öncesi dişler % 0.1 timol solüsyonunda oda sıcaklığında saklandı. % 0,1'lik timol içeren salin solüsyonu, yapay demineralizasyonun histolojik sonuçları üzerinde yıkıcı etkiler oluşturmadan antimikrobiyal etki gösteren bir solüsyondur (Fejerskov ve Ellwood, 2003).

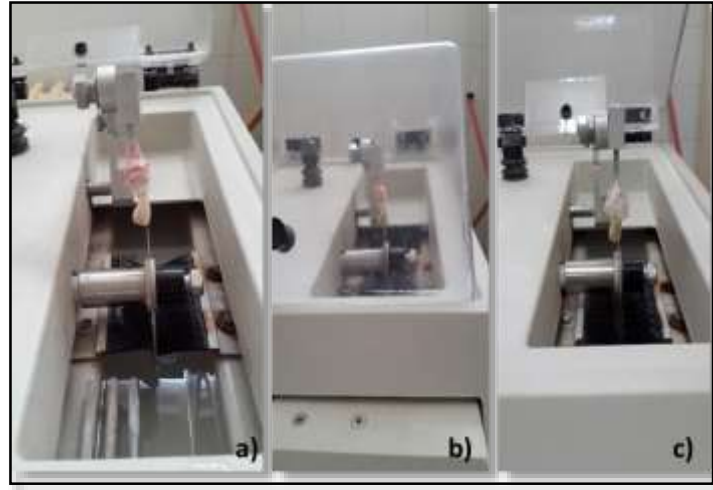
Çekilmiş dişlerin yüzeyindeki yumuşak doku kalıntıları bir küret yardımıyla temizlendi. Tüm diş yüzeyleri florür içermeyen bir diş macunu ile fırçalanarak kalıntı dokular uzaklaştırıldı ve sonrasında distile su ile yıkandı (Burt ve Fejerskov, 1996).

3.2. Dişlerin Kesilmesi ve Cilalanması

Dişlerin kökleri su soğutması altında elmas bir separe yardımıyla kron kısmından ayrıldı. Dişlerin kronlarının labial yüzlerinden su soğutması altında düşük hızlı mikrotom cihazı (Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, ABD) (Şekil 8) ile çift taraflı kesen elmas ince bıçak kullanılarak bukkolingual yönde 2 mm kalınlığında mine örneği elde edildi (Şekil 9.a,b,c).



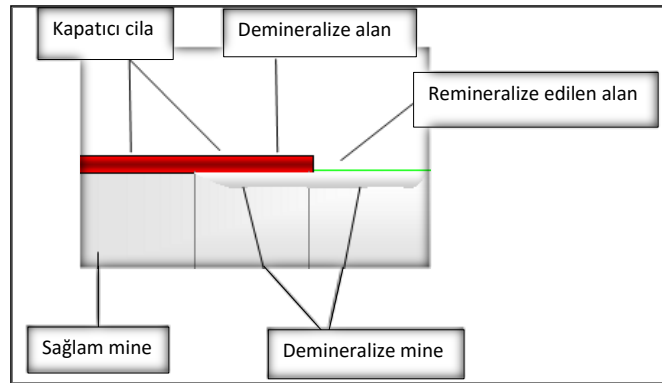
Şekil 8. Mikrotom cihazı (Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, ABD)



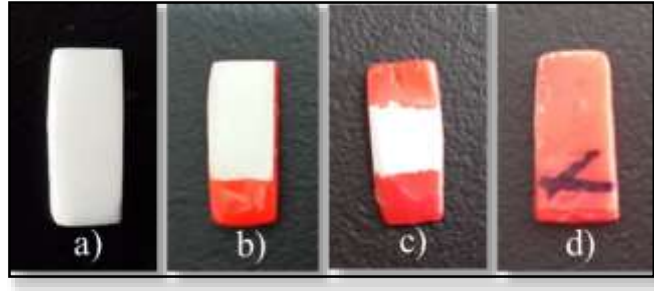
Şekil 9.a) Diş kronunun mikrotom cihazına yerleştirilmesi, **b-c)** Dişin labial yüzeyinden 2 mm kalınlığında kesit elde edilmesi

Daha sonrasında elmas diskler kullanılarak yaklaşık 9x4x2 mm (uzunlukxgenişlikxkalınlık) boyutlarında olacak şekilde mine örnekleri hazırlandı. Yüzeyler öncelikle su soğutması altında alüminyum oksit cila diskleri (Sof - Lex Extra Thin, 3M ESPE) kullanılarak kalından inceye doğru aşındırıldı ve sonrasında 320, 600 ve 1200 grit silikon karbid zımpara kağıtlar yardımıyla su irrigasyonu altında düzleştirildi. Cilalama sonrasında örnekler distile su ile yıkanıp kurutuldu. Böylece minenin en dış tabakası cilalanarak hem düz hem de kontamine olmamış bir yüzey elde edildi (Şekil 8.a).

Mine yüzeyi dışındaki tüm diş yüzeyleri aside dirençli tırnak cilası yardımıyla kaplanarak ayrıca örnek yüzeyi üç bölüme ayrılıp Şekil 10'da gösterildiği gibi üst yüzeylerinin yaklaşık yarısı (1/3'ü) ve yapay çürük oluşturulduktan sonra da kalan yüzeyin yarısı tırnak cilası ile kaplandı (Elmas, 2007) (Şekil 11).



Şekil 10. Diş örneğine laboratuvar işlemlerinin uygulama yönteminin şematik olarak gösterilmesi (Elmas,2007)



Şekil 11.a) Sağlam diş örneğinin labialden görünümü, **b)** Dişin 1/3'ünün kapatıcı tırnak cilası ile kapatılması, **c)** Demineralizasyon solüsyonunda bekletildikten sonra dişin diğer 1/3'ünün kapatıcı tırnak cilası ile kapatılması, **d)** Dişin arkadan görünümü, demineralize edilen alanın izdüşümünün herhangi bir karışıklık olmaması için işaretlenmesi

3.3. Başlangıç Mine Çürüğü Oluşturulması

3.3.1. Demineralizasyon Solüsyonun Hazırlanması

Demineralizasyon solüsyonu Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda 1 lt cam şişede 2.2 mM CaCl_2 , 2.2 mM NaH_2P , 50 mM asetik asit olacak şekilde ve pH 4.4 oluncaya kadar KOH eklenerek hazırlandı (İtthagaran ve ark., 2010). Hazırlanan örnekler demineralizasyon solüsyonunda ve 37°C 'de etüv içerisinde 4 gün bekletilerek yapay çürük lezyonları oluşturuldu.

Demineralizasyonu takiben yapay çürük oluşturulan mine örneklerinin demineralize edilen bölümlerinin yarısı da tırnak cilası ile yeniden kapatılarak örnek yüzeylerinin 2/3'ü örtülü, 1/3'ü temas alanı olarak bırakıldı (Şekil 11.b,c)

Tedavi amacıyla remineralizasyon ajanları mine örneğinin son 1/3 kısmına uygulandıktan sonra örneklerin üzerindeki tırnak cilası, kullanılan bir kesici uçlu spatülle mine yüzeylerine temas etmeyecek şekilde soyularak dikkatlice temizlendi.

3.4. Tedavi Gruplarında Kullanılan Remineralizasyon Ajanları

Çalışma gruplarında florür içeren remineralizasyon ajanı olarak, % 1,23'lük APF jel (acidulated phosphate fluoride, asitlendirilmiş fosfat florid) (Gelato APF, Mycone Dental Supply Co., USA) jeli kullanıldı. Bu jel % 1.23 sodyum florür (NaF) içerir ve pH'sı 3.5'tür (Şekil 12.a).

Çalışma gruplarında CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanı olarak, % 10'luk CPP-ACP içeren MI Paste (Recaldent TM; GC Corp., Japonya) kullanıldı (Şekil 12.b).

Çalışma gruplarında novamin içeren remineralizasyon ajanı olarak, Dr. Collins Restore toothpaste (Dr. Collins Inc, Orange County, Calif) kullanıldı (Şekil 12.c).

Kullanılan remineralizasyon ajanları ve içerikleri Tablo 2’te gösterilmiştir.



Şekil 12.a) APF jeli, b) GC Tooth Mousse, c) Dr. Collins Restore Remineralizing Paste

Tablo 2. Remineralizasyon ajanları ve üretici firmalara göre verilen içerikleri

MATERYAL	İÇERİĞİ
APF jeli (Gelato APF, Mycone Dental Supply Co., USA)	Sodyum Florid, Hidroflorik Asit, Sitrik Asit Monohidrat, Magnezyum Alüminyum Silikat, Fosforik Asit, Polisorbat 20, Sodyum Benzoat, Sodyum Sakarin, Su, Ksantan Sakızı, Ksilitol, Tatlandırıcı
CPP-ACP krem (MI Paste, Recaldent) (% 10 CPP-ACP)	Saf Su, Gliserol, CPP-ACP, D-sorbitol, CMC-Na, Propilen Glikol, Silikon Dioksit, Titanyum Dioksit, Ksilitol, Fosforik Asit, Tatlandırıcı, Sodyum Sakarin, Etil p-hidroksibenzoat, Magnezyum Oksit, Propil p-hidroksibenzoat, Butil p-hidroksibenzoat.
Dr. Collins Restore Remineralizing Paste (Dr. Collins Inc, Orange County, Calif)	Novamin (kalsiyum sodyum fosfosilikat), gliserin, amorf silika, PEG 400, sodyum lauril sülfat, tatlandırıcı, karbomer, potasyum acesülfam, titanyum dioksit

Lazer gruplarında uygulanmak üzere Er:YAG lazer (KaVo K-E-Y Laser3⁺ 1343, Almanya) 10 hertz frekans, 0.8 W güç ile su soğutması altında 30 sn süreyle uygulandı (Kara, 2011) (Şekil 13).



Şekil 13. Çalışmada kullanılan ER:YAG lazer cihazı

Ozon gruplarında uygulanmak üzere ozon cihazı (OzonyTron XP, MIO International ozonytron, Almanya) üretici firmanın talimatına uygun olacak şekilde başlangıç mine çürükleri için kullanılan prosedür olan 60 µg ozon 30 sn boyunca uygulandı (Şekil 14).



Şekil 14. Çalışmada kullanılan Ozonytron XP cihazı

3.5. Örneklerin Gruplara Ayrılması ve Tedavilerin Uygulanması

Mine örneğinin ilk kısmına hiçbir şey uygulanmayarak sağlam mine (negatif kontrol grubu), örneğin ikinci kısmı ise demineralizasyondan sonra üzeri kapatılıp sadece demineralizasyon solüsyonuna maruz bırakılarak (pozitif kontrol grubu), her bir grubun kendi içerisine oluşturuldu.

Ön hazırlık işlemi biten örnekler, her grupta 15 diş olacak şekilde rastgele 11 gruba ayrıldı. Gruplara ayrıldıktan sonra mine örneğinin son kısmına tedavi protokolleri aşağıdaki şekilde uygulandı;

Grup 1: Florür içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra APF jeli uygulanan grup

Grup 2: CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra CPP-ACP kremi uygulanan grup

Grup 3: Novamin içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra Dr. Collins Restore toothpaste uygulanan grup

Grup 4: Lazer uygulama: Demineralizasyon siklusundan sonra lazer uygulanan grup

Grup 5: Lazer + Florür içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra, önce lazer sonra APF jeli uygulanan grup

Grup 6: Lazer + CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra, önce lazer sonra CPP-ACP kremi uygulanan grup

Grup 7: Lazer + Novamin içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra, önce lazer sonra Dr. Collins Restore toothpaste uygulanan grup

Grup 8: Ozon uygulama: Demineralizasyon siklusundan sonra ozon uygulanan grup

Grup 9: Ozon + Florür içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra, önce ozon sonra APF jeli uygulanan grup

Grup 10: Ozon + CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra, önce ozon sonra CPP-ACP kremi uygulanan grup

Grup 11: Ozon + Novamin içeren remineralizasyon ajanı: Demineralizasyon siklusundan sonra, önce ozon sonra Dr. Collins Restore toothpaste uygulanan grup

APF jel uygulamasında üretici firma talimatlarına uygun olacak şekilde dişler hafifçe kurulandı ve ardından jel 4 dk boyunca fırça yardımıyla tatbik edildi. Üretici firma tarafından jelin kullanma talimatında 60 sn yazmasına rağmen; % 90'nın üzerinde başarı isteniyorsa 4 dk boyunca uygulanması gerektiği belirtilmektedir. Bu yüzden uygulama süresi olarak 4 dk tercih edilmiştir (Liu ve ark., 2013) (Şekil 15.a).

CPP-ACP krem uygulamasında üretici firma talimatlarına uygun olacak şekilde (günde 2 kere 2 dk uygulanması veya günde 1 kere 3-5 dk uygulama) göz önüne alınarak mine örnekleri üzerine 4 dk boyunca fırça yardımıyla tatbik edildi (Şekil 15.b).

Novamin içeren Dr. Collins Restore toothpaste uygulamasında dişler hafifçe kurulandı ve üretici firmanın günde 2 kez kullanması önerisi göz önüne alınarak günde 2 kere 2 dk olmak üzere 4 dk boyunca krem mine örnekleri üzerine fırça yardımıyla tatbik edildi (Şekil 15.c).

Tüm remineralizasyon ajanlarının uygulanması sonrasında örnekler 10 dk boyunca distile su ile yıkandı (Liu ve ark., 2013).

Lazer uygulamaları, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde bulunan Er:YAG lazer (KaVo K-E-Y Laser3⁺ 1343, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Örneklerin yüzeylerindeki uygulanacak alan, safir uçlu el aleti yardımıyla yüzeyi süpürür tarzda hareket ettirilerek kontak modda 30 saniye (sn) süreyle 10 hertz frekans ve 0.8 W güç ile uygulandı (Şekil 15.d).

Ozon uygulamaları, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesinde bulunan ozon cihazı (OzonyTron XP, MIO International ozonytron, Almanya) cihazı, 'caries superficialis' programında 30 sn boyunca 60 µg ozon dişe en yakın mesafeden uygulanarak gerçekleştirildi (Şekil 15.d).



Şekil 15. a) APF jelin diş örneğine uygulanması **b)** CPP-ACP kremin diş örneğine uygulanması **c)** Dr. Collins Restore Toothpaste diş örneğine uygulanması **d)** Er:YAG lazerin diş örneğine uygulanması **e)** Ozonytron XP ile ozonun diş örneğine uygulanması

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapay tükürük 4.1 mM KH_2P , 4.0 mM Na_2HP , 24.8 mM KHCO_3 , 16.5 mM NaCl , 0.25 mM MgCl_2 , 4.1 mM CaCl_2 içerecek şekilde hazırlandı (Arvidson ve Johansson, 1985). Tüm tedaviler uygulandıktan sonra her bir örnek yapay tükürük içerisine konularak etüvde (EN 055, Nuve incubator, Sivas, Türkiye) 37°C'de 30 dk boyunca bekletildi (Şekil 16.a,b).



Şekil 16. a) Örneklerin yapay tükürük içerisine konulması b) Etüv içerisinde 37°C'de 30 dk bekletilmesi

3.6. Remineralizasyon Ajanlarının Etkinliğinin Değerlendirilmesi

3.6.1. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobu ile İncelenmesi ve Yüzey Analizlerinin Yapılması

Minede oluşturduğumuz başlangıç çürük lezyonunun yapısı ve tedavi sonrasında oluşan değişikliklerin belirlenebilmesi amacıyla Ondokuz Mayıs Üniversitesi Karadeniz İleri Teknik Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan SEM cihazıyla mine örneklerinin yüzey analizi ve görüntüsü elde edildi. Tüm örnekler havasız bir ortamda vakum cihazı (Quorum SC7620, Quorum Technologies Ltd, İngiltere) ile 20 mA akım şiddetinde, numunenin üzerine altının püskürtülmesiyle oluşan ince bir filmle kaplandı (Şekil 17-18) ve SEM cihazı (Jeol JSM-7001F, Japonya) ile $\times 2500$ büyütme altında görüntüler elde edildi (Şekil 19).



Şekil 17. Vakum cihazı



Şekil 18. Altın kaplama yapılan örnekler

Ayrıca uygulanan tedavi ajanlarının mine örneklerinin mineral düzeyinde oluşturduğu değişiklikler mikroanalitik bir teknik olan Enerji Dağılımlı X -Işını Spektroskopisi (EDX) kullanılarak değerlendirilmiştir. Her bir gruptan 5 adet mine örneğinin mineral analizi, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (JEOL JSM-7001F, JAPONYA) kullanılarak yapıldı (Şekil 19). Her bölgeye ait yüzey element analizi yapılarak % Ca ve % P değerleri kaydedildi.



Şekil 19. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

3.6.2. Mikrosertlik Ölçümü

Mine örneklerinin tırnak cilası ile kaplanan kısımları ince uçlu bir spatül yardımıyla yüzeye zarar vermeden çıkarıldı. Her kısmın ayrı ayrı sertlik değerleri, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Barcol yüzey sertlik ölçüm cihazı (GYZJ 935, Sheen, U.K.) ile örnek yüzeyinden üçer adet olacak şekilde ölçüldü ve ortalamaları alınarak kaydedildi (Şekil 20).



Şekil 20. Barcol yüzey sertlik ölçüm cihazı (GYZJ 935, Sheen, U.K.)

3.7. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Elde edilen değerler başlangıç, demineralizasyondan sonra ve tedavi aşamalarından sonra istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Veriler ortalama±Standart sapma şeklinde sunulmaktadır. Sürekli değişkenler yönünden üç grup arasında farklılık arandığında, Tek Yönlü Varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Bağımlı değişkenler açısından grup ve yöntem grupları arasındaki farklılık tekrarlı ölçümlerde üç yönlü varyans analizi kullanılarak yapıldı. Nicel değişkenler aritmetik ortalama ± standart

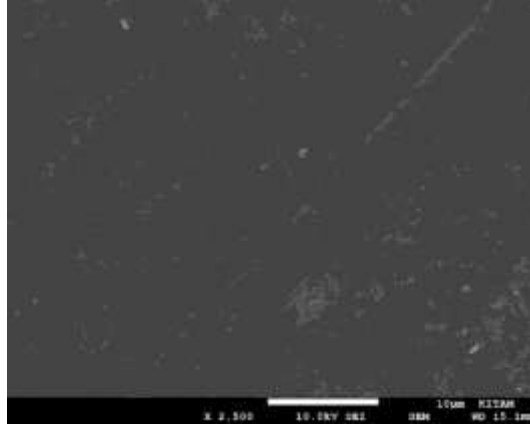
sapma biçiminde gösterildi. p değerleri 0.05'den küçük olarak hesaplandığında ($p < 0.05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hesaplamalar hazır istatistik yazılımı ile yapıldı (IBM SPSS Statistics 19, SPSS inc., an IBM Co., Somers, NY).

4. BULGULAR

4.1. SEM Verileri ile Değerlendirme Bulguları

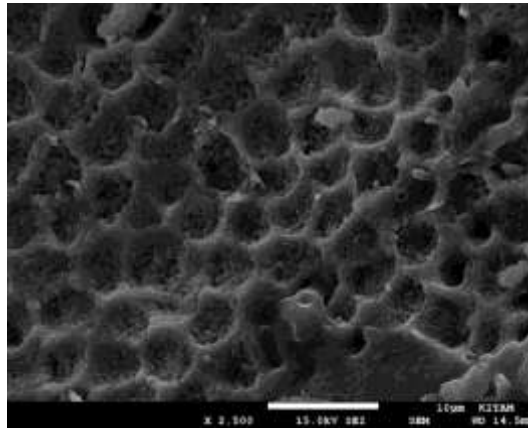
Çalışmamızda sağlam, demineralize ve remineralize edilen mine örneklerinin yüzey görüntüsü x2500 büyütmede SEM görüntüsü alınarak incelenmiştir.

Hiçbir uygulama yapılmamış sağlam mine yüzeyi SEM ile incelendiğinde; herhangi bir kavitasyon söz konusu olmadan, girinti çıkıntının daha az ve daha pürüzsüz olan düzgün ve devamlı bir yüzey gözlenmiştir (Şekil 21).



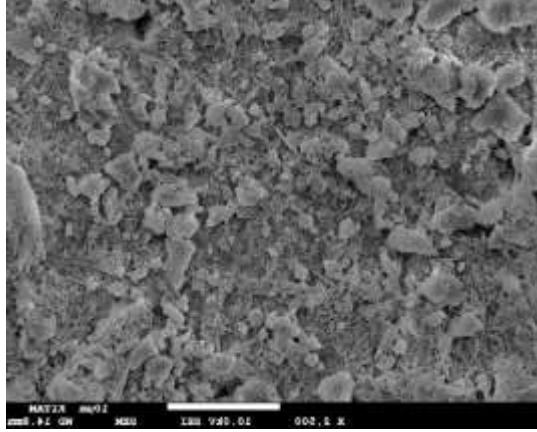
Şekil 21. Sağlam mine SEM görüntüsü (x2500)

Demineralizasyon solüsyonunda bekletilerek başlangıç çürüğü oluşturulan minenin SEM görüntüsünde, mine yüzeyindeki inorganik yapının kaybıyla girintili çıkıntılı, düzensiz ve poröz yapıda olduğu ve asit atakları sonucunda prizmalara ait kristallerin çözünerek küçük kavitasyonların olduğu gözlenmiştir. Perikamata çizgileri ile paralel, prizma korlarının eriyerek periferel bölgelerinin sağlam kalması sonucu, bal peteği şeklinde görüntüler izlenmiştir (Şekil 22).



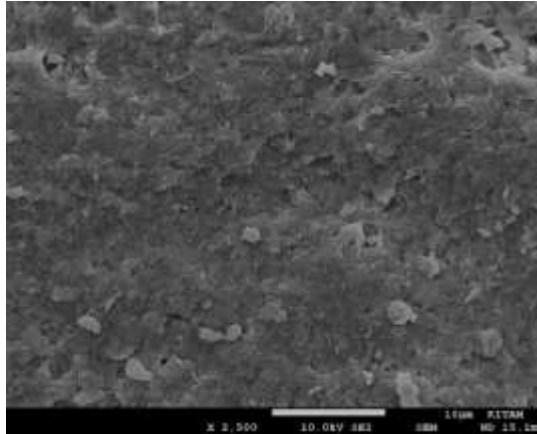
Şekil 22. Demineralize mine SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine APF jeli uygulanan grubun SEM görüntüsünde, mine yüzeylerinde CaF_2 küreciklerinin akümülyasyonun meydana geldiği ve oluşan bu küresel depoların bazı bölgelerde birikim gösterdiği gözlenmiştir. Remineralize olan yüzeyde CaF_2 kürecikleri bazı bölgelerde mine yüzeyi ile bütünleşmiş bir yapıda gözlenirken, bazı bölgelerde ise daha izole bir şekildedir. Bu birikimlerden dolayı yüzey düzensiz şekilli olarak izlenmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. Flor grubu SEM görüntüsü (x2500)

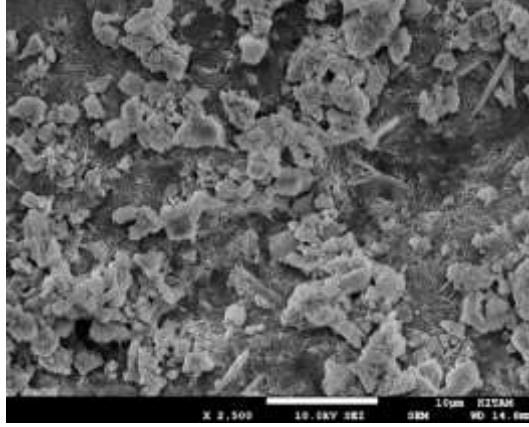
Demineralize mine yüzeyine CPP-ACP ajanı uygulanan grupta demineralizasyon yüzeyinin tamamen kaplandığı, yüzeyi örten bir tabakanın varlığı dikkati çekmektedir. Mine yüzeyinde amorf kalsiyum ya da fosfatların yoğun olduğu yerlerde mineral depozitleri izlenmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. CPP-ACP grubu SEM görüntüsü (x2500)

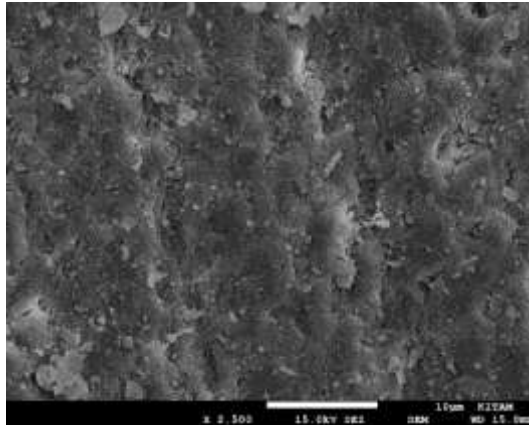
Demineralize mine yüzeyine novamin ajanı uygulanan grupta yüzeyde diş yüzeyine bağlanmış HCA tabakasının oluşturduğu partiküllerden oluşan amorf depozitler

gözlenmiştir. Yüzeyde gözlenen parlaklıkların, kalsiyum ve fosfatın yoğunlaşmasından dolayı oluşan parlaklıklar olabileceği düşünülmektedir, parlaklık derecesi diğer gruplara göre daha fazladır. Novamin depozitleri CPP-ACP ile tedavi edilen grupta oluşan depozitlere göre daha büyük ve daha açıksaldır (Şekil 25).



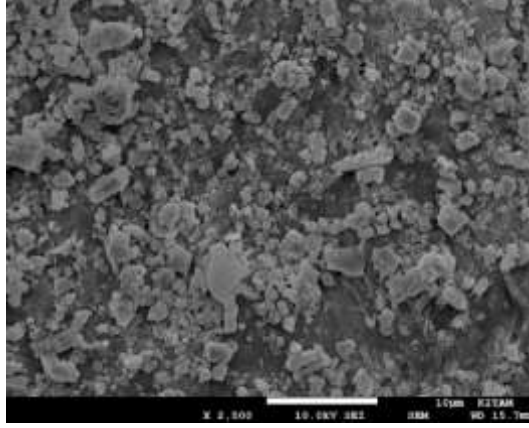
Şekil 25. Novamin grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine lazer uygulanan grupta yüzeyin düzensiz yapısı kaybolmuştur ve mine yüzeyinde krater benzeri görüntüler gözlenmiştir. Mine yüzeyinde termal hasar, karbonizasyon, denaturasyon ve ablasyon bulgusuna rastlanmamıştır. Kristalin yapıda erime derecesinin altında likitimsi yapı (her bir kristal yapının birleşmeye başlama anı) ve apatit kristallerin füzyonu (kristallerin bir araya gelip büyük formulu yeni kristal yapının oluşması) dikkati çekmektedir (Şekil 26).



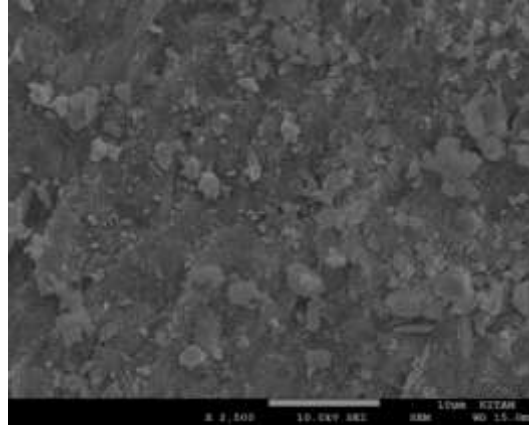
Şekil 26. Lazer grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine önce lazer uygulanıp sonra APF jeli uygulanan grup incelendiği zaman CaF_2 depolarının tek başına APF jeli uygulanan gruptan daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 27).



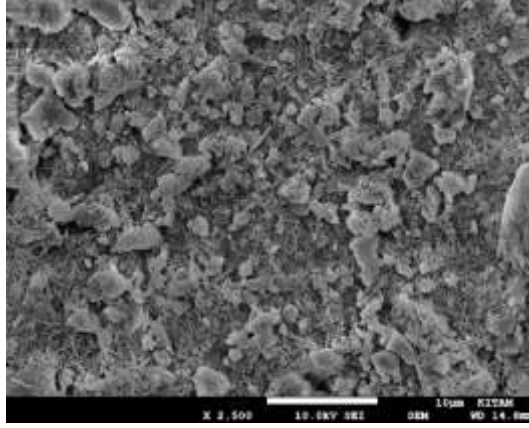
Şekil 27. Lazer+flor grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine önce lazer uygulanıp sonra CPP-ACP ajanı uygulanan grupta, tek başına CPP-ACP uygulanan mine örneğine göre daha yoğun kalsiyum fosfat depozitleri ile yüzeyi örten bir tabaka izlenmiştir (Şekil 28).



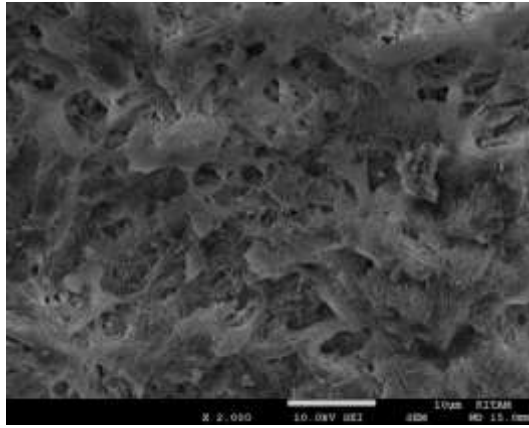
Şekil 28. Lazer+ CPP-ACP grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine önce lazer uygulanıp sonra novamin ajanı uygulanan grupta tüm yüzeyi kaplayan ve daha yoğun bir şekilde izlenen novamin depozitleri gözlenmiştir (Şekil 29).



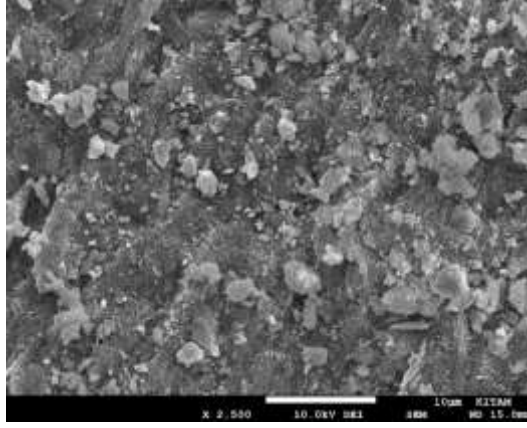
Şekil 29. Lazer+novamin grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine ozon uygulanan grupta minede interprizmatik boşlukların yer yer tıkanıdığı ve açıkta kalan çukurcukların olduğu gözlenmiştir. Remineralizasyonu işaret eden yoğun çökelmeler gözlenmemiş ve mine yüzeyinde herhangi bir film tabakası oluşmamıştır (Şekil 30).



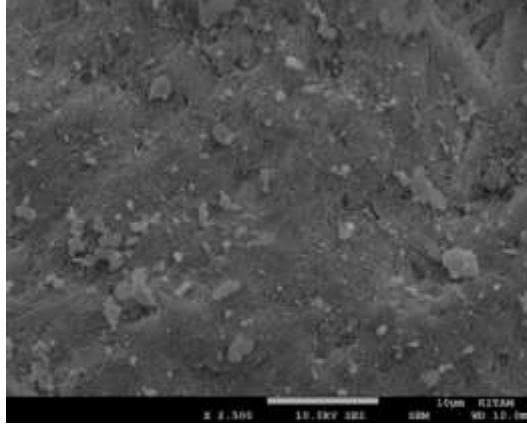
Şekil 30. Ozon grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine önce ozon uygulanıp sonra APF jeli uygulanan grup incelendiği zaman mine yüzeyinde CaF_2 depolarının varlığı izlenmiştir (Şekil 31).



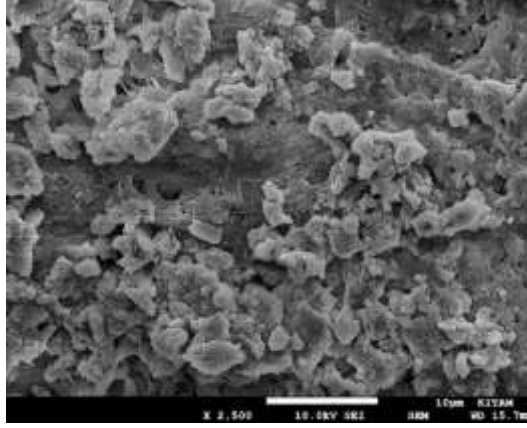
Şekil 31. Ozon+flor grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine önce ozon uygulanıp sonra CPP-ACP ajanı uygulanan grupta mine yüzeyini örten bir tabaka gözlenmiştir (Şekil 32).



Şekil 32. Ozon+CPP-ACP grubu SEM görüntüsü (x2500)

Demineralize mine yüzeyine önce ozon uygulanıp sonra novamin ajanı uygulanan grupta novamin grubuna benzer şekilde büyük ve açılabilir novamin depozitleri izlenmiştir (Şekil 33).



Şekil 33. Ozon+novamin SEM görüntüsü (x2500)

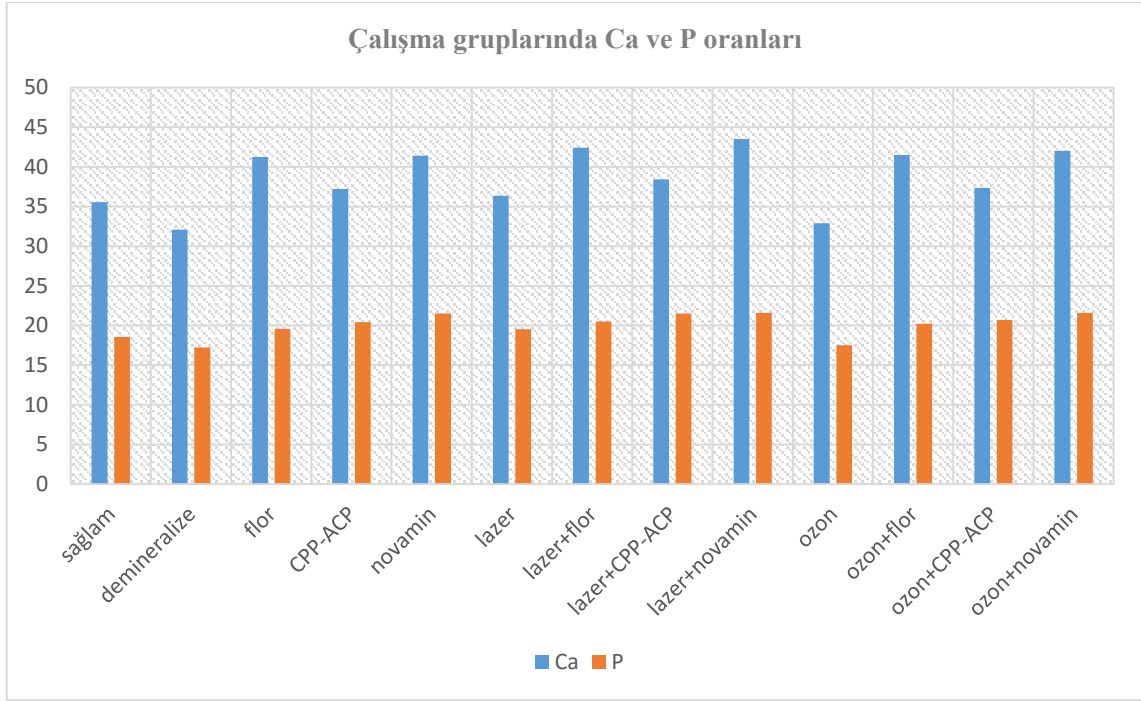
4.2. EDX Verileri ile Değerlendirme Bulguları

Sağlam, demineralize ve remineralize edilen örneklerin mineral analizi yapılmış ve Ca ve P oranları kaydedilmiştir (Tablo 3) (Şekil 34).

Tablo 3. EDX değişkenlerinin gruplara göre dağılımı

	Ca	P
	Ort±SS	Ort±SS
Sağlam	35,58±0,19(g)	18,56±0,23(e)
Demineralize	32,08±0,36(i)	17,22±0,13(f)
Flor	41,24±0,22(c)	19,56±0,27(d)
CPP-ACP	37,2±0,16(e)	20,4±0,2(bc)
Novamin	41,42±0,24(c)	21,5±0,2(a)
Lazer	36,38±0,22(f)	19,54±0,15(d)
Lazer+Flor	42,44±0,24(b)	20,5±0,2(bc)
Lazer+CPP-ACP	38,42±0,22(d)	21,5±0,16(a)
Lazer+Novamin	43,5±0,29(a)	21,58±0,19(a)
Ozon	32,88±0,08(h)	17,5±0,22(f)
Ozon+Flor	41,5±0,23(c)	20,22±0,4(c)
Ozon+CPP-ACP	37,32±0,28(e)	20,7±0,16(b)
Ozon+Novamin	42,04±0,33(b)	21,6±0,19(a)

(a,b,c,d,e,f,g,h,i) Herbir değişken için gruplar arası karşılaştırma (ANOVA)



Şekil 34. Çalışma gruplarında EDX analizine göre Ca ve P oranları

Çalışmamızda sağlam mine örnekleri demineralize edildikten sonra Ca ve P oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlenmiştir ($p < 0,05$).

Çalışmamızdaki demineralize edilen örnekle karşılaştırıldığında tüm remineralizasyon gruplarında Ca değerinde artış gözlenmiştir. Ca değerinde en fazla artış 43,5 değeriyle lazer+novamin grubunda izlenmiştir ($p < 0,05$).

Çalışmamızdaki demineralize edilen örnekle karşılaştırıldığında ozon dışındaki tüm remineralizasyon gruplarında P değerinde artış gözlenmiştir. P değeri novamin, lazer+CPP-ACP, lazer+novamin ve ozon+novamin gruplarında istatistiksel olarak diğer gruplardan anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

Flor, CPP-ACP ve novamin grubu birbiriyle karşılaştırıldığında, en fazla Ca artışı flor ve novamin grubunda izlenirken iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). En az Ca artışı CPP-ACP grubunda izlenmiştir ($p < 0,05$).

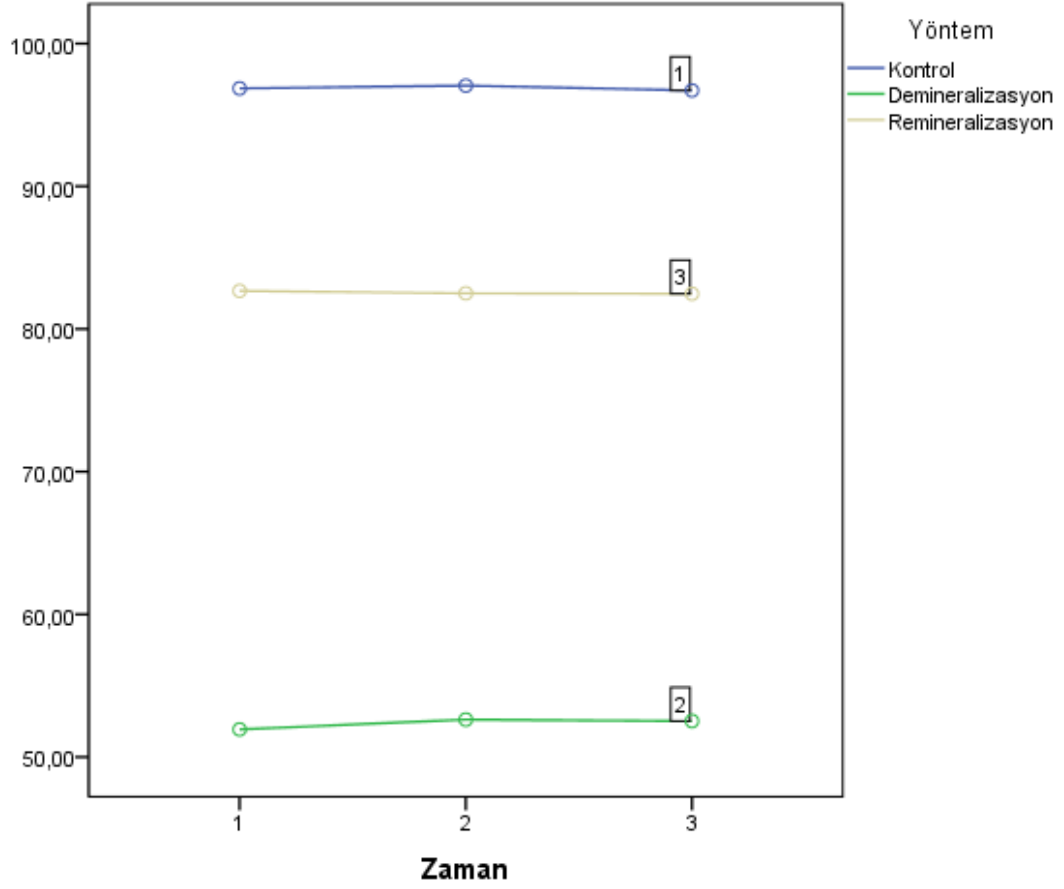
Lazerin tek başına uygulandığı grupta Ca ve P değerleri demineralize edilen örneğe göre anlamlı derecede artmıştır ($p < 0,05$). Lazer+flor grubunda Ca ve P değerleri tek başına flor uygulanan gruba göre istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır ($p < 0,05$). Lazer+CPP-ACP grubunda Ca ve P değerleri tek başına CPP-ACP uygulanan gruba göre

istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır ($p<0.05$). Lazer+novamin grubunda Ca değeri tek başına novamin uygulanan gruba göre istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır ($p<0.05$). P değeri novamin grubuyla benzer bulunmuştur ($p>0,05$).

Ozon grubunda Ca değeri çok az artış göstermiştir ($p<0.05$), P değeri ise demineralize edilen grupla benzer değerler göstermiştir ($p>0.05$). Ozon+flor grubunda Ca değeri tek başına flor uygulanan gruba göre çok az artış göstermiştir ve istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). P değeri ise artış göstermiştir ($p<0,05$). Ozon+CPP-ACP grubunda Ca ve P değeri tek başına CPP-ACP uygulanan gruba göre çok az artış göstermiştir ve istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Ozon+novamin grubunda Ca değeri tek başına novamin uygulanan gruba göre çok az artış göstermiştir, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). P değeri novamin grubuyla benzer bulunmuştur ($p>0,05$).

4.3. Sertlik Verileri ile Değerlendirme Bulguları

Çalışmamızda mine örneklerinin sağlam, demineralize ve remineralize edildikten sonra sertlik değerleri her örnekten 3 kez ölçüm yapılarak değerlendirilmiştir (Şekil 35).



Şekil 35. Yönteme göre ölçümlerin dağılımı

Tablo 4. Yönteme göre ölçümlerin dağılımı

Gruplar	1. ölçüm	2. ölçüm	3. ölçüm	Toplam (ort±SS)
Kontrol (sağlam)	96,86±0,88 (A,a)	97,05±1,16 (A,a)	96,72±1,2 (A,a)	96,88±0,27 (a)
Demineralizasyon	51,93±1,43 (A,b)	52,62±0,94 (B,b)	52,52±1,4 (B,b)	52,36±0,46 (b)
Remineralizasyon	82,67±8,35 (A,c)	82,5±8,64 (A,c)	82,47±8,26 (A,c)	82,54±8,34 (c)
Toplam (Ort±SS)	77,15±19,4 (A)	77,39±19,19 (B)	77,23±19,07 (AB)	

Veri Ortalama±Standart Sapma olarak verilmektedir (A,B): Satır olarak farklı harf istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir (a,b,c): Kolon olarak farklı harf istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir (ANOVA) Yöntem: F=4559,679, p<0,001; Zaman: F=3,838, p=0,022; YöntemxZaman: F=5,894, p<0,001

Yöntem olarak incelendiğinde sağlam mine örneklerinin demineralize ve sonrasında remineralize edilerek remineralizasyon etkinliğinin değerlendirme yönteminde ANOVA'ya göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmektedir.

Sağlam ve remineralizasyon gruplarında her bir örnekten ölçülen sertlik değerleri incelendiğinde, 1., 2. ve 3. ölçümler birbiriyle benzer ve uyumludur. Ancak demineralizasyon grubunda 1. ve 2. ölçümler arasında fark vardır. Bu da demineralize edilen yüzeyin her alanının farklı olduğunu düşündürmektedir (Şekil 35) (Tablo 4).

Tablo 5. Sertlik ölçümlerinde anlamlı etkileşim sonrası ölçümler arası farkların gruplara göre dağılımı

Fark dizileri	Yöntem		
	Kontrol	Demineralizasyon	Remineralizasyon
f_12	-0,19±1,73 (A)	-0,69±1,93 (B)	0,17±1,73 (A)
f_13	0,15±1,76 (A)	-0,59±2,45 (B)	0,2±1,95 (A)
f_23	0,34±1,99 (A)	0,1±1,72 (A)	0,03±2,13 (A)

(A,B): Satır olarak farklı harf istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir (ANOVA)

Yani ölçümler arasındaki fark kontrol, remineralizasyon ve demineralizasyon grubunda farklılaşmaktadır. (YöntemxZaman: $F=3,849$, $p=0,004$). (Tablo 5). Demineralizasyon grubunda 1. ve 2. ölçümler arası fark, diğer sağlam ve remineralizasyon gruplarının 1. ve 2. ölçümler arası farkından istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmuştur. Bu fark demineralizasyon grubunda, diğer gruplara göre sayısal olarak daha fazladır. Bu da demineralize edilen örneklerin yüzeyinde farklı alanların olduğunu desteklemektedir.

Tablo 6. Grup ve yöntem faktörüne göre ölçümlerin dağılımı

Gruplar	Sağlam (Ort±SS)	Demineralizasyon (Ort±SS)	Remineralizasyon (Ort±SS)
Flor	96,88±0,6(A,n)	52,42±0,44(B,x)	86,98±0,2(C,e)
CPP-ACP	96,87±0,25(A,n)	52,38±0,49(B,x)	79,09±0,32(C,f)
Novamin	96,91±0,2(A,n)	52,36±0,53(B,x)	85,07±0,26(C,e)
Lazer	96,90±0,2(A,n)	52,33±0,47(B,x)	75,2±0,28(C,g)
Lazer+flor	96,92±0,2(A,n)	52,24±0,51(B,x)	92,56±0,35(C,a)
Lazer+CPP-ACP	96,91±0,2(A,n)	52,36±0,5(B,x)	85,02±0,34(C,ej)
Lazer+novamin	96,92±0,2(A,n)	52,4±0,42(B,x)	89,89±0,35(C,b)
Ozon	96,91±0,2(A,n)	52,42±0,44(B,x)	56,16±0,79(C,h)
Ozon+flor	96,89±0,2(A,n)	52,38±0,43(B,x)	87,33±0,45(C,ci)
Ozon+CPP-ACP	96,91±0,2(A,n)	52,29±0,42(B,x)	79,2±0,25(C,fk)
Ozon+novamin	96,90±0,2(A,n)	52,38±0,52(B,x)	86,09±0,47(C,d)

(A,B,C) Satır olarak herbir grupta yöntemler arası karşılaştırma, (n) Sağlam gruplar arası karşılaştırma, (x) Demineralizasyonda gruplar arası karşılaştırma, (a,b,c,d,e,f,g,h,i,k) Remineralizasyonda gruplar arası karşılaştırma, Farklı harflendirme istatistiksel anlamlılığı göstermektedir

Tablo 6’da verilen sertlik ölçümlerine göre; yöntemler arasında tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmiştir ($p<0,05$).

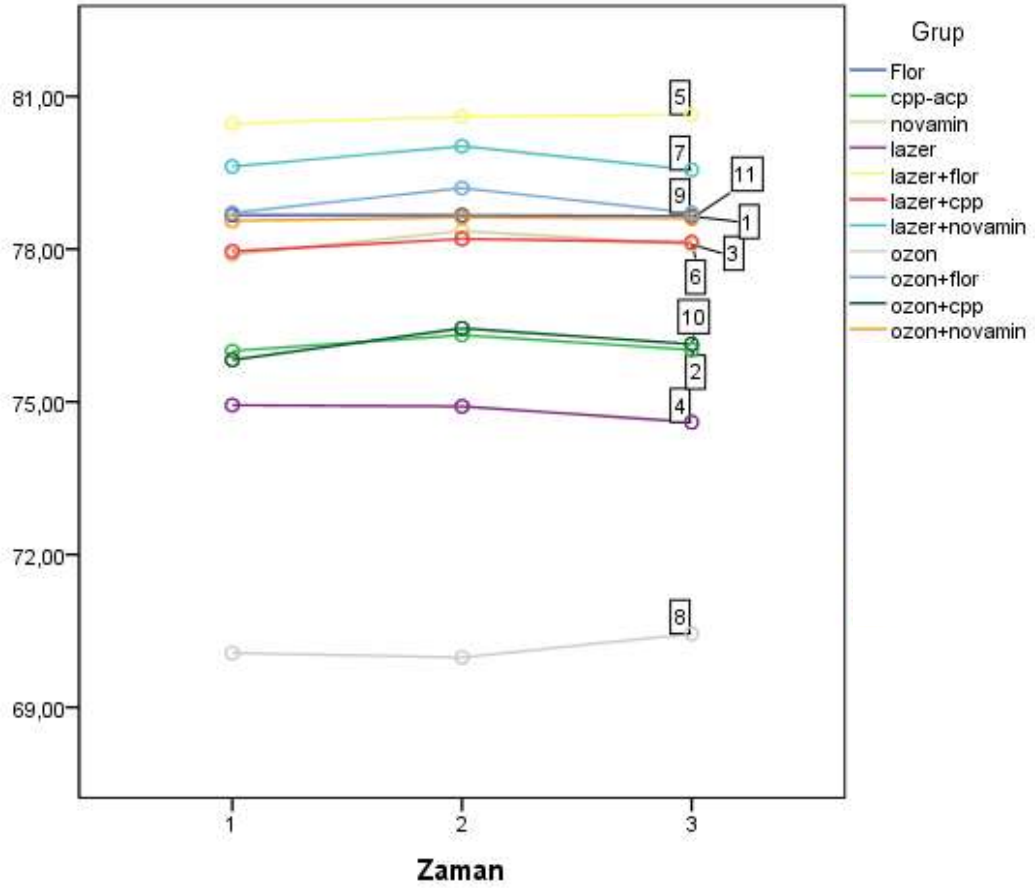
Sağlam mine sertlik ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Demineralize edilen tüm gruplarda istatistiksel olarak benzer değerler izlenmiştir ($p>0,05$).

Remineralizasyon yöntemlerine göre tüm gruplar anlamlı olarak farklı bulunmuştur. Flor, CPP-ACP ve novamin ajanları tek başına uygulanan örneklerin sertlik değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında flor uygulanan grup en yüksek sertlik değeri gösterirken CPP-ACP en düşük değeri göstermiştir ($p<0,05$).

Lazer uygulama sonrası mine örneklerinin sertlik değeri istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. Lazer+flor grubunun sertlik değeri flor grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. Lazer+CPP-ACP grubunun sertlik değeri CPP-ACP grubuna

göre istatiksels olarak anlamlı derecede artmıştır. Lazer+novamin grubunun sertlik değeri novamin grubuna göre istatiksels olarak anlamlı derecede artmıştır ($p<0,05$).

Ozon uygulanan grupta sertlik değeriindeki artış diğer gruplara göre en düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Ozon+flor sayısal olarak çok az yüksek değerler göstermesine rağmen istatiksels olarak flor grubuyla anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Aynı şekilde ozon+CPP-ACP, sayısal olarak çok az yüksek değerler göstermesine rağmen istatiksels olarak CPP-ACP grubuyla anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Ozon+novamin grubu, novamin grubuna göre sayısal olarak çok az yüksek değerler göstermiş ve bu fark istatiksels olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 36. Gruplara göre ölçümlerin zaman içindeki değişimi (1=flor, 2=cpp-acp, 3=novamin, 4=lazer, 5=lazer+flor, 6=lazer+cpp-acp, 7=lazer+novamin, 8=ozon, 9=ozon+flor, 10=ozon+cpp-acp, 11=ozon+novamin)

Lazer+flor grubu en yüksek değerleri gösterirken diğer tüm remineralizasyon gruplarına göre anlamlı olarak daha iyi remineralizasyon etkinliği göstermiştir ($P<0,05$) (şekil 36).

5. TARTIŞMA

Başlangıç çürük lezyonu, çürük gelişiminin ilk veya erken evresi olarak tanımlanmaktadır. Başlangıç çürük lezyonu, beyaz nokta lezyonu, erken mine çürüğü, başlangıç çürüğü, demineralizasyon ve kaviteleşmemiş çürük lezyonu gibi terimler ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır (Geddes, 1975; Mellberg ve Ripa, 1983; Fairpo ve ark., 2001). Bu aşamada henüz mine üst yüzeyinde dokusal bütünlük bozulmamıştır (Zero, 1999). Mine başlangıç çürüğü ile ilgili incelemeler, gerek çürük etyolojisinin açığa kavuşturulması ve gerekse çürüğün henüz başlangıç aşamasında saptanarak tedavi edilmesi olanağını sağlaması açısından oldukça önem kazanmıştır. Başlangıç mine çürük lezyonlarının remineralize olabilecekleri birçok çalışmada ortaya konmuştur. Kavitasyon oluşmamış başlangıç mine lezyonlarında mine prizmaları içindeki orjinal kristal ağın büyük bölümü ve asitten etkilenmiş ancak tamamen yok olmamış kristalitler remineralizasyon için çekirdeklenme bölgesi olarak görev yapmaktadırlar. Remineralizasyon, önleyici tedavi ile restoratif tedavi arasındaki boşluğu kapatabilecek bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır (Gjorgievska ve ark., 2013).

Çekilmiş dişler üzerinde yapay çürük lezyonu oluşturularak çeşitli materyallerin remineralizasyon etkinliğinin incelendiği pek çok in vitro çalışma mevcuttur (Reynolds, 1997; Burwell ve ark., 2009; Faller ve ark., 2010; Karlinsey ve ark., 2011; Huang ve ark., 2013; Patil ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda da modern tanı yöntemleri kullanarak, günümüzde klinik uygulamaya girmiş ve dental piyasada bulunan remineralizasyon materyallerinin etkinliklerinin değerlendirilmesi ile koruyucu diş hekimliğine katkıda bulunmak amaçlanmıştır. Bu amaçla, florür, CPP-ACP, novamin içeren remineralizasyon ajanları ile lazerin ve ozonun tek başına veya remineralizasyon ajanlarıyla beraber kullanımının mine üzerindeki remineralizasyon etkinliği değerlendirilmiştir. Test edilen hipotez; diş minesini üzerinde, lazer ve ozonun remineralizasyon ajanlarıyla kombine kullanımının bu ajanların remineralizasyon etkinliğini artırılabilirliğidir. Çalışmamızın sonucunda remineralizasyon ajanlarının lazerle kombine kullanımı remineralizasyon etkinliğini arttırırken, ozonla kombine kullanımı bu etkiyi arttırmamıştır.

Sağlam mine örnekleri tedavi uygulanmayan sağlam bir diş minesinin yapısını ve içeriğini göstermektedir. Demineralizasyon solüsyonunda bekletilen ve başlangıç çürüğü oluşturulan henüz tedavi edilmemiş örnekler, başlangıç mine çürüğünde ne kadar doku ve içerik kaybının olduğunu göstermektedir.

Test edilen remineralizasyon ajanlarının ilki olan APF jelinin, etkinliği birçok araştırma ile kanıtlanmış bir florür uygulama şekli olduğu bilinmektedir (Marinho ve ark., 2003; Marinho, 2008; Mandinic ve ark., 2009; Xiang ve ark., 2009). APF jelin uygulanmasını takiben önemli derecede CaF₂ olduğu bildirilmiştir (Retief ve ark., 1983).

Test edilen remineralizasyon ajanlarının ikincisi olan CPP-ACP, kazein fosfopeptidin Ca ve P'ı sabitleyerek etki ettiği bir ajandır ve ticari isim ile 'Minimal Invasive Paste (MI paste)' olarak piyasada bulunmaktadır. CPP-ACP'ın diş üzerindeki etkileri Ca ve P depolarıyla sağlanmaktadır ve diş minesini üzerinde remineralizasyon oluşturduğunu rapor eden birçok çalışma bulunmaktadır (Oshiro ve ark., 2007; Rahiotis ve Vougiouklakis, 2007; Hegde ve Moany, 2012; Ambarkova ve ark., 2013; Peric ve ark., 2014).

Test edilen remineralizasyon ajanlarının üçüncüsü olan novamin, mine yüzeyinde yüksek konsantrasyonlarda Ca ve P birikimini sağlayan bir remineralizasyon ajandır (Azarpazhooh ve Limeback, 2008b). Novaminden salınan iyonlar, doğal diş minerallerine kimyasal olarak benzer bir mineral olan HCA tabakası oluşturur ve bu partiküller diş yüzeyine bağlanarak mine ve dentinin remineralizasyonu arttırmakta ve demineralizasyonu önlemektedir (Burwell ve ark., 2009; Gjorgievska ve Nicholson, 2011; Wang ve ark., 2011; Mehta ve ark., 2014; Mohanty ve ark., 2014).

Başka bir grup olan lazerin diş hekimliği uygulamasına girmesinden bu yana çürük önleme üzerine olan etkisi birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Featherstone ve ark., 1998; Kantorowitz ve ark., 1998; Cecchini ve ark., 2005; Nammour ve ark., 2005; Elton ve ark., 2009).

Diğer bir grup olarak lazer sonrası APF jelinin kombinasyonu uygulanmıştır. Çeşitli dalga boylarıyla yapılan birçok çalışmada lazer ve florür tedavi kombinasyonlarının tek başına lazer uygulamasına göre daha etkin bulunmuştur (Featherstone ve ark., 1991; Phan ve ark., 1999; Nobre Dos Santos ve ark., 2002; Chen ve Huang, 2009; Ana ve ark., 2012; Liu ve ark., 2013b; Mathew ve ark., 2013; Poosti ve ark., 2014). Ayrıca çalışmalarda florürün lazer uygulamasından önce ya da sonra uygulanması arasında bir fark bulunamamıştır (Tagomori ve Morioka, 1989; Featherstone ve ark., 1991; Phan ve ark., 1999; Nobre Dos Santos ve ark., 2002). Bu yüzden biz çalışmamızda lazer sonrası florür uygulamayı tercih ettik.

Başka bir grup lazer sonrası CPP-ACP'ın krem şeklinin uygulanmasıdır ve literatürde bu kombinasyonla ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur (Niazy ve Ehab, 2009; Heravi ve ark., 2014; Subramaniam ve Pandey, 2014; Yassaei ve ark., 2014; Asl-Aminabadi ve ark., 2015).

Diğer bir grup lazer sonrası novamin içeren ajanın uygulanmasıdır. Literatürde çürük önlemeye yönelik olarak lazer ve novamin kombine tedavi yönteminden bahseden bir çalışma henüz yoktur.

Diğer bir grup olan ozon uygulamasının çürük lezyonundaki proteinleri kaldırarak Ca, P ve flor iyonlarının çürük lezyonuna difüzyonu ile remineralizasyonu sağladığı rapor edilmiştir (Knezevic ve ark., 2007) ve remineralizasyon çalışmalarında ozon uygulamasının etkinliği araştırılmıştır (Holmes, 2003b; Abu-Salem, 2004; Baysan ve Lynch, 2004).

Başka bir grup olarak ozon ve florür uygulanmıştır. Literatürde ozon ve florür ajanın kombine uygulanmasını araştıran in vivo ve in vitro çalışmalar mevcuttur (Atabek ve Oztas, 2011; Duggal ve ark., 2012; Johansson ve ark., 2014; Tahmassebi ve ark., 2014).

Çalışmamızdaki diğer gruplar ozon ve CPP-ACP kombine uygulanması ve ozon ve novamin kombine uygulanması şeklindedir. Literatürde çürük önlemeye yönelik olarak ozon uygulanmasının CPP-ACP ve novamin ile kombine kullanılması yönteminden bahseden bir çalışma henüz yoktur.

Günümüzde profesyonel ve bireysel kullanıma uygun birçok remineralizasyon materyali bulunmakta olup özellikle farklı florür bileşiklerini içeren materyallerin etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmalar yapılmıştır (Marinho, 2008; Ambarkova ve ark., 2013; Mehta ve ark., 2014). Yine lazer ve ozon kullanımının farklı remineralizasyon ajanlarıyla kombine kullanımı değerlendirilmiştir (Atabek ve Oztas, 2011; Ana ve ark., 2012, Heravi ve ark., 2014; Tahmassebi ve ark., 2014). Ancak literatür tarandığında lazer ve ozonla kombine olarak novaminin etkinliği değerlendirilmemiştir ve lazer ve ozonun etkinliğinin karşılaştırılması yapılmamıştır. Bu nedenle bu tez çalışması, bu konuda yapılan ilk ve tek özgün çalışma niteliğindedir. Çalışmamızın sonuçlarının günümüzde klinik kullanıma girmiş olan lazer ve ozon gibi modern sistemlerin, remineralizasyon ajanlarının etkinliğine katkısının değerlendirilmesine yardımcı olacağını ve konservatif diş hekimliğinde önemli bir yerde bulunan çürükten korunma stratejilerinin geliştirilmesi,

toplum ağız-diş sağlığının iyileştirilmesi konusunda klinisyenlere ışık tutacağını dűřünmekteyiz.

Çürük oluşum sürecinin çeşitli aşamalarını yansıtan laboratuvar deneylerinin geliştirilmesinin en önemli nedenleri; çürüğün etiyojisi ve çürük önleyici ajanların mekanizmaları hakkında çalışmalar yapmak, yeni ürünlerin test edilmesi ve çürük önleyici olarak kullanılabilir ajanların etkilerinin önceden gösterilmesi için temel çalışmalar yapmak olarak sıralanabilir (Ten Cate ve Mundorff-Shrestha, 1995). Çürük araştırmalarında in situ ve in vivo deneylerdeki ilerlemelere rağmen in vitro testler hala yaygın olarak kullanılmaktadır (Argenta ve ark., 2003). Çürük önleyici ajanların etkinliklerinin kesin olarak belirlenebilmesi için şüphesiz ki çalışmaların in vivo koşullarda yapılması gerekmektedir. Ancak in vivo çalışmalar etik problemlerden dolayı istenilen koşullarda yapılamamaktadır (Fehr ve Schwarz, 1994). İn situ modellerde ağız içi apareylerin düzenli bir şekilde kullanılması gerekmektedir bu yüzden hastanın işbirliği yapması zorunludur (Pollard, 1995). Ayrıca çocuk hastalarda ağız içi apareylerin kullanılması ve kontrol altında tutulması da oldukça güç olmaktadır (Pollard, 1995). Çürük önleyici ajanların etkinliklerinin değerlendirilmesinde hayvan deneyleri de yapılmaktadır ancak hayvanlardaki diş yapısı, tükürük ve oral mikroorganizmaların insanlardan farklılık göstermesi sebebiyle deney sonuçlarının etkilenebileceği belirtilmektedir (Curzon, 1986). İn vitro kimyasal çürük sistemleri ise etik problemlerin yaşanmaması, direk ve hızlı olarak değerlendirmeye izin vermesi, deney ortamının sıkı bir şekilde kontrol altında olması ve yeterince hassas olmaları gibi birçok avantaja sahiptir (White, 1995; Tang ve ark., 2003). Bu nedenlerle çalışmamızda çeşitli remineralizasyon ajanlarının mine demineralizasyonu üzerine etkisini incelemek amacıyla in vitro modeller tercih edilmiştir.

İN vitro ve in situ çalışmalarda, çalışma hipotezinin daha uygun klinik substrat üzerinde test edilmesine izin vermesi sebebiyle genellikle insan dişlerinden elde edilen örnekler tercih edilmektedir (Yassen ve ark., 2011). İn vitro ve in situ dental araştırmalarda substrat olarak insan dişleri dışında primat, sığır, domuz, at ve köpek balığı dişleri de kullanılmıştır. Bununla birlikte dental araştırmalarda insan dişlerinin yerine en yaygın kullanılan materyal sığır dişleri olmuştur (Yassen ve ark., 2011). İnsan dişine yerine sığır diş kullanılması avantajı, büyük miktarda örnek elde edilmesinin kolay olması ve insan dişine kıyasla daha az kompozisyon değerliği göstermesidir (Edmunds ve ark.,

1988). Sığır dişleri geniş düz yüzeylere sahiptir ve test sonuçlarını etkileyebilecek çürük lezyonlarına sahip değildir. Sığır diş çürükleri, insan dişleriyle benzer mineral dağılımı ve benzer yapısal özellik gösterir (Edmunds ve ark., 1988). Bazı çalışmalarda insan ve sığır mine kristal oryantasyonu ve ağırlık yüzde Ca değerinin benzediğini, mine-dentin sınırına doğru benzer şekilde azalma gösterdiğini rapor etmektedir (Turssi ve ark., 2010). Bachmann ve ark. (2003), insan minesini, insan dentini, sığır minesini ve sığır dentini arasındaki yapısal farklılıkları incelemiştir. Çalışmalarında, sığır ve insan dişlerinde mine ve dentin arasındaki bantların yoğunluğunda büyük farklılıklar olduğunu ancak mineral içerikleri açısından herhangi bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir. Çürük gelişim ve inhibisyonu sığır ve insan dişleri için benzer olduğu gösterilmiştir (Hara ve ark., 2003). Sığır minesinin insan minesinden farklı olarak, daha hızlı demineralize olduğu ve erozyona uğradığı bildirilmiştir (Attin ve ark., 2007). Sığır dişleri daha poröz olması sebebiyle demineralize alanlara daha hızlı bir iyon difüzyonuna izin vermektedir (Featherstone ve Mellberg, 1981; Edmunds ve ark., 1988; Lynch ve Ten Cate, 2006). Ancak sığır dişlerinin homojen kompozisyonları sebebiyle sığır kök yüzeyleri demineralizasyon ve remineralizasyon reaksiyonlarına tutarlı şekilde cevap verir (Teranaka ve Koulourides, 1987). Deneysel çalışmalarda insan dişlerinin kullanılması; etik sorunlar, bulunmasının zor hale gelmesi (Almeida ve ark., 2009), toplanan insan dişlerinin kaynağının ve yaşının kontrol edilmesinin zor olması (Zero, 1995) ve genellikle dişlerin çürük veya başka defektler nedeniyle çekilmesi sonucu yeterli miktarda sağlam örnek elde edilmesinin zor olması (Yassen ve ark., 2011) gibi nedenlerden dolayı terk edilmeye başlanmıştır. Çalışmamızda insan dişlerinin bu dezavantaj ve limitasyonlarını minimuma indirmek amacıyla insan dişi yerine en sıklıkla kullanılan sığır dişi kullanılmıştır.

Dişlerin çekim işleminden kullanılacağı ana kadar geçen sürede dehidrate olmaması için solüsyonlar içinde tutulması önerilmektedir. Distile su ve salin bu amaçla kullanılan solüsyonlardandır. Saklama ortamında mikroorganizmaların üremesini engellemek amacıyla etanol, formol, timol, sodyum hipoklorit, glutaraldehit gibi antimikrobiyal kimyasal maddeler ilave edilebilmektedir (Tosun ve ark., 2005). % 0,1'lik timol içeren salin solüsyonu, yapay çürük lezyonunun histolojik sonuçları üzerinde yıkıcı etkiler oluşturmadan antimikrobiyal etki göstermektedir (Fejerskov ve Ellwood, 2003). Moura ve ark. (2004)'ın yaptıkları bir çalışmada formaldehit solüsyonunun timol

solüsyonu ile karşılaştırıldığında minenin demineralizasyona olan direncini arttırabileceği rapor edilmiştir. Kullanılan saklama solüsyonlarının çalışma sonucunu etkilememesi gerekmektedir. Bu nedenle Yassaei ve ark. (2014) çalışmasında uyguladıkları şekilde bu çalışmada çekilen dişler deney süresine kadar % 0,1 timol içeren deiyonize su içerisinde bekletilmiştir.

Çalışmamızda, Asl-Aminabadi ve ark. (2015) çalışmalarına benzer şekilde, mine örneklerinin labial yüzeyleri alüminyum oksit içeren Sof-Lex polisaj ve bitim diskleri (3M/ESPE, St Paul, MN, USA) (kalın, orta, ince, süper ince) kullanılarak kalından inceye doğru aşındırılmıştır. Çalışmamızda Pascotto ve ark. (2004) ile de De Moura ve ark. (2006) 'nın çalışmalarına benzer şekilde örnekler sırasıyla 320, 600 ve 1200 gridlik alüminyum oksit disklerle zımparalanmıştır.

Zımparalama sonrasında kalan artıkların uzaklaştırılması için örnekler distile su ile yıkanıp kurutulmuştur. Mine yüzeyi dışındaki tüm diş yüzeyleri aside dirençli tırnak cilası yardımıyla kaplanarak ayrıca örnek yüzeyi üç bölüme ayrılıp üst yüzeylerinin yaklaşık yarısı (1/3'ü) ve yapay çürük oluşturulduktan sonra da kalan yüzeyin yarısı tırnak cilası ile kaplanmıştır (Elmas, 2007). Bu işlem ile sağlam mine örnek yüzeylerinde, yüzeyin 1/3'nün demineralizasyondan korunması, diğer 1/3'ünün demineralize edilip remineralizasyon korunması ve daha sonra yapılacak ölçümler sırasında da bu iki bölgenin referans olarak kullanılması amaçlanmıştır.

Yapay çürük lezyonları, doğal çürüklerin temel histolojik özelliklerini gösterir ve mine demineralizasyon ve remineralizasyon in vitro çalışmalarında yararlı bir örnektir (Lynch ve ark., 2007). İn vitro koşullarda yapay çürük lezyonu oluşturmak için farklı modeller tanımlanmıştır. Bunlar asidik jeller, tampon solüsyonları ve mikrobiyolojik modellerdir (Pacheco ve ark., 2013). Mikrobiyolojik modellerin esası demineralizasyon için gerekli asitin sistemdeki bakteriler tarafından üretilmesidir (Karabulut ve ark., 2010). Ortamdaki Ca, P ve F iyonlarının kontrol altında olmaması ve pH değerinin yine kontrolsüz bir şekilde düşüşü bu yöntemin sakıncaları arasındadır (Staninec ve ark., 1988). Asit tamponların kullanıldığı in vitro demineralizasyon modeli; asitli jelatin jeli veya Ca, P ve florür içeren, pH seviyesi dikkatlice ayarlanmış solüsyonların kullanıldığı en basit çürük oluşturma yöntemi olarak tanımlanmaktadır. Tampon solüsyonlarında; laktik asit, asetik asit veya her ikisi birden kullanılabilir. Bu yöntemde; örnekler çürük lezyonu oluşturabilmek amacıyla mine veya diş köklerinde

pencereler oluşturularak günler bazen aylarca tampon solüsyonlarında bekletilmektedirler. Bu lezyonlar histolojik olarak doğal lezyonlara benzer özellikler sergilemektedir (Schemehorn ve ark., 1999).

İn vitro şartlarda başlangıç çürük lezyonu oluşturmak için yapılan çalışmalarda çeşitli demineralizasyon solüsyonları kullanılmıştır. Preston ve ark. (2007), 5 gün boyunca örnekleri 4,5'lik bir pH değerinde, 50 mM asetik asit, 2,2 mM KH_2P , 2,2 mM CaCl_2 ve 0,5 ppm F ihtiva eden demineralizasyon solüsyonu içerisinde bekleterek yapay çürük lezyon elde etmişlerdir. White ve ark. (1987), yapay çürük lezyonu oluşturmak amacıyla 2,2 mM CaCl_2 , 2,2m M NaH_2P , 0,05 M asetik asitten oluşan ve pH'sı 4,4'e 1 M KOH ile ayarlanan demineralizasyon solüsyonunda her bir dişi 10 ml solüsyon içerisinde 48 saat bekletmişlerdir. Ten Cate ve Duijsters (1982) çalışmalarında, 2,2 mM CaCl_2 , 2,2 mM NaH_2P , 50 mM asetik asit ihtiva eden pH'sı 4,4 olan demineralizasyon solüsyonu kullanılmıştır. Itthagarun ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, 2,2 mM CaCl_2 , 2,2 mM NaH_2P , 0,05 M asetik asit içerikli ve pH değeri KOH ile 4,4'e ayarlanmış olan demineralizasyon solüsyonu içinde örnekler 96 saat boyunca tutularak yapay çürük lezyonu meydana getirilmiştir. Bizim çalışmamızda da Itthagarun ve ark. (2010)' nın yaptıkları çalışma ile benzer şekilde demineralizasyon için aynı içerikli solüsyon tercih edilmiştir. Yapay çürük lezyonu oluşturmak amacıyla örnekler demineralizasyon solüsyonunda 37 °C'de 4 gün boyunca bekletilmiştir.

Ağız ortamını taklit eden in vitro modellerde demineralizasyon solüsyonunun, pH'sının 4,1-5 arasında olması demineralizasyonun net sonuçlarını görebilmek açısından önem taşıdığı belirtilmiştir (Thaveesangpanich ve ark., 2005a). Bu nedenle çalışmamızda demineralizasyon solüsyonu olarak pH'sı 4,4 olan demineralizasyon solüsyonu kullanılmıştır.

Koruyucu tedavilerin mine üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda farklı uygulamalar yapılmıştır. Bazı çalışmalarda mine örnekleri yüzeyine önce koruyucu tedaviler uygulanıp sonra pH siklusuna maruz bırakılmış (Santaella ve ark., 2004; Liu ve ark., 2006; Tagliaferro ve ark., 2007), kimi çalışmalarda ise başlangıç çürüğü oluşturulduktan sonra koruyucu tedaviler uygulanıp tedavilerin etkinlikleri değerlendirilmiştir (Thaveesangpanich ve ark., 2005b; Pulido ve ark., 2008; Chen ve Huang, 2009). Çalışmamızda başlangıç mine çürük lezyonları oluşturulup sonra

koruyucu tedavi yöntemleri uygulanmış ve arkasından bu koruyucu tedavi yöntemlerinin etkinlikleri çeşitli metotlarla değerlendirilmiştir.

Ağız ortamının taklit edildiği laboratuvar çalışmalarında insan tükürüğü kullanımı en iyi tercih olmasına rağmen bazı araştırmacılar tarafından dayanıksızlığı ve kontaminasyona sebep olması nedeniyle yeni toplanmış tükürüğe benzer özelliklere sahip yapay tükürük kullanımı önerilmektedir (Gal ve ark., 2001; Gao ve Smales, 2001). Çalışmamızda, yapay tükürük formülü olarak Arvidson ve ark.'nın çalışmalarında kullandıkları 4.1 mM KH_2P , 4.0 mM Na_2HP , 24.8 mM KHCO_3 , 16.5 mM NaCl , 0.25 mM MgCl_2 , 4.1 mM CaCl_2 içeren yapay tükürük formülü kullanılmıştır (Arvidson ve Johansson, 1985).

Mine yüzeyinde oluşan demineralizasyon ve remineralizasyonun değerlendirilmesinde polarize ışık mikroskobu, mikrosertlik değerlendirmesi, mikroradyografi, konfokal taramalı elektron mikroskop (CLSM), TEM ve SEM gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en sık kullanılanları polarize ışık mikroskobu, mikroradyografi ve SEM'dir (Clasen ve Ogaard, 1999; Hicks ve ark., 2004a).

SEM, genellikle destekleyici teknik olarak modern bilimin hemen hemen her alanında kullanılan iyi tanımlanmış bir görüntüleme tekniğidir. SEM, diş hekimliğinde organik içerikli materyalleri, mine yüzeyinin topografik yapısını ve meydana gelen değişiklikleri ultramikroskopik düzeyde inceleyebilmektedir. SEM yüksek çözünürlük ve düşük elektron voltajı kullanarak morfolojik yüzey özelliklerinin net bir şekilde incelenebilmesini sağlamaktadır (Sakoolnamarka ve ark., 2002). İncelenmek istenen yüzey, istenen büyütmeyle yüzeyde oluşan, değişen veya yok olan birçok yapı yönünden ayrıntılı bir şekilde izlenmiş olur. Çok eski yıllardan beri SEM görüntülerinin nitelikleri arttırılmaya çalışılmaktadır. Çünkü diş yüzeyinin topografyasının morfolojik olarak incelenmesinde en etkili ve en popüler yöntem olarak SEM bulunmaktadır (Souza-Gabriel ve ark., 2008).

İn vitro çürük lezyonlarının demineralizasyon ve remineralizasyonunun değerlendirilmesinde en hassas yöntem olan SEM ile yapılan yüzey analizinin çürük benzeri lezyonların değerlendirilmesinde güçlü bir metot olduğu rapor edilmiştir (Arnold ve ark., 2003; Pai ve ark., 2008). SEM bulguları incelenen yüzeyin topografyası açısından büyük önem taşımaktadır. SEM, florür içerikli ürünlerin

demineralizasyon/remineralizasyon etkisinin araştırıldığı pek çok çalışmada çeşitli araştırmacılar tarafından kullanılmıştır (Gerould, 1945; Nelson ve ark., 1983; Tepper ve ark., 2004; Cecchini ve ark., 2005; Bevilacqua ve ark., 2008; Chen ve Huang, 2009; Gjorgievska ve Nicholson, 2011; Patil ve ark., 2013).

Andrade ve ark (2007), lazerin mine yüzeyi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, normal mine yüzeylerini ve yapay çürük oluşturulan mine yüzeylerini SEM ile incelemiştir. Normal mine yüzeyinin SEM görüntülerinde, düz ve devamlı bir mine yüzeyi gözlenmiş, hiçbir çatlak oluşumu izlenmemiştir. Yapay çürük oluşturulan mine yüzeyinin düzensiz olduğu ve asit ataklar karşısında küçük kaviteasyonlar, düzensiz yapılar, artmış poröziteler ve çatlaklar içerdiğini belirtmişlerdir. Patil ve ark. (2013) florür, CPP-ACP ve novaminin remineralizasyon etkinliğini araştırdıkları çalışmada, sağlam mine SEM görüntülerinde düzgün bir yüzey görüntüsü oluştururken, demineralizasyon sonrasında irregüler düzensiz bir görüntü oluşmuştur. Lei ve ark. (2014) SEM analizi yaptıkları çalışmalarında, sağlam mine yüzeyinin bozulmamış, düz ve tipik mine prizma yapısı gösterdiğini, demineralize minenin mine prizmaları ve interprizmatik boşluklarda mineral kaybıyla irregüler bir yapı gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmalarla benzer olarak bizim çalışmamızda da sağlam mine yüzeyi incelendiğinde yüzeyin devamlılığı ve düzgünlüğü gözlenmiştir. Başlangıç çürüğü oluşturulan mine yüzeyi incelendiğinde ise mine yüzeyindeki inorganik yapının kaybıyla yüzeyin girintili, çıkıntılı, düzensiz ve poröz yapıda olduğu gözlenmiştir. Bu düzensiz mine yüzeyinde demineralizasyon asit ataklarının sonucunda prizmatik kristallerin çözünmesiyle küçük çukurcukların oluştuğu izlenmiştir.

Nicolae ve ark. (2011), topikal olarak sodyum florür uygulanmasının in-vitro olarak mine yüzeyinde meydana getirdiği değişimleri SEM ve EDX analizi kullanarak incelemiştir. Florür uygulama sonrası mine yüzeyi SEM görüntüleri incelendiğinde globüler CaF_2 depozitlerinin varlığı izlenmiştir. Bizim çalışmamızda da florür uygulanan mine yüzeyinde CaF_2 depozitleri izlenmiştir.

Oshiro ve ark. (2007), CPP-ACP patının diş dokusunda meydana getirdiği remineralizasyonu in-vitro olarak inceledikleri çalışmada örneklerin yüzey özelliklerini incelemek amacıyla SEM kullanmışlardır. CPP-ACP uygulanan grubun SEM görüntülerinde, amorf kalsiyum fosfat (ACP) depolarının süpersaturasyon sağlamasıyla kontrol grubuna göre morfolojik yapıda çok az bir değişim izlenmiştir. CPP-ACP krem

şeklinin mine ve dentinde demineralizasyonu önlemede CPP-ACP içermeyen bir kremden daha etkili koruduğu ve morfolojik yapıları hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir.

Kara (2011) tez çalışmasında SEM analizlerinde, başlangıç mine çürüğü üzerine CPP-ACP'nin krem şeklinde uygulanması ile demineralizasyon yüzeyinin tamamen bulutlu bir yapı ile kaplandığı dikkati çekmektedir.

Vyavhare ve ark. (2015), başlangıç mine çürük lezyonlarında nano-hidroksiapatit, CPP-ACP ve florür ajanlarının etkinliği değerlendirilen çalışmada, SEM analizinde florür uygulanan yüzeyde çok sayıda ayrık porözitlerle globüler kristal depozitler izlenirken, CPP-ACP uygulanan yüzeyde önemli bir remineralizasyonu göstermemiştir.

Andersson ve Kangasniemi (1991), CPP-ACP ve novamin remineralizasyon potansiyelini araştırdıkları çalışmalarında, SEM analizi sonrasında iki tedavi sonrasında da demineralizasyon sonucu oluşan düzensizliklerin kapandığını bildirmişlerdir. Ancak novaminle tedavi edilen gruptaki tıkaçlar daha yoğun ve mineye daha sıkı bağlandığı belirtilmiştir. CPP-ACP tedavi edilen grupta oluşan depozitler daha küçük ve amorf iken novaminle tedavi edilen grupta daha büyük ve daha açısaldır. Gjorgievska ve Nicholson (2010) yaptıkları çalışmada, CPP-ACP ve novamin uygulanan örneklerin SEM görüntüleri incelendiğinde; demineralize edilen mine örneğinde, mine rodları ve mine prizmalarında bozulma, rodlar arası mesafenin artması ve mine içeriğinin kaybıyla bozunmuş bir yüzey görüntüsü izlenmiştir. Her iki tedavi grubunda da tıkaçlar gözlenmesine rağmen, novamin uygulanan grubun SEM görüntüsü, daha sıkı bir görüntü oluşturmuş, depozitler mine yüzeyine çok yakın bir şekilde bağlanmıştır. Ek olarak iki ajanın uygulama alanında mine yüzeyine yapışan depozitler vardır, CPP-ACP tarafından oluşturulan depozitler daha küçük ve daha amorf iken novamin tarafından oluşturulan depozitler daha büyük ve daha açılı olarak izlenmiştir. Çalışmamızın SEM görüntülerinde, bu iki çalışmaya benzer olarak novamin uygulanan mine yüzeyinde oluşan depozitler, CPP-ACP uygulanan yüzeyde oluşan depozitlere göre daha büyük ve açılı şekilde gözlenmiştir.

Patil ve ark. (2013) florür, CPP-ACP ve novaminin remineralizasyon etkinliğini araştırdıkları çalışmanın SEM görüntülerinde remineralizasyondan sonra tüm gruplarda remineralizasyon sağlanırken florür uygulanan grupta diğer iki gruba göre daha düzenli bir yüzey görüntüsü elde edilmiştir. Lei ve ark. (2014) CPP-ACP, novamin ve florür

uygulama sonrası mine yüzeyini SEM ile incelemişlerdir. CPP-ACP uygulanan mine yüzeyinde göreceli sıkı depozitler ve düzgün mine prizmaları izlenmiştir. Novamin uygulanan mine yüzeyinde ince tabaka şeklinde depozitler devamlı ve sıkı bir tabaka oluşturmuştur. Florür uygulanan mine yüzeyinde nispeten devamlı ve kalın bir tabaka şeklinde küresel depozitler izlenmiştir. Novamin ve florür uygulanan grupta demineralizasyon sonrası oluşan iregülariteler tamamen kapatılmıştır. Gjorgievska ve Nicholson (2011), bleaching uygulanan mine üzerine novaminin remineralizasyon etkilerini araştırdıkları çalışmada bleaching uygulanan mine yüzeyinin SEM görüntüsünde, demineralizasyon bulguları yüzey pörozitesi ve düzensizlikler izlenmiştir. Novamin uygulanan mine örneklerinde novamin depozitlerinin mine yüzeyine dağılmış ve mine düzensizliklerini tamamen kapatmıştır. SEM incelemesinde novamin uygulanan örneklerde mine yüzeyinde yetişen amorf depozitler ‘çiçek tarlası görüntüsü’ oluşturmuştur. Çalışmamızda novamin uygulanan mine yüzeylerinin SEM görüntüsü Gjorgievska ve Nicholson (2011) çalışmalarına benzer olarak çiçek tarlası görüntüsüne benzetilebilir.

Narayana ve ark. (2014)’nın çalışmalarında novamin, florür, CPP-ACP, CPP-ACPF ajanları değerlendirilmiştir. Novamin uygulanan grubun HRSEM görüntülerinde uniform bir şekilde poröz defektler boyunca yayılan mineral depozitleri gözlenmiştir. Florür ve CPP-ACP uygulanan mine örneklerinin HRSEM görüntülerinde mine yüzeyine dengeli bir şekilde saçılan mineral depozitleri izlenmiştir.

Frentzen ve Koort (1990) lazer-sert doku etkileşimi sonucu oluşan fototermal mekanizmanın, hiçbir fotoablasyon mekanizması göstermeden yüksek enerjili fotonların doğrudan doğruya molekülü ayrıştırabilmesiyle lazer uygulanan dokunun fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirebildiğini rapor etmiştir. Kara (2011) tez çalışmasında lazer uygulanan mine yüzeyinin termal hasar, karbonizasyon, denaturasyon ve ablasyon oluşmadan düzenli bir yapı gösterdiğini, füzyon ve krater görüntülerin oluştuğunu bildirmiştir. Cecchini ve ark. (2005), Er:YAG lazer uygulamasının mine asit direnci üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada diş yüzeyinden salınan Ca ve P miktarını ölçmüş ve yüzeyde meydana gelen değişimleri SEM ile incelenmiştir. SEM görüntülerinde mine yapısında denatürasyon veya bozulma gözlenmezken, uygulanan lazerin enerji derecesine göre değişkenlik göstererek; ekspozite mine prizmaları, farklı boyutta krater görüntüsü ve pürüzlü bir yüzey izlenmiştir.

Souza ve ark. (2009) çalışmalarında, çürük oluşturulmuş mine ve dentin yüzeyine lazer uygulamasının etkilerini SEM ile değerlendirmişlerdir. Çalışmada CO₂ lazer uygulaması sonrası mine yüzeyinde erimeler ve küçük kavitasyonlarla birlikte düzensizlik izlenmiştir. Nd:YAG lazer uygulaması sonrası mine yüzeyinde tipik erime görüntüsüyle erimiş granül ve hollerin varlığı gözlenmiştir. Diyet lazer uygulaması sonrası erimiş ve sertleşmiş bir mine yüzeyi izlenmiştir. Bedini ve ark. (2010), Nd:YAG lazerin farklı enerji seviyelerinde mine yüzeyine etkisinin değerlendirildiği çalışmasında lazer uygulaması sonrası SEM görüntülerinde sağlam mine yüzeyine göre daha pürüzlü bir yüzey izlenmiştir. Mine yüzeyinde, krater ve çatlaklar aynı zamanda vertikal çizikler ve cam benzeri alanlar gözlenmiştir. McCormack ve ark. (1995), CO₂ lazerin diş minesini üzerindeki etkilerini SEM ile inceledikleri çalışmanın bulgularında mine örneklerindeki erime ve füzyondan bahsetmişlerdir. Erime, kristallerin başlangıç durumlarından birleşmeye başladıkları an olarak tarif edilirken; füzyon, bu derecede kristallerin bir araya geldiği büyük formlu yeni kristal yapının oluştuğu süreç olarak tanımlanmıştır. Bu süreçte kristal yapı ve şeklinin farklı bir fiziksel yapı gösterdiği bildirilmektedir. Fakat erime; eşik değerini aşmaya devam ederse mine kristalleri birleşmeye ve boyutları artmaya devam eder. Sonuçta polihedral kristalleri oluşur, bu kristallerin birleşmesiyle kristallerin sınırlarının seçilemediği katı bir kütle meydana gelir. Sonuç itibarıyla ablasyon eşik değerinin altındaki SEM görüntülerinde nadiren mikroboşluklar izlenir. Bizim çalışmamızın lazer gurubu SEM görüntülerinde de erime ve füzyon alanları gözlenmektedir. Ayrıca nadiren de olsa mikroporlar görülmektedir.

Başlangıç çürük lezyonlarına CO₂ lazer, Nd:YAG lazer ve florür ile tedavi uygulanması sonrası meydana gelen değişimlerin incelendiği in-vitro çalışmada SEM kullanılmıştır (Chen ve Huang, 2009). Chin-ying ve ark. (2004)'nin lazerin minenin florür alımına etkisini araştırdıkları çalışmalarında, lazer+florür uygulamasında 2-4 µm boyutlarında CaF₂ benzeri küresel depolar gözlenmiş ve ayrıca bazı depoların kümeleşerek yüzeyi düzensiz gibi gösterdikleri belirlenmiştir. Sadece florür tedavisi yapılan grupta ise benzeri depolar lazer uygulanmış yüzeydekine oranla daha düşük bulunmuştur. Lazer uygulanan yüzeydeki florür miktarının artmasının iki olası nedeni belirtilmiştir. Lazerin termal etkisiyle florür alımını desteklenmekte veya lazer uygulandığında yüzey morfolojisi değişerek pürüzlülük ve bir takım mikroboşluklardan florür alımını artmaktadır. Çalışmada lazer florür kombinasyonunun minenin yüzey

özelliklerini, tek başına lazer uygulamasından daha fazla değiştirdiği belirtilmektedirler. Lazer uygulanmış yüzeyde mikroporlar ve mikroçatlaklar mineye florür girişini kolaylaştırabilir ancak çalışma sonuçlarında belirgin derecede artmış mikropor veya mikroçatlaklar gözlenmemektedir ve bunun dışında florür benzeri depoların varlığını belirtmiştir. Bu çalışmaya benzer olarak, bizim çalışmamızda da başlangıç mine çürüğü oluşturulduktan sonra florür uygulanan örnek yüzeylerinde CaF_2 akümülyasyonunun meydana gelmiş ve bazı bölgelerde birikmiştir, sonuç olarak mine yüzeyi düzensiz görünmektedir. Yine çalışmamızda başlangıç mine çürüğüne lazer+florür uygulanan grupta CaF_2 depolarının tek başına APF jeli uygulanan gruptan daha fazla olduğu izlenmiştir. Çalışmamızın lazer grubu, APF grubu ve L+APF grubunun bulgularıyla, Chin-ying ve ark (2004)'nın bulguları uyumluluk göstermektedir.

Kara (2011), başlangıç mine çürüğü üzerine lazer ve CPP-ACP kombine uygulaması ile de yüzeyde diğer gruptan daha yoğun bir tabaka oluştuğunu dikkati çekmektedir. Asl-Aminabadi ve ark. (2015) yaptığı çalışmada, lazer ve CPP-ACP uygulaması sonrası mine görüntüleri SEM ile incelenmiş ve lazer uygulanan grubun SEM görüntülerinde, irregüler pürüzlü bir yüzey gözlenmiştir. Tipik erime görüntüsü izlenirken, az rastlanan şekilde çatlak, devamsızlık, globül ve çukurların kaynaşmasına rastlanmıştır. Irregüler görüntüden sorumlu kavitasyon ve kraterler mevcuttur. Yine aynı araştırmacılar CPP-ACP uygulanan grubun SEM görüntülerinde, mine yüzeyine sayısız granüler partikül ve amorf kristalleri izlenirken, bu partiküllerin homojen olduğu ve açık interkristalin boşlukların hiç olmadığı belirtmişlerdir. Lazer+CPP-ACP uygulanan grubun SEM görüntüsünde, diğer tedavilere göre nispeten daha düz ve daha homojen bir görüntü izlenmiştir. Mine yüzeyinde daha az kırık gözlenmiştir. Mine yüzeyinde devamlı şekilde birçok granüler ve globüler oluşum ve amorf homojen kristaller izlenmiştir. Bizim çalışmamızda da lazer ve CPP-ACP uygulanan mine yüzeyinin SEM görüntüsü incelendiğinde tek başına CPP-ACP uygulanan mine örneğine göre daha yoğun kalsiyum fosfat depozitleri ile yüzeyi örten bir tabaka izlenmiştir.

Nie ve ark (2007), başlangıç çürük lezyonu olan dişlere distile su, florür ve ozon tedavisi uygulamıştır. Lezyonların floresans görüntüleri değerlendirildiğinde deiyonize ve ozon grubunda anlamlı bir farklılık izlenmezken, florür uygulanan grup en etkili yöntem olarak rapor edilmiştir. CLSM görüntülerinde ozon ve distile su grubunda yüzey morfolojisi birbirine benzer şekilde dizesiz ve poröz izlenirken; florür grubunda yüzey

düzdür ve boşluklar azalmıştır. Bozathıoğlu (2012) tez çalışmasında, sodyum florür ve amin florür içerikli ajan ve HealOzone–Remineralizasyon solüsyonu–Hasta kiti uygulamasının remineralizasyon etkinliğini değerlendirmiştir. 40 adet örnek demineralizasyon solüsyonunda 2 gün tutularak yapay çürük oluşturulmuştur ve remineralizasyon ajanları uygulanarak SEM ile incelenmiştir. SEM incelemesinde, demineralizasyon uygulaması sonrası minede interprizmatik boşluklar oluşmuş ve çok sayıda çukurcuk gözlenmiştir. NaF ve AmF remineralizasyon materyali uygulanmış örneklerin görüntülerinde interprizmatik boşluklar tıkanarak mine yüzeyinde yoğun çökelmeler oluşmuştur. Ancak HealOzone–Remineralizasyon Solüsyonu–Hasta Kiti uygulanmış örneklerin görüntülerinde, minede interprizmatik boşlukların yer yer tıkanığı ancak açıkta kalan çukurcuklar olduğu izlenmiştir. Bizim alışmamızda da ozon uygulanması sonrası açıkta kalan çukurcukların olduğu ve bazı interkristalin boşlukların kapandığı gözlenmiştir. Remineralizasyonu işaret eden yoğun çökelmeler gözlenmemiş ve mine yüzeyinde herhangi bir film tabakası oluşmamıştır.

Literatür incelendiğinde lazer ve novamin kombine olarak uygulandığı ve ozonun CPP-ACP ve novamin ile kombine olarak uygulandığı çalışma bulunmadığından SEM görüntüleri karşılaştırılamamıştır.

Diş sert doku bileşenleri incelendiğinde en yüksek oranda Ca ve P elementlerin olduğu ve yapılan araştırmalarda bu iki önemli element varlığında çürüğe karşı yüksek korunma sağlandığı gösterilmektedir (Muller ve ark., 2007a) Bu sebeple alışmamızda, Ca ve P elementleri değerlendirilmiştir.

Enerji dağılımlı X ışını spektroskopisi (EDS, EDX veya XEDS) bir numunenin element analizi veya kimyasal karakterizasyonu için SEM ile birlikte kullanılabilen analitik bir tekniktir (Barbour ve Rees, 2004). EDX'in in vitro çürük çalışmalarında mineral içeriğindeki değişikleri nicel olarak değerlendirmek için etkili bir yol olduğu bulunmuştur (Hegde ve Moany, 2012). Bu yöntemin avantajı, numuneyi hedefleyen odaklanmış elektron ışını ile iyi tanımlanmış morfolojik alanların mineral analizini sağlamasıdır. Böylece dokuların nispeten dar bir alanı içindeki mineral bileşimini incelemek mümkün olmaktadır (Arnold ve Gaengler, 2007).

Literatürde SEM-EDX analiz yöntemi kullanılarak yapılan çeşitli remineralizasyon çalışmaları mevcuttur (Arnold ve ark., 2003; 2007; Khoroushi ve ark., 2011; Hegde ve Moany, 2012; Gjorgievska ve ark., 2013; Mohanty ve ark., 2014).

Yaptığımız çalışmada da minede oluşturduğumuz başlangıç çürük lezyonunun yapısı ve tedavi sonrasında oluşan değişikliklerin belirlenebilmesi amacıyla SEM kullanılmıştır. Ayrıca uygulanan tedavi ajanlarının mine örneklerinin mineral düzeyinde oluşturduğu değişiklikler mikroanalitik bir teknik olan EDX kullanılarak değerlendirilmiştir. Böylece örneklerden demineralizasyon ve remineralizasyon sonrası Ca ve P oranı ölçülmüştür.

Florür ile tedavi edilen mine yüzeyinin SEM görüntülerinde tüm yüzeyi kaplayan devamlı kalın depozitler izlenebilir. Florür iyonları hidroksi gruplarıyla veya çözülmüş hidroksiapatit yer değiştirebilir ve minenin hidroksiapatit yapısına katılabilir. Florür mine yüzeyinde florürlenmiş apatit veya CaF_2 benzeri mineral şeklinde izlenir (Amaechi ve ark., 2012). CaF_2 özellikle yüksek konsantrasyonlarda topikal florür uygulaması sonrası oluşan asıl üründür ve bu minerallerin florürlenmiş apatite dönüşme eğilimi bulunmaktadır (Al-Mullahi ve Toumba, 2010). Nicolae ve ark. (2011), topikal olarak NaF uygulanmasının in-vitro olarak mine yüzeyinde meydana getirdiği değişimleri inceledikleri çalışmada, EDX analizi değerlendirmesinde Ca ve F elementleri yüksek oranda bulunmuştur. Çalışmamızda da benzer olarak florür uygulaması sonrası mine yüzeyinde Ca değerinde artış gözlenmiştir.

Lei ve ark. (2014) çalışmalarında, Ca/P oranı florür ile tedavi edilen grupta, CPP-ACP ve novamin ile tedavi edilen gruptan daha yüksek bulunmuştur. Bu sonucun florür uygulaması ile demineralize mine yüzeyine daha fazla Ca iyonunun çökmesiyle meydana geldiği söylenebilir. Bizim çalışmamızda florür, CPP-ACP ve novamin grupları birbiriyle karşılaştırıldığında, tüm remineralizasyon ajanları Ca değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış sağlamıştır. Bu artış, florür ve novamin grubunda daha fazlayken, CPP-ACP grubunda sonra daha az bulunmuştur.

CPP-ACP, kalsiyum fosfatı amorf formda stabilize etmektedir. CPP-ACP uygulanan mine yüzeyinin SEM görüntüleri incelendiğinde, mine prizmaları ve interprizmatik boşluklarda mineral depozitlerin olduğu izlenmektedir. CPP-ACP'ın remineralizasyon mekanizması mine yüzeyinde Ca ve P iyonlarının artmasıyla gerçekleşmektedir (Khoroushi ve ark., 2011).

Reynolds (1998) CPP-ACP nanokompleksinin yapıda diş yüzeyi ve dental plakla etkileşime girdiğini ve bu sayede Ca ve P iyonu için rezervuar görevi görmekte olduğunu belirtmiştir. Böylece diş yüzeyinde ve plak sıvısı içindeki serbest kalsiyum fosfatları

tamponlama görevini üstlenerek dişin mineral yapılarıyla iletişim içinde olan ACP'nin süpersaturasyonunun devamını sağlamaktadır.

Hegde ve Moany (2012), CCP-ACP patının remineralizasyon kapasitesini SEM-EDX yöntemini kullanarak incelemişlerdir. Sağlam mine örneğinin % Ca/P oranı 2.07, demineralize edildikten sonra 1.53, 35 gün uygulama sonrası 1.93 olarak bulunmuştur. CCP-ACP patının yapay olarak oluşturulmuş başlangıç çürük lezyonları üzerinde uygulama süresiyle doğru orantılı bir şekilde remineralizasyon sağlayıcı etki gösterdiği bildirilmiştir.

Gjorgievska ve Nicholson (2011)'in çalışmalarında belirttiği ancak henüz baskıda olan başka bir çalışmada, novamin ve CPP-ACP içeren diş macunlarının remineralizasyon potansiyellerinin karşılaştırılmış ve CPP-ACP uygulanan grupta yüzey Ca ve P seviyeleri artmış ve ACP depozitleri oluşmuştur.

Topaloğlu (2009) tez çalışmasında CPP-ACP içerikli patın mine demineralizasyonu üzerine etkisini değerlendirmiştir. EDX analizi sonucu demineralize edilen grupta ağırlıkça % Ca/P oranı 1.60 iken, CPP-ACP uygulanan grupta 1.99, florür uygulanan grupta 1.97 ve CPP-ACP ve florür beraber uygulanan grupta ise 2.12 olarak bulunmuştur.

Reynolds (1998), Hegde ve Moany (2012), Gjorgievska ve Nicholson, Topaloğlu (2009) çalışmalarına benzer olarak çalışmamızda, demineralize edildikten sonra CPP-ACP uygulama sonrası Ca oranında artış gözlenmiştir. Ancak bu artış flor ve novamin gruplarına göre daha azdır. Çalışmamızın in vitro olması ve plak sıvısının taklit edilememesi nedeniyle bu artış daha düşük izlenmiş olabilir.

Wang ve ark (2011), novamin içerikli bir diş macununun dentin geçirgenliği ve remineralizasyonu üzerine etkisinin incelendiği in vitro bir çalışmada, novaminin dentin geçirgenliğini azalttığı ortaya konmuştur. Novamin uygulaması sonrasında EDX analizi yoluyla incelendiğinde mineral içeriğinde artış olduğu ayrıca asit ataklara karşı direnç geliştiği gözlenmiştir.

Gjorgievska ve Nicholson (2011), bleaching uygulanan mine üzerine % 5.5 ve % 7 novamin içeren iki diş macunu uygulaması sonrası EDX analizinde Ca ve P elementlerinde artış gözlenmiştir. Bu artış % 7 novamin içeren diş macunuyla tedavi edilen örneklerde hafifçe daha yüksek bulunmuştur.

Mohanty ve ark. (2014), demineralize edilen mine örneklerine novamin içeren remineralizasyon ajanı 2 ve 10 gün boyunca uygulanmış ve kontrol grubu 10 gün yapay tükürük içerisinde bekletilmiştir. % Ca/P oranı novamin uygulandıktan hemen sonra 1.79, 2 gün sonra 1.50, 10 gün sonra 1.78 olarak bulunmuştur. Çalışmada, novamin içeren remineralizasyon ajanının 10 günlük kullanımının başlangıç çürüğü olan dişleri remineralize etme potansiyeline sahip olduğu ve EDX yönteminin in vitro çürük çalışmalarında mineral içeriğindeki değişiklikleri değerlendirmede etkili bir metot olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda da Wang ve ark (2011), Gjorgievska ve ark. (2011) ve Mohanty ve ark. (2014) çalışmalarıyla benzer olarak novamin uygulaması sonrası Ca ve P değerlerinde artış izlenmiştir.

Lei ve ark. (2014) çalışmalarında novamin, CPP-ACPF ve florür remineralizasyon potansiyellerini karşılaştırdıkları çalışmanın EDX analizi sonuçlarında, % Ca ve Ca/P oranı florür uygulanan grupta önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Kontrol ve deney gruplarında % P oranların arasında bir farklılık izlenmemiştir. Gjorgievska ve Nicholson (2010) CPP-ACP ve novamin içeren ajanların mine remineralizasyon potansiyellerini karşılaştırdıkları çalışmada EDX analiziyle mineral içeriğini analiz etmişler ve demineralizasyon grubunda Ca 36.89, P 20.55 iken, CPP-ACP grubunda Ca 39.66, P 23.22, novamin grubunda Ca 39.93, P 23.26 olarak bulunmuştur. Narayana ve ark. (2014) çalışmalarında, novamin, florür (AmF), CPP-ACP ve CPP-ACPF ajanların remineralizasyon etkinliğini EDX ile değerlendirmiştir. EDX analizinde demineralize edilen grupta Ca:31.14, P:13.24 olarak bulunurken, novamin grubunda Ca:39.99, P:14.00; florür grubunda Ca:32.31, P:14.93; CPP-ACP grubunda Ca:35.08, P:15.89 ve CPP-ACPF grubunda Ca:37.61, P:14.01 olarak bulunmuştur. EDX analizinde en yüksek Ca ve P değerleri novamin grubunda izlenirken daha sonra sırasıyla CPP-ACPF, CPP-ACP, florür ve kontrol grubunda izlenmiştir. Bizim çalışmamızda EDX analizine göre, demineralize edilen mine örneğinde Ca:32.58, P:17.22, florür ile remineralize edilen mine örneğinde Ca:41.24, P:19.56, CPP-ACP ile remineralize edilen mine örneğinde Ca:37.2, P:20,4 ve novamin ile remineralize edilen mine örneğinde Ca:41.42, P:21.5 olarak bulunmuştur. Narayana ve ark. (2014) yaptığı çalışmaya benzer olarak çalışmamızda en fazla Ca artışı novamin grubunda izlenmiştir.

Andrade ve ark (2007), Er:YAG lazerin farklı parametrelerini kullanarak ölçtükleri Ca ve P analizi sonucunda; Ca/P oranlarını değerlendirdikleri çalışmada, enerji yoğunluğu arttıkça mine yüzeyinde morfolojik değişimlerin arttığını ve Er:YAG lazer uygulanan grupta daha yüksek çürük direncinin oluştuğunu bildirmişlerdir. Kara (2011), tez çalışmasında ablasyon eşik değeri altında kullanılan Er:YAG lazer uygulamasında tek başına kullanımında bile minenin asit direncinin arttırdığı gözlemlenmiştir. Bevilacqua ve ark. (2008)'nın Ca, P ve florür ölçümü yaptıkları çalışmada, Er:YAG lazerin asit çözünürlüğünü azalttığı, florür alımının arttığı ve koruyucu diş hekimliğine alternatif bir metot olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca Er:YAG lazerin florürle kombine kullanımının tek başına kullanımdan daha etkili olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da demineralize mine yüzeyine lazer uygulaması Ca ve P değerlerini arttırmıştır. Lazer ve florürün beraber uygulanması tek başına florür uygulanmasıyla karşılaştırıldığında ise Ca ve P alımında sinerjik etki sağlamıştır ve bu etki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur .

Bu çalışmalardan farklı olarak yapılan bir çalışmada düşük güçlü kırmızı lazerin ratlardaki diş çürüğünü önleme üzerine etkilerini araştırmışlar ve florür ve lazerin tek başına ve kombinasyonlarına bakıldığında florür grubu, lazer+florür grubu ve florür+lazer grubu arasında Ca-P analizi bakımından bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte lazer grubunun tek başına çürüğü önlemede florür ve kombinasyon tedavilerinden daha etkin olmadığını belirtmişlerdir (Muller ve ark., 2007a).

Nd:YAG lazer ve CPP-ACP uygulamasının, süt dişlerinin başlangıç mine çürüğü üzerine etkisini değerlendirildiği bir çalışmada Asl-Aminabadi ve ark (2015), başlangıç mine çürüğü oluşturulan örneklerle Nd:YAG lazer, CPP-ACP ve CPP-ACP+lazer uygulanmıştır. Tek başına lazer ve tek başına CPP-ACP uygulanan gruplarındaki Ca ve P oranları istatistiksel olarak önemli değildir. Lazer ve CPP-ACP kombine uygulanan grupta Ca ve P oranları diğer gruplardan anlamlı derecede fazla bulunmuştur. Çalışmamızda da, lazer+CPP-ACP uygulanan grupta Ca ve P oranları, lazerin tek başına ve CPP-ACP'in tek başına uygulandığı gruptan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

EDX analizi kullanılarak lazer+novamin, ozon, ozon+flor, ozon+CPP-ACP ve ozon+novamin değerlendiren çalışma bulunmadığından çalışmamızın bu gruplarının element analizi literatürle karşılaştırılamamıştır.

Mikrosertlik, diş sert dokularının mineral içeriğini analiz etmede kullanılan başarılı bir yöntemdir. Minede mineral kaybının kantitatif değerdendirilmesi için kullanılan mikrosertlik testinin çalışma prensibi, demineralize ve remineralize minedeki mineral yüzdesi ile minenin mikrosertliği arasında iyi bir korelasyon bulunması esasına dayanmaktadır (Çelik ve ark., 2011; Kulan, 2014). Demineralizasyon ve remineralizasyon uygulamaları sırasında yüzeyde oluşan değışikliklerin ölçülmesi mine yüzeylerinin sertlik dereceleri de hesaplanarak yapılabilmektedir. Featherstone ve ark. (1983), günümüzde popüler bir teknik olan mikroradyografi ve mikrosertlik tekniği ile yaptıkları karşılaştırmalı bir çalışmada, her iki tekniğin de demineralizasyon ve remineralizasyon sonucu oluşan mine profilinin saptanmasında çok etkili olduklarını bildirmiştir.

Diş sert dokularındaki mineral kaybı ve kazanımlarının indirekt olarak ölçülmesinde mikrosertlik ölçümünün kolaylık sağladığı bildirilmiştir (Philips ve Woodward, 2000; Casals ve ark., 2007). Mikrosertlik ölçümü basit, yıkıcı olmayan, kolay ve hızlı bir metottur (Zamfirova ve ark., 2003), ayrıca aynı örneğin tekrarlı ölçümlerine izin verir ve böylece deneysel varyasyonları azaltır (Argenta ve ark., 2003). Bu sebeplerle ve aynı zamanda da kantitatif ölçümlere göre kolay ve pratik uygulanabilirliği sebebiyle çalışmamızda mikrosertlik analiz yöntemi tercih edilmiştir.

Çalışmalarda mikrosertlik ölçümü amacıyla farklı yüzey sertlik testleri kullanılmaktadır. Barcol sertlik testi de yüzey sertliğini belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Sertlik değeri 1 mm çapında olan ve test edilen yüzeye bastırılan bir yay yüklü iğne olan barcol izaçar ucunun, sertliği ölçülecek materyale penetrasyon derinliğine göre belirlenir. Cetvelde okunan değeri izaçar yüzeye penetre ettikçe azalır, bundan dolayı ilk okunan değeri gerçek değerdendir (Braga ve ark., 2012). Vickers ve Knoop gibi bazı sertlik testlerinin dezavantajlardan birisi, izaçar çekildikten sonra sertlik izinin mikroskopik olarak ölçülme zorluğudur. Bu ölçümler, optik sistemin çözünürlüğünden, araştırmacıların algısından ve materyalin elastik olarak yeniden düzelmesinden etkilenmektedir (Shahdad ve ark., 2007). Ölçümlerin direkt olarak izlenebilme kolaylığı ve taşınabilir olması nedeniyle Barcol sertlik ölçüm cihazı yüzey sertliğini değerdendirmede kullanılmaktadır (Kauppi ve Combe, 2003; Jun ve ark., 2013). Çalışmamızda bu sebeplerden dolayı Barcol yüzey sertlik cihazını kullanılmıştır.

Florür, mineral yapının çözünürlüğünü azaltarak/inhibe ederek, bakteriler tarafından asit üretimini engelleyerek remineralizasyonu artırır (Ogaard, 1990; Hellwing ve Lussi, 2001). Florür bakterilerin ürik asit kapasitesini ve ayrıca ürettikleri glukanları etkileyerek bakteriyel plağın ekolojisini değiştirmektedir, böylece minenin demineralizasyon ve remineralizasyon prosedürlerinde önemli bir etkiye sahiptir (Guimaraes ve ark., 2000). pH düşüğünde yüzeyde bulunan florür düşük çözünürlükte floroapatit oluşturarak demineralizasyonu inhibe eder, remineralizasyonu sağlar (Fejerskov, 2004).

Profesyonel florür uygulamasının antikaryojenik etkisi klinik tedavi sırasında minede oluşan reaksiyon ürünleri ve uygulamadan sonraki zaman içerisinde retansiyonuna bağlı olarak değişir (Villena ve ark., 2009). Topikal florür uygulaması sonrası yüzeyde CaF₂ depozitleri oluşur, bu depozitler demineralizasyon sürecinde bir rezervuar olarak görev yaparak florür salınımını sağlar. Bu depozitler, in vivo olarak minerallerin doku sıvısı, tükürük veya plak sıvısına migrasyonu ve difüzyonuyla zamanla azalır. Bu sebeple, topikal florürün birkaç defa uygulanması antikaryojenik etkinin devamı için gereklidir. Dental sert dokulara güçlü etkileşimi sebebiyle lazerler çürük önlenmesinde kullanılmaktadır (Bevilacqua ve ark., 2008). Lazer uygulaması sonrası mine yüzeyinde mikroboşluklar oluşmaktadır. Florürün bu mikroboşluklara infiltre olmasıyla diş yüzeyine alınması artmaktadır (Oho ve Morioka, 1990). Florürün antikaryojenik etkisinin devamını sağlamada diğer bir alternatif lazer uygulamasıyla kullanılmasıdır.

Florürün fazla alımında florozis gibi yan etkiler olabilmektedir. Aynı zamanda düz yüzeylerde etkili olmasına rağmen pit ve fissür çürüklerindeki etkisi sınırlıdır (Brown, 1974). Florürün remineralizasyon etkisi ancak bu etki tükürükteki Ca ve P iyonlarının varlığına bağlıdır. Bu sebeple son zamanlarda araştırmacılar, diş minerallerini restore edebilecek çeşitli kalsiyum fosfat bazlı teknolojilere odaklanmıştır (Fejerskov, 2004). Günümüzde CPP-ACP, Recaldent™ (Recaldent Pty Ltd., Melbourne, Australia) ticari ismi altında pazarlanmaktadır. Topikal kullanıma uygun topikal jeller (Tooth Mousse™; GC Corp., Japan), şekeriz çikletler (Recaldent™, GC Corp., Japan ve Trident White™; Cadbury Adams USA, Parsippany, New Jersey,USA) ve naneli drajeler (Recaldent Mints™;Cadbury Japan altd., USA) bulunmaktadır (Keskin ve Güler, 2013).

CPP-ACP'nin başlangıç çürüğünün remineralizasyonu ve demineralizasyonun önlenmesi üzerine etki gösterdiği ve bu etkinin de CPP'nin Ca ve P'ü diş yüzeyinde stabilize etme kabiliyetinden kaynaklandığı bir çok çalışmada rapor edilmiştir (Reynolds, 1997; Rose, 2000; Shen ve ark., 2001; Oshiro ve ark., 2007; Hegde ve Moany, 2012; Peric ve ark., 2014). CPP-ACP'nin antikaryojenite mekanizması, koloidal kalsiyum fosfat kompleksleridir, bunlar plak Ca ve P seviyesini arttırarak mine demineralizasyonunu baskılamakta ve remineralizasyonu arttırmaktadır (Reynolds ve ark., 1995). CPP-ACP dental plak ve diş yüzeyinde bulunarak bir Ca ve P rezervuarı olarak görev yapmaktadır. Plak Ca ve P seviyesi ile çürük oluşumu arasında ters bir ilişki olması da CPP-ACP'nin bu mekanizmasının demineralizasyonu önlemede ideal bir mekanizma olduğunu göstermektedir (Reynolds ve ark., 2003). Yapılan çalışmalarda kazeinin triptik peptitlerinin intraoral plağa dahil olarak plak Ca ve P miktarını arttırdığı bulunmuştur (Reynolds, 1998). Çalışmamızda CPP-ACP uygulanan grup demineralize mineden daha fazla sertlik değerleri göstermiştir. CPP-ACP uygulama sonrası ajan içerisindeki Ca ve P iyonlarının yüzeye çökerek mikrosertlikte artışa sebep olduğu söylenebilir.

Peric ve ark. (2014), CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanlarının demineralize minenin remineralizasyonu sağladığını rapor etmişlerdir. Reynolds (1997), çalışmasında CPP-stabilize kalsiyum fosfat solüsyonlarının üçüncü molar dişlerde yüzeyaltı lezyonlarını remineralize ettiğini bildirmişlerdir.

Hegde ve Moany (2012), CCP-ACP patının remineralizasyon kapasitesini SEM-EDX yöntemini kullanarak incelemişlerdir. Sonuç olarak, CCP-ACP patı yapay olarak oluşturulmuş başlangıç çürük lezyonları üzerinde remineralizasyon sağlayıcı etki göstermiştir. Bu etki uygulama süresi ile doğru orantılı olarak artmıştır.

Shen ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada CPP-ACP içeren sakızların mine yüzey altı lezyonlarının remineralizasyonuna etkisini araştırmışlardır. Kontrol grubu olarak CPP-ACP içermeyen (sorbitol ve xylitol içeren) sakızlar kullanılmıştır. Sonuç olarak sorbitol ve xylitol içeren sakızlarda tükürük akışını stimule etmede ve mine remineralizasyonunda önemli bir farklılık gözlenmezken, CPP-ACP içeren sakızların kullanımı mine remineralizasyonunda anlamlı derecede arttırmıştır.

Iijima ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada CPP-ACP içeren sakızların remineralize ettiği yüzey altı lezyonlarının asit direncini araştırmışlardır. Çalışmada 18.8

mg CPP-ACP içeren sakız ve CPP-ACP içermeyen sakızın kullanıldığı 2 grup oluşturulmuştur. Demineralize yüzey altı lezyonu içeren mine örnekleri hareketli palatal aperey ile ağız ortamına yerleştirilmiştir. Her iki gruba da 14 gün boyunca günde 4 kez 20 dk süreyle sakız çiğnetilmiştir. Mine örnekleri ikiye bölünmüş ve her bir yarısı 8 ya da 16 saat asit içerisinde bekletilmiştir. Bu işlem sonucunda kontrol grubunda mineral içeriğinde % 65.4 ve % 88.0 azalma görülürken, çalışma grubunda bu değer % 30.5 ve % 41.8 bulunmuştur. Sonuç olarak CPP-ACP içeren sakızları çiğneyen bireylerde remineralize mineralin, asit değişikliğine daha dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Rahiotis ve Vougiouklakis (2007), CPP-ACP ajanının dentinin demineralizasyonu ve remineralizasyonu üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında 40 dentin örneği hazırlamış ve 4 gruba ayırmışlardır. 1.gruba CPP-ACP uygulanırken 2.gruba herhangi bir ajan kullanılmamış ve bu iki grup 7 gün demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. 3.gruba CPP-ACP uygulanırken 4.gruba herhangi bir ajan kullanılmamış ve bu iki grup 7 gün yapay tükürük solüsyonunda bekletilmiştir. Örneklerin yüzey analizi mikro multiple reflektans infrared spectroscopy (micro MIR-FTIR) ile yapılmıştır. Sonuç olarak CPP-ACP içeren ajan uygulanan dişler diğerlerine göre daha düşük demineralizasyon, daha yüksek remineralizasyon göstermiştir.

Pai ve ark. (2008), CPP-ACP içerikli patın başlangıç çürüklerinin remineralizasyonu üzerine etkisini SEM ve QLF yöntemlerini kullanarak incelemiştir. Demineralize mine örneklerine 14 gün boyunca CPP-ACP içerikli pat uygulanmış ve sonuç olarak QLF değerleri ve SEM görüntülerinden elde edilen skorlar karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde remineralizasyonu arttırdığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda da Peric ve ark. (2014), Hegde ve Moany (2012), Shen ve ark. (2001), Iijima ve ark. (2004), Rahiotis ve Vougiouklakis (2007) ile Pai ve ark. (2008) çalışmalarına benzer olarak demineralize edilen mine örneğine CPP-ACP uygulanması sonucu remineralizasyon sağlanmıştır.

Ambarkova ve ark. (2013), 34 adet mine örneği hazırlamış ve 8 gruba bölmüştür. İlk grup kontrol grubu olarak seçilmiş ve herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. Diğer tedavi gruplarına, florür jel ve vernikleri Florürin Gel N5 (Florüre gel), Fluorogal forte (NaF 8400 ppm, FH2 2600 ppm), Fluor Protector Gel (1450 pp-mF), Biflorür 12 (NaF 27 100 ppm, CaF 29 200), Fluor Protector varnish (NaF 22.600 ppm, Cervitec Gel (900

ppm) and CPP-ACP içeren Tooth Mousse uygulanmıştır. pH siklus maruz bırakılmış ve mikrosertlik değerleri değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, yüksek florür içeren florür jel ve vernikleri ve CPP-ACP içeren ajanların mine demineralizasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir.

Oliveira ve ark. (2014), başlangıç çürüklerin tedavisinde CPP-ACP, CPP-ACPF ve florür (5000 ppm florür içeren NaF) içeren remineralizasyon ajanlarının etkinliği araştırılmıştır. Mine yüzeylerinde başlangıç çürükleri oluşturulmuş ve 4 gruba ayrılarak 30 gün boyunca tedaviler uygulanmıştır. QLF lezyon alan ve derinliği incelenmiştir. 10 gün sonunda florür içeren ajan yeterli remineralizasyon sağlamıştır. CPP-ACPF içeren ajan sadece CPP-ACP içeren ajana göre mine lezyonlarını daha iyi remineralize etmiştir. Çalışmanın sonucunda 5000 ppm florür içeren remineralizasyon ajanı en iyi remineralizasyon etkinliği göstermiştir.

Patil ve ark. (2013), mine örnekleri üzerine 7 gün boyunca CPP-ACP, CPP-ACPF, % 0.2 NaF içeren trikalsiyum fosfat (TCP-F) ve yapay tükürük uygulamıştır. Çalışmada başlangıç, demineralizasyondan sonra ve remineralizasyondan sonra, DİAGNOdent ve SEM ile remineralizasyon etkinlikleri değerlendirilmiştir. SEM görüntülerinde sağlam mine düzgün bir yüzey görüntüsü oluştururken demineralizasyon sonrasında irregüler düzensiz bir görüntü oluşmuştur. Remineralizasyondan sonra tüm gruplarda remineralizasyon sağlanırken TCP-F uygulanan grupta diğer iki gruba göre daha düzenli bir yüzey görüntüsü elde edilmiştir. Çalışmanın sonucunda üç tedavi grubunda da istatistiksel olarak anlamlı remineralizasyon sağlanmıştır. En fazla remineralizasyon etkinliğini florür (TCP-F) gösterirken, sırasıyla CPP-ACPF ve CPP-ACP daha az remineralizasyon sağlamıştır.

Vyavhare ve ark. (2015), başlangıç mine çürük lezyonlarında nano-hidroksiapatit, CPP-ACP ve florür ajanlarının etkinliğini mikrosertlik ve SEM analizi kullanılarak karşılaştırıldığı çalışmada, tüm ajanlar etkin bulunurken en iyi remineralizasyon potansiyeli nano-hidroksiapatit ve florür ajanları göstermiştir. Çalışmanın sonucunda CPP-ACP remineralizasyon sağladığı ancak florüre alternatif bir ajan olarak kullanılamayacağı rapor edilmiştir.

Shetty ve ark. (2014)'nın yaptığı çalışmada, 50 adet çekilmiş insan molar dişi demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş ve sonrasında CPP-ACP, CPP-ACPF ve florür ajanları uygulanmıştır. Tedavi öncesi ve sonrası yüzey mikrosertlik değerleri

kaydedilmiştir. Çalışmanın sonucunda, CPP-ACP başlangıç mine çürüklerini remineralize etmiştir, ancak florür ve CPP-ACPF içeren ajanlar CPP-ACP içeren ajandan daha iyi remineralizasyon sağlamıştır.

Ambarkova ve ark. (2013), Oliveira ve ark. (2014), Patil ve ark. (2013), Vyavhare ve ark. (2015) ile Shetty ve ark. (2014) çalışmalarına benzer olarak bizim çalışmamızda da CPP-ACP demineralize minenin remineralizasyonunu sağlamıştır, florür ajanının remineralizasyon etkisi CPP-ACP'tan daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızın bu sonucunun farklı şekilde rapor edildiği çalışmalar da mevcuttur. Pulido ve ark. (2008) in vitro olarak yaptıkları çalışmada, CPP-ACP, florür ve bu ikisinin kombinasyonunu, yapay tükürük ve 5000 ppm'lik sodyum florür çözeltisiyle karşılaştırmışlardır. 5000 ppm'lik sodyum florür çözeltisi çürüğü en çok önlerken; florür, CPP-ACP ve bunların kombinasyonları arasında bir fark bulunamamıştır. Tek başına CPP-ACP'nin çürüğü önleme açısından çok etkili olmadığı, ileriki çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir.

Yapılan in vivo bir çalışmada, Brochner ve ark. (2011), ortodontik tedavi gören ve başlangıç çürüğü bulunan 60 hastayı 2 gruba ayırmışlardır. Bir grup florür içeren diş macunu kullanırken diğer grup CPP-ACP içeren ajanı kullanmışlardır. 4 hafta sonra yapılan klinik muayenede QLF ve dijital fotoğraflarla çürüklerin durumu değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda çürük lezyon alanında CPP-ACP grubunda % 58 azalma varken florür grubunda % 26 azalma izlenmiştir, ancak florür ve CPP-ACP arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Taleb ve ark. (2012), demineralize mine örneklerinde CPP-ACP ve APF jelin remineralizasyon potansiyelini değerlendirdikleri çalışmada 30 çekilmiş insan dişini 3 gruba ayırmışlardır. Birinci grup kontrol grubu olarak tayin edilirken, ikinci ve üçüncü gruplara sırasıyla CPP-ACP ve florür uygulanmıştır. Mikrosertlik değerleri karşılaştırıldığında, florür ve kontrol grupları arasında herhangi bir farklılık izlenmezken, CPP-ACP uygulanan grup daha etkili bir remineralizasyon sağlamıştır.

Somasundaram ve ark. (2013), 30 mine örneği CPP-ACP, florür ve kontrol grubu olarak 3 gruba ayrılmıştır. Örnekler daha sonra demineralizasyon-remineralizasyon siklusuna maruz bırakılmış ve lazer taramalı konfokal mikroskopla (CLSM) lezyon derinlikleri değerlendirilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında lezyon derinliğinde azalma florürlü diş macunu uygulanan grupta % 56.96 iken, CPP-ACP uygulanan grupta

% 65.66 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, her iki tedavi grubu da remineralizasyon etkinliği göstermiş, ancak en düşük lezyon derinliği CPP-ACP içeren ajanın kullanıldığı grupta izlenmiştir.

Hicks ve Flaitz (2000) mine çürüklerin önlenmesinde florür ve CPP-ACP ajanlarının günde 3 kez kullanımını değerlendirdikleri çalışmalarında, florür uygulanan grupta lezyon derinliğinde % 40 azalma sağlarken, CPP-ACP uygulanan grupta % 59 azalma sağlamıştır.

Bizim çalışmamızda Pulido ve ark. (2008), Brochner ve ark. (2011), Taleb ve ark. (2012), Somasundaram ve ark. (2013) ile Hicks ve Flaitz (2000) yaptığı çalışmalardan farklı olarak florürün remineralizasyon etkinliği CPP-ACP'den daha fazla bulunmuştur.

Novamin, mine yüzeyinde yüksek konsantrasyonlarda Ca ve P birikimini sağlayan, nispeten yeni ve az çalışılmış bir remineralizasyon ajanıdır (Azarpazhooh ve Limeback, 2008b). Novamin, suda yüksek derecede reaktif bir materyal olan amorf sodyum-kalsiyum-fosfosilikat içeren seramik bir materyaldir ve ince partiküllü tozları dentin tübüllerini tıkamaktadır (Gjorgievska ve Nicholson, 2010). Novaminin hassasiyet azaltmadaki başarısı ve etki mekanizması bir remineralizasyon ajanı gibi etki göstermesi sebebiyledir. Mine ve dentinin remineralizasyonu arttırmakta ve demineralizasyonu önlemektedir (Burwell ve ark., 2009) ve remineralizasyon teknolojisinde büyük bir buluş olarak düşünülmektedir (Wefel, 2009). Novamin uygulandığında mine prizmaları ve interprizmatik boşlukları depozitlerin doldurmasıyla mikrosertlik değerinde artış sağlanmaktadır. Çalışmamızda novamin uygulanmasına bağlı sertlik artışının nedeni bu şekilde açıklanabilir.

Novamin uygun bir ortam (tükürük vs) içerisine bırakıldığında; yüzeyin kaplanması, SiO₂ bileşiklerinin çözünmesi ve apatit tabakası oluşturması için Ca ve P iyonlarının çökmesi olmak üzere 3 faz yüzey reaksiyonu meydana gelir (Madan ve ark., 2011). Uygun bir ortamda (tükürük vs), novamin partiküllerinden salınan Na⁺ iyonları hızlı bir şekilde H⁻ iyonlarıyla yer değiştirir ve H₃O⁺ formu oluşur. Böylece novaminden Ca ve P iyonları salınır (Andersson ve Kangasniemi, 1991). Su veya tükürük gibi sıvılarla ilk teması sırasında Na⁺ salımına bağlı olarak lokalize ve kısa süreli bir pH artışı meydana gelir. pH'daki bu artış novaminden ekstra Ca ve P iyonlarının çökmesine yardımcı olur ve bir kalsiyum fosfat tabakası oluşur. Bu reaksiyonların devam etmesiyle, bu tabaka HCA tabakasına kristalize olur (Gjorgievska ve Nicholson, 2011). Diğer

kalsiyum fosfat teknolojilerinden farklı olarak, novaminden salınan iyonlar, ara bir ACP fazı olmadan doğal diş minerallerine kimyasal olarak benzer bir mineral olan HCA tabakası oluşturur. Bu partiküller ayrıca diş yüzeyine bağlanır ve uygulama sonrasında iyon salınımı ve dişin remineralizasyonu devam eder. Bu depozitler sıkı bir şekilde bağlanmıştır, fırçalama veya yıkamayla uzaklaştırılmaz. Bu partiküllerin iyon salınımı yaptığı ve 2 haftada HCA tabakası oluşturduğu in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Burwell ve ark., 2009).

Wang ve ark. (2011), novamin içeren diş macununun dentin geçirgenliğini azalttığını ve asit ataklarına karşı direnç geliştirdiğini ortaya koymuşlardır. Gjorgievska ve ark. (2011), bleaching uygulanan mine üzerine novaminin remineralizasyon etkilerini araştırmışlardır ve novaminin remineralizasyon sağladığını rapor etmişlerdir. Mohanty ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, novamin içeren remineralizasyon ajanının başlangıç çürüğü olan dişleri remineralize etme potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir.

Gjorgievska ve ark. (2013), novamin, hidroksiapatit ve stronsiyum asetat katılmış florür içerikli diş macunlarının demineralize edilmiş minde meydana getirdiği değişiklikleri SEM ve SEM/EDX analiz yöntemlerini kullanarak inceledikleri çalışmada; novamin ve hidroksiapatitin demineralize mine yüzeyinde depolanma ve koruyucu yüzey tabakası oluşturmak suretiyle remineralizasyonu arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Andersson ve ark. (1991), yaptıkları SEM çalışmasında, novamin uygulanan mine yüzeyinde CPP-ACP uygulanan yüzeyle kıyaslandığına, daha yoğun ve daha sıkı bağlanan daha büyük ve daha açılabilir depozitlerin varlığı izlenmiştir. Bizim çalışmamızda da CPP-ACP uygulanan gruba göre novamin uygulanan grupta izlenen yüksek mikrosertlik değerleri novamin diş yüzeyine daha sıkı ve yoğun bağlanması sebebiyle açıklanabilir.

Ballard ve ark (2013), başlangıç çürüğü olan dişlere florür, CPP-ACP ve novamin içeren remineralizasyon ajanlarının etkilerini incelemişlerdir. 40 premolar diş rastgele 4 gruba ayrılarak demineralizasyon solüsyonunda bekletilmiş ve yaklaşık 100 µm derinliğine başlangıç lezyonu oluşturulmuştur. İlk grup kontrol grubu olarak tayin edilmiş yapay tükürük içerisinde bekletilmiştir. Diğer gruplara tedavi olarak, novamin içeren Dr. Collins Restore toothpaste; florür içeren ajan Colgate Prevident 5000 ve CPP-ACP içeren ajan MI Paste Plus uygulanmıştır. Tedavi uygulanmadan önce, tedavi uygulandıktan hemen sonra, 7 gün sonra, 14 gün sonra, 21 gün sonra ve 28 gün sonra örnekler standart

bir kamera ile fotoğraflanarak estetik olarak değerlendirilmiştir. Tedavi öncesi ve 28 gün sonra arasında değişiklikler karşılaştırıldığında 4 grup da benzer özellikler göstermiştir. Test edilen ajanların üçü de white spot lezyonların remineralizasyonunda estetik sonuçlar göstermiştir, aralarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

Gjorgievska ve Nicholson (2010) CPP-ACP ve novamin içeren ajanların mine remineralizasyon potansiyellerini karşılaştırmışlardır. 15 çekilmiş diş 3 gruba ayrılmıştır. Demineralize edildikten sonra ilk grup kontrol grubu olmak üzere diğer gruplara test edilen ajanlar uygulanmıştır. EDX analiziyle mineral içeriği analiz edilmiş ve örneklerden SEM görüntüleri elde edilmiştir. *In vitro* çalışmanın limitasyonları içerisinde çalışmada CPP-ACP ve novamin içerikli ajanların minenin remineralizasyonunda etkili olduğu rapor edilmiştir.

Diamanti ve ark (2010), çalışmalarında farklı konsantrasyonda florür içeren ve novamin içeren ajanların dentin remineralizasyonundaki etkilerini araştırmışlardır. 2.800 ve 5.000 ppm florür içeren ajanlar birbirine benzer ancak 1.450 ppm florür ve novamin içeren gruptan daha yüksek dentin remineralizasyonu sağlamışlardır. Novamin kontrol grubuna göre remineralizasyon etkisi göstermiştir. Bu çalışmalarla benzer olarak bizim çalışmamızda da novamin demineralize edilen minenin sertliğini artırarak etkili bir remineralizasyon sağlamıştır.

Mehta ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada novamin ve CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanlarının etkinliğini değerlendirmişlerdir. 30 insan premolar diş örneği elde edilmiş ve 2 gruba ayrılarak novamin ve CPP-ACP ajanları uygulanmıştır. Demineralizasyon solüsyonunda 96 saat bekletilerek yapay çürük lezyonları oluşturulmuş, başlangıç ve tedavi sonundaki mikrosertlik değerleri karşılaştırılmıştır. Her iki remineralizasyon ajanı remineralizasyon sağlasa da, novamin içeren remineralizasyon ajanı CPP-ACP içeren remineralizasyon ajanıyla karşılaştırıldığında daha iyi remineralizasyon etkinliği göstermiştir. CPP-ACP'nin rolü, diş yüzeyinde ACP'nin lokalizasyonu ve serbest Ca ve P iyonların tamponlanması, böylece süper saturasyon durumunun devamını sağlamaya yardımcı olması şeklinde tanımlanmaktadır. CPP-ACP lezyona uygulandığında, CPP mine lezyonu içerisine difüze olan Ca ve P iyonlarının yüksek bir konsantrasyonda tutan yarı dengeli bir solüsyon içerisinde Ca ve P iyonlarını stabilize eder (Grenby ve ark., 2001). CPP-ACP amorf yapıda olduğu ve mine yüzeyine bağlanmadığı için daha düşük sertlik değerleri göstermiştir. Ancak novamin diş yapısına

bağlanır ve diş yüzeyi daha kısa bir zamanda gereken sertliğe ulaşarak remineralizasyon sağlanmaktadır. Bizim çalışmamızda da novamin grubu CPP-ACP grubundan daha yüksek mikrosertlik değerleri göstererek Mehta ve ark. (2014) yaptığı çalışmayla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Lei ve ark. (2014) çalışmalarında novamin, CPP-ACPF ve florür ajanlarının remineralizasyon potansiyellerini karşılaştırmışlardır. Dişler demineralize edilerek çürük lezyonu oluşturulmuş, birinci grup (kontrol grubu) distile suda bekletilmiştir. Diğer gruplara ajanlar 4 saat uygulandıktan sonra tüm örnekler remineralizasyon solüsyonunda bekletilmiştir. 10 gün sonra örneklerin mikrosertlik ölçümü, EDX analizi ile % element seviyeleri ve SEM görüntüleri elde edilerek karşılaştırma yapılmıştır. ATR-FTIR analizinde C/M (karbonat/mineral) oranı değerlendirilmiştir. Tüm grupların yüzey sertliği kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken, gruplar arasında en yüksek mikrosertlik değeri florür grubunda elde edilmiştir. Çalışmanın sonucu olarak; novamin ve florür grubunda, CPP-ACP grubuna göre önemli derecede daha yüksek remineralizasyon sağlanmasına rağmen florür uygulamasının en iyi ve en uygun seçenek olduğu rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmayla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Literatür tarandığında farklı sonuçlar bildiren çalışmalar da bulunmuştur. Vahid ve ark. (2012), 60 çekilmiş dişi önce pH siklusa maruz bırakmış ve ardından novamin ve florür içeren remineralizasyon ajanı uygulamışlardır. Mikrosertlik değerlerindeki değişim değerlendirildiğinde novamin uygulanan grup, florür uygulanan gruptan daha iyi bir remineralizasyon sağlamıştır. (% 1.1 NaF)

Balakrishnan ve ark (2013), 45 adet çekilmiş premolar diş demineralizasyona maruz bırakılmıştır ve remineralizasyon için tedaviler uygulanmıştır. 3 gruba ayırarak f-TCP+NaF, CPP-ACP ve novamin içeren remineralizasyon ajanları 30 gün boyunca uygulanmıştır. Mikrosertlik değerleri ölçülmüştür. 30 gün sonunda mikrosertlik ve mineral içeriğinde değişimler incelendiğinde CPP-ACP en yüksek remineralizasyon etkinliği göstermiştir, florür ve novamin grupları arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır. Çalışmamızda Vahid Golpayegani ve ark. (2012) ve Balakrishnan ve ark. (2013)'nın yaptığı çalışmalardan farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızdan farklı sonuçlar rapor eden başka bir çalışmada, 20 adet mine örneği pH siklusa maruz bırakılıp yapay çürük lezyonları elde edilmiştir. Dişler 1.grup:

novamin, 2.grup: florür, 3.grup: CPP-ACP, 4.grup: CPP-ACPF ve 5.grup: kontrol olmak üzere rastgele gruplara ayrılmıştır. 10 gün boyunca günde 10 dk ajanlar uygulanmıştır. Yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu (High resolution scanning elektron microscope) (HRSEM) ile EDX ile remineralizasyon ajanlarının etkinliği değerlendirilmiştir. Tüm ajanlar mine başlangıç çürüklerinin remineralizasyonunda etkili bulunurken, en iyi remineralizasyon etkinliğini novamin içeren remineralizasyon ajanı göstermiştir (Narayana ve ark., 2014).

Florür bileşikleri NaF, sodyum monoflorofosfat veya amin florür (AmF) şeklinde bulunabilir ve oluşturdukları CaF₂ bileşikleri farklılık gösterir. Böylece farklı florür bileşikleri farklı derecede remineralizasyon etkisi göstermektedir. Narayana ve ark. (2014) yaptığı çalışmada amin florür kullanılması sebebiyle bizim çalışmamızdan farklı bir şekilde florür ajanının remineralizasyonu novamin ajanından daha az olarak bulunmuş olabilir.

Rehder Neto ve ark. (2009) yaptığı çalışmada, sığır dişleri toplanarak mine örnekleri elde edilmiştir. Başlangıç mikrosertlik değerleri ölçülmüş ve sonrasında başlangıç çürüğü oluşturulmuştur. Florür, novamin, CPP-ACP, CPP-ACPF içeren remineralizasyon ajanları uygulanmış ve tedavi sonrası mikrosertlik ölçümleri hesaplanarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında novamin ve sonrasında florür en yüksek remineralizasyon sağlamıştır. İçerisindeki florür içeriğinden dolayı daha yüksek olması beklenmesine rağmen CPP-ACPF ve CPP-ACP arasında remineralizasyon derecesi açısından anlamlı bir artış gözlenmemiştir. Bu çalışmada novamin teknolojisinin remineralizasyon etkisinin yüksek olduğu gösterilmiştir, ancak düzenli florür içeren diş macunu kullanımı çürük lezyonların ilerlemesinin kontrolünde en iyi ve en mantıklı seçenek olarak rapor edilmiştir.

Lazerlerin başlangıç çürüklerinin remineralizasyonu amacıyla; diyot, argon, Nd:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG, CO₂ lazerler kullanılmaktadır (Apel ve ark., 2002; Santaella ve ark., 2004; Ying ve ark., 2004; Westerman ve ark., 2006; Tagliaferro ve ark., 2007). Çeşitli çalışmalarla diyot lazerlerin su ve hidroksiapatit tarafından absorpsiyonunun çok düşük olması nedeniyle sert dokularda bu lazerin kullanımının çok uygun olmadığı rapor edilmiştir (Coluzzi, 2004). Diyot, argon ve Nd:YAG lazerler yumuşak doku için kullanıldığı için çalışmamızda tercih edilmemiştir. CO₂ lazerler, erbiyum lazer ailesinden önce çürük önleme üzerinde oldukça fazla popülaritesi

bulunmaktadır ancak yüksek ısı verdikleri için karbonizasyon riski oluşturmaktadır. Bu nedenle mevcut çalışmada kullanılmamıştır (Malmstrom ve ark., 2001). Fakat bu lazerlerin pulse atım süreleri değiştirilerek ve dalga boyları ayarlanarak istenilen doğrultuda kullanılabilirdiği iddia edilmektedir (Featherstone ve ark., 1998; Rodrigues ve ark., 2004). Çalışmamızda tercih edilen lazer tipi Er:YAG lazerdir ve çürük önleme konusunda bu lazerle ilgili literatürde birçok çalışma yer almaktadır (Ying ve ark., 2004; Cecchini ve ark., 2005; Liu ve ark., 2006; Liu ve Hsu, 2007; Bevilacqua ve ark., 2008; Liu ve ark., 2013b; Mathew ve ark., 2013; Yassaei ve ark., 2014).

Çürük önlemede lazerin etkisi, yüzeyde ısı oluşumuna rağmen minede meydana gelen kimyasal, fiziksel ve kristalin değişikliklere dayanmaktadır (Zezell ve ark., 2009). Çürüğün önlenmesi için lazerin dış sert dokularının çözünürlüğünün veya kompozisyonunun değiştirilebilmesi gerekmektedir. Bu yüzden lazer ışığının güçlü bir derecede absorbe edilmesi ve etkili bir ısıya çevrilerek alttaki ya da çevresel dokulara zarar vermeden dokunun sadece kimyasal yapısını değiştirmesi beklenmektedir (Taube ve ark., 2010).

Çeşitli lazerler kullanılarak minedeki yüzey altı demineralizasyon lezyonlarının azaltılabildiği bildirilmesine rağmen lazerin çürük önleme üzerinde gerçek etki mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir (Ana ve ark., 2006). İlk yapılan tanımlamada, minenin yüzey mikro yapısının fiziksel füzyonundan dolayı mine geçirgenliğinin azaldığı ileri sürülmüştür (Stern ve Sognaes, 1972). Lazer uygulama sonrası meydana gelen çeşitli mekanizmalar, organik matriks ve karbonat içeriğinde kayıp, mine komponentlerinin polarizasyonunda değişiklikler, florür retansiyonunda artış ve minenin çözünmesi için kritik pH'nın 5.5'ten 4.8'e düşmesi olarak söylenebilir (Mathew ve ark., 2013). Sonraki çalışmalar demineralizasyona karşı mine direncinin artmasında mine yüzeyinin erimesi ve füzyon sürecinin etki ettiğini, aynı zamanda minenin ultrastrüktür yapısının değiştiğini ileri sürmektedir. Karbonatın ve suyun azalması, pirofosfat oluşumu yani P'in artması, proteinlerin dekompozisyonu gibi yapısal değişimlere neden olmaktadır (Featherstone ve Nelson, 1987; Kantorowitz ve ark., 1998). Hatta lazer uygulaması sonrası prizmatik yapının azalmasıyla hidroksiapatit kristallerinin boyut ve şeklinde değişimler izlenmektedir (Stern ve Sognaes, 1972). Yapılan diğer çalışmalarda, erime yüzeylerinin analizinde asit ataklarında daha az çözüldüğü bilenen tetrakalsiyum difosfat monoksit adı verilen yapının oluşmasıyla ve karbonatın

azalmasıyla mine yapısının daha dayanıklı bir hale geldiği bildirilmiştir (Kantorowitz ve ark., 1998; Taube ve ark., 2010). Diş sert dokularındaki kristalografik değişimler, lazer enerjisiyle minenin 100-650°C arasında ısınması ile meydana gelir, bu sıcaklıkta asit fosfat pirofosfata dönüşür. Isı 650°C'den 1100°C'ye çıktığı zaman ise Ca ve P oranına bağlı olarak çözünürlük azalmaktadır. 1100°C'de yeni kristalin bir faz olan tetra kalsiyum difosfat monoksit (α -tcp ve β -tcp) oluşmakta böylece mine demineralizasyona dirençli bir hale gelmektedir (Featherstone ve Nelson, 1987).

Apatit kristalinin yapısal özelliğine karbonatın etkisi şu şekilde açıklanabilir; karbonat, yapıya girerek apatit kristalinin boyutunu küçültür, apatit kristal geçirgenliğini artırır, sıkı bir bağ olan Ca-P yerine zayıf bir bağ olan Ca-CO₃ bağı oluşturur (Taube ve ark., 2010). Karbonatlanmış apatit kristalinde mineral çözünürlüğü daha fazladır. Bu sebeple mine yapısındaki karbonatı azaltmak demineralizasyonu önlemek için en önemli mekanizma olarak düşünülebilir. Yapıdaki karbonatın azalması 100°C'yle başlar, maksimum kaybı 800°C'de olur ve 1100°C'de tüm karbonat yapısı elimine edilmiş olur. Yani karbonat kaybıyla asitte çözünürlük doğrudan ilişkilidir (Featherstone ve ark., 1998).

Hsu ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada, CO₂ lazerin ısı etkisinden faydalanıp pulpal hasara neden olmadan, yüzeyi karbonize etmeden sadece ısı etkisinden yararlanmak için, ER:YAG lazer kullanmışlardır. Lazer uygulamasının minenin organik matriksinin kısmi dekompozisyonunu sağlarken minenin iyon difüzyonunu ayarlayarak demineralizasyonu azalttığını göstermiş, bu etkinin de 400°C'nin altındaki ısılarda gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada lazer uygulanan ve lazer uygulanmayan mine yüzeyinin optik özellikleri, kompozisyonu ve yapısal değişimleri incelenmiş ve lazer uygulanmış mine yüzeyinde mikro boşlukların oluştuğu izlenmiştir (Oho ve Morioka, 1990). Bu boşlukların asit ataklarına karşı iyon salan bir rezervuar görevi gördüğü belirtilmiştir.

Bazı araştırmacılar Er:YAG lazerin mine üzerine uygulanmasıyla mine porların hacminde düşüşe neden olduğunu ve böylece organik matriksin azaldığını bildirmişlerdir. Böylece lazer uygulamasının mine yüzeyindeki difüzyon yolunu engelleyerek demineralizasyon sürecinde bir anahtar oyuncu görevi gördüğünü belirtmişler, bu olayın hidroksiapatit kristallerinin erimesinden ve füzyondan dolayı olduğunu ileri sürmüşlerdir (Ying ve ark., 2004). Organik matriks minenin % 1'inden daha az bir kısmını

oluşturmaktadır ancak minedeki difüzyon yolunu kontrol etmede oldukça büyük öneme sahiptir ve sonuçta lazer uygulamalarının çürük önleme üzerine etkili olduğu görülmektedir. Organik matriks lazer uygulamaları tarafından denature edilebilir ve böylelikle minedeki difüzyon yolu önlenmiş olur. Bu olay organik blok teorisi olarak da bilinmektedir (Hsu ve ark., 2000).

Er:YAG ve Er:YSGG lazerlerin tek başına veya bunların % 1'lik florür çözeltisinde bekletildikten sonra mine yüzeylerinin Ca çözünürlüğünün incelendiği çalışmada, Ca çözünürlüğünün lazer uygulamaları sonrası azaldığı tespit edilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Er:YSGG lazerin 8 J/cm² uygulamasından sonra % 20 Ca çözünürlüğünün azaldığı görülmüştür. Erbium lazer uygulamaları ablasyon eşik değerinin altında olduğunda diş minesini kimyasal ve yapısal olarak değiştirmekte ve minenin asit ataklar karşısındaki direncini artırmaktadır (Apel ve ark., 2002). Bu çalışmada olduğu gibi bizim çalışmamızda kullandığımız Er:YAG lazerin enerji yoğunluğu da ($\Phi = 6,15 \text{ J/cm}^2$) ablasyon eşik değeri altında olup asit ataklar karşısında minenin direncini arttırdığı tespit edilmiştir.

İn vitro bir çalışmada, CO₂ lazer uygulamasının günlük kullanılan florür içeren diş macunu kullanımına kıyasla % 85 oranında lezyonların ilerlemesini inhibe ettiği belirtilmiştir (Hadley ve ark., 2000). Mine çözünürlüğünün azaltılmasında lazer ve florür arasında sinerjistik bir etki vardır. Lazer uygulamasının öncesi veya sonrasında topikal florür uygulaması, florür alım miktarını artırmakta ve asidik solüsyonda çözünme oranını azaltmaktadır (Tagomori ve Morioka, 1989).

Lazer uygulamasının florürle olan ilişkisini ve demineralizasyon sürecini nasıl önlediğini açıklamak için birkaç mekanizma tanımlanmıştır. Minenin çözünme pH'sı 5,5 iken lazer uygulandığında 4,8'e düşmektedir. Eğer ortamda 0,1 ppm kadar az miktarda florür varsa minenin çözünme pH'sı 4,3'lere düşmektedir (Fox ve ark., 1992b). Delbem ve ark. (2003) sodyum florür solüsyonu ile birlikte lazer uygulamasının mine ve dentinin yüzeyinde florür tutulumunu arttığını gözlemlemişlerdir. Ancak lazerle florür retansiyonunun artırılmasının mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. İlk ortaya atılan düşünce lazer tedavisi florür tedavisinden önce uygulandığında asit dilüe fosfat florürün tutulumunun artmasıdır. Lazer uygulanması sonrasında minedeki mikroboşluklar oluşur ve bu boşluklarla florür kaynaşır (Oho ve Morioka, 1990). Diğer bir teori florürle ve lazerin beraber uygulanmasının karbonatlanmış hidroksiapatiti daha az çözünebilir bir

mineral haline getirdiği şeklindedir. Hidroksiapatit kristallerinin florapatit kristallerine dönüşümü yüksek enerji yoğunluğunda meydana gelmektedir (Fox ve ark., 1992b). Lazer ve florür arasındaki diğer bir mekanizma ise mine rodları ile porlar arasından florür iyonunun difüzyonu temeline dayanır. Mine yüzeyine APF jeli uygulandığı zaman florürle kaplı bir yüzey oluşur. Bu yüzeye öncesi veya sonrasında lazer uygulaması yapılması durumunda, bu yüzey eriyerek florapatit mineralleri şeklinde rekristalize olur (Phan ve ark., 1999).

Nammour ve ark. (2005) in vivo olarak argon lazer uygulaması sonrasında florür alınımının arttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar lazer uygulamasıyla, florür difüzyonunun yüzeyden minenin derinlerine doğru penetre olduğunu ve büyük miktarda florür rezervuarlarının oluştuğunu iddia etmişlerdir (Phan ve ark., 1999; Nammour ve ark., 2005). Buna karşılık topikal florür uygulamaları sonrası mine yüzeyinde oluşan yüksek florür iyonu konsantrasyonunun derinlere indikçe azaldığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Ana ve ark., 2006). Düşük çözünürlüğe sahip florür iyonu, mine yüzeyinde birikme eğiliminde olduğu için yüzeydeki poröz boşlukları doldurmakta ancak daha derinlere ilerleyememektedir (Arends ve Christoffersen, 1986). Bu sebeple florür iyonlarının lezyonun derinlerine daha rahat ulaşabilmesi amacıyla düşük doz florür uygulaması önerilmektedir (Ten Cate ve ark., 2003).

Poosti ve ark. (2014), CO₂ lazer ve florürün mine çürüklerinin tedavisinde kullanımının kombine etkisini incelemişlerdir. 60 premolar diş demineralizasyon solüsyonunda bekletilerek başlangıç çürüğü elde edilmiştir. 4 gruba ayrılarak, birinci gruba tedavi uygulanmamış, ikinci gruba APF jel, üçüncü gruba lazer ve sonrasında APF jeli, dördüncü gruba APF jel uygulanma sırasında lazer uygulanmıştır. Örneklerin mikrosertlik değerleri ölçülerek kaydedilmiştir. Başlangıç, demineralizasyon sonrası, tedaviler uygulandıktan hemen ve 90 gün sonra diş rengi tespit edilmiştir. Sonuç olarak, her iki lazer grubunda çalışma prosedürü sırasındaki renk değişimi en azdır. Lazer ve sonrasında florür uygulanan grup florürün tek başına uygulandığı grup ve kontrol grubuna göre anlamlı bir mikrosertlik artışı göstermiştir. Çalışmada florür tedavisinden önce CO₂ lazer uygulanmasının demineralize minenin sertleşmesi ve renginin iyileşmesinde etkinliği gösterilmiştir.

Mathew ve ark. (2013) yaptığı çalışmada, çekilmiş premolar dişler kullanılarak 6 adet tedavi grubu (n=10) oluşturulmuştur. APF jeli, CO₂ lazer ve ER:YAG lazer

uygulamalarının tek başına ve kombine olarak mine dokusunun asit direnci üzerine olan etkileri araştırılmıştır. İlk grup kontrol grubu olarak belirlenmiş, ikinci gruba % 1.23APF jel, 3. gruba ER:YAG lazer, 4. gruba CO₂ lazer, 5. gruba ER:YAG lazer ve APF jel kombinasyonu ve son gruba CO₂ lazer ve APF jel kombinasyonu uygulanmıştır. Tedavi uygulamalarından sonra her bir örnek pH değeri 4.5 olan 5 ml. asetat tamponu içinde 24 saat boyunca 37 C° sıcaklıkta bekletilmiştir. 24 saat sonunda solusyona mine yapısından geçen Ca miktarı spektrofotometrik olarak hesaplanmış ve elde edilen değerler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda; florürün, Er:YAG lazer veya CO₂ lazer beraber kullanımının mine demineralizasyonunu azaltmada tek başına florür veya tek başına lazer uygulamasına göre sinerjik bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

Başka bir çalışmada, % 0.1 timol solüsyonu içerisinde bekletilen çekilmiş dişler 4 gruba ayrılmıştır. 1.grup: kontrol, 2.grup: lazer, 3.grup: florür, 4.grup: florür+lazer uygulanmıştır. Dişler 4 gün pH siklusa maruz bırakılmış, sonrasında stereomikroskop ve micro-CT ile mineral kaybı değerlendirilmiştir. Tek başına lazer tedavisi mine demineralizasyonun engellenmesini % 41.2 oranında sağlamıştır, tek başına florür uygulanması % 28.9 oranında, lazer ve florür kombine uygulanması ise % 54.8 oranında mine demineralizasyonunu engellemiştir (Liu ve ark., 2013a).

Chen ve Huang (2009) farklı lazerlerle APF jelinin kombinasyonlarını, bu kombinasyonlarda APF jelinin önce ve sonra uygulanmasını pH siklusu yaparak incelemiştir. Sonuç olarak, CO₂ lazer ile Nd:YAG lazer arasında istatistiksel bir fark bulamamış ayrıca florürün önce yada sonrasında uygulanması arasında bir fark olmadığını ortaya koymuşlardır. Fakat dekalsifiye mine üzerinde lazerlerle florür kombinasyonunun minenin asit direncini arttırdığı sonucuna varmışlardır. Benzer şekilde Kara (2011) tez çalışmasında da lazer grubunun, lazer ve florür ile lazer ve CPP-ACP kombine tedavilerden daha yüksek Ca ve P salınımına neden olduğu belirlenmiş ve tek başına lazer grubu kombine tedavilerden daha düşük dirence sahip olduğu rapor edilmiştir.

Esteves-Oliveria ve ark (2011), 60 adet mine örneğini rastgele gruplara ayırarak 5 farklı tedavi uygulamıştır. Lazer, florür, lazer ve sonrasında florür, florür ve sonrasında lazer ve kontrol grubu oluşturulmuş ve 25 gün eroziv-abraziv bir siklusa maruz bırakılmış ve günde 2 kez elektrikli diş fırçasıyla fırçalanmıştır. Fırça abrazyonu sonrası mineral

kaybı değerlendirildiğinde, florür grubunda ve florürle kombine veya tek başına lazer gruplarında abraziv yüzey kaybı daha düşük bulunmuştur.

Esteves-Oliveria ve ark (2011b), çalışmalarında 130 mine örneği elde etmişlerdir. 10 gruba ayırarak (n=13) 5 farklı yüzey tedavisi uygulamışlardır. 1. grup: CO₂ lazer uygulama, 2. grup: florür uygulama, 3. grup: lazer ve sonrasında florür uygulama, 4. grup: florür ve sonrasında lazer uygulama, 5. grup: tedavi edilmeyen grup (kontrol). İlk 5 gruba önce yüzeye asit uygulanmış ve sonrasında tedaviler uygulanırken, ikinci 5 gruba önce tedaviler uygulanmış daha sonra yüzeye asit uygulanmıştır. Mikrosertlik ve florür alımı değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, lazer ve lazer+florür uygulanan grup en yüksek mikrosertlik değeri göstermiştir. Minenin florür alımı lazer ve florür kombine kullanılan grupta diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. Mineye CO₂ lazer uygulanması eroziv mineral kaybını azaltır ve ayrıca önceden yumuşamış minenin sertleşmesinde etkilidir.

Bahsedilen Poosti ve ark. (2014), Mathew ve ark. (2013), Liu ve ark. (2013), Chen ve Huang (2009), Esteves-Oliveria ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalara benzer olarak çalışmamızda da lazer ve florürün kombine olarak uygulanması florür ve lazerin tek başına kullanılmasından daha etkili bulunmuştur.

Bu çalışmalardan farklı olarak, bir çalışmada düşük güçlü kırmızı lazerin ratlardaki diş çürüğünü önleme üzerine etkilerini araştırmıştır. APF jeli ve lazerin tek başına ve kombinasyonlarına bakıldığında florür grubu, lazer+florür grubu ve florür+lazer grubu arasında Ca-P analizi bakımından bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte lazer grubunun tek başına çürüğü önlemede florür ve kombinasyon tedavilerinden daha etkin olmadığını belirtmişlerdir (Muller ve ark., 2007a). Azevedo ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada, 60 süt molar diş mine blokları oluşturularak 6 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. 2. gruba % 1.23 APF jeli, 3. gruba % 5 florür verniği, 4. gruba Nd:YAG lazer, 5. gruba lazer ve APF jeli ve 6. gruba lazer ve florür verniği uygulanmıştır. Tedavi sonrası dişler demineralizasyon-remineralizasyon siklusuna maruz bırakılarak yapay çürük lezyonu oluşturulmuştur. Longitudinal mikrosertlik değerleri ve demineralizasyon derinlikleri hesaplanmıştır. Demineralizasyon derinliği kontrol grubuna göre tüm tedavi gruplarında küçük bulunurken, APF jel ve lazer+APF jel tedavi gruplarındaki mikrosertlik değişimi en düşük bulunmuştur. Çalışmanın sonuçlarına göre, süt dişlerinde mine

demineralizasyonunun engellenmesinde Nd:YAG lazer tek başına veya Nd:YAG lazer ve florür jel kombine uygulanması, tek başına florür jel uygulamasından daha etkili bulunmamıştır. Ana ve ark. (2012), Er,Cr:YSGG lazer ve profesyonel florür uygulamasının mine demineralizasyon ve florür retansiyonuna etkisini araştırdıkları çalışmada, lazer ve florür uygulanan grupta mine demineralizasyonu azalırken, lazer ve florür kombine uygulanan grup tek başlarına uygulanan gruplardan daha etkili bulunmamıştır. Ancak lazer ve florür uygulanan grupta oluşan CaF_2 bileşikleri tek başına florür uygulanan gruba göre daha yüksek konsantrasyonda izlenmiştir.

Lazer ve CPP-ACP beraber uygulanmasının karyostatik etkisi 3 primer mekanizmayla açıklanabilir (Asl-Aminabadi ve ark., 2015). Birinci mekanizma, mine yüzeyinde Ca ve P birikiminin artmasıdır. Lazer uygulaması boyunca erime ve tekrar sertleşme sürecinde, mine yüzeyinde kaynaşmalarla birçok globüler granül meydana gelir, böylece florür iyonlarının granüller arası mikroboşluklar içine penetre olmasına bir fırsat sağlar (Tagomori ve Morioka, 1989). Bu benzer mekanizmayla CPP-ACP uygulanmasıyla yüzey Ca ve P konsantrasyonu artar ve böylece lazer uygulaması mine yüzeyini Ca ve P'den doygun hale getirir. İkinci mekanizma, hidroksiapatit kristallerinin re-kristalizasyonudur. Lazer uygulaması minede erimeye sebep olur ve hidroksiapatit kristalleri başlangıca göre daha geniş hale getirerek re-kristalize eder (Westerman ve ark., 2003). Lazer uygulamasıyla mine kristallerinin re-kristalizasyonu, Ca ve P iyonlarının daha iyi retansiyonunu sağlar, belki de rekristalizasyonla meydana gelen globüler granüllerin arasındaki boşluklara bu iyonların penetrasyonu kolaylaştırır. Çalışmamızda lazer+CPP-ACP kombine uygulanan grubun, tek başına uygulamayla kıyaslandığında daha yüksek mikrosertlik değerleri göstermesi bu mekanizmayla açıklanabilir. Üçüncü mekanizma ise mine hidroksiapatitlerin purifikasyonudur. Lazer uygulama mine yüzeyinde düzensizlik ve çatlak oluşturur, minenin kırılabilirliği kolaylaştırır. Bu çatlaklar asit ataklarının başlama noktası olarak görev yapar ve mineyi kırılabilir hale getirerek mikrosertlikte azalmaya sebep olur (Asl-Aminabadi ve ark., 2015).

Niazy ve Ehab (2009), lazer ve CPP-ACP uygulamasının diş yüzeyinde Ca nano komplekslerinin birleşmesine izin verdiğini rapor etmişlerdir. Çok sayıda nano Ca depozitleri Ca ve P rezervuarı olarak görev yapmaktadır. CPP-ACP lazerle kombine uygulanmasıyla lazerin demineralizasyonu inhibe etkisini artırır.

Subramaniam ve Pandey (2014), CPP-ACP ve Er,Cr:YSGG lazer uygulamasının süt diş minesinde yüzey mikrosertliğine etkisini inceledikleri çalışmada, 30 adet çekilmiş çürüksüz süt anterior diş toplanmış ve 4 gruba ayrılarak 1. grup negatif kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Dişler demineralize edildikten sonra, 2. gruba herhangi bir tedavi uygulanmamış pozitif kontrol grubu oluşturulmuştur. 3.grup CPP-ACP ve 4.grup Er,Cr:YSGG lazer + CPP-ACP uygulanmıştır. Tedavi grupları pH siklusa maruz bırakılmış sonrasında mikrosertlik değerleri karşılaştırılmıştır. Lazer ve CPP-ACP uygulanan tedavi grubunda, sadece CPP-ACP uygulanan gruba göre önemli derecede yüksek mikrosertlik değerleri bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde lazer ve CPP-ACP kombine uygulanması tek başına CPP-ACP uygulanmasından daha yüksek mikrosertlik değerleri göstermiştir.

Yassaei ve ark (2014) çalışmasında, 60 adet çekilmiş çürüksüz premolar diş kullanılmıştır. Dişler pH siklusa maruz bırakılarak yapay çürük lezyonu oluşturulmuştur. 4 gruba ayrılarak; birinci gruba herhangi bir tedavi uygulanmamıştır. İkinci gruba CPP-ACPF (MI Paste Plus), üçüncü gruba Er:YAG lazer, dördüncü gruba CPP-ACPF ve lazer beraber uygulanmıştır. Mikrosertlik ölçümleri yapılarak değerler karşılaştırılmıştır. İstatiksel olarak değerlendirildiğinde en fazla mineral kaybı kontrol grubunda izlenirken, en az mineral kaybı ise CPP-ACPF+lazer grubunda izlenmiştir.

Asl-Aminabadi ve ark (2015) Nd:YAG lazer ve CPP-ACP uygulamasının, süt dişerinin başlangıç mine çürüğü üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Başlangıç mine çürüğü oluşturulan 80 adet süt dişi rastgele 4 gruba ayrılarak; 1.gruba distile ve deiyonize su, 2.gruba Nd:YAG lazer, 3.gruba CPP-ACP krem, 4.gruba CPP-ACP ve lazer uygulanmıştır. Mikrosertlik değerleri, Ca ve P konsantrasyonları ve SEM görüntüleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, Nd:YAG lazer ve CPP-ACP kombine uygulamasının en etkili remineralizasyon sağladığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer olarak lazer+CPP-ACP uygulaması, tek başına lazer veya tek başına CPP-ACP uygulamasından daha etkili bulunmuştur.

Farklı şekilde rapor edilen çalışmalar da bulunmaktadır. Heravi ve ark (2014) yaptıkları çalışmada, düşük güçlü kırmızı ve infra-red (kızıl ötesi) lazerlerin ve Er:YAG lazer, CPP-ACPF ilişkisini ve white spot lezyonların remineralizasyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. 50 adet premolar diş 10 hafta demineralizasyon solüsyonunda bekletilerek başlangıç çürüğü elde edilmiş ve 5 gruba ayrılmıştır. İlk gruba CPP-ACPF

ve ardından düşük güç kırmızı lazer, ikinci gruba CPP-ACPF ve ardından infra-red lazer, üçüncü gruba Er:YAG lazer ve CPP-ACPF kombine uygulanmıştır. Dördüncü gruba CPP-ACPF krem tek başına uygulanmış ve son gruba herhangi bir işlem yapılmamıştır. Tüm grupların mikrosertlik ölçümleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, CPP-ACPF ile beraber düşük güç lazerler ve Er:YAG lazerin uygulandığı gruplar diğer gruplara göre daha yüksek mikrosertlik değeri göstermesine rağmen istatistiksel olarak hiçbir grupta remineralizasyonda anlamlı bir artış sağlanamamıştır.

Yılmaz (2013) tez çalışmasında süt ve daimi dişlere florür, CPP-ACP, Er:YAG lazer, lazer+florür, lazer+CPP-ACP ve lazer+florür+CPP-ACP tedavilerinden sonra pH siklusa maruz bırakmıştır. Polarize ışık mikroskobu ile lezyon derinliği değerlendirilmiş ve SEM ile yüzey görüntüsü alınmıştır. Çalışmanın sonucunda daimi dişlerde florür uygulanan grup, CPP-ACP ve lazer uygulamalarından daha düşük lezyon derinliği gösterirken süt dişlerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Lazerle kombine olarak yapılan tedaviler tek başına uygulanan tedavilerle kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşmamıştır.

Ozon, antibakteriyel etkinliği yıllardır bilinen çok güçlü oksidize bir bileşiktir. Koronal ve kök çürüklerine ozon gazının direk uygulanması, anında fonksiyonel bir durmaya yol açarak mikroorganizmaların saniyeler içinde yok olmasını sağlar (Holmes, 2003b; Lynch, 2004).

Mikrobiyolojik çalışmalarda ozonun antimikrobiyal etkinliğinin uygulama süresi, konsantrasyon, bakteri türü ve organizasyonu, ortamın sıcaklığı gibi faktörlerden etkilenebileceği bildirilirken, başlangıç pit ve fissür çürüğü ya da okluzal çürüklü dişlerde, 10-20-30-40 sn. ozon uygulamalarının remineralizasyon üzerindeki etkinliğinin benzer olduğu bildirilmiştir (Nagayoshi ve ark., 2004a; Muller ve ark., 2007b; Nogales ve ark., 2008). Sadatullah ve ark. (2012), 0.1 ppm ozonlu suyu supragingival plağa in-situ uyguladıkları çalışmada, 24 saat sonra incelendiğinde ozonlu su total bakteri ve anaeroblar üzerinde etkili bulunmuştur. Total mikroorganizma sayısı % 45.3 oranında, anaerob sayısı % 51.7 oranında ve S.mutans sayısı % 56.4 oranında azalmıştır.

Ozon uygulaması öncesi ve sonrası çürük lezyonunun biyomolekül yapısının incelendiği bir çalışmada, bakteriler tarafından oluşturulan asitlerin okside edildiklerinde daha alkali bir yapı kazanarak mineral yığılımı için uygun bir ortam oluşturduğunu rapor edilmiştir (Holmes, 2003b). Ozonun asidojenik ve asidürik mikroorganizmalardan oluşan

mikrobiyal florayı normal ağız florasına çevirdiği ve çürük lezyonundaki proteinleri kaldırarak Ca, P ve flor iyonlarının çürük lezyonuna difüzyonu ile remineralizasyonu sağladığı bildirilmiştir (Knezevic ve ark., 2007).

Ozon uygulamasının ardından aktif çürük ilerlemesinin durdurulmasını takiben, remineralize edici solüsyonların kullanımı, iyi bir ağız hijyeni ve şeker alımının azaltılmasıyla beraber oluşan remineralize dokunun gelecekte oluşacak çürük atağına karşı daha dayanıklı hale geleceği bildirilmiştir (Holmes, 2003b). Ayrıca ozon gazı uygulaması sonrasında öncesine göre başlangıç fissür çürüklerinde önemli bir azalma olduğu bildirilmiştir (Knezevic ve ark., 2007). Baysan ve ark. (2000) in vitro çalışmalarında 10 veya 20 sn ozon uygulamasının kök çürüklerinde mikroorganizmaların büyük çoğunluğunu öldürdüğünü rapor etmiştir. Abu-Salem (2004) ozon tedavisinin zamanla klinik skorları iyileştirerek istatistiksel olarak önemli bir etki gösterdiğini bildirmiştir. Baysan ve Lynch (2004) çalışmasında, 9 aylık kontrollerde kontrol grubundaki dişlerde herhangi bir düzelme gözlenmezken, ozon uygulanan kök çürüklerinin % 45 inin çürük şiddeti 2 den 0'a inmiştir.

Bununla beraber bu çalışmalarla aynı fikirde olmayan araştırmalar da bulunmaktadır. Baysan ve Beigton (2007) çalışmalarında, kavitasyon göstermeyen okluzal lezyonlarda 40 sn ozon uygulanması demineralize mine altındaki infekte dentinde bakteri sayısını azaltmada başarısız olduğu gösterilmiştir. Johansson ve ark. (2014), ozon ve florür uygulamasının süt dişlerinde okluzal çürüklerin tedavisinde kullanımını 12 aylık klinik kontrole in vivo bir çalışmayla değerlendirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda flor veya ozon kullanımının kavitasyon oluşmamış dişlerde çok az veya hiç etki sağlamadığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Abu-Naba'a (2003) 12 aylık takip sonucunda, reductant hasta kiti tek başına veya ozon ile beraber uygulandığında herhangi bir anlamlı farklılık bulamamıştır.

Nie ve ark (2007), başlangıç çürük lezyonu olan dişlere distile su, florür ve ozon tedavisi uygulamıştır. CLSM görüntüleri ve floresans görüntüleri değerlendirilmiştir. CLSM'de ozon ve distile su grubunun yüzey morfolojisi ataktik ve poröz izlenmiş; florür grubunda ise diş yüzeyinin düz olduğu ve boşlukların azaldığı belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda deiyonize su ve ozon uygulaması arasında anlamlı bir farklılık bulunmamış, florür en etkili yöntem olarak rapor edilmiştir.

Atabek ve Öztaş (2011), yaptıkları in vivo çalışmada ozon tedavisi ve remineralize edici solüsyonun etkinliğini karşılaştırmışlardır. 6. ayın sonunda sadece ozon tedavisi uygulanan dişler ve ilave remineralize edici solüsyon kullanılan dişler arasında remineralizasyon dereceleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşmamakla birlikte; ilave remineralize edici solüsyon uygulamasının remineralizasyon derecesini bir miktar arttırdığı gözlenmiştir.

Duggal ve ark. (2012) yaptıkları in situ çalışmada, 14 gönüllü üzerinde mine ve dentin blokları yerleştirilen takip çıkarılabilir alt hareketli aparey kullanmıştır. 14 gün boyunca günde 5 kez olmak üzere % 10 sükröz içeren solüsyona daldırılarak demineralizasyon sağlanmıştır. Birinci kontrol grubu florür içermeyen diş macunu kullanmıştır. İkinci gruba ozon ve reductant patient kiti (1100 ppm florür içerir) uygulanmış, üçüncü gruba sadece reductant patient kit uygulanmıştır. 2 hafta sonunda örnekler çıkarılmış ve mikrosertlik değişimleri kaydedilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla iki tedavi grubunda anlamlı bir sertlik artışı izlenmiştir. Ancak tedavi grupları arasında sadece hasta kiti uygulanan veya ozon ve hasta kiti beraber uygulanan grup arasında önemli derecede istatistiksel farklılık izlenmemiştir. Sonuç olarak; yüksek konsantrasyonlarda florür içeren ajan kullanımı mine ve dentinin demineralizasyonunun inhibisyonunda etkilidir ancak ozon kullanımının bu etkiye ek bir katkı sağlamadığı rapor edilmiştir.

Tahmassebi ve ark (2014), ozon uygulanmasının yapay çürük lezyonlu dişler üzerine etkisini in-vitro olarak değerlendirmişlerdir. İnsan premolar dişleri toplanmış ve 4 gruba ayrılarak, birinci gruba florür içermeyen diş macunu uygulanmıştır. Diğer gruplara; tek başına ozon tedavisi, tek başına florür içeren Reductant hasta kiti ve ozon tedavisi+Reductant hasta kiti kombine uygulanarak 14 günlük pH siklusa maruz bırakılmıştır. QLF ve mikrosertlik değerleri karşılaştırılmıştır. Mikrosertlik değerleri bakımından tek başına Reductant hasta kiti ile ozon ve Reductant hasta kiti kombine uygulanan grup benzer değerler gösterirken, kontrol ve ozon grubuna göre anlamlı bir farklılık izlenmiştir. Lezyon boyut ve şiddet açısından ozon ve reductant hasta kiti beraber uygulanan grup önemli farklılık göstermiştir. Sonuç olarak; ozon, reductant hasta kiti ile beraber uygulandığında yüksek florür içeriği sebebiyle etki sağlamış olsa da, demineralizasyonun engellenmesi-remineralizasyonun artırılmasında ozon tedavisi önemli bir etki göstermemiştir. Çalışmamızda da bu çalışmaya benzer olarak ozon+florür

beraber uygulanan grupta mikrosertlik değerleri tek başına florür uygulanan gruba göre sayısal olarak çok az yüksek bulunmuştur ancak istatiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir.

Tahmassebi ve ark (2014), ozon ve Reductant hasta kiti beraber kullanılan grupta sinerjik bir etki izlenmiştir. Ozon çürük lezyonundaki organik materyali okside edebilir. Böylece yüzeyin remineralizasyonu için Ca, P ve florür iyonlarının penetrasyonuna izin verecek dental kanalların açılmasını sağladığı rapor edilmiştir. Bu remineralize yüzeyler çürük ve asit ataklarına daha dirençlidir (Hodson ve Dunne, 2007).

Çalışmamızdaki ozon ve florürün sinerjik etkisi ozonun hipermineralizasyonu inhibe etmesiyle açıklanabilir. Baysan ve Lynch (2004) süt kök çürükleri remineralizasyonunda 5000 ppm florürün 1100 ppm florürden daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, süt kök çürük lezyonlarının remineralizasyonunda yüksek florür içerikli bir macunun kullanılması lezyonun yüzeyinde hipermineralizasyona sebep olabilir ve bu da daha lezyon derinliği boyunca oluşan sonraki remineralizasyona engel olabilir. Çalışmamızın sonuçları ozon tek başına minimal etki gösterirken florür içeren ajanla beraber kullanımı bu etkiyi arttırmıştır, bu Duggal ve ark. (2012) yaptıkları ozona ek olarak ajan kullanılmadan etkinliğini araştıran çalışmayla aynı fikirdedir.

Daha önce rapor edilen ozonun etki mekanizmalarına ek olarak, ozonun çürük lezyonundaki bakteri popülasyonuna ciddi bir yıkıcı etki sağladığı ve karyojenik bakterileri yok ettiği, böylece dengenin remineralizasyon yönüne kaymasını sağlandığı bilinmektedir. Böylece lezyonda asit üretimi engellenmiş olmaktadır. Bu bakımdan, çürük lezyonunda bakteri eliminasyonunda ozonun etkisi in vitro olarak çalışılmamıştır. Diğer taraftan, ozon güçlü oksidasyon özellikleri sayesinde lezyondaki asit ve karbonhidratları azaltarak remineralizasyon sağlaması da muhtemeldir. Ayrıca ozon çürük lezyonundaki organik materyalleri uzaklaştırabilir ve Ca ve P iyonların lezyon içerisine difüze olmasını sağlayabilir (Tahmassebi ve ark., 2014).

Bu bilgilerin ışığında bizim çalışmamızda da Tahmassebi ve ark (2014) yaptıkları çalışmaya benzer olarak, ozonla kombine olarak flor ve CPP-ACP uygulanması veya ajanların tek başlarına uygulanması arasında çok az bir sayısal fark izlenirken bu fark istatiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ozon güçlü oksidasyon özelliğiyle minerallerin lezyon içerisine difüze olmasını bir miktar sağlarken bu istatiksel olarak bir farklılık oluşturmamış olabilir. Ozon ve novaminin kombine uygulanması tek başına göre

novamin uygulanan gruptan çok az farklılık göstermiştir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Literatür incelendiğinde çürük oluşumu ile ilgili sonuçların genellenebilir olmadığı ve kontrol grupları ile ozon grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın her zaman ortaya çıkmadığı gözlenmiştir (Nogales ve ark., 2008). Bazı laboratuvar çalışmaları ve kısa süreli klinik çalışmalar ozonun gaz ya da ozonlu su olarak kök çürüklerinde ve mikroorganizmaların öldürülmesinde faydalı olduğunu gösterse de ozonun çürük tedavisindeki etkinliğinin henüz ikna edici olmadığı belirtilmiştir (Burke, 2012).

Bizim çalışmamızda da ozon tedavisi in vitro koşullarda uygulanmıştır ve ozonun mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkinliği gösterilememiştir. Bu konuda iyi tasarlanmış, randomize ve klinik kontrollü çalışmaların, in vivo koşullarda veya ağız ortamının taklit edildiği ortamlar sağlanarak yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları, mikrosertlik değerleri karşılaştırılarak, gruplara ait Ca ve P oranları incelenerek ve aynı zamanda SEM görüntüleri değerlendirilerek belirlenmiştir. Bu şekilde tek bir yönteme bağlı kalmadan daha sağlıklı sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmada;

1. Florür (APF jel) uygulaması koruyucu diş hekimliğinde yıllardır süregelen vazgeçilmez bir yöntemdir. Bizim çalışmamız da florürün bu etkinliğini destekler niteliktedir.
2. CPP-ACP uygulaması diğer remineralizasyon ajanlarına göre daha düşük etkili bulunmuştur.
3. Nispeten yeni bir remineralizasyon ajanı olan novaminin remineralizasyon etkinliği gösterilmiştir ve başlangıç mine çürüklerinin remineralizasyonunda kullanılabileceği düşünülmüştür.
4. Başlangıç çürüğüne Er:YAG lazer uygulamasıyla çürüğün önlenebileceği, böylece koruyucu diş hekimliğinde lazerin alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabilmesi düşünülmüştür.
5. Çalışmamızın sonuçlarında lazer ile florür veya CPP-ACP veya novamin uygulamaları tek başına uygulamalardan daha etkili bulunmuştur.
6. Er:YAG lazer ve florür jel uygulamasının remineralizasyon etkinliği en yüksek bulunmuştur. Bu kombinasyon mine başlangıç çürüğünü etkili bir şekilde durdurabilmektedir.
7. Er:YAG lazer ve florür uygulamasından sonra Er:YAG lazer ve novamin uygulaması da başlangıç çürüklerinin remineralizasyonunda etkilidir.
8. Çalışmamızın sonucunda en düşük remineralizasyon etkinliğini ozon uygulaması göstermiştir. İleriki araştırmalarla ozonun remineralizasyon etkinliği tartışılmalıdır.
9. Başlangıç çürüğüne ozon ile flor veya CPP-ACP uygulamaları tek başına uygulamalardan daha etkili bulunmamıştır.
10. Ozon ile novamin uygulaması tek başına uygulamadan daha etkili bulunmuştur.
11. Demineralize minenin korunması üzerine bu tip tedavilerin etkilerinin belirlenmesi ve aynı zamanda bu konuda daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Tükürük, protein ve bakteri gibi komponentler içermektedir (Lambrou ve ark., 1981; Hara ve ark., 2008). Ancak çalışmamızdaki yapay tükürük içerisinde bu komponentler bulunmamaktadır.

Diğer bir limitasyon çalışma periyodunun kısa süreli olmasıdır ve in vitro koşullarda ağız ortamının tam olarak taklit edilememesidir. Aynı zamanda, ideal bir remineralizasyon ajanı, sadece yüzey tabakanın depozisyonu değil aynı zamanda yüzey altı tabakada da Ca, P ve florür iyonlarının birikimini sağlamalıdır (Lei ve ark., 2014). Tüm çürük tabakasında oluşan depozitlerin analiz edilmesi ve oluşumu değerlendirilmesi için daha fazla çalışma yapılmalıdır.

Bu konuda yapılacak iyi tasarlanmış, randomize ve klinik kontrollü çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. İn vivo şartlarda remineralizasyon ajanlarının etkinliği değerlendirilmelidir. Aynı zamanda ileride yapılacak çalışmalarla belki de remineralize edici nanokomplekslerinin diş macunu, gargaralar, sakızlar, pastiller dışında karyojenik gıdaların içerisine eklenmesiyle gıdaların karyojenik özelliklerinin azalması da sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abu-Naba'a L. Management of primary occlusal pit and fissure caries using ozone. Queen's University, PhD Thesis, Belfast. 2003.
- Abu-Naba'a L, Al Shorman H, Lynch E. 6-month clinical indices changes after treatment pit and fissure caries (PFC). *J Dent Res.* 2003a; 82: B135.
- Abu-Naba'a L, Al Shorman H, Lynch E. Ozone treatment of primary occlusal pit and fissure caries (POPFC): 12 months clinical severity changes. *Caries Res* 2003b; 37: 272.
- Abu-Naba'a L, Al Shorman H, Stevenson M, Lynch E. Ozone treatment of pit and fissure caries: 6-month results. *J Dent Res.* 2003c; 82: 60-75.
- Abu-Salem O. Management of occlusal caries in primary teeth using ozone. Mphil thesis. Belfast: Queens Uni. 2004.
- AbuNaba'a L, Al Shorman H, Holmes J, Peterson L, Tagami J, Lynch E. Evidence-based research into ozone treatment in dentistry: an overview. İçinde: Lynch E, editor. *Ozone: the revaluation in dentistry.* London: Quintessence Pub. Co. 2004: 73-115.
- 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(3): 339-345.
- Al Shorman H, Abu-Naba'a L, Lynch E. Patient's attitude to treatment of pit and fissure caries with ozone. *Caries Res.* 2002; 81: A183.
- Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr.* 2004; 134(4): 989S-995S.
- Al-Mullahi AM, Toumba KJ. Effect of slow-release fluoride devices and casein phosphopeptide/amorphous calcium phosphate nanocomplexes on enamel remineralization in vitro. *Caries Res.* 2010; 44(4): 364-371.
- 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(3): 393-397.
- Alauddin SS. In vitro remineralization of human enamel with bioactive glass containing dentifrice using confocal microscopy and nanoindentation analysis for early caries defence. University of Florida. doktora tezi. 2004; http://etd.fcla.edu/UF/UFE0007162/alauddin_s.pdf.
- Allan I, Newman H, Wilson M. Antibacterial activity of particulate bioglass against supra- and subgingival bacteria. *Biomater.* 2001; 22(12): 1683-1687.

- Almeida KG, Scheibe KG, Oliveira AE, Alves CM, Costa JF. Influence of human and bovine substrate on the microleakage of two adhesive systems. *J Appl Oral Sci.* 2009; 17(2): 92-96.
- Amaechi BT, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai PK, Ccahuana Vasquez RA, Sadeghpour A, Nakamoto T. Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res.* 2013; 47(5): 399-405.
- Amaechi BT, Ramalingam K, Mensinkai PK, Chedjieu I. In situ remineralization of early caries by a new high-fluoride dentifrice. *Gen Dent.* 2012; 60(4): e186-192.
- Ambarkova V, Goršeta K, Jankolovska M, Glavina D, Škrinjarić I. Effect of the fluoride gels and varnishes comparing to CPP-ACP complex on human enamel demineralization/remineralization. *Acta stomatologica Croatica.* 2013; 47(2): 99-110.
- Ana PA, Bachmann L, Zezell DM. Lasers effects on enamel for caries prevention. *Laser phy.* 2006; 16(5): 865-875.
- Ana PA, Blay A, Miyakawa W, Zezell DM. Thermal analysis of teeth irradiated with Er,Cr:YSGG at low fluences. *Laser Phys Lett.* 2007; 11: 827-834.
- Ana PA, Tabchoury CP, Cury JA, Zezell DM. Effect of Er,Cr:YSGG laser and professional fluoride application on enamel demineralization and on fluoride retention. *Caries Res.* 2012; 46(5): 441-451.
- Andersson OH, Kangasniemi I. Calcium phosphate formation at the surface of bioactive glass in vitro. *J Biomed Mater Res.* 1991; 25(8): 1019-1030.
- Andrade LEH, Pelino JEP, Lizarelli RFZ, Bagnato VS, Oliveira OB. Caries resistance of lased human enamel with Er:YAG laser-morphological and ratio Ca/P analysis. *Laser Phys Lett.* 2007; 4(2): 157-162.
- Aoba T. Solubility properties of human tooth mineral and pathogenesis of dental caries. *Oral Dis.* 2004; 10(5): 249-257.
- Aoki A, Mizutani K, Takasaki AA, Sasaki KM, Nagai S, Schwarz F, Yoshida I, Eguro T, Zeredo JL, Izumi Y. Current status of clinical laser applications in periodontal therapy. *Gen Dent.* 2008; 56(7): 674-687; quiz 688-679, 767.
- Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2004; 36: 59-97.
- Apel C, Meister J, Schmitt N, Graber HG, Gutknecht N. Calcium solubility of dental enamel following sub-ablative Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation in vitro. *Lasers Surg Med.* 2002; 30(5): 337-341.
- Aras S, Sütlaş E. Başlangıç Mine Lezyonlarının Tedavisinde Florid İlave edilmiş Kazein Fosfopeptit Amorfoz Kalsiyum Fosfat (CPP-ACPF) ile Floridli Sütün

Etkinliginin Araştırılması. Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara Üniversitesi, Ankara. 2011:1-31.

- Ardu S, Castioni NV, Benbachir N, Krejci I. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence Int.* 2007; 38(8): 633-636.
- Arends J, Christoffersen J. The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res.* 1986; 65(1): 2-11.
- Arends J, Christoffersen J. Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res.* 1990; 69 Spec No: 601-605; discussion 634-606.
- Argenta RM, Tabchoury CP, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras.* 2003; 17(3): 241-246.
- Arnold WH, Cerman M, Neuhaus K, Gaengler P. Volumetric assessment and quantitative element analysis of the effect of fluoridated milk on enamel demineralization. *Arch Oral Biol.* 2003; 48(6): 467-473.
- Arnold WH, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat.* 2007; 189(2): 183-190.
- Arnold WH, Haase A, Hacklaender J, Gintner Z, Banoczy J, Gaengler P. Effect of pH of amine fluoride containing toothpastes on enamel remineralization in vitro. *BMC Oral Health.* 2007; 7: 14.
- Arunachalem KD, Raja RB. Isolation and characterisation of CPP (casein phosphopeptides) from fermented milk. *African Journal of Food Science.* 2010; 4(4): 167-175.
- Arvidson K, Johansson EG. Galvanic currents between dental alloys in vitro. *Scand J Dent Res.* 1985; 93(5): 467-473.
- Asaka Y, Miyazaki M, Aboshi H, Yoshida T, Takamizawa T, Kurokawa H, Rikuta A. EDX fluorescence analysis and SEM observations of resin composites. *J Oral Sci.* 2004; 46(3): 143-148.
- Asl-Aminabadi N, Najafpour E, Samiei M, Erfanparast L, Anoush S, Jamali Z, Pournaghi-Azar F, Ghertasi-Oskouei S. Laser-Casein phosphopeptide effect on remineralization of early enamel lesions in primary teeth. *J Clin Exp Dent.* 2015; 7(2): e261-267.
- Atabek D, Oztas N. Effectiveness of Ozone with or without the Additional Use of Remineralizing Solution on Non-Cavitated Fissure Carious Lesions in Permanent Molars. *Eur J Dent.* 2011; 5(4): 393-399.
- Attin T, Wegehaupt F, Gries D, Wiegand A. The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: Erosion-abrasion experiments. *J Dent.* 2007; 35(10): 773-777.

- Auregan JC, Begue T. Bioactive glass for long bone infection: a systematic review. *Injury*. 2015; 46 Suppl 8: S3-7.
- Axelsson P. Other caries-preventive factors. In Axelsson P editor. *Risk prediction and preventive dentistry*. 1st ed. 1999; Chicago: Quintessence Publishing Co.: 77-105.
- Ayçiçek G, Akçiçek MS, Uysal S, Çağırankaya LB, Avcu N. Diş hekimliğinde lazer uygulamaları: Derleme. *Dicle Dişhek Derg*. 2010; 11(1): 24-32.
- Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *J Dent*. 2008a; 36(2): 104-116.
- Azarpazhooh A, Limeback H. Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc*. 2008b; 139(7): 915-924; quiz 994-915.
- Azevedo DT, Faraoni-Romano JJ, Derceli Jdos R, Palma-Dibb RG. Effect of Nd:YAG laser combined with fluoride on the prevention of primary tooth enamel demineralization. *Braz Dent J*. 2012; 23(2): 104-109.
- Babay N. SEM study on the effect of two different demineralization methods with saturated tetracycline hydrochloride on diseased root surfaces. *J Contemp Dent Pract*. 2001; 2(2): 25-35.
- Bachmann L, Diebolder R, Hibst R, Zzell DM. Infrared absorption bands of enamel and dentin tissue from human and bovine teeth. *Applied Spectroscopy Reviews*. 2003; 38: 1-14.
- Bağlar S, Nalçacı A. Florürlü Gargaralarla Diş Minesinin Reaksiyon Kinetiğine Sıcaklığın Etkisi. *A.Ü. Diş Hek. Fak. Derg*. 2009; 36(3) 151-161,
- Balakrishnan A, Jonathan R, Benin P, Kuumar A. Evaluation to determine the caries remineralization potential of three dentifrices: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2013; 16(4): 375-379.
- Ballard RW, Hagan JL, Phaup AN, Sarkar N, Townsend JA, Armbruster PC. Evaluation of 3 commercially available materials for resolution of white spot lesions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2013; 143(4 Suppl): S78-84.
- Banerjee A, Watson TF. *Pickard's Manual of Operative Dentistry*, OUP Oxford. 2011.
- Barbour ME, Rees JS. The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent*. 2004; 32(8): 591-602.
- Bayındırlı ŞG. *Restoratif Tedavi*. İstanbul, Taş matbaası. 1985.
- Baysan A, Beighton D. Assessment of the ozone-mediated killing of bacteria in infected dentine associated with non-cavitated occlusal carious lesions. *Caries Res*. 2007; 41(5): 337-341.

- Baysan A, Lynch E. Safety of an ozone delivery system during caries treatment in-vivo. *J Dent Res.* 2001; 80: 11-59.
- Baysan A, Lynch E. Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries. *Am J Dent.* 2004; 17(1): 56-60.
- Baysan A, Whiley RA, Lynch E. Antimicrobial effect of a novel ozone- generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries Res.* 2000; 34(6): 498-501.
- Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(3): 1001-1009.
- Bedini R, Manzon L, Fratto G, Pecci R. Microhardness and morphological changes induced by Nd:Yag laser on dental enamel: an in vitro study. *Ann Ist Super Sanita.* 2010; 46(2): 168-172.
- Bevilacqua FM, Zezell DM, Magnani R, da Ana PA, Eduardo Cde P. Fluoride uptake and acid resistance of enamel irradiated with Er:YAG laser. *Lasers Med Sci.* 2008; 23(2): 141-147.
- Bezirtzoglou E, Cretoiu SM, Moldoveanu M, Alexopoulos A, Lazar V, Nakou M. A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes. *J Dent.* 2008; 36(8): 600-605.
- Bocci V. Ozonization of blood for the therapy of viral diseases and immunodeficiencies. A hypothesis. *Med Hypotheses.* 1992; 39(1): 30-34.
- Bocci V. Autohaemotherapy after treatment of blood with ozone. A reappraisal. *J Int Med Res.* 1994; 22(3): 131-144.
- Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Implications for therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases. *Med Hypotheses.* 1996a; 46(2): 150-154.
- Bocci V. Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today. *J Biol Regul Homeost Agents.* 1996b; 10(2-3): 31-53.
- Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine? *Br J Biomed Sci.* 1999; 56(4): 270-279.
- Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm.* 2004; 13(1): 3-11.
- Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Rossi R, Cardaioli E, Di Simplicio P. Studies on the biological effects of ozone: 4. Cytokine production and glutathione levels in human erythrocytes. *J Biol Regul Homeost Agents.* 1993; 7(4): 133-138.

- Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica*. 1990; 75(6): 510-515.
- Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Fanetti G. Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production. *Mediators Inflamm*. 1998; 7(5): 313-317.
- Borsatto MC, Corona SA, Dibb RG, Ramos RP, Pecora JD. Microleakage of a resin sealant after acid-etching, Er:YAG laser irradiation and air-abrasion of pits and fissures. *J Clin Laser Med Surg*. 2001; 19(2): 83-87.
- Bowden G, Edwardsson S. Oral ecology and dental caries. In: *Textbook of clinical cariology*. Second Edition. Ed(s), Tyylstrup A., Fejerskov O., Munsgaard, Copenhagen. 1994: 203-216.
- Bozatlıoğlu R. Farklı Remineralizasyon Ajanlarının Uygulandığı Yapay Çürük Lezyonlu Dişlerin Yüzey Sertlik Değerlerinin Karşılaştırılması Ve Sem Görüntülerinin Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Yeditepe Üni, İstanbul 2012.
- Braga RR, Pfeifer CS, Sakaguchi RC. Testing of dental materials and biomechanics. Sakaguchi RL Powers JM, editors. *Craig's restorative dental materials*, 13th Ed. Elsevier Mosby. 2012; 5: 83-108.
- Brauner A. [Clinical studies of therapeutic results from ozonized water for gingivitis and periodontitis]. *Zahnarztl Prax*. 1991; 42(2): 48-50.
- Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. Field emission in-lens SEM study of enamel and dentin. *J Biomed Mater Res*. 1999; 46(3): 315-323.
- Brochner A, Christensen C, Kristensen B, Traanaeus S, Karlsson L, Sonnesen L, Twetman S. Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Investig*. 2011; 15(3): 369-373.
- Brown WE. Physicochemical mechanisms of dental caries. *J Dent Res*. 1974; 53(2): 204-216.
- Brunel A, Vannier R, Archinet F. [Sterilization of minute endodontic material by the combination of ethylene oxide and ozone. Experimental evaluation of its effectiveness]. *Acta Stomatol Belg*. 1965; 62(3): 355-359.
- Burke FJ. Ozone and caries: a review of the literature. *Dent Update*. 2012; 39(4): 271-272, 275-278.
- Burt BA, Fejerskov O. Water fluoridation. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. *Fluoride in Dentistry*. (2nd ed.). Copenhagen, Munksgaard, 13. 1996: 275-290.
- Burwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC. Calcium sodium phosphosilicate (NovaMin): remineralization potential. *Adv Dent Res*. 2009; 21(1): 35-39.

- Casals E, Boukpepsi T, McQueen CM, Eversole SL, Faller RV. Anticaries potential of commercial dentifrices as determined by fluoridation and remineralization efficiency. *J Contemp Dent Pract.* 2007; 8(7): 1-10.
- Casamassimo PS, Fields HW, McTigue DJ, Nowak AJ. *Paediatric Dentistry. Infancy through adolescence.* (5th edition) Missouri, Elsevier Saunders. 2013; 112-203.
- Cecchini RC, Zezell DM, de Oliveira E, de Freitas PM, Eduardo Cde P. Effect of Er:YAG laser on enamel acid resistance: morphological and atomic spectrometry analysis. *Lasers Surg Med.* 2005; 37(5): 366-372.
- Ceyhan T, Gunay V, Capoglu A, Sayrak H, Karaca C. [Production and characterization of a glass-ceramic biomaterial and in vitro and in vivo evaluation of its biological effects]. *Acta Orthop Traumatol Turc.* 2007; 41(4): 307-313.
- Chen CC, Huang ST. The effects of lasers and fluoride on the acid resistance of decalcified human enamel. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27(3): 447-452.
- Chen Y, Zhou Y, Li SJ, Fang P, Wei Y, Tang JW. Effect of the complex of casein phosphopeptide and amorphous calcium phosphate on reducing enamel demineralization and promoting remineralization. 2013; 48(1): 32-36.
- Chin-Ying SH, Xiaoli G, Jisheng P, Wefel JS. Effects of CO₂ laser on fluoride uptake in enamel. *J Dent.* 2004; 32(2): 161-167.
- Christoffersen J, Christoffersen MR, Arends J, Leonardsen ES. Formation of phosphate-containing calcium fluoride at the expense of enamel, hydroxyapatite and fluorapatite. *Caries Res.* 1995; 29(3): 223-230.
- Clasen AB, Ogaard B. Experimental intra-oral caries models in fluoride research. *Acta Odontol Scand.* 1999; 57(6): 334-341.
- Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res.* 2008; 42(2): 88-97.
- Coluzzi DJ. Lasers in dentistry-wonderful instruments or expensive toys. *Int. Congress Series.* 2003; 1248: 83-90.
- Coluzzi DJ. Fundamentals of dental lasers: science and instruments. *Dent Clin North Am.* 2004; 48(4): 751-770, v.
- Comar LP, Souza BM, Gracindo LF, Buzalaf MA, Magalhaes AC. Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J.* 2013; 24(3): 273-278.
- Cross KJ, Huq NL, Palamara JE, Perich JW, Reynolds EC. Physicochemical characterization of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem.* 2005; 280(15): 15362-15369.

- Cury JA, Tenuta LM. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res.* 2009; 23 Suppl 1: 23-30.
- Curzon MEJ. Integration of methods for determining the cariogenic potential of foods: Is it possible with present Technologies. *Journal of Dent Res.* 1986; 65: 1520-1524.
- Çelik MY, Yeşilkaya L, Ersoy M, Turgut T. Karbonat kökenli doğal taşlarda tane boyutu ile sertlik arasındaki ilişkinin incelenmesi. *Madencilik.* 2011; 50(2): 29-40.
- Çetin B, Avşar A, Ulusoy AT. Kazein içerikli besinler ve dental ürünler. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg.* 2011; 4: 24-31.
- Dahnhardt JE, Jaeggi T, Lussi A. Treating open carious lesions in anxious children with ozone. A prospective controlled clinical study. *Am J Dent.* 2006; 19(5): 267-270.
- Darling AI. The selective attack of caries on the dental enamel. *Ann R Coll Surg Engl.* 1961; 29: 354-369.
- Dawes C, Jenkins GN, Hardwick JL, Leach SA. The Relation between the Fluoride Concentrations in the Dental Plaque and in Drinking Water. *Br Dent J.* 1965; 119: 164-167.
- Dawes C, Weatherell JA. Kinetics of fluoride in the oral fluids. *J Dent Res.* 1990; 69 Spec No: 638-644; discussion 682-633.
- de Crousaz P, Marthaler TM, Wiesner V, Bandi A, Steiner M, Robert A, Meyer R. Caries prevalence in children after 12 years of salt fluoridation in a canton of Switzerland. *Schweiz Monatsschr Zahnmed (1984).* 1985; 95(9): 805-815.
- de Moura MS, de Melo Simplicio AH, Cury JA. In-vivo effects of fluoridated antiplaque dentifrice and bonding material on enamel demineralization adjacent to orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006; 130(3): 357-363.
- Delbem AC, Cury JA, Nakassima CK, Gouveia VG, Theodoro LH. Effect of Er:YAG laser on CaF₂ formation and its anti-cariogenic action on human enamel: an in vitro study. *J Clin Laser Med Surg.* 2003; 21(4): 197-201.
- Deliktaş D. Farklı ışık cihazlarıyla polimerize edilen iki kompozit rezinin yüzey sertliği üzerine çeşitli likitlerin etkisi. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.* 2006: 18-84.
- Deliktaş D, Ulusoy N. Farklı ışık cihazlarının hibrit ve nanohibrit kompozit rezinlerin yüzey sertliğine etkisi. *Aü Dişhek Fak Derg.* 2006; 31(1): 1-10.
- DenBesten PK, White JM, Pelino JEP, Furnish G, Silveira A, Parkins FM. The safety and effectiveness of an Er:YAG laser for caries removal and cavity preparation in children. *Medical Laser Application.* 2001; 16(3): 215-222.

- Diamanti I, Koletsis-Kounari H, Mamai-Homata E, Vougiouklakis G. Effect of fluoride and of calcium sodium phosphosilicate toothpastes on pre-softened dentin demineralization and remineralization in vitro. *J Dent.* 2010; 38(8): 671-677.
- Domejean S, White JM, Featherstone JD. Validation of the CDA CAMBRA caries risk assessment--a six-year retrospective study. *J Calif Dent Assoc.* 2011; 39(10): 709-715.
- Duggal MS, Curson MEJ. *Encyclopedia of Food Sciences, Food Technology and Nutrition* (2nd ed.). London: Academic Press Limited. 2003.
- Duggal MS, Nikolopoulou A, Tahmassebi JF. The additional effect of ozone in combination with adjunct remineralisation products on inhibition of demineralisation of the dental hard tissues in situ. *J Dent.* 2012; 40(11): 934-940.
- Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res.* 1988; 22(6): 327-336.
- Efflandt S, Cook R, Francis L. Apatite growth on bioactive glass in artificial saliva. *Mat Res Soc Symp Proc.* 2001a; 662.
- Efflandt S, Lopes M, Ko C, Perdigo J, Douglas W, Francis L. Bioactive glass paste in molars of mini-pigs: an in vivo study. *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* 2001b; 662.
- Efflandt SE, Magne P, Douglas WH, Francis LF. Interaction between bioactive glasses and human dentin. *J Mater Sci Mater Med.* 2002; 13(6): 557-565.
- Einstein A. Zur Quantentheorie der Strahlung. *Physiol Z.* 1917; 18: 121-128.
- Elliott JC. Structure, crystal chemistry and density of enamel apatites. *Ciba Found Symp.* 1997; 205: 54-67; discussion 67-72.
- Ellwood R, Fejerskov O. Clinical use of fluoride. In: *Dental Caries, First Edition*, Ed(s), Fejerskov O., Kidd E.A.M. Blackwell munsgaard, Australia. 2003: 203-216.
- Elmas EZ. Şekersiz (tatlandırıcı) sakızlara ilave edilen florid içerikli bileşiklerin, mine başlangıç çürük lezyonları üzerindeki remineralizasyon etkisinin, insitu değerlendirilmesi. Doktora tezi. İst üni. 2007.
- Elton V, Cooper L, Higham SM, Pender N. Validation of enamel erosion in vitro. *J Dent.* 2009; 37(5): 336-341.
- Esteves-Oliveira M, Pasaporti C, Heussen N, Eduardo CP, Lampert F, Apel C. Prevention of toothbrushing abrasion of acid-softened enamel by CO(2) laser irradiation. *J Dent.* 2011a; 39(9): 604-611.
- Esteves-Oliveira M, Pasaporti C, Heussen N, Eduardo CP, Lampert F, Apel C. Rehardening of acid-softened enamel and prevention of enamel softening through CO2 laser irradiation. *J Dent.* 2011b; 39(6): 414-421.

- Evcin A. Biyomalzemelere giriş. Afyon Kocatepe Üniversitesi. <http://www2.aku.edu.tr/~evcin/biomaterials/giris.pdf>.17.05.2010. 2007.
- Everett ET. Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. *J Dent Res.* 2011; 90(5): 552-560.
- Fabien V, Obry-Musset AM, Hedelin G, Cahen PM. Caries prevalence and salt fluoridation among 9-year-old schoolchildren in Strasbourg, France. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1996; 24(6): 408-411.
- Fairpo JEH, Fairpo C, Gavin H. *Dental Dictionary (4th ed.)* Massachusettes, Reed Edu and Profes Pub. 2001.
- Faller RV, Eversole SL, Yan J. Anticaries potential of a stabilized stannous-containing sodium fluoride dentifrice. *Am J Dent.* 2010; 23 Spec No B: 32B-38B.
- Featherstone JD. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1999; 27(1): 31-41.
- Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc.* 2000; 131(7): 887-899.
- Featherstone JD. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res.* 2004; 83 Spec No C: C39-42.
- Featherstone JD. Caries prevention and reversal based on the caries balance. *Pediatr Dent.* 2006; 28(2): 128-132; discussion 192-128.
- Featherstone JD. Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J.* 2008; 53(3): 286-291.
- Featherstone JD, Barrett-Vespone NA, Fried D, Kantorowitz Z, Seka W. CO₂ laser inhibitor of artificial caries-like lesion progression in dental enamel. *J Dent Res.* 1998; 77(6): 1397-1403.
- Featherstone JD, Glana 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 Spec No: 620-625; discussion 634-626.
- Featherstone JD, Mellberg JR. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res.* 1981; 15(1): 109-114.
- Featherstone JD, Nelson DG. Laser effects on dental hard tissues. *Adv Dent Res.* 1987; 1(1): 21-26.
- Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res.* 1983; 17(5): 385-391.

- Featherstone JDB,Apel C. Application of laser light for caries prevention. In Gutknecht N, Apel C, Bradley P, Eduardo CP, Featherstone JDB, Frentzen M, Ishikawa I, Lampert F, Meister J, Nammour S, Powell L, Rocca JP, Romanos G, Sculean A, Stabholz A, Todea C, Tuner J, Oliveira ME, Franzen R, Hessbrüggen U, Mir M, Vanweersch L editors. Proceeding of the 1st international workshop of evidence based dentistry on laser in dentistry. . 1st ed. UK: Quintessence Publishing Co. Ltd. 2007: 41-67.
- Featherstone JDB,Fried D. Fundamental interactions of lasers with dental hard tissues. *Med Laser Appl.* 2001; 16: 181-194.
- Featherstone JDB, Zhang SH, Shariati M,McCormack SM. Carbon dioxide laser effects on caries-like lesions of dental enamel. *Lasers in orthopedic, dental and veterinary medicine, SPIE.* 1991; 1424: 145-149.
- Fehr F,Schwarz E. Recording Dental Caries and Healt Statistics in Eurpoe In: Textbook of clinical cariology,Second edition, Ed(s), Tyylstrup A., Fejerskov O., Munsgaard, Copenhagen. 1994: 193-206.
- Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004; 38(3): 182-191.
- Fejerskov O,Ellwood R. Clinical use of fluoride. In: Fejerskov O, Kidd EAM. *Dental caries and its clinical management.* (1st). Oxford, Blackwell. 2003: 189-222.
- Ferreira JM, Palamara J, Phakey PP, Rachinger WA,Orams HJ. Effects of continuous-wave CO2 laser on the ultrastructure of human dental enamel. *Arch Oral Biol.* 1989; 34(7): 551-562.
- Ferreira MA, Latorre Mdo R, Rodrigues CS,Lima KC. Effect of regular fluoride gel application on incipient carious lesions. *Oral Health Prev Dent.* 2005; 3(3): 141-149.
- Filippi A. Ozone is the most effective disinfectant for dental treatment units: results after 8 years of comparison. *Ozone Sci Eng.* 1997; 19: 527.
- Fornaini C, Rocca JP, Bertrand MF, Merigo E, Nammour S,Vescovi P. Nd:YAG and diode laser in the surgical management of soft tissues related to orthodontic treatment. *Photomed Laser Surg.* 2007; 25(5): 381-392.
- Forsback AP, Areva S,Salonen JI. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2004; 62(1): 14-20.
- Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J,Powell G. Combined effects of laser irradiation and chemical inhibitors on the dissolution of dental enamel. *Caries Res.* 1992a; 26(5): 333-339.
- Fox JL, Yu D, Otsuka M, Higuchi WI, Wong J,Powell GL. Initial dissolution rate studies on dental enamel after CO2 laser irradiation. *J Dent Res.* 1992b; 71(7): 1389-1398.

- Frentzen M, Koort HJ. Lasers in dentistry: new possibilities with advancing laser technology? *Int Dent J.* 1990; 40(6): 323-332.
- Fried D, Glana RE, Featherstone JDB, Seka W. Permanent and transient changes in the reflectance of CO₂ laser irradiated dental hard tissues at 9.3, 9.6, 10.3 and 10.6 μm and at fluences of 1-20 J/cm². *Lasers Surg Med.* 1997; 20: 22-31.
- Fujiyama K, Deguchi T, Murakami T, Fujii A, Kushima K, Takano-Yamamoto T. Clinical effect of CO₂ laser in reducing pain in orthodontics. *Angle Orthod.* 2008; 78(2): 299-303.
- Fuller TA. Physical Considerations of Surgical Lasers. In Lewis C, Kuo P editors. *Lasers in maxillofacial surgery and dentistry.* 1th ed. New York: Thieme medical publisher. 1997: 1-11.
- Gal JY, Fovet Y, Adib-Yadzi M. About a synthetic saliva for in vitro studies. *Talanta.* 2001; 53(6): 1103-1115.
- Gao W, Smales RJ. Fluoride release/uptake of conventional and resin-modified glass ionomers, and compomers. *J Dent.* 2001; 29(4): 301-306.
- Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139 Suppl: 25S-34S.
- Geddes DA. Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Res.* 1975; 9(2): 98-109.
- Gerould CH. Electron microscope study of the mechanism of fluorine deposition in teeth. *J Dent Res.* 1945; 24: 223-233.
- Gibbs CD, Atherton SE, Huntington E, Lynch RJ, Duckworth RM. Effect of low levels of fluoride on calcium uptake by demineralized human enamel. *Arch Oral Biol.* 1995; 40(9): 879-881.
- Gjorgievska E, Nicholson JW. Enamel remineralization potential of two dentifrices based on CPP-ACP and Novamin (Calcium-sodium-phosphosilicate). *Acta Odontol Latinoam* (in press).
- Gjorgievska E, Nicholson JW. Prevention of enamel demineralization after tooth bleaching by bioactive glass incorporated into toothpaste. *Aust Dent J.* 2011; 56(2): 193-200.
- Gjorgievska ES, Nicholson JW. A preliminary study of enamel remineralization by dentifrices based on Recalden (CPP-ACP) and Novamin (calcium-sodium-phosphosilicate). *Acta Odontol Latinoam.* 2010; 23(3): 234-239.
- Gjorgievska ES, Nicholson JW, Slipper IJ, 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(3): 587-595.
- Goldstein J. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis.* Pennsylvania: Academic Press. 2003.
- Goodis HE, Fried D, Gansky S, Rechmann P, Featherstone JDB. Pulpal safety of 9.6 μ m TEA CO₂ laser used for caries prevention. *Lasers Surg Med.* 2004; 35(2): 104-110.
- Grenby TH, Andrews AT, Mistry M, Williams RJ. Dental caries-protective agents in milk and milk products: investigations in vitro. *J Dent.* 2001; 29(2): 83-92.
- Groeneveld A, Van Eck AA, Backer Dirks O. Fluoride in caries prevention: is the effect pre- or post-eruptive? *J Dent Res.* 1990; 69 Spec No: 751-755; discussion 820-753.
- Grootveld M, Baysan A, Siduqui N, Sim J, Silwood C, Lynch E. History of the clinical applications of ozone. In: Lynch E, editor. *Ozone: The Revolution in Dentistry.* London: Quintessence Publishing Co. 2004: 23-30.
- Guimaraes AR, Modesto A, Vieira AR. Formation of alkali-soluble fluoride on the surface of human dental enamel after treatment with fluoridated gels: influence of the pH variation and of the treatment time. *J Clin Pediatr Dent.* 2000; 24(4): 303-307.
- Gutknecht N. *Proceeding of the 1st international workshop of evidence based dentistry on laser in dentistry.* 1st ed. UK: Quintessence Publishing Co. Ltd. 2007: 3-220.
- Gutknecht N, Franzen R, Vanmeersch L, Lamperet F. *Lasers in Pediatric Dentistry.* *J Oral Laser Appl.* 2005; 5: 207-218.
- Hadley J, Young DA, Eversole LR, Gornbein JA. A laser-powered hydrokinetic system for caries removal and cavity preparation. *J Am Dent Assoc.* 2000; 131(6): 777-785.
- Haikel Y, Frank RM, Voegel JC. Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesions. *Caries Res.* 1983; 17(1): 1-13.
- Haimovici A, Lacatusu S, Irjicianu A, Joan E. [Ozone in endodontic therapy]. *Stomatologia (Bucur).* 1970; 17(4): 303-307.
- Hamba H, Nikaido T, Inoue G, Sadr A, Tagami J. Effects of CPP-ACP with sodium fluoride on inhibition of bovine enamel demineralization: a quantitative assessment using micro-computed tomography. *J Dent.* 2011; 39(6): 405-413.
- Hamilton JR, Bowden GHW. Fluoride effects on oral bacteria. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA. *Fluoride in Dentistry.* (2nd ed.) Copenhagen, Munksgaard, 13. 1996: 230-251.

- Hara AT, Karlinsey RL, Zero DT. Dentine remineralization by simulated saliva formulations with different Ca and Pi contents. *Caries Res.* 2008; 42(1): 51-56.
- Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res.* 2003; 37(5): 339-344.
- Harashima T, Kinoshita J, Kimura Y, Brugnera A, Zanin F, Pecora JD, Matsumoto K. Morphological comparative study on ablation of dental hard tissues at cavity preparation by Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23(1): 52-55.
- Harazaki M, Hayakawa K, Fukui T, Isshiki Y, Powell LG. The Nd-YAG laser is useful in prevention of dental caries during orthodontic treatment. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2001; 42(2): 79-86.
- Hayat MA. *Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy.* Litton Educational Publishing, inc. New York. 1978 6.
- 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(1): 61-67.
- Hellwig E, Lussi A. What is the optimum fluoride concentration needed for the remineralization process? *Caries Res.* 2001; 35 Suppl 1: 57-59.
- Hench LL, Andersson Ö. Bioactive glasses. In: *Introduction to bioceramics.* Hench LL, Wilson J, editors. Singapore: World Scientific. 1993: 45-47.
- Hench LL, West JK. Biological applications of bioactive glasses. *Life chemistry reports.* 1996; 13: 187-241.
- Heravi F, Ahrari F, Mahdavi M, Basafa S. Comparative evaluation of the effect of Er:YAG laser and low level laser irradiation combined with CPP-ACPF cream on treatment of enamel caries. *J Clin Exp Dent.* 2014; 6(2): e121-126.
- 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(2): 119-124.
- Hicks J, Winn D, 2nd, Flaitz C, Powell L. In vivo caries formation in enamel following argon laser irradiation and combined fluoride and argon laser treatment: a clinical pilot study. *Quintessence Int.* 2004b; 35(1): 15-20.
- Hicks MJ, Flaitz CM. Epidemiology of dental caries in the pediatric and adolescent population: a review of past and current trends. *J Clin Pediatr Dent.* 1993; 18(1): 43-49.

- Hicks MJ, Flaitz CM. Enamel caries formation and lesion progression with a fluoride dentifrice and a calcium-phosphate containing fluoride dentifrice: a polarized light microscopic study. *ASDC J Dent Child*. 2000; 67(1): 21-28, 28.
- Hilgers JJ, Tracey SG. Clinical uses of diode lasers in orthodontics. *J Clin Orthod*. 2004; 38(5): 266-273.
- Hodson N, Dunne SM. Using ozone to treat dental caries. *J Esthet Restor Dent*. 2007; 19(6): 303-305.
- Holmes J. Clinical reversal of occlusal pit and fissure caries using ozone. *J Dent Res* 2003a; 82: B354.
- Holmes J. Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. *Gerodontology*. 2003b; 20(2): 106-114.
- Hsu CY, Jordan TH, Dederich DN, Wefel JS. Effects of low-energy CO₂ laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. *J Dent Res*. 2000; 79(9): 1725-1730.
- Hu JC, Chun YH, Al Hazzazzi T, Simmer JP. Enamel formation and amelogenesis imperfecta. *Cells Tissues Organs*. 2007; 186(1): 78-85.
- Huang Y, Duan Y, Qian Y, Huang R, Yang Z, Li Y, Zhou Z. Remineralization efficacy of a toothpaste containing 8% arginine and calcium carbonate on enamel surface. *Am J Dent*. 2013; 26(5): 291-297.
- Huth KC, Jakob FM, Saugel B, Cappello C, Paschos E, Hollweck R, Hickel R, Brand K. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. *Eur J Oral Sci*. 2006; 114(5): 435-440.
- Huth KC, Paschos E, Brand K, Hickel R. Effect of ozone on non-cavitated fissure carious lesions in permanent molars. A controlled prospective clinical study. *Am J Dent*. 2005; 18(4): 223-228.
- Jeong CC, Zhou XD, Li JY, Li W, Zhang LL. Possibilities and potential roles of the functional peptides based on enamel matrix proteins in promoting the remineralization of initial enamel caries. *Med Hypotheses*. 2011; 76(3): 391-394.
- Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res*. 2004; 38(6): 551-556.
- Ishikawa I, Aoki A, Takasaki AA. Clinical application of erbium:YAG laser in periodontology. *J Int Acad Periodontol*. 2008; 10(1): 22-30.
- Ishikawa K, Eanes ED. The hydrolysis of anhydrous dicalcium phosphate into hydroxyapatite. *J Dent Res*. 1993; 72(2): 474-480.

- Ittahagarun A, Cheung YM, King NMT. The effect of nano -hydroxyapatite containing toothpaste on artificial enamel carious lesion progression: an in vitro pH cycling study. *Hong Kong Dental J.* 2010; 7(2): 61-66.
- Ivanenko M, Werner M, Afilal S, Klasing M, Hering P. Ablation of hard bone tissue with pulsed CO2 lasers. *Med Laser Appl.* 2005; 20: 13-23.
- Jayarajan J, Janardhanam P, Jayakumar P, Deepika. 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(1): 77-82.
- Jensen ME. Diet and dental caries. *Dent Clin North Am.* 1999; 43(4): 615-633.
- Johansson E, Claesson R, van Dijken JW. Antibacterial effect of ozone on cariogenic bacterial species. *J Dent.* 2009; 37(6): 449-453.
- Johansson E, van Dijken JW, Karlsson L, Andersson-Wenckert I. Treatment effect of ozone and fluoride varnish application on occlusal caries in primary molars: a 12-month study. *Clin Oral Investig.* 2014; 18(7): 1785-1792.
- Jorgensen J, Shariati M, Shields CP, Durr DP, Proskin HM. Fluoride uptake into demineralized primary enamel from fluoride-impregnated dental floss in vitro. *Pediatr Dent.* 1989; 11(1): 17-20.
- Jun SK, Kim DA, Goo HJ, Lee HH. Investigation of the correlation between the different mechanical properties of resin composites. *Dent Mater J.* 2013; 32(1): 48-57.
- Kantorowitz Z, Featherstone JD, Fried D. Caries prevention by CO2 laser treatment: dependency on the number of pulses used. *J Am Dent Assoc.* 1998; 129(5): 585-591.
- Kara E, . Minedeki deneysel yüzeyel demineralizasyon üzerine Er-YAG lazer ve bazı koruyucu uygulamaların etkileri. *Selçuk Üniversitesi Doktora Tezi.* 2011: 1-38.
- Karabulut CD, Karabulut B, Solak H. Bakteriyolojik teknikler ile minede yapay çürük oluşturma yöntemleri. *Süleyman Demirel Üni Diş Hek Fak Derg.* 2010; 2(2): 127-136.
- Karlinsey RL, Mackey AC, Walker TJ, Frederick KE, Blanken DD, Flaig SM, Walker ER. In vitro remineralization of human and bovine white-spot enamel lesions by NaF dentifrices: A pilot study. *J Dent Oral Hyg.* 2011; 3(2): 22-29.
- Kauppi MR, Combe EC. Polymerization of orthodontic adhesives using modern high-intensity visible curing lights. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2003; 124(3): 316-322.
- Kayalı ES, Ensari C, Dikeç F. Metalik malzemelerin mekanik deneyleri. *İstanbul.* 1990.
- Keskin G, Güler Ç. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate In Dentistry: A Literature Review. *J Dent Fac Atatürk Uni* 2013; 23(1): 261-268.

- Keyes PH. A method of recording and scoring gross carious lesions in the molar teeth of Syrian hamsters. *Journal of Dental Research*. 1944; 23: 439-444.
- Khoroushi M, Mazaheri H, Manoochehri A. Effect of CPP-ACP application on flexural strength of bleached enamel and dentin complex. *Oper Dent*. 2011; 36(4): 372-379.
- Kilinc E, Roshkind DM, Antonson SA, Antonson DE, Hardigan PC, Siegel SC, Thomas JW. Thermal safety of Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers in hard tissue removal. *Photomed Laser Surg*. 2009; 27(4): 565-570.
- Klein AL, Rodrigues LK, Eduardo CP, Nobre dos Santos M, Cury JA. Caries inhibition around composite restorations by pulsed carbon dioxide laser application. *Eur J Oral Sci*. 2005; 113(3): 239-244.
- Knezevic A, Tarle Z, Mandic VN, Prskalo K, Panduric V, Jankovic B. Primary fissure carious lesion reversal using ozone. *Acta Stomatol Croat* 2007; 41: 31-38.
- Knight GM, McIntyre JM, Craig GG, Mulyani, Zilm PS. The inability of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* to form a biofilm in vitro on dentine pretreated with ozone. *Aust Dent J*. 2008; 53(4): 349-353.
- Konig KG. Role of fluoride toothpastes in a caries-preventive strategy. *Caries Res*. 1993; 27 Suppl 1: 23-28.
- Koray F. Diş Çürükleri. Altın matbaacılık, İstanbul. 1981a.
- Koray F. Diş Çürükleri. Dünya Tıp Kitabevi. 1981b; İstanbul.
- Kotlow L. Lasers and pediatric dental care. *Gen Dent*. 2008; 56(7): 618-627.
- Kotsanos N, Darling AI. Influence of post-eruptive age of enamel on its susceptibility to artificial caries. *Caries Res*. 1991; 25(4): 241-250.
- Kulan M. Hidroksiapatit Ve Biyoaktif Cam İçerikli Farklı Diş Macunlarının Mine Remineralizasyonu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, İst Üni. 2014
- Kumar C. Nanoscale bioactive silicate glasses in biomedical applications in: *Nanostructured Oxides*. Wiley-VCH. 2009; March 203-216.
- Kunzel W. Systemic use of fluoride--other methods: salt, sugar, milk, etc. *Caries Res*. 1993; 27 Suppl 1: 16-22.
- Kuru B, Yılmaz S. Lazer ve periodontoloji. *Türk Dişhek. Bir. Derg*. 2002: 68-77.
- Kusano SC, Tenuta LM, Cury AA, Cury JA. Timing of fluoride toothpaste use and enamel-dentin demineralization. *Braz Oral Res*. 2011; 25(5): 383-387.
- Lambrou D, Larsen MJ, Fejerskov O, Tachos B. The effect of fluoride in saliva on remineralization of dental enamel in humans. *Caries Res*. 1981; 15(5): 341-345.

- Larsen MJ, Jensen SJ. Experiments on the initiation of calcium fluoride formation with reference to the solubility of dental enamel and brushite. *Arch Oral Biol.* 1994; 39(1): 23-27.
- Leeds AR. Lines of discovery in the history of ozone. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1880; 1(3): 363-391.
- LeGeros RZ. Calcium phosphates in enamel, dentin and bone. In Myers HM editor. *Calcium phosphates in oral biology and medicine.* 1 th ed. New York: Karger. 1991: 108-129.
- Lei J, Guo J, Fu D, Wang Y, Du X, Zhou L, Huang C. Influence of three remineralization materials on physicochemical structure of demineralized enamel. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.* 2014; 29(2): 410-416.
- Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. *Adv Dent Res.* 2000; 14: 40-47.
- Li J, Nakagaki H, Tsuboi S, Kato S, Huang S, Mukai M, Robinson C, Strong M. Fluoride profiles in different surfaces of human permanent molar enamels from a naturally fluoridated and a non-fluoridated area. *Arch Oral Biol.* 1994; 39(8): 727-731.
- Liu JF, Liu Y, Stephen HC. Optimal Er:YAG laser energy for preventing enamel demineralization. *J Dent.* 2006; 34(1): 62-66.
- Liu Y, Hsu CY. Laser-induced compositional changes on enamel: a FT-Raman study. *J Dent.* 2007; 35(3): 226-230.
- Liu Y, Hsu CY, Teo CM, Teoh SH. Potential mechanism for the laser-fluoride effect on enamel demineralization. *J Dent Res.* 2013a; 92(1): 71-75.
- Liu Y, Hsu CY, Teo CM, Teoh SH. Subablative Er:YAG laser effect on enamel demineralization. *Caries Res.* 2013b; 47(1): 63-68.
- Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986; 50(4): 353-380.
- Loncar B, Mravak Stipetic M, Matosevic D, Tarle Z. Ozone application in dentistry. *Arch Med Res.* 2009; 40(2): 136-137.
- Lynch E. Antimicrobial management of primary root carious lesions: a review. *Gerodontology.* 1996; 13(2): 118-129.
- Lynch E. *The revolution in dentistry* 1st edition. London: Quintessence Publishing Co. Ltd. 2004a.
- Lynch E. Evidence-based caries reversal using ozone. *J Esthet Restor Dent.* 2008; 20(4): 218-222.

- Lynch E, Baysan A. Reversal of primary root caries using a dentifrice with a high fluoride content. *Caries Res.* 2001; 35 Suppl 1: 60-64.
- Lynch E, Smith E, Baysan A, Silwood CJ, Mills B, Grootveld M. Salivary oxidising activity of a novel anti-bacterial ozone-generating device. *J Dent Res.* 2001; 80: 13.
- Lynch RJ, Mory U, ten Cate JM. Effect of lesion characteristics and mineralizing solution type on enamel remineralization in vitro. *Caries Res.* 2007; 41(4): 257-262.
- Lynch RJ, Ten Cate JM. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behaviour. *Caries Res.* 2006; 40(6): 530-535.
- Madan N, Madan N, Sharma V, Gulati M, Pardal D. Tooth remineralization using bio-active glass a novel approach. *Baba Farid University Dental Journal.* 2011; 2(2): 64-67.
- Malmstrom HS, McCormack SM, Fried D, Featherstone JD. Effect of CO2 laser on pulpal temperature and surface morphology: an in vitro study. *J Dent.* 2001; 29(8): 521-529.
- Mandinic Z, Curcic M, Antonijevic B, Lekic CP, Carevic M. Relationship between fluoride intake in Serbian children living in two areas with different natural levels of fluorides and occurrence of dental fluorosis. *Food Chem Toxicol.* 2009; 47(6): 1080-1084.
- Margolis HC, Moreno EC. Physicochemical perspectives on the cariostatic mechanisms of systemic and topical fluorides. *J Dent Res.* 1990; 69 Spec No: 606-613; discussion 634-606.
- Marinho VC. Evidence-based effectiveness of topical fluorides. *Adv Dent Res.* 2008; 20(1): 3-7.
- Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; (4): CD002782.
- Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S. Combinations of topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels, varnishes) versus single topical fluoride for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004; (1): CD002781.
- Massara ML, Alves JB, Brandao PR. Atraumatic restorative treatment: clinical, ultrastructural and chemical analysis. *Caries Res.* 2002; 36(6): 430-436.
- Mathew A, Reddy NV, Sugumaran D, Peter J, Shameer M, Dauravu LM. Acquired acid resistance of human enamel treated with laser (Er: YAG laser and Co2 laser) and acidulated phosphate fluoride treatment: An in vitro atomic emission spectrometry analysis. *Contem clin dent.* 2013; 4(2): 170.

- McComb D. No reliable evidence that ozone gas stops or reverses tooth decay. *Evid Based Dent.* 2005; 6(2): 34.
- McCormack SM, Fried D, Featherstone JD, Glena RE, Seka W. Scanning electron microscope observations of CO₂ laser effects on dental enamel. *J Dent Res.* 1995; 74(10): 1702-1708.
- Meghiam GD, Bertolini L, De Pieri A, Lynch E. In-vivo treatment of occlusal caries with ozone. *J Dent Res.* 2003a; 82: C535.
- Meghiam GD, Bertolini L, DePieri A, Lynch E. In vivo treatment of occlusal caries with ozone: One and two months' effect with light-induced fluorescence (QLF) as diagnostic methods. *J Dent Res.* 2003b; 82: B354.
- Mehta AB, Kumari V, Jose R, Izadikhah V. Remineralization potential of bioactive glass and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on initial carious lesion: An in-vitro pH-cycling study. *J Conserv Dent.* 2014; 17(1): 3-7.
- Meister J. Basic research. In Gutknecht N, Apel C, Bradley P, Eduardo CP, Featherstone JDB, Frentzen M, Ishikawa I, Lampert F, Meister J, Nammour S, Powell L, Rocca JP, Romanos G, Sculean A, Stabholz A, Todea C, Tuner J, Oliveira ME, Franzen R, Hessbrüggen U, Mir M, Vanweersch L editors. *Proceeding of the 1st international workshop of evidence based dentistry on laser in dentistry.* 1st ed. UK: Quintessence Pub Co. Ltd. 2007: 3-31.
- Mellberg JR, Ripa LW. Formation of dental caries. In: *Fluoride in Preventive Dentistry. Theory and clinical applications.* Chicago, Quintessence Pub Co. 1983: 15-40.
- Mellberg JR, Ripa LW, Leske GS. Formation of dental caries. In Mellberg JR, Ripa LW, Leske GS editors. *Fluoride in preventive dentistry.* 1th ed. Chicago: Quintessence Pub Co. 1983: 15-41.
- Millar BJ, Hodson N. Assessment of the safety of two ozone delivery devices. *J Dent.* 2007; 35(3): 195-200.
- Mohanty P, Padmanabhan S, Chitharanjan AB. An in Vitro Evaluation of Remineralization Potential of Novamin((R)) on Artificial Enamel Sub-Surface Lesions Around Orthodontic Brackets Using Energy Dispersive X-Ray Analysis (EDX). *J Clin Diagn Res.* 2014; 8(11): ZC88-91.
- Morgan MV, Adams GG, Bailey DL, Tsao CE, Fischman SL, Reynolds EC. The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res.* 2008; 42(3): 171-184.
- Morichini D. Analisi chimica del dente fossile fatta dal Dottor Morecchini. *Mem. Mat. Fis. Soc. ital. Sci. (Modena).* 1803; 10(1): 166-172.

- Morioka T, Suzuki K, Tsutsumi H. Effect of beam absorptive mediators on acid resistance of surface enamel by Nd-YAG laser irradiation. *Jpn J Dent Health*. 1984; 38: 40-44.
- 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(3): 205-208.
- Muller KP, Rodrigues CR, Nunez SC, Rocha R, Jorge AO, Ribeiro MS. Effects of low power red laser on induced-dental caries in rats. *Arch Oral Biol*. 2007a; 52(7): 648-654.
- Muller P, Guggenheim B, Schmidlin PR. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral Sci*. 2007b; 115(1): 77-80.
- Murdoch-Kinch CA, McLean ME. Minimally invasive dentistry. *J Am Dent Assoc*. 2003; 134(1): 87-95.
- Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol*. 2004a; 19(4): 240-246.
- Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M. Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *J Endod*. 2004b; 30(11): 778-781.
- Nakata K, Nikaido T, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J. Relationship between fluorescence loss of QLF and depth of demineralization in an enamel erosion model. *Dent Mater J*. 2009; 28(5): 523-529.
- Nammour S, Rocca JP, Pireaux JJ, Powell GL, Morciaux Y, Demortier G. Increase of enamel fluoride retention by low fluence argon laser beam: a 6-month follow-up study in vivo. *Lasers Surg Med*. 2005; 36(3): 220-224.
- Narayana SS, Deepa VK, Ahamed S, Sathish ES, Meyappan R, Sathesh Kumar KS. Remineralization efficiency of bioactive glass on artificially induced carious lesion an in-vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2014; 32(1): 19-25.
- Nelson DG, Jongebloed WL, Arends J. Morphology of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: SEM considerations. *J Dent Res*. 1983; 62(12): 1201-1208.
- Nelson DG, Shariati M, Glana R, Shields CP, Featherstone JD. Effect of pulsed low energy infrared laser irradiation on artificial caries-like lesion formation. *Caries Res*. 1986; 20(4): 289-299.
- Newbrun E. *Cariology*. USA: Quintessence Publishing Co, Inc, . 1989: 315-330.

- Newburn E, . Current concepts of caries etiology. In Newburn E editor. Cariology 3th ed. U.S.A: Quintessence Pub Co. 1989: 29-63.
- Niazy A,Ehab A. Synergistic caries inhibitory effect of a remineralizing agent and CO₂ laser on human enamel and root dentin. Cairo Dent J. 2009; 25: 415-424.
- Nicolae C, Hincu M,Amariei C. Scanning electron microscopic observation of morphological modifications produced by Fluorostom on enamel surface. Rom J Morphol Embryol. 2011; 52(4): 1255-1259.
- Nicolodi L, Sjölander E,Olsson K. Biocompatible ceramics-an overview of applications and novel materials. Course 2B1750-Smart Elect Mat. 2004; KTH November.
- Nie L, Li X,Hu DY. [Effect of ozone on the remineralization of enamel in vitro]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2007; 42(2): 102-105.
- Nobre dos Santos M, Fried D, Rapozo-Hilo M,Featherstone JDB. Effect of a new carbon dioxide laser and fluoride on occlusal caries progression in dental enamel. Laser in Dentistry VIII, SPIE. 2002; 4610: 132-139.
- Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO,Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. J Contemp Dent Pract. 2008; 9(4): 75-84.
- Ocaktan E. Farklı fonksiyonlarıyla ozon gazı ve etkileri. Ankara Üni Tıp Fak Halk Sağ AD Sağ ve Top Derg. 2005; 1(12-17).
- Ogaard B. Effects of fluoride on caries development and progression in vivo. J Dent Res. 1990; 69 Spec No: 813-819; discussion 820-813.
- Oho T,Morioka T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. Caries Res. 1990; 24(2): 86-92.
- Oizumi M, Suzuki T, Uchida M, Furuya J,Okamoto Y. In vitro testing of a denture cleaning method using ozone. J Med Dent Sci. 1998; 45(2): 135-139.
- Oliveira GM, Ritter AV, Heymann HO, Swift E, Jr., Donovan T, Brock G,Wright T. Remineralization effect of CPP-ACP and fluoride for white spot lesions in vitro. J Dent. 2014; 42(12): 1592-1602.
- Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, Ando S,Miyazaki M. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. J Oral Sci. 2007; 49(2): 115-120.
- Önal B, Özata F,Diekwisch TGH. Dis sert dokularında taramalı elektron mikroskobu atlası. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi. 2003.
- Özler M, Öter Ş,Korkmaz A. The Use of Ozone Gas for Medical Purposes. TAF Prev Med Bull. 2009; 8(1): 69-74.

- Pacheco LF, Banzi E, Rodrigues E, Soares LE, Pascon FM, Correr-Sobrinho L, Puppini-Rontani RM. Molecular and structural evaluation of dentin caries-like lesions produced by different artificial models. *Braz Dent J.* 2013; 24(6): 610-618.
- 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 Pediatr Dent.* 2008; 32(3): 201-206.
- Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AO. Ability of different restorative materials to prevent in situ secondary caries: analysis by polarized light-microscopy and energy-dispersive X-ray. *Eur J Oral Sci.* 2008; 116(4): 375-380.
- Pascotto RC, Navarro MF, Capelozza Filho L, Cury JA. In vivo effect of a resin-modified glass ionomer cement on enamel demineralization around orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004; 125(1): 36-41.
- Paste GHPM. <http://www.gcamerica.com/mipaste.html> Ref Type: Internet Communication.
- 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(2): 116-120.
- Peric TO, Markovic DL, Radojevic VJ, Heinemann RM, Petrovic BB, Lamovec JS. Influence of pastes containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on surface of demineralized enamel. *J Appl Biomater Funct Mater.* 2014; 12(3): 234-239.
- Phan ND, Fried D, Featherstone JDB. Laser-induced transformation of carbonated apatite to fluoride on bovine enamel. *Lasers in Dentistry V, SPIE.* 1999; 3593: 233-240.
- Philips PT, Woodward SM. Fluoridated milk as a dental caries preventive measure. *British Nut Found Bull.* 2000; 25: 287-293.
- Pollard MA. Potential cariogenicity of starches and fruits as assessed by the plaque-sampling method and an intraoral cariogenicity test. *Caries Res.* 1995; 29(1): 68-74.
- Polydorou O, Pelz K, Hahn P. Antibacterial effect of an ozone device and its comparison with two dentin-bonding systems. *Eur J Oral Sci.* 2006; 114(4): 349-353.
- Poosti M, Ahrari F, Moosavi H, Najjaran H. The effect of fractional CO₂ laser irradiation on remineralization of enamel white spot lesions. *Lasers Med Sci.* 2014; 29(4): 1349-1355.
- Powell GL, Morton TH, Whisenant BK. Argon laser oral safety parameters for teeth. *Lasers Surg Med.* 1993; 13(5): 548-552.

- Preston KP, Higham SM, Smith PW. The efficacy of techniques for the disinfection of artificial sub-surface dentinal caries lesions and their effect on demineralization and remineralization in vitro. *J Dent.* 2007; 35(6): 490-495.
- Pulido MT, Wefel JS, Hernandez MM, Denehy GE, Guzman-Armstrong S, Chalmers JM, Qian F. The inhibitory effect of MI paste, fluoride and a combination of both on the progression of artificial caries-like lesions in enamel. *Oper Dent.* 2008; 33(5): 550-555.
- Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect of a CPP-ACP agent on the demineralization and remineralization of dentine in vitro. *J Dent.* 2007; 35(8): 695-698.
- Ramirez Rozzi F. Enamel structure and development and its application in hominid evolution and taxonomy. *J Hum Evol.* 1998; 35(4-5): 327-330.
- Rao A, Malhotra N. The role of remineralizing agents in dentistry: a review. *Compend Contin Educ Dent.* 2011; 32(6): 26-33; quiz 34, 36.
- Rehder Neto FC, Maeda FA, Turssi CP, Serra MC. Potential agents to control enamel caries-like lesions. *J Dent.* 2009; 37(10): 786-790.
- Retief DH, Bradley EL, Holbrook M, Switzer P. Enamel fluoride uptake, distribution and retention from topical fluoride agents. *Caries Res.* 1983; 17(1): 44-51.
- Reynolds EC. The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res.* 1987; 66(6): 1120-1127.
- Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res.* 1997; 76(9): 1587-1595.
- Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist.* 1998; 18(1): 8-16.
- Reynolds EC. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res.* 2009; 21(1): 25-29.
- 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(3): 206-211.
- Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, Perich JW. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res.* 1995; 74(6): 1272-1279.
- Reynolds EC, Riley PF, Adamson NJ. A selective precipitation purification procedure for multiple phosphoserine-containing peptides and methods for their identification. *Anal Biochem.* 1994; 217(2): 277-284.

- Reynolds EC,Wong A. Effect of adsorbed protein on hydroxyapatite zeta potential and Streptococcus mutans adherence. Infect Immun. 1983; 39(3): 1285-1290.
- Ricketts DN, Ekstrand KR, Kidd EA,Larsen T. Relating visual and radiographic ranked scoring systems for occlusal caries detection to histological and microbiological evidence. Oper Dent. 2002; 27(3): 231-237.
- Roberson M, Heymann Harald O,J. SE. The Art And The Science of Operative Dentistry. A. Harcourt Health Company. 2002; 4 ed.
- Roberson TM. Cariology: The Lesion, Etiology, Prevention, and Control. Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry (5. bs.) T.M.Roberson (Ed.). 2006; St.Louis, Missouri: Mosby Elsevier.
- Roberson TM. Karyoloji: lezyon, etyoloji, önleme ve kontrol. In Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ editors. Art and science of operative dentistry. 5th ed. Ankara: Güneş kitabevi. 2010: 65-135.
- Rodrigues LK, Nobre dos Santos M, Pereira D, Assaf AV,Pardi V. Carbon dioxide laser in dental caries prevention. J Dent. 2004; 32(7): 531-540.
- Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. Arch Oral Biol. 2000; 45(7): 569-575.
- Rose RK, Matthews SP,Hall RC. Investigation of calcium-binding sites on the surfaces of selected gram-positive oral organisms. Arch Oral Biol. 1997a; 42(9): 595-599.
- Rose RK, Turner SJ,Dibdin GH. Effect of pH and calcium concentration on calcium diffusion in streptococcal model-plaque biofilms. Arch Oral Biol. 1997b; 42(12): 795-800.
- Rosen S, Min DB, Harper DS, Harper WJ, Beck EX,Beck FM. Effect of cheese, with and without sucrose, on dental caries and recovery of Streptococcus mutans in rats. J Dent Res. 1984; 63(6): 894-896.
- Sadatullah S, Mohamed NH,Razak FA. The antimicrobial effect of 0.1 ppm ozonated water on 24-hour plaque microorganisms in situ. Braz Oral Res. 2012; 26(2): 126-131.
- Sakoolnamarka R, Burrow MF, Kubo S,Tyas MJ. Morphological study of demineralized dentine after caries removal using two different methods. Aust Dent J. 2002; 47(2): 116-122.
- Santaella MR, Braun A, Matson E,Frentzen M. Effect of diode laser and fluoride varnish on initial surface demineralization of primary dentition enamel: an in vitro study. Int J Paediatr Dent. 2004; 14(3): 199-203.
- Schemehorn BR, Orban JC, Wood GD, Fischer GM,Winston AE. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. J Clin Dent. 1999; 10(1 Spec No): 13-16.

- Schupbach P, Neeser JR, Golliard M, Rouvet M, Guggenheim B. Incorporation of caseinoglycomacropeptide and caseinophosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci. *J Dent Res.* 1996; 75(10): 1779-1788.
- Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet.* 2007; 369(9555): 51-59.
- Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. In vitro dissolution of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res.* 2002; 61(2): 301-311.
- Shahdad SA, McCabe JF, Bull S, Rusby S, Wassell RW. Hardness measured with traditional Vickers and Martens hardness methods. *Dent Mater.* 2007; 23(9): 1079-1085.
- Shellis RP, Duckworth RM. Studies on the cariostatic mechanisms of fluoride. *Int Dent J.* 1994; 44(3 Suppl 1): 263-273.
- 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(12): 2066-2070.
- Shetty S, Hegde MN, Bopanna TP. Enamel remineralization assessment after treatment with three different remineralizing agents using surface microhardness: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2014; 17(1): 49-52.
- Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1995; 6(2): 84-108.
- 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.* 1995; 29(5): 337-342.
- Slot DE, Kranendonk AA, Paraskevas S, Van der Weijden F. The effect of a pulsed Nd:YAG laser in non-surgical periodontal therapy. *J Periodontol.* 2009; 80(7): 1041-1056.
- Smith WF. Principles of materials science and engineering (3rd ed.). London, McGraw-Hill Inc. 1996.
- Sognnaes RF, Stern RH. Laser Effect on Resistance of Human Dental Enamel to Demineralization in Vitro. *J South Calif Dent Assoc.* 1965; 33(8): 328-329.
- Somasundaram P, Vimala N, Mandke LG. Protective potential of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate containing paste on enamel surfaces. *J Conserv Dent.* 2013; 16(2): 152-156.
- Souza-Gabriel AE, Chinelatti MA, Borsatto MC, Pecora JD, Palma-Dibb RG, Corona SA. SEM analysis of enamel surface treated by Er:YAG laser: influence of irradiation distance. *Microsc Res Tech.* 2008; 71(7): 536-541.

- Souza MR, Watanabe I, Azevedo LH, Tanji EY. Morphological alterations of the surfaces of enamel and dentin of deciduous teeth irradiated with Nd:YAG, CO₂ and diode lasers. *Int. J. Morphol.* 2009; 27(2): 441-446.
- Staninec M, Giles WS, Saiku JM, Hattori M. Caries penetration and cement thickness of three luting agents. *Int J Prosthodont.* 1988; 1(3): 259-263.
- Steiner-Oliveira C, Rodrigues LK, Soares LE, Martin AA, Zezell DM, Nobre-dos-Santos M. Chemical, morphological and thermal effects of 10.6-microm CO₂ laser on the inhibition of enamel demineralization. *Dent Mater J.* 2006; 25(3): 455-462.
- Stern RH, Sognnaes RF. Laser inhibition of dental caries suggested by first tests in vivo. *J Am Dent Assoc.* 1972; 85(5): 1087-1090.
- Stern RH, Vahl J, Sognnaes RF. Lased enamel: ultrastructural observations of pulsed carbon dioxide laser effects. *J Dent Res.* 1972; 51(2): 455-460.
- Stoor P, Soderling E, Salonen JI. Antibacterial effects of a bioactive glass paste on oral microorganisms. *Acta Odontol Scand.* 1998; 56(3): 161-165.
- Sturdevant CM, Roberson TM, Heymann HO, Sturdevant JR. Cariology: The lesion, etiology, prevention, and control. Chapter 3 in: *The art and science of operative dentistry.* 2002; 65-132.
- Subramaniam P, Pandey A. Effect of erbium, chromium: yttrium, scandium, gallium, garnet laser and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on surface micro-hardness of primary tooth enamel. *Eur J Dent.* 2014; 8(3): 402-406.
- Sudağdan M. Test biomaterials in biological systems (fulfillment dissertation). Izmir Institute of Technology. 2001; October
- Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ. Prevention of white spot lesions in orthodontic practice: a contemporary review. *Aust Dent J.* 2006; 51(4): 284-289; quiz 347.
- Symons AL, Chu CY, Meyers IA. The effect of fissure morphology and pretreatment of the enamel surface on penetration and adhesion of fissure sealants. *J Oral Rehabil.* 1996; 23(12): 791-798.
- Tagliaferro EP, Rodrigues LK, Nobre Dos Santos M, Soares LE, Martin AA. Combined effects of carbon dioxide laser and fluoride on demineralized primary enamel: an in vitro study. *Caries Res.* 2007; 41(1): 74-76.
- Tagomori S, Morioka T. Combined effects of laser and fluoride on acid resistance of human dental enamel. *Caries Res.* 1989; 23(4): 225-231.
- Tahmassebi JF, Chrysafi N, Duggal MS. The effect of ozone on progression or regression of artificial caries-like enamel lesions in vitro. *J Dent.* 2014; 42(2): 167-174.

- Tai BJ, Bian Z, Jiang H, Greenspan DC, Zhong J, Clark AE, Du MQ. Anti-gingivitis effect of a dentifrice containing bioactive glass (NovaMin) particulate. *J Clin Periodontol.* 2006; 33(2): 86-91.
- Takagi S, Liao H, Chow LC. Effect of tooth-bound fluoride on enamel demineralization/remineralization in vitro. *Caries Res.* 2000; 34(4): 281-288.
- Taleb H, Rashed M, El-Bardissy A, Alshaibah WB. Comparison of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and fluoride gel in remineralization of demineralized human enamel surfaces. *Indian Journ of Dent.* 2012; 3(2): 53-57.
- Tang G, Yip HK, Cutress TW, Samaranayake LP. Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: a review. *J Dent.* 2003; 31(3): 161-171.
- Tanzer JM. Dental caries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. *J Dent Res.* 1995; 74(9): 1536-1542.
- Taube F, Ylmen R, Shchukarev A, Nietzsche S, Noren JG. Morphological and chemical characterization of tooth enamel exposed to alkaline agents. *J Dent.* 2010; 38(1): 72-81.
- Ten Cate JM. In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res.* 1990; 69 Spec No: 614-619; discussion 634-616.
- ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res.* 1982; 16(3): 201-210.
- ten Cate JM, Duijsters PP. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. *Caries Res.* 1983a; 17(3): 193-199.
- ten Cate JM, Duijsters PP. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. II. Microradiographic data. *Caries Res.* 1983b; 17(6): 513-519.
- ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O. Chemical interactions between tooth and oral fluids. *Dental Caries, First Edition*, Ed(s), Fejerskov O., Kidd E. Blackwell munsgaard. 2003: 49-69.
- ten Cate JM, Mundorff-Shrestha SA. Working Group Report 1: Laboratory models for caries (in vitro and animal models). *Adv Dent Res.* 1995; 9(3): 332-334.
- ten Cate JM, van Loveren C. Fluoride mechanisms. *Dent Clin North Am.* 1999; 43(4): 713-742, vii.
- Tepper SA, Zehnder M, Pajarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO₂ laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel in vitro. *J Dent.* 2004; 32(8): 635-641.
- Teranaka T, Koulourides T. Effect of a 100-ppm fluoride mouthrinse on experimental root caries in humans. *Caries Res.* 1987; 21(4): 326-332.

- 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(4): 217-223.
- 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(3): 212-216.
- Thylstrup A. Clinical evidence of the role of pre-eruptive fluoride in caries prevention. *J Dent Res*. 1990; 69 Spec No: 742-750; discussion 820-743.
- Thylstrup A, Fejerskov O. *Textbook of Cariology*. Copenhagen: Munksgaard. 1986.
- Thylstrup A, Fejerskov O, Larsen MJ. Polarized light microscopy of enamel structure in incisors from newborn infants. *Scand J Dent Res*. 1976; 84(5): 243-254.
- Tohda H, Takuma S, Tanaka N. Intracrystalline structure of enamel crystals affected by caries. *J Dent Res*. 1987; 66(11): 1647-1653.
- Topaloğlu B. Kazein Fosfopeptid-Amorf Kalsiyum Fosfat İçerikli Patın Mine Demineralizasyonu Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üni, Samsun. 2009.
- Tosun G. APF Jel ve APF Köpük ile Topikal Florid Uygulamasının Tükürük ve İdrar Flor Düzeyleri Üzerine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üni, Konya. 2002.
- Tosun G, Şener Y, Şengün A. The Effect of Various Storage Solutions on The Bond Strength of Resin Composite to Enamel. *Hacettepe Dişhek Fak Derg*. 2005; 29(3): 2-6.
- Toumba KJ. In-vivo and in-vitro evaluation of a slow-release fluoride glass for the prevention of dental caries in high -risk children. Thesis, University of Leeds Division of Child Dental Health, United Kingdom. 1996.
- Tung MS, Eichmiller FC. Dental applications of amorphous calcium phosphates. *J Clin Dent*. 1999; 10(1 Spec No): 1-6.
- Turssi CP, Messias DF, Corona SM, Serra MC. Viability of using enamel and dentin from bovine origin as a substitute for human counterparts in an intraoral erosion model. *Braz Dent J*. 2010; 21(4): 332-336.
- Uzer ÇE, Yazkan B, Katırcı G. Başlangıç çürük lezyonlarının tedavisi. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg*. 2011; 21: 48-56.
- Vahid GM, Sohrabi A, Biriya M, Ansari G. Remineralization Effect of Topical NovaMin Versus Sodium Fluoride (1.1%) on Caries-Like Lesions in Permanent Teeth. *J Dent (Tehran)*. 2012; 9(1): 68-75.

- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediators Inflamm.* 2000; 9(6): 271-276.
- van As G. Erbium lasers in dentistry. *Dent Clin North Am.* 2004; 48(4): 1017-1059, viii.
- Vanichvatana S, Auychai P. Efficacy of two calcium phosphate pastes on the remineralization of artificial caries: a randomized controlled double-blind in situ study. *Int J Oral Sci.* 2013; 5(4): 224-228.
- Verma SK, Maheshwari S, Singh RK, Chaudhari PK. Laser in dentistry: An innovative tool in modern dental practice. *Natl J Maxillofac Surg.* 2012; 3(2): 124-132.
- Villena RS, Tenuta LM, Cury JA. Effect of APF gel application time on enamel demineralization and fluoride uptake in situ. *Braz Dent J.* 2009; 20(1): 37-41.
- Vitale MC, Zaffe D, Botticell AR, Caprioglio C. Diode laser irradiation and fluoride uptake in human teeth. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2011; 12(2): 90-92.
- Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, Grass RN, Zehnder M, Imfeld T, Stark WJ. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater.* 2007; 3(6): 936-943.
- Vyavhare S, Sharma DS, Kulkarni VK. Effect of three different pastes on remineralization of initial enamel lesion: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent.* 2015; 39(2): 149-160.
- Wang Z, Jiang T, Sauro S, Pashley DH, Toledano M, Osorio R, Liang S, Xing W, Sa Y, Wang Y. The dentine remineralization activity of a desensitizing bioactive glass-containing toothpaste: an in vitro study. *Aust Dent J.* 2011; 56(4): 372-381.
- Watanabe H, Ishikawa I, Suzuki M, Hasegawa K. Clinical assessments of the erbium:YAG laser for soft tissue surgery and scaling. *J Clin Laser Med Surg.* 1996; 14(2): 67-75.
- Wefel JS. NovaMin: likely clinical success. *Adv Dent Res.* 2009; 21(1): 40-43.
- Welbury R, Duggal M, Hosey MT. *Paediatric dentistry.* Oxford, New York: Oxford medical publications. 2005.
- Westerman GH, Ellis RW, Latta MA, Powell GL. An in vitro study of enamel surface microhardness following argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride treatment. *Pediatr Dent.* 2003; 25(5): 497-500.
- Westerman GH, Hicks MJ, Flaitz CM, Powell GL. In vitro caries formation in primary tooth enamel: role of argon laser irradiation and remineralizing solution treatment. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137(5): 638-644.
- White DJ. The application of in vitro models to research on demineralization and remineralization of the teeth. *Adv Dent Res.* 1995; 9(3): 175-193; discussion 194-177.

- White DJ, Featherstone JD. A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression in vitro. *Caries Res.* 1987; 21(6): 502-512.
- Winn DM, Brunelle JA, Selwitz RH, Kaste LM, Oldakowski RJ, Kingman A, Brown LJ. Coronal and root caries in the dentition of adults in the United States, 1988-1991. *J Dent Res.* 1996; 75 Spec No: 642-651.
- Wintner E, Strassl M. Basic information on lasers. In Moritz A, Beer F, Goharkhay K, Schoop U, Strassl M, Verheyen P, Walsh LJ, Wernisch J, Wintner E editors. *Oral laser application.* 1th ed. Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH. 2006: 1-57.
- Wittschier M. Çürük tedavilerinde lazer kullanımı: klinik uygulamalar üzerine bir çalışma. *Quintessence Int.* 2004; 3: 23-30.
- Xiang Q, Zhou M, Wu Z, Zhou X, Lin L, Huang J, Liang Y. Relationships between daily total fluoride intake and dental fluorosis and dental caries. *J Nanjing Medical University.* 2009; 23(1): 33-39.
- 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(3): 230-236.
- Yamamoto H, Ooya K. Potential of yttrium-aluminum-garnet laser in caries prevention. *J Oral Pathol.* 1974; 3(1): 7-15.
- Yamayoshi T, Tatsumi N. Microbicidal effects of ozone solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Drugs Exp Clin Res.* 1993; 19(2): 59-64.
- Yassaei S, Shahraki N, Aghili H, Davari A. Combined effects of Er: YAG laser and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on the inhibition of enamel demineralization: An in vitro study. *Dent Res J (Isfahan).* 2014; 11(2): 193-198.
- Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci.* 2011; 53(3): 273-282.
- Yılmaz Eİ. Diş dokularının çürüğe karşı direncinin artırılmasında lazer ve kazein fosfopeptidamorf kalsiyum fosfat'ın etkisinin değerlendirilmesi. Doktora tezi, Samsun. 2013.
- Ying D, Chuah GK, Hsu CY. Effect of Er:YAG laser and organic matrix on porosity changes in human enamel. *J Dent.* 2004; 32(1): 41-46.
- Yli-Urpo H, Vallittu PK, Narhi TO, Forsback AP, Vakiarta M. Release of silica, calcium, phosphorus, and fluoride from glass ionomer cement containing bioactive glass. *J Biomater Appl.* 2004; 19(1): 5-20.
- Zamfirova G, Lorenzo V, Benavente R, Perena JM. On the relationship between modulus of elasticity and microhardness. *Journal of Applied Polymer Science.* 2003; 88: 1794-1798.

- Zero DT. Dental Caries Process. *Dental Clinics of North America*. 1999; 43(4): 635-664.
- Zero DT. In situ caries models. *Adv Dent Res*. 1995; 9(3): 214-230; discussion 231-214.
- Zezell D, Ana P, Albero F, Cury J, Bachmann L. Effect of infrared lasers on chemical and crystalline properties of enamel. *Caries Res* 2009; 43: 192.
- Zhang Q, Zou J, Yang R, Zhou X. Remineralization effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate creme on artificial early enamel lesions of primary teeth. *Int J Paediatr Dent*. 2011; 21(5): 374-381.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Emine TAŞTAN

Doğum Yeri: Simav

Doğum Tarihi: 17.02.1987

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Lisans: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2005-2011

Doktora: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Restoratif Diş Tedavisi Anabilim dalı; 2011-2016

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2011-2013, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi 2013-2016

E-posta: emn43@hotmail.com